



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE MEDICINA  
-DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA-



METODOLOGÍA CONTINGENTE DE  
CRIBADO PRENATAL DE  
CROMOSOMOPATÍAS CON APLICACIÓN  
DE TEST PRENATAL NO INVASIVO

Jara Carrera Banzo  
Sevilla, septiembre 2020



Don JOSÉ ANTONIO SAINZ BUENO, Doctor en Medicina y Cirugía y Profesor Asociado del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

CERTIFICA:

Que Doña JARA CARRERA BANZO, Licenciada en Medicina, ha realizado bajo mi dirección y orientación, en la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla, el trabajo titulado "METODOLOGÍA CONTINGENTE DE CRIBADO PRENATAL DE CROMOSOMOPATÍAS CON APLICACIÓN DE TEST PRENATAL NO INVASIVO", que a mi juicio es apto para optar al grado de Doctor.

Sevilla, septiembre de 2020

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized 'S' followed by a horizontal line extending to the right.

Fdo. JOSÉ ANTONIO SAINZ BUENO



## AGRADECIMIENTOS:

Al capitán de este proyecto, José Antonio Sainz, por confiar en mi para llevar el timón del barco, y a María Bonomi por guiarme y acompañarme en cada paso, sin vosotros no hubiera sido posible.

Al resto de mis compañeros ginecólogos de Valme, porque he aprendido todo de vosotros y a muchos hoy os puedo llamar amigos. Habéis enriquecido mi vida tanto en lo profesional como en lo personal y no cambiaría absolutamente nada de mi paso por allí.

A mis amigos y amigas, por estar presentes en cada pequeño avance de este trabajo. Gracias por apoyarme, acompañarme en cada logro y levantarme en cada caída. Nada de esto hubiera sido posible sin vuestro impulso.

A toda mi familia por creer en mí y sobre todo a las dos personas más importantes de mi vida: mis padres, Fernando y Elena. Porque además de haberme dado todo, me habéis enseñado que lo más valioso es lo que consigo con mi esfuerzo. Por acompañarme en este largo y duro camino, nunca fallarme, ser el mejor ejemplo y el motor que me empuja cada día a superarme. Os quiero.



*A Pedro, Rosa y Carmen.  
Brillo por vosotros.*





# ÍNDICE

ÍNDICE.....	IX
ÍNDICE DE TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS.....	XIII
Índice de Tablas.....	xiii
Índice de Figuras.....	xiv
Índice de Gráficas.....	xiv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	XV
RESUMEN Y PALABRAS CLAVE.....	IXX
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.2. DEFECTOS CONGÉNITOS.....	4
1.2.1. DEFINICIÓN Y CONCEPTOS GENERALES.....	4
1.2.2. CLASIFICACIÓN DE LAS ALTERACIONES GENÉTICAS.....	7
1.2.2.1. Alteraciones monogénicas.....	7
1.2.2.2. Alteraciones cromosómicas o cromosomopatías.....	7
1.2.2.2.1. Alteraciones numéricas.....	8
1.2.2.2.1.1. Aneuploidías.....	8
1.2.2.2.1.2. Polidiploidías.....	8
1.2.2.2.2. Alteraciones estructurales.....	8
1.2.2.2.3. Cromosomopatías más frecuentes.....	9
1.2.2.2.3.1. Síndrome de Down o trisomía 21.....	9
1.2.2.2.3.2. Síndrome de Edwards o trisomía 18.....	10
1.2.2.2.3.3. Síndrome de Patau o trisomía 13.....	11
1.3. CRIBADO DE DEFECTOS CONGÉNITOS.....	12
1.3.1. JUSTIFICACIÓN DE LA NECESIDAD DE MÉTODOS DE CRIBADO DE DEFECTOS CONGÉNITOS: EPIDEMIOLOGÍA.....	12
1.3.2. CRONOLOGÍA EN LA EVOLUCIÓN DEL CRIBADO DE DEFECTOS CONGÉNITOS.....	14
1.3.2.1. Cribado por edad.....	14
1.3.2.2. Cribado bioquímico en el segundo trimestre de gestación.....	15
1.3.2.3. Sonograma genético: cribado ecográfico de cromosomopatías.....	15
1.3.2.4. Cribado combinado o test combinado de primer trimestre.....	17
1.3.2.5. Test prenatal no invasivo.....	18
1.4. TEST COMBINADO O CRIBADO COMBINADO DE PRIMER TRIMESTRE (CC1T).....	19
1.4.1. COMPONENTES DEL CRIBADO COMBINADO DE PRIMER TRIMESTRE.....	19
1.4.1.1. Edad materna.....	19
1.4.1.2. Marcadores bioquímicos.....	19
1.4.1.2.1. PAPP-A.....	20
1.4.1.2.2. fβ-Hcg.....	20
1.4.1.3. Marcador ecográfico: la translucencia nucal.....	21
1.4.1.4. Otros marcadores ecográficos.....	21
1.4.1.4.1. Hueso nasal.....	22
1.4.1.4.2. Ductus venoso.....	22
1.4.1.4.3. Regurgitación tricuspídea.....	22
1.4.2. MÉTODOS DE IMPLEMENTACIÓN.....	22
1.4.3. CRIBADO COMBINADO EN LA GESTACIÓN MÚLTIPLE.....	23
1.5. DIAGNÓSTICO DE CROMOSOMOPATÍAS: TÉCNICAS INVASIVAS.....	25
1.5.1. AMNIOCENTESIS.....	25
1.5.2. BIOPSIA DE VELLOSIDADES CORIALES.....	25
1.5.3. TÉCNICAS GENÉTICAS UTILIZADAS EN EL DIAGNÓSTICO PRENATAL.....	26
1.5.3.1. Cariotipo.....	26
1.5.3.2. Técnicas rápidas.....	27
1.5.3.2.1. FISH.....	27
1.5.3.2.2. QF-PCR.....	27
1.5.3.2.3. MLPA.....	27
1.5.3.2.4. Microarrays.....	28
1.5.4. COMPLICACIONES DE LAS TÉCNICAS INVASIVAS.....	28
1.6. TEST PRENATAL NO INVASIVO.....	31
1.6.1. ADN FETAL LIBRE CIRCULANTE.....	31
1.6.2. MÉTODOS DE ANÁLISIS GENÉTICO.....	31
1.6.2.1. MPSS.....	32
1.6.2.2. CSS.....	32
1.6.2.3. SNP.....	32

1.6.2.4. Otros métodos en investigación.....	32
1.6.3. FRACCIÓN FETAL DE ADN-LC Y SU INFLUENCIA EN LA TASA DE NO RESULTADOS.....	33
1.6.4. DIAGNÓSTICO PRENATAL NO INVASIVO: POSIBLES APLICACIONES.....	34
1.6.4.1. Determinación del Rh fetal.....	34
1.6.4.2. Determinación del sexo fetal.....	35
1.6.4.3. Determinación del riesgo de preeclampsia.....	36
1.6.4.4. Diagnóstico de enfermedades monogénicas.....	36
1.6.4.5. Cribado de aneuploidías.....	38
1.6.5. TEST PRENATAL NO INVASIVO (TPNI) DE CROMOSOMOPATÍAS.....	38
1.6.5.1. Cribado de aneuploidías autosómicas.....	38
1.6.5.2. Cribado de aneuploidías de los cromosomas sexuales.....	40
1.6.5.3. Cribado de síndromes de microdelección y microduplicación.....	40
1.6.5.4. Cribado de triploidías.....	41
1.6.6. CAPACIDAD DEL TEST.....	42
1.6.6.1. Rendimiento del test.....	42
1.6.6.2. Interpretación de fallos en el test o test no concluyente.....	43
1.6.6.3. Falsos positivos y falsos negativos del test.....	44
1.6.6.3.1. Posibles causas de resultados falsos positivos.....	44
1.6.6.3.2. Posibles causas de resultados falsos negativos.....	45
1.6.6.4. Interpretación del valor predictivo.....	46
1.6.7. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS Y SEGUIMIENTO.....	47
1.6.7.1. Implicaciones de un resultado positivo o de "alto riesgo".....	47
1.6.7.2. Implicaciones de un resultado negativo o de "bajo riesgo".....	48
1.6.7.3. Resultado no concluyente o "no resultado".....	48
1.6.8. SITUACIONES ESPECIALES.....	48
1.6.8.1. Gestación múltiple.....	48
1.6.8.2. Hallazgo de malformaciones en la evaluación ecográfica.....	49
1.6.9. ASPECTOS ECONÓMICOS.....	49
1.6.10. APLICACIÓN CLÍNICA DEL TPNI.....	51
1.6.10.1. CRIBADO PRIMARIO O UNIVERSAL.....	51
1.6.10.2. CRIBADO SECUNDARIO.....	52
1.6.10.2.1. Modelo contingente.....	52
1.6.10.2.2. Modelo reflexivo.....	53
1.6.11. SITUACIÓN ACTUAL DEL TPNI EN EL CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS.....	54
<b>2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	<b>55</b>
2.1. HIPÓTESIS.....	56
2.2. OBJETIVOS.....	56
2.2.1. OBJETIVOS PRIMARIOS.....	56
2.2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	56
<b>3. MATERIAL Y MÉTODO.....</b>	<b>57</b>
3.1. MATERIAL.....	58
3.1.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO.....	58
3.1.1.1. Criterios de inclusión.....	58
3.1.1.2. Criterios de exclusión.....	58
3.2. MÉTODO.....	59
3.2.1. PROCEDIMIENTO.....	59
3.2.1.1. Recogida de datos e inclusión en el estudio.....	59
3.2.1.2. Determinación de marcadores bioquímicos de cribado de primer trimestre.....	60
3.2.1.3. Ecografía de primer trimestre no centralizada como parte del cribado combinado de primer trimestre.....	60
3.2.1.4. Cribado bioquímico de segundo trimestre. Doble test.....	60
3.2.1.5. Integración de datos.....	60
3.2.1.6. Técnica invasiva.....	61
3.2.1.7. Test prenatal no invasivo mediante ADN libre circulante en sangre materna.....	61
3.2.1.8. Interpretación de resultados.....	62
3.2.1.9. Ecografía morfológica precoz.....	62
3.2.2. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA.....	63
3.2.2.1. Tipo de estudio.....	63
3.2.2.2. Tamaño muestral.....	63
3.2.2.3. Análisis descriptivo.....	63
3.2.2.4. Análisis inferencial.....	64
3.2.3. EVALUACIÓN DE COSTO Y COSTO-EFECTIVIDAD DEL CRIBADO CONTINGENTE CON APLICACIÓN DE ADN-LC.....	64

<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>65</b>
4.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS PERINATALES. PREVALENCIA DE DEFECTOS CONGÉNITOS, DETECCIÓN DE MALFORMACIONES ESTRUCTURALES.....	66
4.2. PREVALENCIA DE CROMOSOMOPATÍAS, CRIBADO COMBINADO DE PRIMER TRIMESTRE, DOBLE TEST.....	68
4.3. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DE ADN-LC.....	72
4.3.1. GRUPO DE MUY ALTO RIESGO.....	72
4.3.2. GRUPO DE RIESGO INTERMEDIO.....	75
4.3.3. GRUPO DE BAJO RIESGO.....	76
4.4. TÉCNICAS INVASIVAS EN EL CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS. EVOLUCIÓN HISTÓRICA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO NUESTRA SEÑORA DE VALME.....	79
4.5. EVALUACIÓN DE COSTES Y COSTO-EFECTIVIDAD DEL CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DE ADN-LC.....	81
4.6. EVALUACIÓN COMPARATIVA DE DIFERENTES MODELOS DE CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DE ADN-LC.....	82
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	<b>84</b>
5.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS PERINATALES. PREVALENCIA DE DEFECTOS CONGÉNITOS. DETECCIÓN DE MALFORMACIONES ESTRUCTURALES.....	85
5.2. PREVALENCIA DE CROMOSOMOPATÍAS. CRIBADO COMBINADO DE PRIMER TRIMESTRE. DOBLE TEST.....	88
5.3. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DEL TPNI.....	89
5.4. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DEL TPNI. INFLUENCIA EN LA TASA DE REALIZACIÓN DE TÉCNICAS INVASIVAS.....	93
5.5. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DEL TPNI. EVALUACIÓN DE COSTES Y COSTO-EFECTIVIDAD.....	95
5.6. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DEL TPNI. EVALUACIÓN COMPARATIVA. SU SIGNIFICADO.....	97
<b>6. LIMITACIONES Y CONCLUSIONES</b> .....	<b>99</b>
6.1. LIMITACIONES.....	100
6.2. CONCLUSIONES.....	101
<b>7. ANEXOS</b> .....	<b>102</b>
Anexo 1. Consentimiento Informado del Cribado Combinado de Primer Trimestre de la Junta de Andalucía.....	103
Anexo 2. Consentimiento Informado para la realización de Técnicas Invasivas (Amniocentesis y Biopsia Corial) de la Junta de Andalucía.....	107
Anexo 3. Consentimiento Informado del Test Prenatal no Invasivo (análisis de ADN fetal libre circulante).....	117
Anexo 4. Consentimiento Informado de la Ecografía Morfológica Fetal (18-22 semanas) del PACAC.....	119
Anexo 5. Informe del Comité de Ética.....	121
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>122</b>



# ÍNDICE DE TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS

## Índice de Tablas:

### **Introducción**

- Tabla 1. Ejemplos de enfermedades monogénicas según tipo de herencia y gen alterado.
- Tabla 2. Prevalencia de defectos congénitos en España desde 1980 hasta 2012 (ICBDSR).
- Tabla 3. Distribución por tipo de presentación clínica de los recién nacidos con defectos congénitos registrados en el ECEM en su boletín de 2012 (periodo 1980-2011).
- Tabla 4. Anomalías estructurales (malformaciones) mayores y marcadores blandos presentes en las cromosomopatías más frecuentes (trisomías 21, 18 y 13).
- Tabla 5. Razones de verosimilitud (*likelihood ratio*, *LR*) de los marcadores blandos asociados al Síndrome de Down.
- Tabla 6. Métodos de cribado de cromosomopatías. Nomenclatura, componentes y tasa de detección de trisomía 21 para una tasa de falsos positivos del 5%.
- Tabla 7. Modelos propuestos por diferentes autores para mejorar el cribado de trisomía 21.
- Tabla 8. Indicaciones de realización de técnicas invasivas.
- Tabla 9. Proporción de embarazos con fracción fetal  $\geq 4\%$  en una primera extracción de sangre (*Wang E et al.*, 2013) en función del peso materno.
- Tabla 10. Prevalencia estimada en la población de enfermedades producidas por microdeleciones y sus correspondientes casos detectables.
- Tabla 11. Capacidad del test prenatal no invasivo en el cribado de cromosomopatías (Metaanálisis de *Gil M. et al.*, 2017).
- Tabla 12. Valores predictivos positivos y negativos del cribado de aneuploidías mediante cribado combinado *versus* ADN-Ic.
- Tabla 13. Capacidad del test prenatal no invasivo en el cribado de cromosomopatías en gestaciones gemelares (Metaanálisis de *Gil M. et al.*, 2019).
- Tabla 14. Necesidad de test prenatal no invasivo según diferentes puntos de corte del CC1T (modelo contingente), sus tasas de detección y de técnicas invasivas.
- Tabla 15. Comparación económica entre cuatro políticas de instauración del TPNI: rendimiento, costo marginal por nacimiento evitado con Síndrome de Down y costo promedio por pérdida fetal evitada, según el coste unitario del test.

### **Resultados:**

- Tabla 16. Resultados obstétricos en el Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme entre septiembre de 2016 y julio de 2019.
- Tabla 17. Sensibilidad, tasa de falsos negativos y tasa de falsos positivos de la ecografía para la detección de malformaciones estructurales.
- Tabla 18. Distribución de las cromosomopatías en el periodo de estudio.
- Tabla 19. Casos de trisomía 21 en la población a estudio.
- Tabla 20. Casos de otras cromosomopatías en la población a estudio.
- Tabla 21. Casos del grupo de "muy alto riesgo" (n=85).
- Tabla 22. Casos de trisomía 21 en el grupo de "muy alto riesgo".
- Tabla 23. Casos de otras cromosomopatías en el grupo de "muy alto riesgo".
- Tabla 24. Casos de trisomía 21 en el grupo de riesgo "intermedio".

- Tabla 25. Características maternas y gestacionales de los casos en los que se realiza un test de ADN-Ic (243 casos)
- Tabla 26. Casos de cromosopatías en el grupo de “bajo riesgo”.
- Tabla 27. Casos positivos en el sonograma genético. Indicaciones de técnica invasiva por sonograma genético alterado (n=63).
- Tabla 28. Técnicas invasivas y tasa de revocaciones realizadas desde el año 2008 hasta el año 2015.
- Tabla 29. Técnicas invasivas y tasa de revocaciones realizadas desde septiembre de 2016 hasta julio de 2019.
- Tabla 30. Evaluación económica del modelo de cribado de cromosopatías basado en un test combinado y del modelo de cribado de cromosopatías basado en un modelo contingente con aplicación de ADN-Ic.
- Tabla 31. Evaluación comparativa de diferentes modelos de cribado de cromosopatías contingente con aplicación de ADN-Ic según diferentes puntos de corte. Evaluación de sensibilidad, tasa de falsos positivos, costos y costo-efectividad (7.244 casos).

#### Índice de Figuras:

##### **Introducción**

- Figura 1. Aplicaciones de la secuenciación masiva en paralelo (MPSS) del ADN-Ic. (*Wong FCK et al.*)

##### **Resultados:**

- Figura 2. Distribución del cribado de cromosopatías en el grupo de estudio (n=7.719)
- Figura 3. Modelo de cribado de cromosopatías contingente con aplicación del ADN-Ic
- Figura 4. Manejo clínico del grupo de “muy alto riesgo”. Modelo de cribado de cromosopatías contingente con aplicación del ADN-Ic
- Figura 5. Manejo clínico del grupo “intermedio”. Modelo de cribado de cromosopatías contingente con aplicación de ADN-Ic
- Figura 6. Manejo clínico del grupo de “bajo riesgo”. Modelo de cribado de cromosopatías contingente con aplicación de ADN-Ic

#### Índice de Gráficas:

##### **Introducción**

- Gráfica 1. Riesgo de cromosopatías en relación a la edad materna.
- Gráfica 2. Sensibilidad en la determinación de fetos RHD positivos a través de ADN-Ic, en función de la edad gestacional (*Chitty L.S. et al.,2014*)

##### **Resultados:**

- Gráfica 3. Media (MoM) de la TN durante el periodo de estudio
- Gráfica 4. Media (MoM) de la  $\beta$ HCG y la PAPP-A en el periodo de estudio

# ÍNDICE DE ABREVIATURAS

**1T:** Primer trimestre

**2T:** Segundo trimestre

**ACOG:** *American College of Obstetricians and Gynecologists* (Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos)

**ADAM12:** Metaloproteasa 12

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico

**ADNf-Ic:** ADN fetal libre circulante

**ADN-Ic:** ADN libre circulante

**ADNt-Ic:** ADN tumoral libre circulante

**AEDP:** Asociación Española de Diagnóstico Prenatal

**AFP:** Alfa-fetoproteína

**ARN:** Ácido ribonucleico

**ARSA:** *Aberrant right subclavian artery* (Arteria subclavia derecha aberrante)

**BQ:** Bioquímico

**$\beta$ -hCG/f $\beta$ -hCG:** *Free beta human chorionic gonadotrophin* (Fracción libre de la beta gonadotropina coriónica humana)

**cf-DNA:** *Cell-free fetal DNA* (ADN libre fetal)

**CIA:** Comunicación interauricular

**CIE-10:** Clasificación Internacional de Enfermedades en su décima revisión

**CIR:** Crecimiento intrauterino retardado

**CIV:** Comunicación interventricular

**CC1T:** Cribado combinado de primer trimestre

**CGH:** *Comparative genomic hybridization* (Hibridación genómica comparativa)

**CNP:** *Copy number variations* (Variantes del número de copias)

**CRL:** Crown-rump length (Longitud cráneo-raquis)

**CSS:** *Chromosome selective sequencing* (Secuenciación selectiva de cromosomas)

**DANSR:** *Digital analysis of selected regions* (Análisis digital de regiones seleccionadas)

**DE:** Desviaciones estándar

**DNA:** *Deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico)

**DV:** Ductus venoso

**ECEMC:** Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas

**EG:** Edad gestacional

**EUROCAT:** *European Surveillance of Congenital Anomalies* (Vigilancia europea de anomalías congénitas)

**EM:** Edad materna

**EMP:** Ecografía morfológica precoz

**Ev.:** Evolución



**FISH:** *Fluorescent in situ hybridization* (Hibridación *in situ* fluorescente)

**FIV:** Fecundación *in vitro*

**FN:** Falsos negativos

**FP:** Falsos positivos

**hCG:** gonadotropina coriónica humana

**HN:** Hueso nasal

**IC:** Intervalo de confianza

**ICBDSR:** *International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research* (Centro internacional de información sobre vigilancia e investigación de defectos congénitos)

**IGFBP-4:** *Insuline-like Growth Factor Binding Protein -4* (Proteína ligadora del factor de crecimiento tipo insulina 4).

**IMC:** Índice de masa corporal

**inhibA:** inhibina A

**ISUOG:** *International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* (Sociedad internacional de ultrasonidos en obstetricia y ginecología)

**IVE:** Interrupción voluntaria del embarazo

**Kb:** Kilobase

**LB:** Live births (nacimientos)

**LF:** Longitud del fémur

**LHON:** *Leber Hereditary Optic Neuropathy* (Neuropatía óptica hereditaria de Leber)

**Mb:** Megabase

**MELAS:** *Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like episodes* (Encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios similares a accidentes cerebrovasculares)

**MeSH:** *Medical subject headings* (Encabezamientos de temas médicos)

**MLPA:** *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (Amplificación de sondas dependiente de múltiples ligandos)

**MoM:** Múltiplos de la mediana

**MPSS:** *Massively parallel shotgun sequencing* (Secuenciación masiva en paralelo)

**q-PCR:** *Quantitative Polymerase Chain Reaction* (Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa)

**QF-PCR:** *Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction* (Fluorescencia cuantitativa de reacción en cadena de la polimerasa)

**R:** Riesgo

**RCOG:** *Royal College of Obstetricians and Gynaecologists* (Real Colegio de Obstetras y Ginecólogos)

**RCPCH:** *Royal College of Pediatrics and Child Health* (Real Colegio de Pediatras y Salud Infantil)

**REDCB:** Registro de Defectos Congénitos de Barcelona

**RRNN:** Recién nacidos

**RT:** Regurgitación tricuspídea

**SB:** *Stillbirths* (mortinatos)

**SEGO:** Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia

**SNP:** *Single nucleotide polymorphism* (Polimorfismo de nucleótido único)

**T13:** Trisomía 13 (Síndrome de Patau)

**T18:** Trisomía 18 (Síndrome de Edwards)  
**T21:** Trisomía 21 (Síndrome de Down)  
**TC:** Test combinado  
**TD:** Tasa de detección o tasa diagnóstica  
**TFN:** Tasa de falsos negativos  
**TFP:** Tasa de falsos positivos  
**TI:** Técnica invasiva  
**TN:** Translucencia nucal  
**TPNI:** Test prenatal no invasivo  
**p1-99:** Percentil (1 al 99)  
**PACAC:** Programa Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas  
**PAPP-A:** Proteína A plasmática asociada al embarazo  
**PCR:** *Polymerase Chain Reaction* (Reacción en cadena de la polimerasa)  
**PIGF:** *Placental Growth Factor* (Factor de crecimiento placentario)  
**PP13:** Proteína plasmática 13  
**uE3:** Estriol no conjugado  
**VPN:** Valor predictivo negativo  
**VPP:** Valor predictivo positivo  
**WHO:** *World Health Organization* (Organización Mundial de la Salud)



# RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

## Objetivos

Demostrar que la implementación de un test contingente con la aplicación de ADN libre circulante supone una reducción de la tasa de realización de técnicas invasivas de un 5% a un 3%, manteniéndose la tasa de detección de un Cribado Combinado de Primer Trimestre.

Constatar que la metodología contingente de cribado con aplicación de ADN libre circulante es aceptada por más del 80% de las gestantes y no supone un incremento significativo de los costos (menos de un 5%) respecto al Cribado Combinado de Primer Trimestre vigente hasta la actualidad.

## Material y métodos

Se realizó un estudio analítico observacional, en el que se analizaron las gestaciones controladas en el Área Sanitaria Sur de Sevilla (Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme) entre septiembre de 2016 y julio de 2019.

A estas gestantes se les aplicó el Cribado Combinado de Primer Trimestre (CC1T) entre que clasifica el riesgo de cromosopatías (trisomías 21, 13 y 18) en dos grupos. Las gestaciones de captación tardía, son evaluadas mediante un Doble Test de rescate.

El grupo de “bajo riesgo” ( $<1/270$ ) continuará el control gestacional normal, para realizarse entre las 18-22 semanas de gestación una ecografía morfológica fetal con la que se completa el cribado de defectos congénitos.

El grupo de “alto riesgo” ( $\geq 1/270$ ) será derivado a la Unidad de Medicina Fetal y Diagnóstico prenatal para la realización de una Ecografía Morfológica Precoz (EMP).

En caso de hallazgo de malformaciones estructurales (o Translucencia Nucal  $\geq 3,5$  mm) en la EMP, así como de resultado del CC1T  $\geq 1/50$ , se reclasificará el cribado de cromosopatías en un grupo de “muy alto riesgo”, que será sometido a una técnica invasiva diagnóstica (biopsia corial o amniocentesis).

Si el riesgo de cromosopatías se sitúa entre  $1/50$  y  $1/270$  y en ausencia de malformaciones estructurales, a la paciente se le ofrece un Test Prenatal No Invasivo (TPNI), basado en el análisis de ADN libre circulante. En aquellos casos en los que la gestante acepta su realización, se recalificará el riesgo mediante este segundo método de cribado.

Aquellas gestantes con resultado de “alto riesgo” de trisomía 21, 13 o 18 en el TPNI se someterán a una técnica invasiva, mientras que las que obtengan un resultado de “bajo riesgo” continuarán los controles habituales de la gestación.

## Resultados

Durante el periodo de estudio se controlaron 7.719 gestaciones, entre las que hubo 184 defectos congénitos, lo que supuso un 2,33% del total de fetos. La prevalencia de cromosopatías fue del 0,47% (37 casos, y el 20,10% de los defectos congénitos). En recién nacidos la prevalencia fue del 0,025% (ya que el 95% de las gestantes con diagnóstico de cromosopatía interrumpió la gestación). El 56,7% de los casos correspondió a trisomía 21 (T-21), siendo por tanto la cromosopatía más frecuente.

7.244 gestaciones únicas se realizaron un cribado de cromosomopatías (98,2% un CC1T). El 95,1% de los cribados (6.889 gestaciones) fueron de bajo riesgo. Hubo 355 (4,5%) cribados de alto riesgo, 85 casos (1,2%) se reclasificaron en el grupo de muy alto riesgo, sometiéndose a una técnica invasiva. Hubo 270 gestantes con riesgo entre 1/50 y 1/270 (3,7%). De este grupo, el 85,9% (232 casos) aceptó la realización de un TPNI.

La sensibilidad de la metodología contingente, con aplicación del TPNI, se mantiene en el 85,7% (18/21) para T-21 y la tasa de realización de técnicas invasivas en la población de estudio desciende a un 2,6% (193/7.244 casos)

En la evaluación económica, se ha objetivado un incremento de los costos del cribado del 1,5% con la aplicación contingente del TPNI respecto al CC1T.

## **Conclusiones**

La aplicación de una metodología contingente en el cribado de cromosomopatías en una población de bajo riesgo, basada en un Cribado Combinado de Primer Trimestre asociado a un Test Prenatal No Invasivo reduce la tasa de realización de procedimientos invasivos manteniendo la misma sensibilidad, suponiendo un mínimo incremento de los costos.

## **Palabras Clave**

Defectos congénitos, cribado de cromosomopatías, test prenatal no invasivo, ADN fetal libre circulante.



# 1. INTRODUCCIÓN

---

## 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los defectos congénitos son una causa común de enfermedad, discapacidad y fallecimiento. Nos encontramos ante la primera causa de morbimortalidad infantil en países desarrollados. Se estima que un 2-4% de los recién nacidos se encuentran afectados por una malformación estructural mayor y se incrementa hasta un 7% en el primer año de vida.<sup>1-3</sup> Del total de defectos congénitos, un 8,88% son cromosomopatías y por ello es importante implementar programas de cribado universal y con resultados de garantía en términos de sensibilidad y especificidad.<sup>4,5</sup>

A finales del siglo XX grandes estudios multicéntricos demuestran que el cribado combinado de primer trimestre (CC1T) es el modelo de cribado por presentar una alta sensibilidad (85% para una tasa de falsos positivos del 4,3%), es de fácil aplicación y se realiza de manera temprana en la gestación.<sup>6,7</sup> Todo ello lleva a ser el *gold standard* de modelos de cribado de cromosomopatías y es recomendado por las principales guías clínicas y sociedades científicas.<sup>8</sup>

Gracias al gran desarrollo técnico del diagnóstico genético en los últimos años y la secuenciación completa del genoma humano en el año 2001, se logró uno de los mayores avances en este campo: el test de ADN libre circulante (ADN-ic) para el cribado de cromosomopatías, también llamado Test Prenatal No Invasivo (TPNI), disponible desde 2011.<sup>9</sup> Este TPNI presenta una sensibilidad >99% y una tasa de falsos positivos < 0,1%, lo que lo convierte en el mejor método de cribado de cromosomopatías. La implementación clínica de este modelo de cribado no cumple con el requisito de costo-efectividad, debido a su alto coste, por lo que no es recomendado por las diferentes guías y sociedades como primer paso en el cribado de cromosomopatía. Pero debemos buscar una metodología eficaz para su implementación, ya que sus resultados son muy prometedores.<sup>10</sup>

Por tanto, el objetivo de este trabajo se centra en evaluar la metodología contingente, basada en la aplicación de un CC1T asociado a un TPNI, y evaluar sus resultados en términos de sensibilidad, tasa de falsos positivos, aceptabilidad por parte de la gestante de esta metodología y valoración de costo-efectividad para los sistemas de salud.

Para esto se realizó una búsqueda bibliográfica mediante la sistemática que se describe a continuación:

**Identificación del campo de estudio:** publicaciones centradas en el diagnóstico precoz de defectos congénitos mediante estrategias de cribado, técnicas basadas en la detección de ADN-ic en sangre materna y ecografía morfológica precoz, así como aquellas que se centran en la metodología de implementación de las mismas y aspectos económicos.

**Palabras clave utilizadas en la búsqueda:** “defectos congénitos”, “cribado de cromosomopatías”, “Test Prenatal No Invasivo”, “ADN libre fetal”, “estrategias de implementación”, “análisis económico/costo-efectividad” y “ecografía morfológica precoz”.

Se utilizaron los siguientes términos MeSH: *congenital abnormalities, fetal aneuploidies screening, non invasive prenatal test/cell-free DNA, first trimestre ultrasound, implementation strategies, economic analysis/cost-effectiveness*



**Periodo a analizar:** no nos planteamos establecer un periodo concreto debido a que consideramos que en esta línea de investigación se producen avances de forma continua, sin embargo, se analizaron artículos publicados en los últimos 15 años, centrándonos en las publicaciones más recientes.

**Selección de fuentes de información:** las publicaciones utilizadas para la revisión bibliográfica consisten fundamentalmente en artículos de revistas científicas, obtenidos a través de las bases de datos PubMed, Medline, Cochrane y SCiELO. Además, se han utilizado Tesis Doctorales para la descripción detallada de aspectos relativos al cribado de defectos congénitos y su aplicación. Por último, los datos estadísticos han sido obtenidos a partir de fuentes nacionales e internacionales: ICBDSR (*International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research*), EUROCAT (*European Surveillance of Congenital Anomalies*), ECEMC (*Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas*) y WHO (*World Health Organization*).

## 1.2. DEFECTOS CONGÉNITOS

### 1.2.1. DEFINICIÓN Y CONCEPTOS GENERALES

Las anomalías congénitas, también conocidas como defectos congénitos, son definidos por la *WHO* como anomalías estructurales, funcionales (como los trastornos metabólicos) o moleculares, que se encuentran presentes desde el nacimiento (pudiéndose manifestar más tarde). Esta definición engloba a un grupo variado de entidades de origen prenatal que pueden estar causados por defectos monogénicos, alteraciones cromosómicas, herencia multifactorial, teratógenos ambientales o carencia de micronutrientes.<sup>11</sup>

Aproximadamente el 20% de las muertes que ocurren durante el primer año tras el nacimiento son debidas a una anomalía congénita, calculando que, en el mundo, cada año 303.000 recién nacidos fallecen en las primeras cuatro semanas de vida. La prevalencia global de la mayoría de defectos congénitos no varían mucho entre los diferentes grupos étnicos y el riesgo depende principalmente de la susceptibilidad genética y las diferencias socioculturales que pueden influir en las distintas exposiciones a factores ambientales.<sup>1,2,4</sup>

Gracias a los avances ecográficos que se han producido en los últimos tiempos, muchos de estos defectos congénitos pueden detectarse antes del nacimiento. En numerosas series retrospectivas se ha descrito la incidencia de cromosomopatías en función de los defectos congénitos diagnosticados.<sup>12</sup> Se conoce que cuando nos encontramos ante una malformación fetal aislada, el 2-18% están asociadas a cromosomopatías, mientras que detrás de las malformaciones fetales múltiples hay un 18,8-35% de alteraciones cromosómicas.<sup>13-15</sup>

Los defectos congénitos pueden aparecer aislados o presentarse en como parte de un patrón o combinación característica que puede afectar a uno o más aparatos o sistemas.<sup>16</sup>

Las anomalías congénitas se codifican según la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas de Salud Conexos en su décima revisión (CIE-10) y la ampliación de la misma, elaborada por el Royal College of Pediatrics and Child Health (RCPCH).<sup>11</sup>

Consideramos importante conocer la definición de algunos términos utilizados específicamente en el estudio o descripción de las anomalías congénitas:

- **Malformaciones<sup>2</sup>:** se trata de defectos de órganos o partes del cuerpo causados por un proceso intrínseco de desarrollo anormal. En este proceso, una estructura no llega a formarse, se forma de manera parcial o anormal.

Las malformaciones a menudo resultan de un defecto en el desarrollo embrionario, por lo que la mayoría de ellas se producen antes de la octava semana de gestación. Sin embargo, también pueden ocurrir en estructuras anatómicas que continúan desarrollándose después de este periodo, como el Sistema Nervioso Central y Periférico, genitales internos o dientes.

También pueden ser producto de factores ambientales teratogénicos o que influyan sobre la expresión génica (epigenética).

Las malformaciones de etiología desconocida probablemente sean debidas a condiciones monogénicas que todavía no han sido identificadas, mutaciones somáticas que surgen en una etapa temprana del desarrollo o combinaciones de factores genéticos o trastornos multifactoriales que resultan de la interacción de múltiples genes y factores ambientales.

A menudo en los textos se clasifica las malformaciones congénitas en *graves o mayores y leves o menores*:

- **Malformaciones mayores<sup>2</sup>**: aquellas que conllevan implicaciones médicas y/o sociales. A menudo requieren reparación quirúrgica o tratamiento de por vida. Son un ejemplo de malformación mayor los defectos del tubo neural como el mielomeningocele o el labio leporino.

Pueden estar derivadas de diversos mecanismos moleculares que interfieran con cualquier proceso normal como la apoptosis o muerte celular, migración de células de la cresta neural, señalización intracelular o remodelación de la cromatina.

- **Malformaciones menores**: se trata de aquellas cuya significación es principalmente estética. Representan parte de las variantes de la normalidad en la población general. La clinodactilia o el pliegue palmar único son ejemplos de malformaciones menores.

Su prevalencia es sustancialmente mayor a la de las malformaciones mayores, aunque difícil de estimar con precisión.<sup>2</sup>

Se conoce que la asociación de tres o más malformaciones menores en un recién nacido incrementa el riesgo de padecer una malformación mayor.<sup>17,18</sup>

- **Patrón**: asociación reconocible de múltiples malformaciones.
  - **Síndrome**: se trata de un patrón de anomalías que se dan simultáneamente y se asocian con un número establecido de signos y síntomas. Algunos síndromes son de causa conocida (como el Síndrome de Turner, debido a la monosomía de cromosoma X), pueden heredarse (como el síndrome de Marfan), mientras que en otros todavía no conocemos la causa o aparecen de forma esporádica.<sup>2</sup>
  - **Secuencia**: es un patrón de anomalías en las que un solo defecto del desarrollo conocido causa una cascada de subsecuentes defectos, como por ejemplo la *Secuencia Potter*, causada por una reducción de la diuresis fetal secundaria a anomalías renales como la agenesia, que derivan en una serie de características fetales que se desarrollan de forma anormal debido a la escasez de líquido amniótico (oligoamnios).<sup>19-21</sup>

- *Defecto del campo de desarrollo:* se trata de un patrón de anomalías causado por la perturbación de una región del embrión que se desarrolla en un espacio físico contiguo. Esta región se conoce con el nombre de “campo de desarrollo”. Un ejemplo clásico es la holoprosencefalia, cuyas manifestaciones clínicas tienen una severidad ampliamente variable (desde la presencia de un único incisivo central hasta la ausencia casi completa del prosencéfalo).<sup>22</sup>
  - *Asociación:* definida como la concurrencia de dos o más anomalías sin relación patogenética y que se dan conjuntamente de forma más frecuente que la esperada por azar. La mayoría de asociaciones son de causa desconocida y es posible que algunas de ellas representen defectos de campos de desarrollo. El ejemplo más característico es la *asociación VACTERL*, que incluye anomalías **V**ertebrales, **A**tresia **A**nal, defectos **C**ardiacos, **F**ístula **T**raqueo**E**sofágica, defectos **R**enales y de las extremidades (*Limb defects*, en inglés).<sup>23,24</sup>
- **Deformaciones:** anomalías de la posición de partes del cuerpo debidas a mecanismos extrínsecos intrauterinos (líquido amniótico disminuído, malformaciones o tumores uterinos, etc.) que fuerzan la modificación de la forma normal de una estructura fetal, como por ejemplo en el caso de la displasia congénita de cadera.<sup>2,25</sup>
  - **Interrupciones:** defectos de órganos o partes corporales que resultan de la destrucción o la interferencia del desarrollo normal. Esta destrucción puede ser debida a un proceso vascular o mecánico que compromete el tejido mediante compresión, estrangulación, hemorragia, trombosis o procesos que interfieran con el flujo sanguíneo. La mayoría de interrupciones son esporádicas (no hereditarias), por lo que su riesgo de recurrencia es muy bajo. Un ejemplo es la presencia intrauterina de bandas amnióticas que producen amputaciones o malformaciones debidas a la constricción de miembros.<sup>2,26</sup>
  - **Displasias:** anomalías que resultan de la organización anormal de las células dentro de los tejidos (por ejemplo, la acondroplasia).<sup>2</sup>

Debido a su gravedad y frecuencia, los defectos congénitos tienen un considerable impacto en la salud pública. Estas afecciones pueden ocasionar discapacidades crónicas con grandes repercusiones en los afectados, su familia, los sistemas de salud y la sociedad.<sup>1</sup>

Por este motivo es de gran importancia realizar una evaluación del problema desde un enfoque general, que incluya el conocimiento de los factores etiológicos de estas entidades, así como su fisiopatología y los posibles abordajes diagnóstico-terapéuticos.

A continuación, nos centraremos en describir las diferentes causas genéticas, ya que son aquellas que podemos detectar mediante una estrategia de cribado, objeto de estudio de este trabajo.

## 1.2.2. CLASIFICACIÓN DE LAS ALTERACIONES GENÉTICAS

La carga genética de un individuo puede alterarse de diversas formas, que describiremos a continuación.

### 1.2.2.1. Alteraciones monogénicas

Aquellas en las que un único gen se encuentra alterado (locus). Se han reconocido más de 6.000 desórdenes potenciales de un gen y se sospecha de muchos otros. Aproximadamente el 1% de los recién nacidos vivos son fenotípicamente anormales debido a la mutación de un gen.

Se estima que entre un 80-85% de las enfermedades monogénicas son hereditarias, y el resto se producen por mutaciones *de novo*. En general estas alteraciones siguen patrones de herencia mendelianos (herencia autosómica dominante, autosómica recesiva o ligada al cromosoma X), aunque existen otros patrones de herencia como la mitocondrial.<sup>27,28</sup>

Recogeremos algunos ejemplos en la siguiente tabla:

Tabla 1. Ejemplos de enfermedades monogénicas según tipo de herencia y gen alterado.<sup>29,30</sup>

ENFERMEDAD	TIPO DE HERENCIA	GEN ALTERADO
Acondroplasia	<b>Autosómica Dominante / mutación <i>de novo</i></b>	FGFR3
Displasia tanatofórica		
Distrofia miotónica		DMPK
Enfermedad de Huntington		HTT
Fibrosis quística	<b>Autosómica recesiva</b>	CFTR
Poliquistosis renal		PKHD1
Hiperplasia adrenal congénita		CYP21A2
Hemofilia	<b>Ligada al cromosoma X</b>	F8, F9
β-talasemia		HBB
Anemia falciforme		
Hiperplasia adrenal congénita		CYP21A2
Distrofia muscular de Duchenne / Becker		DMD
MELAS	<b>Mitocondrial</b>	MT-TL1
LHON		MT-ND1,4, 4L, 6

MELAS: *Mitochondrial Encephalopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like episodes* (encefalomiotopía mitocondrial, acidosis láctica y episodios parecidos a accidente cerebrovascular);  
LHON: *Leber Hereditary Optic Neuropathy* (neuropatía óptica hereditaria de Leber).

### 1.2.2.2. Alteraciones cromosómicas o cromosomopatías

Se trata de trastornos producidos por la alteración de los cromosomas, tanto en su número como en su estructura externa o en la disposición de sus partes. Aproximadamente en el 8% de los embarazos y el 50% de los abortos espontáneos subyace una cromosomopatía.<sup>31</sup>

El desarrollo normal de un embrión humano depende del contenido genético y del equilibrio cromosómico, por lo que cualquier desequilibrio de número o estructura en los

procesos de mitosis o meiosis, dan lugar a patologías cromosómicas. El 95% están producidas por un accidente genético.<sup>32</sup>

La frecuencia con la que los defectos congénitos se deben a alteraciones cromosómicas depende de cada alteración específica, el número de anomalías y la identificación de varias anomalías combinadas. Las alteraciones cromosómicas durante la concepción pueden alcanzar una incidencia de hasta un 8,88%, reduciéndose hasta un 0,7% en el periodo neonatal. Esto es debido a la elevada tasa de pérdidas gestacionales espontáneas tempranas a causa de embriones afectados con cromosopatías, sobre todo aquellas más graves, como las trisomías 13 y 18 y las triploidías.<sup>33</sup>

#### 1.2.2.2.1. Alteraciones numéricas

El genoma humano es diploide, es decir tiene dos copias del genoma ( $2n$ ), cada una de ellas provenientes de células haploides ( $n$ ) de un progenitor (femenino y masculino). Existen dos tipos de cromosomas, los autosómicos (numerados del 1 al 22) y los sexuales (X e Y). El cariotipo humano normal, por tanto, estará compuesto por 44 cromosomas autosómicos y 2 sexuales, cuya combinación determina el sexo (46XX o 46XY).<sup>31</sup>

##### 1.2.2.2.1.1. Aneuploidías:

Alteración del número de cromosomas homólogos que forman el genotipo de un individuo.<sup>32,34</sup>

##### 1.2.2.2.1.2. Polidiploidías:

El conjunto del genoma humano está multiplicado, es decir hay una doble contribución de alguno o ambos de los progenitores. Así, encontraríamos células con triple ( $3n$ ) o cuádruple ( $4n$ ) carga genética, y así sucesivamente. Ninguna de estas alteraciones es compatible con la vida y dan lugar a abortos tempranos.<sup>32,34</sup>

#### 1.2.2.2.2. Alteraciones estructurales<sup>32,34</sup>

Cambios en la estructura de los cromosomas. Pueden darse los siguientes tipos de alteraciones:

- Deleción: pérdida del material genético
- Cromosoma en anillo: pérdida en los dos extremos del cromosoma
- Duplicación: segmento o misma secuencia de genes duplicada
- Inversión paracéntrica: rotación de  $180^\circ$  sobre sí mismo, colocándose de forma invertida
- Inversión pericéntrica: aquella que incluye al centrómero del cromosoma
- Translocación: intercambio de segmentos entre cromosomas
- Isocromosoma: el que resulta de la división del centrómero en forma horizontal en lugar de vertical
- Cromosoma dicéntrico: cada centrómero se sitúa en un polo diferente

- Variación en el número de copias (en inglés, *Copy Number Variations, CNV*): segmento de ADN mayor o igual a 1 kilobase (kb) cuyo número de copias es variable comparándolo con un genoma de referencia

#### 1.2.2.2.3. Cromosomopatías más frecuentes

Las cromosomopatías más frecuentes son las aneuploidías, y de ellas, las observadas con mayor frecuencia en el recién nacido son la trisomía 21 o Síndrome de Down, la trisomía 18 o Síndrome de Edwards y la trisomía 13 o síndrome de Patau, que describiremos a continuación.<sup>31</sup>

##### 1.2.2.2.3.1. Síndrome de Down o trisomía 21:

Se trata de la cromosomopatía que se da con mayor frecuencia en los recién nacidos vivos (1 de cada 660), siendo además la causa más frecuente de retraso mental debido a una alteración cromosómica. Su incidencia aumenta con la edad materna. No solo es la anomalía cromosómica más frecuente, sino también la más estudiada. La describió por primera vez Robert Langdon Down en 1866, aunque hasta 1959 no se estableció su etiología.<sup>31</sup>

Encontramos cuatro tipos de alteraciones cromosómicas que dan lugar al Síndrome de Down<sup>5,31</sup>:

- Trisomía 21 (47, +21): al cariotipo normal (46X o 46Y) se le suma un cromosoma 21 extra. Esta anomalía es causante del 95% de los casos de Síndrome de Down.
- Traslocación Robertsoniana que incluye el cromosoma 21 (3-4%)
- Moscaicismo (47, +21/46): en esta alteración existirán células con un componente genético normal y otras que tendrán un cromosoma 21 extra. Se trata de un error en la disfunción meiótica en el 95% de los casos. Constituye el 1-2%.
- Duplicación *cup(21q)*: la duplicación del brazo largo del cromosoma 21 es una forma rara de Síndrome de Down, cuya incidencia se estima en 1 de cada 45.000 nacidos vivos. También se han descrito otros polimorfismos extremadamente infrecuentes.

Existe un amplio abanico de manifestaciones clínicas, describiéndose más de 100 rasgos asociados al Síndrome de Down. Sin embargo, ningún fenotipo se considera constante o patognomónico. La severidad y variabilidad de los distintos fenotipos dependen en gran medida de la forma en que los genes se expresan en cada individuo.

Los rasgos dismórficos más frecuentes son: epicanthus, implantación baja de las orejas, pliegue palpebral inclinado, manos cortas y anchas con pliegue palmar único transversal ("pliegue simiesco"), incurvación del quinto dedo con hipoplasia de la falange media, macroglosia, puente nasal bajo, cuello corto, *sandal gap* o espacio aumentado entre el primer y segundo dedo del pie e hiperflexibilidad articular.<sup>28</sup>

La gran mayoría de las personas con Síndrome de Down presentan alteraciones cognitivas con retraso mental de rango variable.<sup>35</sup>

Respecto a las malformaciones orgánicas, la cardiopatía congénita se encuentra en el 40-50% de los individuos, siendo predominantes los defectos septales. La malformación cardiaca más frecuente es el defecto del canal auriculo-ventricular, sobre todo de la almohadilla endocárdica. Los que le siguen en frecuencia son la comunicación interauricular (CIA) e interventricular (CIV).<sup>36,37</sup> Un 5% de los casos posee una anomalía gastrointestinal como la atresia y la estenosis duodenal, atresia esofágica con fístula traqueoesofágica, enfermedad de Hirschprung o ano imperforado. La pérdida de audición también es frecuente, así como las otitis medias de repetición.<sup>38</sup> Las alteraciones de la visión que predominan son los defectos de refracción, estrabismo, nistagmo, cataratas y queratocono.<sup>39</sup> Tras su nacimiento suelen tener bajos percentiles de crecimiento, sin embargo, posteriormente se incrementan de forma brusca (habitualmente a los tres o cuatro años) hasta alcanzar rangos de obesidad infantil.<sup>38</sup>

Entre las características que podemos detectar ecográficamente en la vida intrauterina (además de las malformaciones cardíacas ya descritas) se encuentran principalmente el aumento de la translucencia nucal (75% de los fetos), la ausencia o hipoplasia de hueso nasal (60-70%) que puede asociarse o no a hipoplasia del maxilar inferior y anomalías en la onda de velocidad de flujo del ductus venoso (80%) e insuficiencia tricuspídea (60%).<sup>40</sup> Existen otros marcadores ecográficos sutiles, a veces transitorios, que pueden ser un signo inicial de una anomalía evolutiva de un aparato o sistema y estar presentes en fetos con cariotipo normal, aunque se presentan en mayor porcentaje en fetos con anomalías cromosómicas. En el feto con síndrome de Down son los siguientes: edema nucal, hipoplasia del hueso nasal, braquicefalia, foco hiperecogénico cardíaco, hiperecogenicidad intestinal, pielectasia leve, huesos largos cortos (fémur o húmero), clinodactilia, y en los últimos años se ha asociado la arteria subclavia derecha aberrante en un 19-36% de las T21.<sup>38</sup>

#### 1.2.2.2.3.2. Síndrome de Edwards o trisomía 18:

Se trata de la segunda cromosopatía autosómica más frecuente, encontrándose en 1 de cada 3.000 nacidos vivos aproximadamente. Es tres veces más frecuentes en sujetos femeninos que masculinos. También se incrementa con la edad materna, al encontrarse relacionado con un mecanismo de no disyunción meiótica. Lo describió Edwards por primera vez en 1960.<sup>41</sup>

El síndrome de Edwards puede ser debido a tres tipos de alteraciones genéticas<sup>5,42</sup>:

- Trisomía 18 (47, +18): corresponde al 90%.
- Traslocación del cromosoma 18
- Mosaicismo (47, +18/46)

Presenta múltiples malformaciones mayores como agenesia del cuerpo caloso, labio leporino, defectos cardíacos, hernia diafragmática, atresia esofágica, onfalocele, mielomeningocele, defectos renales, pies equinovaros, etc. Entre los marcadores ecográficos se encuentra el cráneo en fresa, quistes de plexos coroideos, megacisterna magna, micrognatia, edema nucal, arteria umbilical única, intestino hiperecogénico, huesos largos cortos (fémur) y dedos sobrepuestos.



Se encuentra asociado a una alta mortalidad intrauterina (89%), así como a un crecimiento intrauterino retardado precoz y severo. Los que llegan a nacer, suelen fallecer en las primeras semanas, alcanzando tan solo un 6% el primer año de vida.<sup>42</sup>

#### 1.2.2.2.3.3. Síndrome de Patau o trisomía 13<sup>5,42</sup>.

Esta cromosomopatía tiene una prevalencia de aproximadamente 1 de cada 12.000 recién nacidos vivos. Presenta una tasa elevada de abortos espontáneos (se estima que un 1% de los abortos espontáneos reconocidos son debidos a trisomía 13). Es el tercer síndrome cromosómico en frecuencia, pero con tasas de mortalidad intrauterina similares al síndrome de Edwards. Fue descrito por Patau *et al* en 1960.

Puede producirse por las siguientes anomalías cromosómicas:

- Trisomía 13 (47, +13)
- Traslocación Robertsoniana: 98-99% fallecen intraútero
- Mosaicismo (47, +13/46)

Las malformaciones más frecuentes son los defectos de la línea media y la holoprosencefalia. También presenta a menudo defectos cardíacos, renales y onfalocele. Existen otros marcadores ecográficos como la microcefalia y la polidactilia postaxial.

El 28% de los recién nacidos fallecen en la primera semana, el 44% al mes, el 74% a los cuatro meses y un 86% al año de vida.

## 1.3. CRIBADO DE DEFECTOS CONGÉNITOS

### 1.3.1. JUSTIFICACIÓN DE LA NECESIDAD DE MÉTODOS DE CRIBADO DE DEFECTOS CONGÉNITOS: EPIDEMIOLOGÍA

Los defectos congénitos cumplen todas las condiciones para ser patologías susceptibles de cribado:

En primer lugar, causan morbilidad y/o mortalidad significativa:

Como ya se introducía al principio de este trabajo las anomalías congénitas constituyen la primera causa de morbimortalidad infantil en países desarrollados, constituyendo el 20% de las muertes que ocurren en el primer año de vida. Un 2-4% de los recién nacidos se encuentran afectados por una malformación estructural mayor y se incrementa hasta un 7% en el primer año de vida.<sup>4</sup>

Además, son relativamente frecuentes en la población:

La red de vigilancia epidemiológica EUROCAT registra una prevalencia del 2,04% de malformaciones estructurales en el periodo 2011-2017. En España se ha reducido la tasa de defectos congénitos desde la década de los 80, de un 2,2% a un 1,1% debido al diagnóstico prenatal, y más concretamente a la instauración del cribado de cromosomopatías con CC1T y el cribado prenatal de malformaciones con la ecografía de las 20 semanas.<sup>43</sup>

Aproximadamente a partir de 1960 empiezan a crearse sistemas de registro para la vigilancia epidemiológica de las diferentes anomalías congénitas.<sup>44</sup> Esto nos ayudó a comprender mejor los aspectos clínico-epidemiológicos de los neonatos afectados y a establecer pautas de investigación de estas patologías con el fin de prevenirlas.

Los registros de vigilancia más importantes con los que contamos son:

- A nivel mundial:
  - o **ICBDSR** (*International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research*). Es una organización internacional afiliada a la WHO que se creó en 1974 en Helsinki. En su última publicación de 2014 registra la prevalencia de los treinta países que incluye, entre ellos España.<sup>45</sup>

En la Tabla 2 podemos observar los datos recogidos por esta institución desde 1980 hasta 2012:

Tabla 2. Prevalencia de defectos congénitos en España desde 1980 hasta 2012 (ICBDSR).<sup>45</sup>

Defectos congénitos	Número de casos		Tasas*10.000
	LB	SB	Tasa global
Anencefalia	0	1	0,12
Espina bífida	2	0	0,24
Encefalocele	1	0	0,12
Microcefalia	9	0	1,07
Holoprosencefalia	0	0	0,00
Hidrocefalia	10	0	1,19
Anoftalmos	0	0	0,00
Microftalmos	6	0	0,71
Anotia	0	0	0,00
Microtia	8	0	0,95
Transposición de grandes vasos	6	0	0,71
Tetralogía de Fallot	5	0	0,59
Síndrome de corazón izquierdo hipoplásico	3	0	0,36
Coartación aórtica	0	0	0,00
Atresia de coanas bilateral	1	0	0,12
Paladar izquierdo sin labio izquierdo	25	0	2,97
Labio izquierdo sin paladar izquierdo	23	1	2,85
Atresia/estenosis esofágica con o sin fístula	13	0	1,54
Atresia/estenosis duodenal	3	0	0,36
Atresia/estenosis anorrectal	6	0	0,71
Ausencia de descenso testicular ( $\geq 36$ semanas de gestación)	14	0	1,66
Hipospadias	10	0	1,19
Epispadias	1	0	0,12
Sexo indeterminado	1	0	0,12
Agenesia renal	2	0	0,24
Poliquistosis renal	16	0	1,90
Extrofia vesical	0	0	0,00
Polidactilia preaxial	15	0	1,78
Defectos de reducción total de extremidades	31	0	3,68
-Transverso	9	0	1,07
-Preaxial	2	0	0,24
-Postaxial	0	0	0,00
-Intercalar	3	0	0,36
-Mixtos	9	0	1,07
-Inespecíficos	8	0	0,95
Hernia diafragmática	4	0	0,47
Onfalocele	5	0	0,59
Gastrosquisis	5	0	0,59
Secuencian de Prune-Belly	2	0	0,24
Trisomía 13	1	0	0,12
Trisomía 18	2	1	0,36
Trisomía 21	52	1	6,29
<20 años	0	0	0,00
20-24 años	2	0	3,11
25-29 años	6	0	2,73
30-34 años	8	0	2,46
35-39 años	20	0	11,30
40-44 años	13	0	34,91
$\geq 45$ años	1	0	91,74
Edad materna desconocida	2	1	---

LB: Live Births (nacimientos) = 83.963; SB: Stillbirths (mortinatos) = 272; Nacimientos totales = 84.235

- A nivel europeo:
  - o **EUROCAT** (*European Surveillance of Congenital Anomalies*). Se constituyó en 1979 y actualmente engloba un total de 41 miembros en 21 países europeos, lo que supone el 31% de los nacimientos en Europa. Abarca más de un millón y medio de nacimientos anuales, entre los cuales se cuantifican los casos de defectos congénitos desde 1980 (incluyendo además de los recién nacidos vivos, los recién nacidos muertos y las interrupciones voluntarias del embarazo con un diagnóstico prenatal).<sup>44</sup>
- A nivel estatal:
  - o **ECEMC** (*Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas*): Se trata de un programa de investigación clínica y epidemiológica continua sobre los recién nacidos afectados por anomalías congénitas que recoge datos desde 1980. El último boletín, publicado en 2018 ofrece la siguiente información:

Tabla 3. Distribución por tipo de presentación clínica de los recién nacidos con defectos congénitos registrados en el ECEM en su boletín de 2018 (periodo 1980-2016).<sup>46</sup>

Grupos	Número	%
Aislados	31.708	72,44
Polimalformados	6.640	15,17
Síndromes	5.423	12,39
<b>Total recién nacidos con defectos congénitos</b>	<b>43.771</b>	<b>100</b>

- o Algunos que aparecieron más tarde: REDCB (*Registro de Defectos Congénitos de la Ciudad de Barcelona*)<sup>47</sup>, el *Registro de Malformaciones Congénitas del País Vasco*<sup>48</sup> y el *Registro de Malformaciones Congénitas del Principado de Asturias*<sup>49</sup>.

Y en cuanto al resto de características referentes al cribado de defectos congénitos (ser un método de cribado válido, aceptable para la población, de fácil acceso, aplicación simple y coste proporcional al beneficio obtenido, aceptable en términos de sensibilidad y especificidad y con posibilidades diagnósticas y terapéuticas cuando el cribado es positivo) se detallarán a continuación, pero para ello debemos crear un contexto histórico de la evolución que se ha producido hasta llegar al método de cribado actual.

### 1.3.2. CRONOLOGÍA EN LA EVOLUCIÓN DEL CRIBADO DE DEFECTOS CONGÉNITOS

#### 1.3.2.1. Cribado por edad:

El primer método de cribado de cromosopatías (principalmente T21) se implementó al inicio de la década de los 70, y utilizaba únicamente la edad materna, basándose en el incremento de casos de T21 al aumentar la misma. Se conocía que el riesgo de T21 en una gestante de 35 años a la semana 12 de gestación era de 1/250,

1/600 para la T18 y 1/1800 para la T13. Para el Síndrome de Turner (45X0) y las triploidías no se ha observado un incremento de riesgo con la edad.

En esta época, aproximadamente el 5% de las gestantes tenían más de 35 años, y en este grupo se encontraban el 30% de las trisomías 21. Por este motivo se consideró poner el punto de corte del cribado de “alto riesgo” a los 35 años, asociándose a una tasa de detección del 30% y una tasa de falsos positivos del 5%.<sup>50</sup>

Sin embargo, en los años posteriores, la edad de embarazo ha ido aumentando (hoy aproximadamente un 20% de las gestantes son mayores de 35 años y en este grupo se encuentra el 50% de los fetos con síndrome de Down), por lo que ha aumentado la tasa de falsos positivos de este método, siendo necesario buscar métodos de cribado más fiables.<sup>5,33</sup>

#### 1.3.2.2. Cribado bioquímico en el segundo trimestre de gestación<sup>6,7</sup>:

Posteriormente, se descubrió que determinados marcadores serológicos se relacionaban con la presencia de cromosomopatías.

La alfa fetoproteína (AFP) fue el primer marcador que se investigó, observándose una disminución de su concentración en sangre materna en los fetos con T21. A continuación se introdujo la gonadotropina coriónica humana (hCG), encontrándose elevada en gestantes con Síndrome de Down, creándose el “doble test”.

A continuación, a estos dos marcadores, se les sumó el estriol no conjugado (uE3), disminuido en el suero de madres de fetos afectados, pasándose a denominar “triple test del segundo trimestre”. Este test consta de una tasa de detección del 60% y una tasa de falsos positivos del 5%.

Más recientemente se propuso la adición de un cuarto marcador, la inhibina A, que permitió elevar la tasa de detección de este “cuádruple test” hasta un 75%, manteniendo la misma tasa de falsos positivos.

El cribado del segundo trimestre supuso dos retos principales. En primer lugar, el desarrollo de un algoritmo de cálculo del riesgo que asociara los resultados de los distintos marcadores entre sí y los de estos con el riesgo asociado a la edad materna. Por otra parte, la elección de un “punto de corte” que permita seleccionar aquellas gestantes de alto riesgo de cromosomopatías que sean susceptibles de someterse a una técnica diagnóstica invasiva.

Como método de cálculo se introdujo un modelo multivariable gaussiano de los múltiplos de la mediana, y como punto de corte se estableció en 1/250-300 (el riesgo de cromosomopatías que correspondería a una mujer de 35 años en el segundo trimestre de la gestación).

#### 1.3.2.3. Sonograma genético: cribado ecográfico de cromosomopatías:

En la evaluación ecográfica del segundo trimestre de gestación, se han identificado una serie de “anomalías estructurales mayores” y “marcadores ecográficos blandos” asociados a la presencia de cromosomopatías. Los “marcadores blandos o *soft markers*” son hallazgos ecográficos considerados variaciones de la normalidad. Por sí mismos no tienen un significado clínicopatológico, sin embargo, la asociación de varios de ellos tiene un aumento del riesgo de cromosomopatías, por tanto, el hallazgo de uno de ellos

debe ponernos sobre aviso para buscar otros marcadores asociados.<sup>51-55</sup> En la Tabla 4 podemos observar las anomalías estructurales y marcadores blandos que podemos encontrar en las “trisomías clásicas”.

Tabla 4. Anomalías estructurales (malformaciones) mayores y marcadores blandos presentes en las cromosomopatías más frecuentes (trisomías 21, 18 y 13).<sup>50</sup>

<b>Cromosomopatía</b>	<b>Malformaciones mayores</b>	<b>Marcadores blandos</b>
<b>Trisomía 21</b>	Anomalías cardíacas	Translucencia nugal
	Atresia duodenal	Ventriculomegalia
	Braquicefalia	Huesos largos cortos
	Hidrocefalia	Hipoplasia nasal
	Clinodactilia	Intestino hiperecogénico
	Higroma e hidropesía	Pielectasia
		Pie en sandalia
<b>Trisomía 18</b>	Anomalías cardíacas	Quiste plexo coroideo
	Atresia esofágica	Cisterna magna aumentada
	Cráneo en fresa	Ventriculomegalia
	Hernia diafragmática	Huesos largos cortos
	Onfalocele	Hipoplasia nasal
	Mielomeningocele	Intestino hiperecogénico
	Agenesia cuerpo calloso	Pielectasia
	Fisura facial	Arteria umbilical única
	Talipes	
	Pies en mecedora	
	Aplasia radial	
	Sobreposición de dedos	
	Higroma e hidropesía	
<b>Trisomía 13</b>	Anomalías cardíacas	Foco ecogénico cardíaco
	Hernia diafragmática	Cisterna magna aumentada
	Onfalocele	Ventriculomegalia
	Holoprosencefalia	Pielectasia
	Fisura facial	Arteria umbilical única
	Ciclopedia	
	Agenesia cuerpo calloso	
	Pies en mecedora	
	Polidactilia	
	Talipes	
	Higroma e hidropesía	

Algunos autores han presentado modelos para correlacionar los distintos marcadores con el riesgo de cromosomopatías. *Nicolaides* propone su uso aplicando la razón de probabilidad positiva o negativa en función de la presencia o no de estos marcadores recalculando de esta manera el riesgo individual para cada paciente.

Tabla 5. Razones de verosimilitud (*likelihood ratio, LR*) de los marcadores blandos asociados al Síndrome de Down.<sup>55</sup>

	LR +	LR -	LR para marcador aislado
<b>Malformación mayor</b>	32,9	0,79	5,2
<b>Edema nual</b>	23,30	0,80	3,79
<b>Intestino hiperecogénico</b>	11,4	0,9	1,65
<b>Húmero corto</b>	4,81	0,74	0,78
<b>Fémur corto</b>	3,72	0,80	0,61
<b>Foco ecogénico cardíaco</b>	5,83	0,80	0,95
<b>Pielectasia</b>	7,63	0,92	1,08
<b>Ventriculomegalia</b>	27,52	0,94	3,81
<b>Hueso nasal</b>	23,27	0,46	6,58
<b>ARSA</b>	21,48	0,71	3,94

FOCI: foco ecogénico cardíaco; ARSA: *aberrant right subclavian artery* (arteria subclavia derecha aberrante)

A mediados de los 90, la evaluación del riesgo de cromosomopatía mediante la asociación de estos marcadores por evaluación ecográfica en el segundo trimestre se denominó “sonograma genético”. En dicha década se ha utilizado como método de cribado de cromosomopatías en gestantes jóvenes o como alternativa a las técnicas invasivas en gestantes mayores de 35 años con alto riesgo (ajustando el riesgo individual en función de los resultados del sonograma). Se estima una sensibilidad para T21 entre el 65-75% y una tasa de falsos positivos del 4-21%. Actualmente ha caído en desuso tras la inclusión de otros métodos de cribado con resultados excelentes como el CC1T. Algunos autores (*Benacerraf, Myberg, Bromley y Smith-Binchmam*, entre otros) coinciden en que una ecografía morfológica normal reduce el riesgo de cromosomopatías en un 60-80% y proponen utilizarlo para disminuir el número de amniocentesis.

#### 1.3.2.4. Cribado combinado de primer trimestre o test combinado:

En 1985, fue descrito el “marcador blando” del pliegue nual engrosado, por el grupo de *Benacerraf*, quienes mostraron que en dos de cada seis fetos con cromosomopatía media  $\geq 6$  mm. Posteriormente, *Nicolaides* describió una asociación similar encontrada durante el primer trimestre, y en esta etapa lo denominó “Translucencia Nual” (TN). Entre las semanas 11 y 13+6 el sistema linfático está en desarrollo y la resistencia de la circulación placentaria es alta, lo que permite delimitar esta colección del líquido cuantificable ecográficamente en la zona nual. La asociación de un incremento en la TN a las cromosomopatías, unida a la determinación de marcadores bioquímicos también asociados, facilitó el cambio de cromosomopatías del segundo al primer trimestre.<sup>33</sup>

La demostración de que la medida de la TN es independiente de la PAPP-A (proteína A plasmática asociada al embarazo) y la  $\beta$ -hCG (fracción libre de la beta gonadotropina coriónica humana) tanto en fetos cromosómicamente normales como en fetos con cromosomopatías, hizo posible la asociación de estos marcadores bioquímicos con el marcador ecográfico en un solo algoritmo de cálculo. El CC1T se convirtió en el *gold standard* en el cribado de cromosomopatías al ser de aplicación sencilla y realizarse precozmente en la gestación y sobre todo presentar una elevada sensibilidad (85% para una TPF del 4,3%), como demostraron dos grandes estudios multicéntricos (SURUSS: *Serum Urine and Ultrasound Screening Study* y FASTER: *First and Second Trimestre*

*Evaluation of Risk*). Esta decisión fue respaldada por las diferentes guías clínicas y principales Sociedades Científicas.<sup>6,7</sup>

#### 1.3.2.5. Test Prenatal No Invasivo (TPNI)<sup>9</sup>:

La secuenciación completa del genoma humano en el año 2001 y el gran desarrollo tecnológico en campo del diagnóstico prenatal en los últimos años permitieron el desarrollo de uno de los mayores avances en este campo: el test de ADN libre circulante (ADN-lc) para el cribado de aneuploidías, también llamado Test Prenatal No Invasivo (TPNI), disponible desde 2011.

Alrededor del 10% del total de ADN libre circulante en la sangre materna es de origen placentario. Los nuevos métodos de análisis genético han permitido cuantificar la contribución fetal y la distribución de su ADN en la sangre materna, lo que hace posible estimar la probabilidad de que el feto posea una determinada alteración de su carga genética.

Emplearemos un capítulo completo para la descripción de este innovador método de cribado de defectos congénitos.

En la Tabla 6 encontramos descritas las principales características de los métodos de cribado nombrados.

Tabla 6. Métodos de cribado de cromosomopatías. Nomenclatura, componentes y tasa de detección de trisomía 21 para una tasa de falsos positivos del 5%.<sup>10</sup>

Nomenclatura de los métodos de cribado	Componentes del método de cribado	Tasa de detección de trisomía 21
<b>EDAD MATERNA</b>	≥ 35 años	30%
<b>CRIBADOS DE SEGUNDO TRIMESTRE</b>		
<b>-Cribado bioquímico 2T</b>		
<b>Doble test</b>	EM, AFP, fβ-hCG o hCG	55-60%
<b>Triple test</b>	EM, AFP, fβ-hCG o hCG, uE3	60-65%
<b>Cuádruple test</b>	EM, AFP, fβ-hCG o hCG, uE3, inib A	70-75%
<b>-Cribado ecográfico 2T</b>		
<b>Sonograma genético</b>	Marcadores ecográficos de cromosomopatías	75% (10-15%)
<b>CRIBADOS DE PRIMER TRIMESTRE</b>		
<b>Cribado ecográfico 1T</b>	EM, TN	60-65%
<b>Cribado bioquímico 1T</b>	EM, fβ-hCG, PAPP-A	60-70%
<b>Cribado combinado 1T</b>	EM, fβ-hCG, PAPP-A, TN	85-90%
<b>ASOCIACIÓN CRIBADOS PRIMER Y SEGUNDO TRIMESTRE</b>		
<b>Test integrado</b>	EM, PAPP-A (1T), cuádruple test, TN	90-94%
<b>Test integrado serológico</b>	EM, PAPP-A (1T), cuádruple test	85-90%
<b>TEST PRENATAL NO INVASIVO</b>	Análisis de ADN-lc fetal en sangre materna	>99% (0,1%)

EM: edad materna; AFP: alfa-fetoproteína; PAPP-A: proteína A plasmática asociada al embarazo; fβ-hCG: fracción libre de la beta gonadotropina coriónica humana; hCG: gonadotropina coriónica humana; 1T: primer trimestre; 2T: segundo trimestre; uE3: estriol no conjugado; inibA: inhibina A; TN: translucencia nucal



## 1.4. TEST COMBINADO O CRIBADO COMBINADO DE PRIMER TRIMESTRE (CC1T)

Realizar el cribado de cromosomopatías en el primer trimestre (entre la semana 9 y 13+6 de gestación) conlleva una serie de ventajas. La evaluación temprana del riesgo y el diagnóstico precoz de anomalías fetales permiten al profesional ofrecer todas las opciones al alcance de la pareja, y a esta el máximo tiempo para la toma de decisiones dentro de una situación de privacidad (antes de que el embarazo sea evidente), y en caso de elegirlo, los métodos de interrupción del embarazo son más seguros a esta edad gestacional.<sup>56</sup>

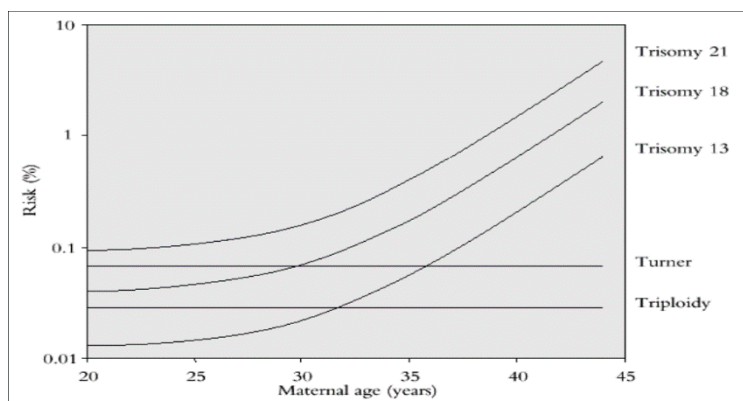
### 1.4.1. COMPONENTES DEL CRIBADO COMBINADO DE PRIMER TRIMESTRE

#### 1.4.1.1. Edad materna

Como ya se ha adelantado, el riesgo de muchas aneuploidías como los Síndromes de Down, Patau y Edwards aumenta al hacerlo la edad materna. Por este motivo, es evidente que, en la evaluación del riesgo de defectos congénitos, la edad sigue siendo un factor fundamental a incluir en los algoritmos de cálculo.

Sin embargo, el riesgo de otras cromosomopatías no tiene relación con esta característica de la gestante, tales como las asociadas a los cromosomas sexuales (Síndrome de Turner, 47XXXm 47XXY y 47XYY) o las triploidías. Por tanto, estas entidades no son susceptibles de cribado por edad.<sup>33</sup>

Gráfica 1. Riesgo de cromosomopatías en relación a la edad materna.<sup>5</sup>



Desde que comenzó a estudiarse la influencia de la edad materna en la aparición de cromosomopatías, la edad media a la que una mujer queda gestante se ha visto incrementada. Actualmente el porcentaje de mujeres mayores de 35 años ronda el 20%, incluyéndose así en este grupo el 50% de los fetos con síndrome de Down.<sup>33</sup>

#### 1.4.1.2. Marcadores bioquímicos

Las gestantes con fetos portadores de algunas aneuploidías presentan niveles alterados de diversos marcadores bioquímicos, como la PAPP-A y la  $\beta$ -hCG.

Al calcular el riesgo para el cribado de cromosomopatías, hay que tener en cuenta que algunas características de la gestante como la etnia y el tabaquismo, o del embarazo en cuestión (edad gestacional, gestación simple o múltiple, etc.) modifican los niveles sanguíneos de estos marcadores. Para incluir los marcadores bioquímicos en el cribado de aneuploidías, es necesario convertir la concentración de cada hormona en un múltiplo de la mediana (MoM) específico para una gestación euploide de la misma edad gestacional y características (peso de la gestante, presencia o ausencia de hábito tabáquico, número de fetos y método de concepción).<sup>33,57</sup>

#### 1.4.1.2.1. Proteína plasmática A asociada al embarazo (PAPP-A)<sup>57</sup>:

Se trata de una glicoproteína de alto peso molecular sintetizada por el trofoblasto. Actúa sobre el complejo IGFBP-4 a modo de proteasa, liberando factores de crecimiento necesarios para que se desarrolle la placenta. Sus niveles en sangre aumentan progresivamente a lo largo de toda la gestación. Algunas situaciones como el peso elevado, hábito tabáquico o técnicas de reproducción disminuyen su concentración, y otras como la raza negra, asiática o magrebí, las gestaciones múltiples y el bajo peso materno, la aumentan. En la trisomía 12 y en el síndrome de Turner, la concentración de PAPP-A se encuentra reducida a la mitad (0,5 MoM) y en las trisomías 13 y 18 todavía más (0,3 MoM). También observamos alteraciones en este marcador en las triploidías (0,7 MoM para la diándrica y 0,1 MoM para la digínica).

#### 1.4.1.2.2. Fracción libre de la cadena beta de la gonadotropina coriónica humana (fβ-hCG)<sup>58</sup>:

También es una glicoproteína, constituida por dos subunidades ( $\alpha$  y  $\beta$ ). La sintetiza inicialmente el sincitiotrofoblasto (momento en el que es importante para la producción de progesterona por el cuerpo lúteo) y posteriormente la placenta. También es necesaria para la angiogénesis de las arterias espirales y la fusión del citotrofoblasto al sincitiotrofoblasto. Sus niveles en sangre aumentan progresivamente a lo largo del inicio de la gestación, hasta las semanas 8-9, momento en el que alcanzan su concentración máxima, para posteriormente descender en el segundo trimestre. La paridad, el tabaquismo, la diabetes o el elevado peso materno favorecen concentraciones más bajas de fβ-hCG, mientras que el bajo peso, gemelaridad o las técnicas de reproducción asistida la elevan. En la trisomía 21 suele duplicarse (2 MoM), mientras que en las alteraciones de los cromosomas sexuales como el 45X0, se mantienen en niveles similares a la normalidad (1,2 MoM) y disminuyen en las trisomías 13 y 18 (0,2 MoM). En la triploidía diándrica se eleva sustancialmente (9 MoM) y en la digínica disminuye (0,2 MoM).

La determinación de estos marcadores bioquímicos puede realizarse entre las semanas 9 y 13+6 para poder evaluarse. La mayor diferencia entre los niveles normales de PAPP-A con los fetos aneuploides se da a las 11 semanas, mientras que en el caso de la fβ-hCG, esto ocurre a la semana 13. Sin embargo, como la diferencia entre concentraciones es sustancialmente mayor en el caso de la PAPP-A, el momento óptimo para realizar el cribado bioquímico obteniendo el mayor rendimiento de la prueba es entre las 9 y 11 semanas de gestación.

#### 1.4.1.3. Marcador ecográfico: la translucencia nucal

La translucencia nucal (TN) se define como una colección líquida situada entre la piel y el tejido blando subcutáneo a nivel cervical. Se identifica por ecografía como un espacio econegativo.

Se considera una TN aumentada cuando su medida es mayor al percentil 95 para la longitud craneocaudal (*Crown Rump Length, CRL*) en el momento de la medición.<sup>59</sup>

*Fisiopatología del aumento de TN:* se desconoce el mecanismo fisiopatológico que da lugar al aumento de la translucencia nucal, así como la causa de su desaparición a partir de la semana 14 (es poco frecuente la progresión a higroma quístico). En el caso de los fetos euploides (hasta un 4,4%), puede que se produzca este edema transitorio como mecanismo de descompresión para proteger el encéfalo en un estado de hiperperfusión debido al aumento del volumen circulatorio fetal y al crecimiento de la placenta cuando el sistema linfático todavía no se ha desarrollado. Esto se ve favorecido por la laxitud de la piel nucal a esta edad gestacional, la posición fetal y la osificación incompleta. En los fetos afectados por aneuploidías, se piensa que alteraciones de la matriz extracelular nucal (ya que algunas de sus proteínas están codificadas en los cromosomas 21, 18 y 13) favorece este acúmulo de líquido extracelular. El 75-80% de los fetos con Síndrome de Down presentan una TN por encima del p95. También podemos encontrar este hallazgo en anomalías genéticas asociadas a alteraciones del colágeno (acondrogénesis tipo II), de su metabolismo (Síndrome de Zellweger) o de los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (acondroplasia o displasia tanatofórica).<sup>60</sup>

También podría explicarse el aumento de líquido extracelular en el pliegue nucal por los siguientes mecanismos: anomalías del sistema linfático (hipoplasia/aplasia de capilares linfáticos de la epidermis), situaciones de congestión venosa a nivel del cuello y/o cabeza, anemia fetal o hipoproteinemia en fetos con síndrome nefrótico congénito.<sup>61</sup>

Aquellos fetos no afectados por cromosomopatías, es decir, euploides, con la TN aumentada tienen un mayor riesgo de muerte fetal, malformaciones estructurales mayores (hasta un 15%), retraso en el desarrollo psicomotor, enfermedades genéticas y síndrome de transfusión feto-fetal en el caso de gestación gemelar monocorial.<sup>62-64</sup>

#### 1.4.1.4. Otros marcadores ecográficos

Existen otra serie de hallazgos en la ecografía de primer trimestre que aparecen con más frecuencia en los fetos afectados por cromosomopatías. Al estudiarse para mejorar la tasa diagnóstica de aneuploidías, se ha demostrado que algunos de ellos tienen una elevada especificidad, pero ninguno ha superado a la translucencia nucal.<sup>61</sup>

##### 1.4.1.4.1. Hueso nasal:

En el 60-70% de los fetos con T21 se encuentra ausente, así como en el 50% de los fetos con T18 y el 30% de aquellos con T13. En los fetos euploides sólo falta en <1% (sin embargo, por razas, observamos que está ausente en el 5% de los fetos asiáticos y hasta en el 10% de los de raza negra) y varía con la edad gestacional. Este hallazgo no depende de la edad materna.<sup>65</sup>

#### 1.4.1.4.2. Ductus venoso:

La inversión de la onda “a” en el flujo del ductus venoso (*shunt* que redirige el 80% de la sangre procedente de la placenta, es decir, oxigenada, directamente a la circulación coronaria y de la aurícula izquierda a través de la vena umbilical) puede encontrarse en la gran mayoría de los fetos aneuploides (>80%) y en un escaso número de fetos euploides (5%). Además, es un marcador precoz de defectos cardíacos.<sup>66</sup>

#### 1.4.1.4.3. Regurgitación tricuspídea:

Se considerará positiva cuando la encontremos en al menos la mitad de la duración de la sístole con una velocidad >60 cm/seg. Menos del 5% de los fetos euploides presentan este signo, mientras que lo hallamos en el 65% de los aneuploides. También es un marcador precoz de cardiopatías.<sup>67</sup>

### 1.4.2. MÉTODOS DE IMPLEMENTACIÓN

El tipo de cribado que constituye el CC1T permite que se realice en uno o dos tiempos.

En el cribado combinado en un tiempo realizaríamos la ecografía y la determinación analítica de la PAPP-A y la fβ-hCG en una única visita en la semana 12. Esto permite informar del resultado y asesorar a la gestante en la misma visita que se realiza el cribado, y fue propuesto por la *Fetal Medicine Foundation*.<sup>68</sup>

El cribado combinado en dos tiempos conllevaría la extracción de la analítica para la determinación de marcadores bioquímicos entre las 8-13 semanas (de forma óptima entre las semanas 9 y 11 como se ha explicado previamente), y posteriormente la medición de la TN entre las 11-13+6 semanas. Esta estrategia aumenta la cobertura a cifras mayores al 90% según algunas series (Nicolaidis), mientras que existen estudios que reflejan la dificultad de llegar a una cobertura mayor al 70-80%, manteniendo una adecuada sensibilidad.<sup>69</sup>

En aquellas gestantes en las que no se llegue a realizar el CC1T debido a una captación tardía del embarazo, se propone actualmente el test cuádruple (cribado del segundo trimestre) de rescate, para mantener la cobertura por encima del 75%.<sup>70</sup>

Sin embargo, el cribado combinado no se trata más que de una estrategia de *screening*. Para el diagnóstico de las anomalías cromosómicas y las enfermedades monogénicas es necesario recurrir a técnicas invasivas que nos permitan obtener células fetales o placentarias que puedan ser analizadas en el laboratorio.<sup>61</sup>

Pese a que la aplicación del CC1T ha reducido considerablemente la necesidad de técnicas invasivas, no debemos olvidar que estas no están exentas de riesgos. Por este motivo es importante reducir al máximo el número de gestantes al que sometemos a una técnica invasiva, sin comprometer la tasa diagnóstica de cromosomopatías.<sup>71</sup>

Al encontrarse ya implementado un cribado combinado de forma adecuada como método de cribado de cromosomopatías, nuestra meta debe ser mejorar sus resultados, lo cual podemos conseguir de dos formas: incrementando su tasa de detección al mejorar su sensibilidad o disminuyendo la tasa de falsos positivos, y así someter a menos gestantes a una técnica invasiva.<sup>50</sup>

Existen diferentes fórmulas propuestas y diversos autores que las han desarrollado y promocionado:

Tabla 7. Modelos propuestos por diferentes autores para mejorar el cribado de trisomía 21.<sup>50</sup>

Test	Descripción	Autores	Sensibilidad T21
<b>INTEGRADO</b>	Asociación de marcadores de primer y segundo trimestre. Se realiza a todas las gestantes y no se les da el resultado hasta finalizar la integración de los datos.		
<b>-Test integrado</b>	EM, PAPP-A, TN(1T) y cuádruple test	Wald, 1999	90-94% (TFP 5%)
<b>-Test integrado serológico</b>	EM, PAPP-A, TN(1T) y cuádruple test	Palomaki, 2006	85-90% (TFP 5%)
<b>-Test combinado ampliado</b>	TC + marcadores ecográficos del 1T (HN, DV, RT) + frecuencia cardíaca	Santorium, 2017	90% (TFP 4%)
<b>SECUENCIAL</b>	Se aplica un primer test (test combinado) y sobre el total de los casos negativos, se les aplica un segundo método de cribado	Rozberg, 2006 Warsz, 2007 Benn, 2002, 2008 Krantz, 2007 Aagaard-Tillery, 2009 Benacerraf, 2010 Sainz, 2012	93-97% (TFP 5%)
<b>CONTINGENTE</b>	Se realiza un primer test (CC1T), identificación de un grupo de riesgo intermedio al que se le aplica un segundo método de cribado		
	TC + marcadores ecográficos del 1T (HN, DV, RT)	Nicolaidis, 2005 Kagan, 2009 Sahota, 2010 Borell, 2011	91,7-92% (TFP 2,1-2,7%) 96% (TFP 3%) 84,4-87,5% (TFP 2,5-5%) 75-79% (TFP 1,3-1,8%)
	TC + inhibina A	Ramos, 2008	77,4-90,6% (TFP 1-5%)
	TN, HN, DV, RT y bioquímico (1T)	Kagan, 2010	96% (TFP 2,6%)
	TC + ECO morfológica, LF	Salomon, 2010	88,4% (TFP 3%)
	TC + nuevos marcadores bioquímicos 1T (ADAM12, total hCG, PP13 y PIGF)	Koster, 2011	77% (TFP 5%)
	TC + ADN-1c (1/2500)	Gil, 2016	97,5% (TFP 3%)
	TC + marcadores ecográficos del 1T (HN, DV y RT) + ADN-1c	Neocleous, 2017	94,2% (TFP 1,2%)

EM: edad materna; AFP: alfa-fetoproteína; PAPP-A: proteína A plasmática asociada al embarazo;  $\beta$ -hCG: fracción libre de la beta gonadotropina coriónica humana; hCG: gonadotropina coriónica humana; 1T: primer trimestre; 2T: segundo trimestre; uE3: estriol no conjugado; inibA: inhibina A; TN: translucencia nucal; HN: hueso nasal; DV: ductus venoso; RT: regurgitación tricuspídea; TC: test combinado; LF: longitud del fémur; ADAM12: metaloproteasa 12; PP13: proteína plasmática 13; PIGF: factor de crecimiento placentario; ADN-1c: ADN libre circulante

#### 1.4.3. CRIBADO COMBINADO EN LA GESTACIÓN MÚLTIPLE<sup>61,72</sup>

El CC1T en las gestaciones de más de un feto conlleva una serie de particularidades. Por ejemplo, dada la baja prevalencia de los embarazos triples o de más fetos, no se disponen de valores poblacionales fiables como para informar del riesgo con seguridad.

En las gestaciones gemelares, que constituyen el 1-2% del total de los embarazos, es importante determinar la cigosidad, ya que esto condiciona el cálculo del riesgo, dado que las gestaciones monocigóticas al compartir cariotipo, el riesgo de cromosomopatías es el mismo para ambos fetos. Dado que no hay forma de establecer la cigosidad ecográficamente, se asume que todas las gestaciones monocoriales son monocigóticas y que las bicoriales son dicigóticas (esto es cierto en el 90% de los casos). De esta forma, en las gestaciones monocoriales el riesgo de cromosomopatía se calcula para la gestación en conjunto (aunque en cada feto se mide de forma individual su TN para su

respectivo CRL y posteriormente se calcula la media mediante un algoritmo específico) y en las bicoriales se estudia el riesgo por separado (pudiendo realizarse desde que el CRL del feto de mayor tamaño se encuentre entre 45 y 84 mm). Por este motivo, es de gran importancia determinar la corionicidad en la primera ecografía para realizar un CC1T correcto.

También es importante reseñar, que muchas de las gestaciones gemelares son productos de técnicas de reproducción asistida. Sabiendo que esto es un factor que modifica los valores de los marcadores bioquímicos, es fundamental tenerlo en cuenta a la hora de realizar el cálculo de riesgo y aplicar los marcadores de corrección oportunos.

## 1.5. DIAGNÓSTICO DE CROMOSOMOPATÍAS: TÉCNICAS INVASIVAS

Hasta ahora hemos descrito únicamente métodos de cribado de cromosomopatías, es decir, distintas herramientas que definen el riesgo de una gestante de que su feto esté afecto por una anomalía congénita. Sin embargo, para el diagnóstico definitivo, necesitamos obtener material genético (bien de células fetales o placentarias) que pueda ser estudiado en el laboratorio. Estas técnicas deberían ser capaces de detectar los tres grandes grupos de defectos congénitos: anomalías cromosómicas, enfermedades monogénicas y malformaciones anatómicas.

Existen dos formas principales de obtener material genético del feto a estudio, en su etapa prenatal: la AMNIOCENTESIS y la BIOPSIA CORIAL.

### 1.5.1. AMNIOCENTESIS

Se trata de una técnica diagnóstica que consiste en la aspiración de líquido amniótico de la cavidad uterina (saco amniótico) utilizando una aguja de punción transabdominal.<sup>73</sup> Debido a que el líquido amniótico presenta componente genético fetal en forma de orina, secreciones, células de exfoliación y trasudados, podemos obtener células fetales a las que realizar el estudio genético. El líquido amniótico contiene más de 200.000 células/ml en la semana 16 de gestación.<sup>74</sup>

Tras su obtención, el líquido amniótico se siembra durante 10-21 días, hasta que se desarrollan suficientes fibroblastos fetales que permitan realizar el cariotipo. Existen otras técnicas más rápidas como la PCR o el FISH que permiten diagnosticar las aneuploidías más comunes.<sup>71</sup>

Su precisión diagnóstica se encuentra por encima del 99%, siendo raros los fracasos de cultivo (<1%). La tasa de mosaicismos es menor que para la biopsia corial (0,25%), y de encontrarlo, un 70% se confirma en el feto.<sup>75</sup>

Es la técnica invasiva más frecuentemente utilizada en medicina fetal, sin embargo, al no poder realizarse antes de la semana 15 (ya que por debajo de esta edad gestacional se asocian mayores tasas de complicaciones, pérdidas fetales y fallos de cultivo), esto hace que se retrase el diagnóstico y, por tanto, la toma de decisiones.<sup>10</sup>

### 1.5.2. BIOPSIA DE VELLOSIDADES CORIALES

Es un procedimiento por el cual se obtienen pequeños fragmentos de vellosidades coriales (por vía transabdominal o transcervical, dependiendo de la localización placentaria y la posición del útero), de los cuales obtener material genético para diagnóstico prenatal.<sup>76,77</sup> Esto se basa en el hecho de que las vellosidades coriales tienen la misma fórmula cromosómica que el feto, ya que están constituidas de sincitiotrofoblasto externo, una capa intermedia de citotrofoblasto y un núcleo celular mesenquimatoso interno.<sup>78</sup>

Se trata de una técnica que permite realizar estudios citogenéticos, moleculares y bioquímicos. Proporciona un resultado válido en el 99% de las ocasiones. En el 1% de las ocasiones se produce contaminación materna, fracaso de cultivo o mosaicismo (en este caso más probablemente confinado a placenta), en cuyo caso debemos ofrecer la realización de amniocentesis más adelante.<sup>79-81</sup>

Esta técnica está indicada entre la semana 10 y 14+6 de gestación. La posibilidad de entregar resultados de forma tan precoz permite la interrupción del embarazo de forma más precoz y segura, así como tranquilizar a los padres tempranamente cuando el resultado es normal. Es por tanto la técnica diagnóstica de elección ante un cribado de alto riesgo en el primer trimestre.<sup>77</sup>

Tabla 8. Indicaciones de realización de técnicas invasivas.<sup>71</sup>

- Gestación previa con anomalía cromosómica o malformativa
- Padres portadores de alteración cromosómica (traslocaciones)
- Antecedentes familiares con alteración genética concreta
- Deseo materno
- Edad materna $\geq$ 38 años sin cribado combinado de primer trimestre
- Índice de riesgo combinado primer trimestre alto para trisomía 21 o 18
- Confirmación de un resultado de alto riesgo en TPNI
- Translucencia nucal aumentada $>p99$ para la edad gestacional
- Riesgo de enfermedad monogénica con diagnóstico molecular o bioquímico disponible en vellosidad/líquido amniótico
- Sospecha ecográfica de cromosopatía o malformación fetal en ecografía de primer/segundo trimestre
- Confirmación de un resultado no concluyente en vellosidad corial*
- Anomalía discordante en gemelos monocoriales biamnióticos*

\*Indicaciones específicas de amniocentesis.

### 1.5.3. TÉCNICAS GENÉTICAS UTILIZADAS EN EL DIAGNÓSTICO PRENATAL

Tras obtener material genético fetal a través de las diferentes técnicas invasivas, este puede ser analizado en el laboratorio de diferentes formas.

#### 1.5.3.1. Cariotipo:

Se trata de una técnica de microscopía óptica que permite recontar, ordenar y estudiar morfológicamente el conjunto de los cromosomas de una célula. Actualmente el cariotipo es el *patrón oro* en el diagnóstico prenatal, aunque como veremos, actualmente tiende a ser reemplazado por el microarray.

Es un procedimiento lento ya que necesita del cultivo celular que tarda entre uso 10-14 días en el caso de células obtenidas del líquido amniótico. En muestras de biopsia corial puede realizarse de forma directa en células en metafase o tras cultivo. En sangre se realiza de forma más rápida. Además, es una técnica compleja y difícil de automatizar, que requiere personal especializado, lo que la hace una técnica de elevado coste.<sup>83</sup>

Permite identificar aneuploidías, duplicaciones, deleciones y reordenamientos de material genético superiores a 5-10 megabases (Mb). Tiene una tasa diagnóstica del 97,8% para la biopsia corial y del 99,4% para la amniocentesis.<sup>82</sup> La presencia de mosaicos (más frecuentes en vellosidades coriales, donde pueden llegar al 0,26%), puede dar lugar a falsos positivos o negativos. Las tasas de error general oscilan entre el 0,1 y el 0,6% y la tasa de fallos de cultivo también es baja (0,3% aproximadamente).<sup>83</sup>



#### 1.5.3.2. Técnicas rápidas:

Las técnicas rápidas disminuyen de forma considerable el tiempo de espera respecto al cariotipo, por lo que se obtienen diagnósticos de forma más rápida, posibilitando la toma de decisiones precoz y la disminución de la ansiedad de los padres. Suelen utilizarse para obtener resultados preliminares en espera del cariotipo, aunque también pueden usarse como técnica final ya que tienen capacidad de detectar el 70-80% de las aneuploidías (porcentaje que aumenta en la población de alto riesgo).<sup>84,85</sup>

En cuanto a fiabilidad, las técnicas de diagnóstico rápido están a la altura del cariotipo (sensibilidad y especificidad similares para la detección de aneuploidías de los cromosomas 13,18 21, X e Y), aunque tienen un porcentaje mayor de fallos o muestras no válidas para diagnóstico.<sup>86,87</sup>

##### 1.5.3.2.1. Hibridación *in situ* fluorescente o *Fluorescent In Situ Hybridization (FISH)*:

Permite detectar secuencias de nucleótidos mediante el uso de sondas específicas (segmentos determinados y conocidos de DNA), marcadas con fluoresceína que hibridan el ADN complementario a la muestra. Es posible establecer el número de copias de un cromosoma o fragmentos de cromosomas que hay en una célula mediante la detección por microscopía de las señales de fluorescencia. A diferencia del cariotipo no requiere cultivo celular (puede realizarse en metafase o en interfase), por lo que puede dar un diagnóstico en 1-3 días. Tiene una sensibilidad y especificidad muy cercanas al 100%.<sup>87</sup>

##### 1.5.3.2.2. Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa fluorescente o *Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction (QF-PCR)*:

Permite amplificar secuencias determinadas de ADN altamente polimórficas, es decir, con mucha probabilidad de ser distintas en los distintos individuos. A cada secuencia corta de nucleótidos (STRs) se le incorpora un fluorocromo determinado, por lo que al amplificar la muestra y separar los productos, se evalúa la intensidad de señales generadas por los diferentes marcadores fluorescentes, pudiendo conocer si hay ganancia o pérdida de material genético.<sup>88</sup> Se estableció un producto único que incluye sondas para los cromosomas más implicados en defectos congénitos (13,21,18, X e Y), al que se llamó *multiplex QF-PCR*. Es un procedimiento rápido (puede dar resultados en 24h), simple y fiable (VPP 100% y VPN 99'7%), por lo que es la técnica rápida más utilizada en el diagnóstico prenatal. Es más barato y menos subjetivo que el FISH.<sup>86,89</sup>

##### 1.5.3.2.3. Amplificación de sondas dependientes de ligandos múltiples o *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)*:

Amplifica múltiples sondas en una sola prueba. También basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), permite la cuantificación relativa del número de copias de ADN, normales y anormales, de hasta 40 secuencias genómicas distintas. Es el *patrón oro* en la detección de enfermedades en las que la metilación de los genes o *imprinting* está implicada (por ejemplo, los Síndromes de Prader Willi y Angelman).<sup>90,91</sup>

#### 1.5.3.2.4. Microarrays:

Su técnica consiste en aplicar la hibridación genómica comparativa (o *Comparative Genomic Hybridization*, CGH), mediante la que se hibrida a la vez la muestra de ADN obtenida con otra muestra control, mediante el uso de fluorescencias distintas en cada muestra. Así, se comparan las dosis para la detección de pérdidas o ganancias genómicas, de tal forma que, si existen dosis iguales de material genético, la mezcla resultante dará un color con un 50% de cada colorante; si la muestra problema tiene algún fragmento extra, este teñirá la mezcla más intensamente con su color; y en el caso de que exista un déficit de material, el suero control proporcionará el color más intenso a la mezcla.<sup>92-94</sup>

Esto permite la detección de CNVs o *Copy Number Variations* (variantes del número de copia), es decir, el número de segmentos de ADN mayores de 1 kilobase que difieren de un genoma de referencia. Permite detectar alteraciones genómicas con una resolución diez veces mayor al cariotipo y de forma más rápida, con la limitación de que no puede detectar traslocaciones e inversiones (ya que la dosis génica total en estos casos se mantiene). Tampoco detecta mutaciones puntuales. La consulta de las bases de datos existentes y un buen asesoramiento genético es fundamental para interpretar los resultados. La técnica de microarrays se ha convertido en uno de los pilares en el diagnóstico prenatal gracias a su capacidad de detección y la objetividad de sus resultados, y está comenzando a sustituir al cariotipo como técnica definitiva. Actualmente suele indicarse (en lugar del cariotipo) en casos de anomalías fetales estructurales o muerte fetal intraútero.<sup>94</sup>

#### 1.5.4. COMPLICACIONES DE LAS TÉCNICAS INVASIVAS

No podemos obviar, que las técnicas diagnósticas, al tratarse de procedimientos invasivos, no están exentas de riesgos. A continuación, analizaremos las principales complicaciones que pueden derivarse de las técnicas de diagnóstico prenatal invasivas:

- Aborto o pérdida fetal: la tasa de pérdida fetal atribuible a las técnicas invasivas se encuentra entre el 0,5 y el 1% de forma global.<sup>95</sup> Se observa que el riesgo es similar para la biopsia corial transabdominal y para la amniocentesis, siendo algo más elevada en la biopsia corial transvaginal. Una revisión sistemática de 16 estudios de cohortes concluyó una tasa de pérdida fetal atribuible a la biopsia de vellosidades coriales vía transabdominal del 0,7% a los 14 días, frente a un 0,6% para la amniocentesis.<sup>96,97</sup> La literatura que respalda esta información es previa a 2011, es decir, previa a la introducción del TPNI, por lo que es posible que actualmente hayan disminuído estas cifras.<sup>98,99</sup> Algunas sociedades científicas como la ACOG en su boletín de práctica clínica en diagnóstico de anomalías congénitas, estiman tasas de pérdida fetal todavía más bajas para la amniocentesis (0,1-0,3% a manos de operadores expertos).<sup>100</sup>

Hay que tener en cuenta además otros factores que hacen difícil la interpretación y la variabilidad de las tasas descritas en las diferentes series, como el hecho de que se están realizando a estos procedimientos a fetos con alto riesgo de padecer alteraciones cromosómicas, por tanto, a la técnica invasiva se le añaden otras múltiples posibles causas de pérdida fetal.<sup>10,101</sup>

Se han descrito una serie de predictores, que pueden conllevar un aumento del riesgo de pérdida fetal<sup>102-105</sup>:

- Fetos de tamaño menor a edad gestacional en el momento del procedimiento
  - Número de entradas en la cavidad uterina con la aguja
  - Uso de cánula transcervical en lugar de fórceps de biopsia (en biopsia corial)
  - Experiencia y habilidad del operador
  - Embarazos por técnicas de reproducción asistida
  - Gestación gemelar: Las tasas de pérdida gestacional para embarazos múltiples son algo más elevadas que en gestaciones simples, sobre todo en biopsia corial en la que se estima en el 2,75% en gestaciones menores de 20 semanas y en un 3,44% en gestaciones menores de 28 semanas.
- 
- Pérdida de líquido amniótico/rotura de membranas: ocurre de forma muy aislada.<sup>106,107</sup> En la amniocentesis puede existir una pérdida de líquido amniótico temporal en el 1,7% de los casos vs 0,4% en gestantes no sometidas a esta técnica.<sup>108</sup> La pérdida de forma crónica es mucho más infrecuente (0,3%) y suelen ser casos sin repercusión y con buena evolución.<sup>109,110</sup>
  - Despegamiento corioamniótico: puede ocurrir en el caso de la amniocentesis de forma poco frecuente, sin embargo, no tiene repercusión clínica salvo que se extienda a una gran parte o todo el amnios.<sup>111</sup>
  - Daño fetal directo: es muy raro, sobre todo en amniocentesis.<sup>105,108,112,113</sup> No hay evidencia suficiente al respecto.<sup>73</sup>
  - Daño fetal indirecto: en un pequeño porcentaje de las técnicas invasivas pueden producirse en el feto malformaciones posicionales de extremidades y oromandibulares y alteraciones pulmonares relacionadas con el desarrollo, atribuidas a la disminución de líquido amniótico. Son muy raras y diversos estudios a 7-18 años han demostrado que no aumenta su incidencia en gestaciones sometidas a técnicas invasivas. Además, puede solucionarse limitando la extracción del volumen de líquido amniótico en el caso de la amniocentesis.<sup>105,108,114,115</sup>
  - Sangrado: un tercio de las pacientes presentan *spotting* durante algunos días.<sup>104</sup> Sin embargo, la pérdida hemática persistente sólo se da en el 7-10% de las biopsias coriales transvaginales y en <6% de las transabdominales.<sup>116-118</sup> En el caso de la amniocentesis es extremadamente infrecuente.<sup>100</sup>
  - Infección: es muy raro que estas técnicas invasivas sean causantes de infecciones clínicas. La infección subclínica puede ser una causa de pérdida fetal.<sup>104,106,119</sup> Es posible así mismo, que estas técnicas sean vectores para aumentar la tasa de transmisión vertical de enfermedades infecciosas como el VIH, citomegalovirus, toxoplasmosis o virus de la hepatitis. Sin embargo, con el

screening serológico y tratamiento adecuado actualmente, esta complicación es muy infrecuente.<sup>120,121</sup>

Es importante recordar, que además de las complicaciones clínicas, existen otra serie de inconvenientes que comprometen la inocuidad de la técnica invasiva. Se trata de técnicas asociadas a cierto grado de dolor para la gestante durante el procedimiento. Un metaanálisis realizado por la *Cochrane* analizó los resultados de cinco ensayos clínicos aleatorizado, en los que se evaluaban diferentes formas de analgesia a la hora de realizar una amniocentesis. Evaluó también, por tanto, el dolor asociado a la prueba, concluyendo que en general sólo se produce un dolor leve y limitado al momento de la técnica por lo que no hay evidencia para la utilización sistemática de analgésicos. Recientemente se han publicado estudios similares realizados con pacientes sometidas a biopsia de corion.<sup>122-124</sup>

Algunos estudios también han evaluado el aumento de ansiedad materna ante la realización de esta prueba, sus resultados y las consecuencias que ellos conllevan en la toma de decisiones, así como ante las posibles complicaciones en el transcurso del embarazo.<sup>124,125</sup>

Por todo esto, es necesario establecer nuevos sistemas de cribado que nos permitan reducir todavía más el número de técnicas invasivas necesarias para el diagnóstico de defectos congénitos.

## 1.6. TEST PRENATAL NO INVASIVO

### 1.6.1. ADN FETAL LIBRE CIRCULANTE

La presencia de material genético fetal circulante en sangre materna, ADNf-Ic (ADN fetal libre circulante) o *cf-DNA* (*cell-free fetal DNA*) en inglés, fue descrito por primera vez en el año 1997 y publicado en el *Lancet* por el grupo de *Lo et al.*<sup>128</sup>

Inicialmente, se pensaba que este ADN libre fetal que circulaba en el torrente sanguíneo materno provenía del sistema hematopoyético fetal (al igual que la principal fuente materna de ADN-Ic es la apoptosis de células hematopoyéticas), es decir, eritroblastos fetales que atravesaban la barrera placentaria.<sup>129,130</sup> Sin embargo, varios grupos (*Zhong et al.* y *Angert et al.*, principalmente), demostraron posteriormente que esto no era posible ya que la cantidad de *cf-DNA* no se correlacionaba con la concentración de eritrocitos fetales y que, al disminuir la cantidad de células sanguíneas maternas, no aumentaba el porcentaje de ADN fetal (mediante la realización de flebotomías).<sup>131,132</sup>

Si bien es posible que una pequeña parte del material genético fetal encontrado en sangre materna provenga de productos de la apoptosis de eritroblastos fetales que atraviesan la barrera placentaria,<sup>131,133-136</sup> estudios posteriores hallaron el origen principal del ADNf-Ic, y según confirma la evidencia actual, en la placenta (concretamente del sincitiotrofoblasto).<sup>126</sup> Como sabemos, placenta y feto comparten material genético al provenir de un único cigoto, salvo en los casos de mosaicismos confinados a placenta.<sup>127</sup> Este origen se descubrió gracias al hecho de que el tejido placentario posee un patrón de metilación diferente al de las células sanguíneas.<sup>137,138</sup> Por otra parte, el hallazgo de *cf-DNA* en gestaciones anembrionadas (en niveles similares a gestaciones normales), confirmó el origen en tejido placentario, ya que este tipo de gestación presenta igualmente trofoblasto.<sup>139</sup> Además, actualmente se sabe que los niveles de ADN fetal aumentan con la edad gestacional y que permanecen en el torrente sanguíneo materno hasta 24h tras el parto, mientras que las células fetales pueden persistir más tiempo.<sup>140,141</sup>

Los fragmentos de ADN fetal libre circulante son considerablemente más pequeños que el ADN materno, constituidos por entre 50 y 200 pares de bases.<sup>142</sup> Este tamaño de fragmentación guarda una clara relación con los patrones en los que el ADN se pliega para envolver las proteínas de histonas formando nucleosomas. Por tanto, cuando se analiza el ADN-Ic, esto facilitará su diferenciación, ya que aquellos fragmentos más largos, pertenecerán a la parte materna con mayor probabilidad.<sup>127</sup>

El descubrimiento de que alrededor del 10% del total de ADN-Ic en la sangre materna es de origen placentario hizo posible comenzar a investigar formas alternativas a las técnicas invasivas para obtener muestras fetales sobre las que realizar un análisis genético en busca de defectos cromosómicos.<sup>9</sup>

### 1.6.2. MÉTODOS DE ANÁLISIS GENÉTICO

Cuando se secuenció el genoma humano completo en el año 2011 se abrió la puerta a una gran revolución en el diagnóstico genético, incluyendo el prenatal. Esto aportó

una gran información que es utilizada por los biólogos y bioinformáticos para comparar muestras de ADN con el genoma de referencia.<sup>9</sup>

Existen tres métodos principales utilizados para el análisis de ADN fetal libre circulante en sangre materna. La primera analiza el ADN completo, mientras que las dos siguientes estudian solo los cromosomas de interés.

#### 1.6.2.1. Secuenciación masiva en paralelo o *Massively parallel shotgun sequencing (MPSS)*:

Tanto en esta técnica como en la siguiente, se comienza secuenciando millones de fragmentos de ADN libre circulante (tanto materno como fetal), para después determinar el origen de cada uno y cuantificar la cantidad de fragmentos que deriva de cada uno de los cromosomas.<sup>143-145</sup> Como ya hemos adelantado, la diferenciación del origen del ADN-ic se realiza por el tamaño de los fragmentos y por las diferencias en la metilación del ADN, siendo el método más utilizado el primero y limitándose el segundo prácticamente al ámbito de la investigación.<sup>146-150</sup> La MPSS es potencialmente capaz de identificar todas las aneuploidías ya que se examinan todos los cromosomas. Esta técnica es muy rentable para el cribado de aneuploidías de los cromosomas 21, 13 y 18, así como los sexuales. Su tasa de no resultados es < 2%.<sup>143-145</sup>

#### 1.6.2.2. Secuenciación cromosoma-específica o *Chromosome-selective sequencing (CSS)*:<sup>151-155</sup>

En este caso la secuenciación se dirige específicamente a regiones concretas de los cromosomas 21, 18, 13, X e Y. Esto reduce el coste, ya que hay que secuenciar menos cantidad de ADN, pudiendo aprovechar el mismo ensayo para calcular la fracción fetal. Para el recuento se utiliza un método basado en tecnología microarray, demostrando resultados comparables a aquellos que se obtienen con métodos de secuenciación de última generación, pero de forma más rápida y por tanto de manera más costo-efectiva.

#### 1.6.2.3. Análisis basado en polimorfismos de un único nucleótido o *Single Nucleotide polymorphism (SNP)*:<sup>156-158</sup>

Los SNP son diferencias en un único nucleótido en una secuencia de ADN determinada que varían en cada individuo y permiten por tanto distinguirlos. Basándonos entonces en que el feto posee diferentes SNP que su madre, se puede realizar este análisis que permite determinar si la distribución de los SNP fetales respecto a los de la madre constituyen diferencias que puedan comportar una monosomía, disomía o trisomía. El rendimiento de esta técnica es similar al de las anteriores, pero conlleva una tasa de no resultados algo mayor (3-5%).

#### 1.6.2.4. Otros métodos en investigación:

Existen otros métodos de análisis que se encuentran actualmente en investigación como son el análisis de células del trofoblasto fetal endocervical<sup>159,160</sup>, detección de ARN fetal libre circulante en plasma materno<sup>161</sup>, interpretación de la metilación del ADN<sup>162</sup> y el análisis de células fetales en sangre materna.

### 1.6.3. FRACCIÓN FETAL DE ADN-LC Y SU INFLUENCIA EN LA TASA DE NO RESULTADOS

Llamamos “fracción fetal” al porcentaje de ADN libre circulante de origen fetal sobre el total de ADN-lc que existe en sangre materna.<sup>163,164</sup> Se conoce que la fracción fetal aumenta aproximadamente un 0,1% semanal entre las 10 y las 21 semanas, mientras que, por encima de esta edad gestacional, se incrementa a ritmo de un 1% por semana.<sup>165,166</sup>

Cuanto mayor sea la fracción fetal, los resultados del estudio de cromosomopatías en el feto serán más precisos y, por tanto, al disminuir por debajo de cierto nivel, más difícil será emitir un resultado fiable. Actualmente se sabe que ese nivel se encuentra aproximadamente entre el 3-4% de fracción fetal<sup>163,164</sup>, sin embargo, conforme vayan mejorando las técnicas de secuenciación este porcentaje puede ir disminuyendo, por lo que el punto de corte en el porcentaje mínimo de fracción fetal requerida se irá modificando a la par que mejore la tecnología.<sup>9</sup>

Existen algunos factores que condicionan una disminución de la fracción fetal disponible y los principales son:

- Baja masa placentaria: directamente relacionado con la edad gestacional. Como hemos adelantado, la fracción fetal se incrementa a medida que aumenta la edad gestacional. La mayoría de laboratorios tienen como requisito realizar la determinación de *cf-DNA* por encima de las 10 semanas de gestación para asegurar un resultado fiable.<sup>130,163,164,167</sup>
- Obesidad materna: existe una correlación inversa entre el peso materno y la fracción fetal. Las principales causas descritas para este fenómeno son la dilución del ADN-lc por un mayor volumen sanguíneo, y la liberación de ADN-lc materno al torrente sanguíneo por apoptosis de adipocitos. Por cada 4'5 kg de peso (en rangos de peso materno entre 36'5 y 91 kg) la fracción fetal disminuye un 0'5%. Sin embargo, el cálculo del riesgo de cromosomopatías en el cribado por test de DNA fetal libre circulante no se ajusta al peso materno, por lo que habría que informar a las pacientes de más de 81 kg de peso que presentan un aumento de posibilidad de fallos en los resultados.<sup>163,164,166</sup>

Tabla 9. Proporción de embarazos con fracción fetal  $\geq 4\%$  en una primera extracción de sangre (*Wang E et al.*, 2013) en función del peso materno.<sup>166</sup>

Peso materno (kg)	n	% embarazos con fracción fetal $\geq 4\%$
<50	809	99,8
50-59	4825	99,6
60-69	6224	99,2
70-79	4313	98,8
80-89	2574	98,2
90-99	1608	96,3
100-109	32	93,9
110-119	508	89,8
120-129	298	87,9
130-139	172	81,4
$\geq 140$	132	71,2

- Raza: algunos grupos (*Gerovassili et al*, *Poon et al*) han demostrado fracciones fetales menores en mujeres afrocaribeñas, sin embargo, otros autores (*Wataganara et al*) no encuentran esta relación. Podría existir una asociación de la raza con niveles menores de fracción fetal, pero esta relación está menos clara que la asociación con el IMC materno, y se necesitarían más estudios para concluir una evidencia sólida.<sup>163</sup>
- Trisomías 18 y 13: se ha descrito una disminución de la fracción *fetal* (hasta un 9% en semanas 10-20, frente al 13% en fetos euploides) en fetos con trisomía 18. Otros estudios han sacado las mismas conclusiones para trisomía 13. Esto no ocurre con la trisomía 21, por lo que sus tasas de detección de cromosomopatías son mayores.<sup>164,168,169</sup>

Existen cuatro métodos principales para la estimación de la fracción fetal: el diferente patrón de metilación entre el ADN materno y fetal (principalmente utilizado en investigación), el análisis de SNPs, la estimación de la ratio X e Y (sólo es posible realizarla en fetos varones) y el análisis del tamaño de los fragmentos del ADN, sabiendo que son menores los de origen fetal (el más utilizado por los laboratorios).<sup>8</sup>

Actualmente la evidencia científica no permite ofrecer una explicación al hecho de que exista una alta variabilidad en la tasa de no resultados entre diferentes estudios (oscila entre el 0 y el 12%) y tampoco a la relación entre la tasa de resultados y el método de análisis empleado. Globalmente se estima una tasa de no resultados del 1-2%<sup>8</sup>, siendo algo mayor en gestaciones gemelares.<sup>171</sup>

Por los motivos descritos en este apartado, es importante recalcar la importancia de la medición sistemática de la fracción fetal en todas las muestras y de que esta sea tenida en cuenta a la hora de ofrecer un resultado. Parece recomendable detallar este dato en el informe para su correcta interpretación por el profesional.

#### 1.6.4. DIAGNÓSTICO PRENATAL NO INVASIVO: POSIBLES APLICACIONES

El análisis genético del ADN fetal libre circulante en sangre materna nos permite confirmar la presencia o ausencia de una región genómica específica en el feto, pudiendo diagnosticar una amplia gama de condiciones o enfermedades que determinarán el pronóstico de la gestación y de la vida del neonato. Esta herramienta diagnóstica puede tener diversas aplicaciones que permiten a los profesionales asesorar a los progenitores.

##### 1.6.4.1. Determinación del Rh fetal

La enfermedad hemolítica del recién nacido es una importante fuente de morbimortalidad fetal, causada por la producción materna de anticuerpos IgG (que atraviesan la placenta) dirigidos contra antígenos de superficie de los hematíes fetales ausentes en la madre, provocando la destrucción de los mismos (hemólisis). El antígeno D del sistema Rhesus (sistema Rh) es el más frecuentemente involucrado en esta enfermedad. Esta isoimmunización requiere una sensibilización previa de la madre



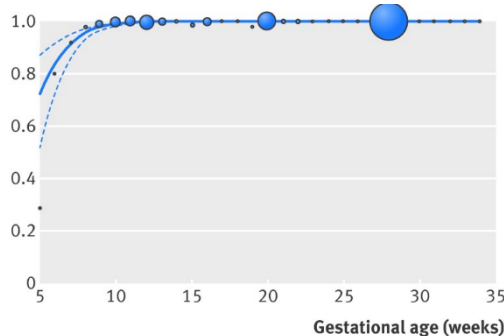
RhD(-), por ejemplo durante un parto anterior de un feto RhD(+), un aborto, procedimientos invasivos, etc.<sup>172</sup>

Actualmente y de forma rutinaria en la mayoría de los centros hospitalarios, se administra de forma profiláctica una dosis de inmunoglobulina anti-D a todas aquellas gestantes RhD(-) en el tercer trimestre de gestación (en torno a las 28 semanas) y otra tras el parto, para evitar la isoimmunización. Sin embargo, esto hace que un gran número de mujeres sean expuestas innecesariamente a una dosis de inmunoglobulinas en cada embarazo, ya que sólo un 60% de los recién nacidos de madres Rh negativas, son Rh positivos.<sup>126,173,174</sup>

La determinación prenatal del genotipo RHD fetal a partir del ADN fetal libre circulante en sangre materna puede ser útil en el manejo de la incompatibilidad Rh. Hasta la actualidad esta determinación se realiza mediante la técnica *qPCR* en tiempo real, sin embargo, actualmente se están investigando otros métodos como la traducción por biosensores inmunológicos, basados en la generación de una señal (electroquímica u óptica) que se active con la formación del complejo antígeno-anticuerpo.<sup>175</sup>

En algunos centros está comenzándose a utilizar el diagnóstico prenatal no invasivo para estratificar el riesgo a la hora de administrar la inmunoglobulina anti-D a las gestantes, reservándose únicamente para aquellas gestantes RhD(-) con RhD fetal positivo en su determinación.<sup>173,174</sup> Algunos estudios que evalúan la sensibilidad de este test en función de la edad gestacional, están abriendo la puerta a la administración de la inmunoglobulina anti-D desde la semana 12, siendo beneficiosa hasta la aparición de algún fenómeno potencialmente sensibilizante.<sup>126</sup>

Gráfica 2. Sensibilidad en la determinación de fetos RHD positivos a través de ADN-*lc*, en función de la edad gestacional (*Chitty L.S. et al., 2014*)<sup>176</sup>



#### 1.6.4.2. Determinación del sexo fetal

La posibilidad de determinar el sexo fetal en la vida prenatal temprana permite asesorar de forma inmediata a pacientes con riesgo de heredar trastornos relacionados con los cromosomas sexuales, así como de indicar la utilidad en casos seleccionados de realizar un diagnóstico prenatal invasivo.<sup>177</sup>

Mediante la detección por *MPSS* de la presencia del gen *SRY* del cromosoma Y en el plasma materno es posible determinar el sexo fetal, con una tasa diagnóstica superior al 99% por encima de la semana 7 de gestación (método, por tanto, mucho más fiable que una evaluación ecográfica a esta edad gestacional).<sup>178-180</sup>

Las pacientes portadoras de enfermedades ligadas al cromosoma X pueden beneficiarse de esta prueba, ya que podría evitarse en un 50% de los casos la necesidad de técnicas invasivas (por ejemplo, en la distrofia muscular de Duchenne).<sup>181</sup>

Otro grupo de pacientes que pueden beneficiarse de esta técnica son aquellas gestantes con riesgo de transmitir la Hiperplasia Adrenal Congénita, a las que cuyos fetos fueran femeninos, podría administrarse dexametasona durante el embarazo para disminuir el riesgo de virilización de los genitales externos.<sup>181,183</sup>

Es necesaria más evidencia en cuanto a lo costo-efectiva que puede ser esta técnica en comparación con los métodos invasivos, para este propósito. Un estudio determinó que, en Reino Unido, los costes de realizar el diagnóstico de sexo prenatal a las pacientes portadoras de la distrofia muscular de Duchenne eran similares a los derivados de realizar procedimientos invasivos para el diagnóstico. Sin embargo, en otras sociedades los resultados de los análisis de comparación de costes pueden ser diferentes.<sup>184</sup>

#### 1.6.4.3. Determinación del riesgo de preeclampsia

La preeclampsia, que afecta aproximadamente al 5% de los embarazos, es una causa importante de mortalidad materna y perinatal. Dado que la preeclampsia se asocia con daño placentario, disfunción o desarrollo anormal de la misma, esto ha dado lugar a que investigadores se planteen la posibilidad de encontrar marcadores predictores de su desarrollo en sangre materna.<sup>185</sup>

Algunos estudios han demostrado la asociación de niveles elevados de ADN libre total y fetal en sangre materna con el riesgo de desarrollar preeclampsia<sup>186</sup>, mientras que otros autores no son capaces de demostrar esta relación<sup>185</sup>. Los estudios son prometedores, aunque todavía con muestras pequeñas e insuficientes para sacar conclusiones sólidas.

Otra línea de investigación activa, estudia un polimorfismo localizado cerca del gen *FLT1* que se da con mayor frecuencia en hijos de madres que sufrieron preeclampsia que en las gestantes control. *FLT1* codifica una proteína con una isoforma que se expresa en la placenta y puede utilizarse como biomarcador de su disfunción. Cuando se liberan niveles elevados de la isoforma fetal de esta proteína placentaria al torrente sanguíneo materno puede causar anomalías vasculares que deriven en el desarrollo de preeclampsia.<sup>187</sup>

En caso de consolidarse estos hallazgos, podrían constituir una base en la prevención y el tratamiento de la preeclampsia y otros desórdenes relacionados como el crecimiento intrauterino retardado, mejorando así los resultados obstétricos y perinatales.

#### 1.6.4.4. Diagnóstico de enfermedades monogénicas

El diagnóstico prenatal no invasivo de enfermedades monogénicas fue posible por primera vez en el año 2000, sin embargo, su implementación se ha mantenido lenta, pero se espera que a medida que esta técnica sea más rápida, precisa y con menos coste económico aumenten sus indicaciones. Actualmente se utiliza en un número limitado de centros, principalmente para el diagnóstico de enfermedades musculoesqueléticas.<sup>188,189</sup>

En el caso de esta aplicación, el tipo de análisis genético depende del tipo de herencia de cada enfermedad y la estructura de los genes que conforman la alteración.

El estudio de enfermedades monogénicas en ADN fetal se realizó por primera vez en la ACONDROPLASIA. Esta enfermedad se produce en la mayoría de los casos (98%) por mutaciones “de novo” en el gen FGFR3 (c.1138G>A.p.Gly308Arg) y suele diagnosticarse en el tercer trimestre de gestación al observar una longitud femoral por debajo del percentil normal. Inicialmente se realizó esta determinación mediante análisis basados en PCR-RED (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Enzyme Digest*). Posteriormente, con el desarrollo de la secuenciación masiva en paralelo (MPSS), se pudo mejorar la sensibilidad de la prueba.<sup>190,191</sup>

La DISPLASIA TANATOFÓRICA, una displasia ósea con micromielia de pronóstico mortal, está causada por al menos 13 mutaciones diferentes de este mismo gen (FGFR3). *Chitty et al.* en una publicación de 2015, describieron 29 mutaciones del FGFR3 que causan acondroplasia y displasia tanatofórica, mediante el uso de métodos de secuenciación de segunda generación como la MPSS, gracias a lo cual se desarrollaron las primeras “dianas” para mutaciones de FGFR3 amplificando las regiones de interés.<sup>192</sup>

Algunas enfermedades producidas por repeticiones en genes dominantes también pueden beneficiarse del diagnóstico prenatal no invasivo, como es la DISTROFIA MIOTÓNICA (causada por la expansión de entre 50 y 4.000 repeticiones del triplete CTG en tres regiones del gen DMPK en el cromosoma 19)<sup>193</sup> y la ENFERMEDAD DE HUNTINGTON (causada por repeticiones del triplete CAG en el exón 1 del gen HTT). En este último caso, se sabe que las repeticiones de riesgo intermedio (entre 27 y 35) pueden heredarse de generación en generación, principalmente por transmisión paterna. A partir de 35 repeticiones se considera causa de enfermedad clínica de Huntington.<sup>194-196</sup> Mediante pruebas de PCR se consiguió distinguir prenatalmente individuos libres de enfermedad, aquellos de riesgo intermedio y los afectados por la enfermedad.<sup>197</sup> Sin embargo, la utilización de esta prueba se restringía a parejas en las que la diferencia entre la expresión materna y paterna fuera suficiente (es decir, eran necesarios los perfiles de repetición de ambos progenitores).<sup>126</sup>

Recientemente se ha descrito la introducción del análisis genético no invasivo para el diagnóstico de enfermedades recesivas como la FIBROSIS QUÍSTICA, causada por 10 mutaciones posibles en el gen CFTR, en las que cada progenitor posee una mutación diferente.<sup>198</sup> Se pretende que pueda ser utilizado también para el diagnóstico prenatal en gestaciones de padres portadores de mutaciones con distintos rangos de expresión causantes de enfermedades como la POLIQUISTOSIS RENAL.<sup>199</sup>

En aquellas enfermedades de herencia recesiva en la que los padres son portadores de la misma mutación, de herencia ligada al cromosoma X o de herencia dominante cuyo progenitor portador sea la madre, el diagnóstico resulta más complicado, ya que sería preciso detectar en primer lugar el modo de transmisión del alelo materno, ya que en la muestra existe una gran cantidad de ADN materno libre circulante.<sup>126</sup> Por ejemplo, la ANEMIA FALCIFORME o la BETA TALASEMIA (ambas de herencia recesiva), al portar ambos progenitores la misma mutación, habría que distinguir inicialmente las moléculas de ADN-Ic fetal mediante técnicas de fluorescencia para posteriormente evaluar la mutación en concreto.<sup>200,201</sup>

Actualmente, la posibilidad de implementación del diagnóstico prenatal no invasivo para trastornos monogénicos no ha sido totalmente explotada, ya que en gran parte el desarrollo debe basarse en pacientes o enfermedades muy específicas, con poca demanda global hacia los laboratorios. Al desarrollarse cada vez más plataformas de secuenciación en los sectores públicos, se espera que pueda implementarse esta técnica para una gama más amplia de trastornos monogénicos y de una forma más económica, para el beneficio de las familias portadoras. Sin embargo, no hay que olvidar que el análisis completo del genoma fetal en sangre materna puede plantear muchas cuestiones éticas, que no entraremos a analizar en este trabajo.

#### 1.6.4.5. Cribado de aneuploidías

Al tratarse de la aplicación más importante del ADN-ic hasta la fecha, y ser el objeto principal de estudio de este trabajo, lo abordaremos detalladamente en el siguiente apartado.

#### 1.6.5. TEST PRENATAL NO INVASIVO (TPNI) DE CROMOSOMOPATÍAS

El análisis del ADN fetal libre circulante para el cribado de aneuploidías, también conocido como Test Prenatal No Invasivo (TPNI), se encuentra disponible en el mercado desde el año 2011.<sup>9</sup> Actualmente se realiza en la mayoría de países desarrollados y se está generalizando su uso en el ámbito de la Sanidad Pública española. Esto se debe a que se han demostrado ampliamente sus beneficios en la disminución del número de pruebas invasivas necesarias, asegurando unas altas tasas diagnósticas. Además, la disponibilidad temprana de información en el embarazo permite guiar las decisiones sobre la interrupción del mismo o planificar el nacimiento de un niño afecto.

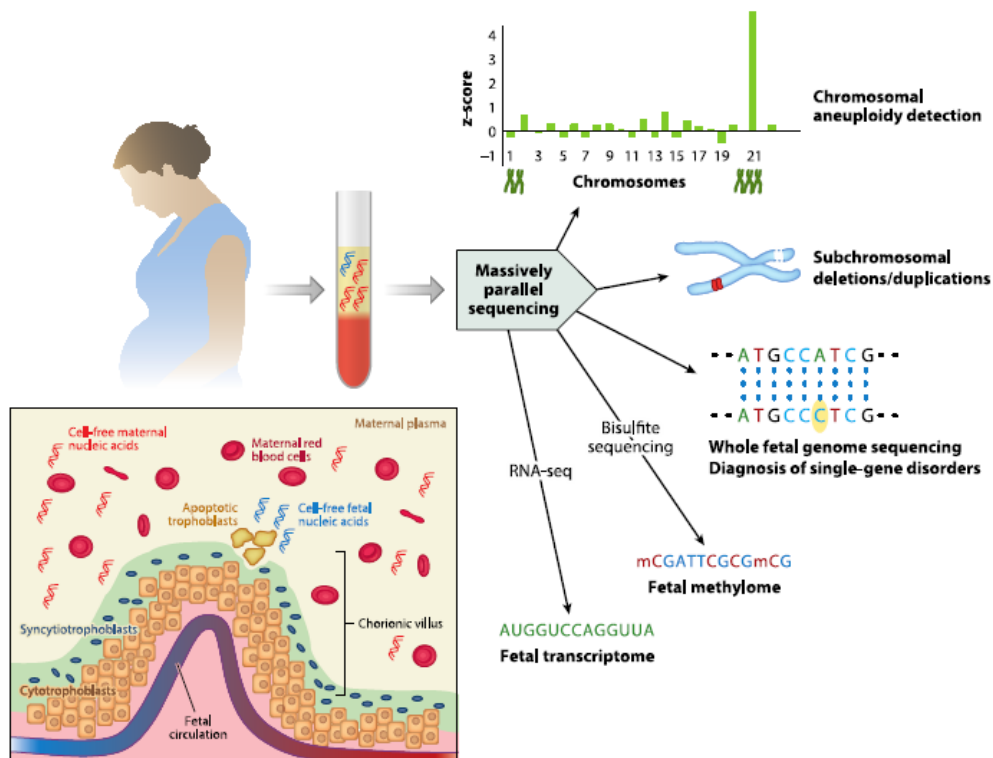
##### 1.6.5.1. Cribado de aneuploidías autosómicas

Gracias a un gran número de investigaciones que han analizado múltiples casos, podemos saber que el análisis de ADN libre circulante nos permite una identificación muy precisa de aquellos fetos afectados por una de las “trisomías clásicas” (trisomías 21, 18 y 13). Esto ha permitido establecer que el cribado de rutina incluya estas tres entidades.

Sin embargo, si hablamos de otras condiciones como las aneuploidías de los cromosomas sexuales o los síndromes de microdelección, la evidencia científica es más limitada.<sup>8,202</sup>

La detección de aneuploidías en ADN fetal circulante en sangre materna, recae en la habilidad de la técnica para detectar una sobrerrepresentación del cromosoma en cuestión en una pequeña muestra. Las técnicas más extendidas son la secuenciación masiva en paralelo (*MPSS*) y la secuenciación cromosoma específica (*CSS* o *DANSR: Digital Analysis of Selected Regions*), aunque también es posible realizarlo mediante el análisis de las distribuciones de polimorfismos de nucleótido único (*SNP*) de los cromosomas estudiados en la madre y el feto.<sup>9</sup>

Figura 1. Aplicaciones de la secuenciación masiva en paralelo (MPSS) del ADN-ic. (Wong FCK et al.)<sup>203</sup>



Para la detección de trisomías 21, 18 y 13 se han realizado multitud de estudios multicéntricos, incorporando miles de casos con población no afectada, que describen sensibilidades y especificidades similares para los métodos *MPSS* y *DANSR*.

Según el último metaanálisis publicado en 2017 por el grupo de *Nicolaidis*, las sensibilidades de estos test fueron del 99,7 % (IC 95%: 99,1-99,9%) con una tasa de falsos positivos (TFP) del 0,04% (IC 95%: 0,02-0,07%) para la trisomía 21, del 97,4% (IC 95%: 95,8-98,4%) con una TFP del 0,04% (IC 95%: 0,02-0,07%) para la trisomía 18 y del 97,4% (IC 95%: 86,1%-99,6%) con una TFP del 0,04% (IC 95%: 0,02-0,07%) para la trisomía 13.<sup>8</sup>

Inicialmente, los estudios de validación fueron realizados en gestantes de alto riesgo (con resultados de riesgo en el cribado combinado del primer trimestre, hallazgos ecográficos o edad materna avanzada), sin embargo, más recientemente su uso se ha extendido a la población general.

Como se analizará posteriormente, existen algunas situaciones que pueden ser fuente de falsos positivos de la prueba (mosaicismos confinados a placenta, tumores maternos, etc.).

Existe también una asociación entre fallos del TPNI en la detección de aneuploidías y la fracción fetal. El grupo de *Palomaki* realizó un estudio de cohortes con 2157 gestantes, en el que encontró 13 casos de resultados indeterminados con una fracción fetal menor al 3%. De esos 13 casos, se confirmaron 3 trisomías 18 y 3 triploidías fetales. Esto concuerda con la teoría de que la fracción fetal es significativamente mayor en los casos de trisomía 21.<sup>169</sup> Por esto, la mayoría de sociedades establecen en sus guías de

práctica clínica la necesidad de aplicación de una evaluación ecográfica y una técnica diagnóstica invasiva cuando nos encontramos ante resultados inconclusos o fallidos.<sup>100</sup>

#### 1.6.5.2. Cribado de aneuploidías de los cromosomas sexuales

Actualmente, la mayoría de Sociedades Científicas europeas no recomiendan el cribado rutinario de las aneuploidías de cromosomas sexuales ya que la evidencia disponible procede de una fuente muy escasa de casos y controles.<sup>10,204,205</sup>

El último metaanálisis sobre el cribado de cromosopatías mediante análisis de ADN-Ic, establece una tasa de detección del 95,8% (IC 95%: 70,3-99,5%) y una tasa de falsos positivos del 0,14% (IC 95%: 0,05-0,3), con tan solo 36 casos de Monosomía X analizados. Como podemos observar, los intervalos de confianza son amplios.

Aunque la muestra de estudio sea escasa, podemos extraer dos claras conclusiones: en primer lugar, que la tasa de “no resultado” de este test es mayor y, por otra parte, que el rendimiento del test es menor para las aneuploidías de los cromosomas sexuales que para las “trisomías clásicas”. Esto último puede explicarse por dos motivos<sup>8</sup>:

- Motivos técnicos: en el cromosoma X existe una menor cantidad de nucleótidos de guanina-citosina (CG), lo que puede suponer una amplificación muy variable de este cromosoma<sup>206</sup>
- Alta incidencia de mosaicismos<sup>206-210</sup>:
  - o Maternos: puede deberse a la pérdida fisiológica con la edad de un cromosoma X en los glóbulos blancos de mujeres euploides o tratarse de un mosaico congénito no conocido
  - o Fetales: un tercio de los casos de aneuploidías de cromosomas sexuales detectadas tras amniocentesis son en mosaico, y si tenemos en cuenta los mosaicismos confinados a placenta esta cifra se eleva al 50%.

A todo esto, se suma que la expresión fenotípica de estas enfermedades puede ser muy variable, lo que condiciona dificultad de asesoramiento a los padres. Muchos de los individuos afectados (especialmente aquellos con un examen ecográfico normal), cursan sin ninguna alteración en el desarrollo físico ni intelectual, y parte importante de los que lo presentan, lo hacen de manera muy leve.<sup>207,208</sup>

#### 1.6.5.3. Cribado de síndromes de microdelección y microduplicación

Existe una extensa área de debate en cuanto a la posibilidad de ofrecer un asesoramiento prenatal mediante el TPNI en un número creciente de enfermedades raras, ya que las gestantes demandan la seguridad de tener “un hijo sano”. Este hecho, combinado con el potencial teórico del test de cribar todo el genoma, ha hecho que la mayoría de laboratorios expandan el panel de enfermedades para cubrir tantas como sea posible.<sup>9</sup>

Las microdelecciones y microduplicaciones clínicamente relevantes constituyen el 1-1,7% de todos los embarazos en los que el feto parece estructuralmente normal. Además, se sabe que estas cromosopatías no están relacionadas con la edad materna.<sup>211,212</sup>

El panel expandido del test de ADN-Ic habitualmente incluye las entidades descritas en la siguiente tabla.

Tabla 10. Prevalencia estimada en la población de enfermedades producidas por microdeleciones y sus correspondientes casos detectables.<sup>213</sup>

Síndrome	Localización cromosómica	Prevalencia estimada	Tamaño deleción (Mb)	Porcentaje con deleción >3 Mb
<b>Di George o velocardiofacial</b>	22q11.2	1:2.000 1:4.000	3 (deleción común)	85%
<b>Monosomía 1p36</b>	1p36	1:5.000 1:10.000	1,5-10,5	85%
<b>Angelman o Prader Willi</b>	15q11.2-q13	1:20.000	5 y 6 (deleciones comunes)	70%
<b>Cri-du-Chat</b>	5p15	1:50.000	10-30	99%

Mb: megabases

Como podemos observar, la prevalencia de estas enfermedades es escasa, por lo que el VPP del test será muy escaso (alrededor del 5%) y las tasas diagnósticas oscilan entre el 60-99% con una TFP global de aproximadamente el 1%.<sup>213</sup>

Del total de microdeleciones y microduplicaciones clínicamente relevantes detectables por tecnología *array* en el tejido fetal, el test de ADN-Ic es potencialmente capaz de detectar solamente un 10%.<sup>214</sup>

Tan solo el Síndrome de DiGeorge (microdeleción 22q11) podría cumplir criterios para cribado prenatal, ya que su incidencia es más alta de lo que se estimaba previamente y su diagnóstico precoz podría mejorar el pronóstico de la enfermedad. Sin embargo, actualmente el método diagnóstico de elección sigue siendo la técnica invasiva, ya que no se conoce el rendimiento del TPNI como método de cribado gestacional en gestantes de bajo riesgo para esta enfermedad.<sup>211</sup>

Por tanto, con la evidencia disponible hasta la actualidad, no es posible recomendar el cribado rutinario de microdeleciones y microduplicaciones mediante el análisis de ADN fetal libre circulante.<sup>9</sup>

#### 1.6.5.4. Cribado de triploidías

El *SNP* es el único método actual de análisis de ADN-Ic capaz de detectar triploidías, ya que analiza la distribución de alelos y no requiere el uso de un cromosoma disómico de referencia. Puede identificar la triploidía diándrica y sospechar la digínica por su fracción fetal anormalmente baja.<sup>215</sup>

Sin embargo, el cribado combinado de primer trimestre ya permite sospechar estas condiciones, debido al hallazgo de valores anormalmente bajos o altos de la PAPP-A y la  $\beta$ -hCG séricas, así como la sospecha ecográfica de placenta molar o CIR asimétrico severo.

El cribado de triploidías mediante el test no invasivo podría resultar útil en aquellos casos en los que no dispongamos del CC1T, ya que la triploidía diándrica puede causar complicaciones maternas graves como el coriocarcinoma o la preeclampsia

precoz.<sup>216,217</sup> Actualmente su determinación rutinaria en el TPNI no está recomendada por las Sociedades Científicas.<sup>9</sup>

### 1.6.6. CAPACIDAD DEL TEST

#### 1.6.6.1. Rendimiento de la prueba

El rendimiento de una prueba diagnóstica se mide mediante la sensibilidad o tasa de detección y la tasa de falsos positivos. En el 1-5% de las pruebas de *screening* de cromosopatías mediante el análisis de ADN fetal libre circulante no es posible proporcionar un resultado, es decir, se trata de un test “no concluyente”.<sup>218</sup>

Según un metaanálisis publicado en 2017, que incluía 35 estudios realizados desde 2011 (fecha en la que se introdujo el TPNI) y diciembre de 2016, concluía que el TPNI es capaz de más del 99% de fetos con trisomía 21, 98% de las trisomías 18 y el 99% de las trisomías 13, con una tasa de falsos positivos global de 0,13% (mostraremos los resultados en la Tabla 11).

Tabla 11. Capacidad del TPNI en el cribado de cromosopatías (Metaanálisis de *Gil M. et al*, 2017).<sup>8</sup>

Aneuploidía	Estudios analizados	Casos	Controles	Tasa de detección (%)	Tasa de falsos positivos (%)
<b>Trisomía 21</b>	30	1.963	223.932	99,7 (IC 95%: 99,1-99,9)	0,04 (IC 95%: 0,02-0,07)
<b>Trisomía 18</b>	25	563	222.013	97,9 (IC 95%: 94,9-99,1)	0,04 (IC 95%: 0,02-0,07)
<b>Trisomía 13</b>	23	119	212.883	99 (IC 95%: 65,8-100)	0,04 (IC 95%: 0,02-0,07)
<b>Monosomía X</b>	11	36	7.676	95,8 (IC 95%: 70,3-99,5)	0,14 (IC 95%: 0,05-0,30)
<b>Otras anomalías de cromosomas sexuales</b>	8	17	5.403	100 (IC 95%: 83,6-100)	0,004% (IC 95%: 0,0-0,08)

Para las aneuploidías de los cromosomas sexuales las tasas de detección y la tasa de fallos del test son algo menores. Se analizaron un total de 11 estudios en los que se realizó el análisis de ADN-Ic para un total de 36 gestaciones simples afectas por monosomía X fetal y 7676 sin la misma. Entre los diferentes estudios analizados, la tasa de detección varió entre un 66,7-100%, y la tasa de falsos positivos entre 0-0,49%. En el análisis global, las tasas agrupadas de detección y falsos positivos fueron de 95,5% (IC 95%: 70,3-99,5%) y 0,14 (IC 95%: 0,05-0,38%) respectivamente. La muestra analizada para la detección de aneuploidías de los cromosomas sexuales es demasiado pequeña como para una evaluación precisa del rendimiento del TPNI.<sup>8</sup>

Existen metaanálisis publicados en la misma fecha que analizan un número mayor de estudios, sin embargo, con una muestra menor de gestantes.<sup>219</sup> Así mismo, podemos encontrar publicaciones similares más recientes (2019), pero tampoco alcanzan la muestra del metaanálisis de *Gil et al*. De forma global, todos estos estudios obtienen las mismas conclusiones con cifras de rendimiento del TPNI muy similares.<sup>220</sup>



Debemos recordar que el cribado combinado del primer trimestre (CC1T), *gold standard* actual en el cribado de cromosomopatías, presenta tasas de detección de entre el 85-90% en las mejores series con una TFP del 4,3-5%.<sup>6,7</sup> Comparando estos datos con los analizados previamente, es importante resaltar que el TPNI es actualmente la prueba de cribado más sensible en la detección de aneuploidías.

#### 1.6.6.2. Interpretación de fallos en el test o test no concluyente

Las tasas de fallo y no resultado para las “trisomías clásicas” varían entre el 1-5% dependiendo de la técnica de análisis realizada y del laboratorio. Para las aneuploidías de los cromosomas sexuales suele ser más alta, variando entre el 4-7% según series.<sup>221,222</sup>

Hasta el 50% de los fallos del test pueden ser debidos a una baja fracción fetal. Según el método de análisis, otra razón para que pueda darse un resultado inconcluyente son los tramos largos de homocigosidad (fragmentos con secuencias genéticas idénticas procedentes de los cromosomas derivados del padre y la madre), como en el caso de la disomía uniparental o la cosanguinidad. Incluso cumpliendo todos los parámetros de los controles de calidad, algunos laboratorios ofrecen resultados “limítrofes”, que debe considerarse como positivo y no como un fallo del test.<sup>221</sup>

Los requisitos que un laboratorio establezca para el rendimiento de su test también afectan a su tasa de fallos y, por tanto, esta puede diferir entre laboratorios. Por ejemplo, aquellos laboratorios que prioricen la minimización de FP y FN pueden aceptar una mayor tasa de fallos. Esto podría considerarse apropiado si las muestras proceden de pacientes de alto riesgo. En cambio, otros laboratorios pueden poner más énfasis en ofrecer una tasa más baja de fracaso, considerando los FP y FN una consecuencia inevitable de cualquier test de cribado.

Por último, también es importante considerar si el laboratorio ofrece información sobre el análisis total de los fallos (es decir, fallos en la determinación de las trisomías 13, 18 y 21, las aneuploidías de los cromosomas sexuales y otras interpretaciones como los síndromes de microdelección) o en cambio solo informa sobre aquellos fallos derivados de las “trisomías clásicas” o de alguna de ellas en particular.<sup>127</sup>

El metaanálisis anteriormente comentado, puede tener una posible limitación, ya que las tasas de no resultado o fallos del test, así como las razones de estos fallos, no fueron informados de forma constante en todos los estudios incluidos. Las tasas de errores en la extracción de la sangre y el transporte de la muestra oscilaron entre un 0,03 y un 11,1%, y las tasas de no resultado en las muestras analizadas variaron entre el 0-12,2%. Basándonos en los datos publicados, los autores no pueden ofrecer una explicación a un rango tan amplio de fallos entre los diferentes estudios.<sup>8</sup> El motivo principal de un resultado fallido, como sabemos, es la baja fracción fetal. Como ya hemos adelantado, la fracción fetal puede ser más baja en las trisomías 18 y 13, pero no en la 21. Por este motivo, embarazos con fallos en la prueba pueden aumentar el riesgo de trisomía 18 y 13 (y sobreestimar discretamente su tasa de detección), pero no de la trisomía 21.<sup>163,164</sup>

### 1.6.6.3. Falsos positivos y falsos negativos del test

Existen múltiples motivos por los que el diagnóstico obtenido mediante el test prenatal por análisis de ADN fetal libre circulante no concuerde con el obtenido mediante la prueba invasiva de referencia, y en el 67% de los casos no seremos capaces de encontrar el motivo.<sup>223</sup> Es importante reconocer los casos en los que la muestra de ADN concuerda con el genotipo placentario (analíticamente correcta), pero los resultados no concuerdan con el fenotipo fetal (clínicamente incorrecta). En la práctica, la sensibilidad y la especificidad clínica son más importantes que dichos parámetros a nivel analítico.<sup>127</sup>

Cuando detectemos un falso positivo o negativo del test, es importante realizar un seguimiento estrecho del caso, analizando en la medida de lo posible la placenta tras el parto y, sobre todo, comunicando las discordancias a los laboratorios de referencia para una mejor comprensión de sus limitaciones.<sup>202</sup>

#### 1.6.6.3.1. Posibles causas de resultados falsos positivos

Un falso positivo del test sería aquel resultado en el que el análisis de ADN fetal libre circulante indica una anomalía cromosómica, en un feto no afecto.

- Mosaicismos confinados a placenta: dado que la fuente principal de ADN fetal libre circulante en el torrente sanguíneo materno son las células del sincitiotrofoblasto (placentarias), el test puede dar un resultado relativo al genoma de la placenta, que puede diferir del fetal. Es un caso de test analíticamente correcto pero erróneo clínicamente. La experiencia derivada del estudio de las biopsias de vellosidades coriales nos indica que esto puede ocurrir en 1-2% de los embarazos, y es más probable para la monosomía del cromosoma X y la trisomía 13, que para las trisomías 21 o 18.<sup>224-228</sup>
- Gemelo evanescente: si este tenía una carga genética aneuploide, su correspondiente placenta sigue presente en el momento del test y continúa liberando ADN semanas tras la pérdida del embrión. Si el crecimiento de este embrión se produce en fases tempranas del embarazo, podría incluso no visualizarse ecográficamente y simular una gestación única.<sup>127,229</sup>
- Mosaicismo materno: mayoría de las técnicas de análisis del ADN-Ic asumen que la madre posee un cariotipo normal, pero esto no siempre es cierto. Es posible que algunas personas pierdan un cromosoma X en un pequeño porcentaje de sus células con los años. La detección de niveles bajos de la señal que proyecta el cromosoma X en el test de ADN-Ic puede atribuirse al ADN fetal, y diagnosticar un Síndrome de Turner fetal erróneamente.<sup>230</sup>
- Cáncer materno: algunos tumores malignos pueden liberar ADN libre circulante tumoral al torrente sanguíneo, lo que contribuye a aumentar la cantidad total de ADN-Ic, causando errores en los test diagnósticos (al considerarse estas muestras parte de la fracción fetal). No todos los test comerciales son capaces de identificar patrones sugestivos de ADN tumoral libre circulante (ADNt-Ic). Un estudio que realizó test a 450000 gestantes, identificó 55 casos con muestras de ADNt-Ic; 40 de ellos se confirmaron como neoplasias maternas, 20 fueron miomas uterinos benignos, 18 tumores malignos (7 ya conocidos) y 2

inclasificados. Por lo que se detectaron 11 neoplasias maternas no diagnosticadas entre 450.000 pacientes (1 de cada 41.000).<sup>231-234</sup>

- Variantes en el número de copias maternas: los métodos de análisis del ADN-*lc* asumen que cada mujer es portadora de la misma proporción de material genético en un cromosoma, sin embargo, existen variantes en el número de copias (heredadas o *de novo*) que hacen que los cromosomas varíen ligeramente entre individuos. En estas personas, la secuenciación del ADN-*lc* podría dar un resultado positivo cuando el tamaño de la duplicación materna es relativamente mayor y se da en un cromosoma de estudio (por ejemplo, el 21).<sup>221,222</sup>
- Gestante trasplantada: en aquellos casos en los que la madre haya recibido un trasplante obtenido de un donante masculino, al liberar ADN-*lc* desde el órgano donante a la circulación, con cromosomas Y, el TPNI identificar incorrectamente a un feto femenino como masculino.<sup>235</sup>
- Transfusión de hemoderivados reciente: el material genético del donante puede permanecer en la sangre del receptor hasta 4 semanas, por lo que esta situación también puede ser una fuente de errores diagnósticos (por ejemplo, del sexo fetal).<sup>236</sup>
- Errores técnicos de laboratorio (pueden generar tanto falsos positivos como falsos negativos).
- Azar: los resultados falsos positivos también pueden ser debidos a la probabilidad estadística, ya que el punto de corte para que un test resulte positivo suele establecerse en +3 DE (desviaciones estándar). Por tanto, para cada 100.000 pruebas se espera que unos 100 resultados falsos positivos ocurran por azar.<sup>127</sup>

#### 1.6.6.3.2. Posibles causas de resultados falsos negativos<sup>127</sup>

Un falso negativo del test sería aquel resultado en el que el análisis de ADN fetal libre circulante indica que un feto es normal, cuando en realidad posee una anomalía cromosómica.

- Mosaicismos confinados a placenta: al igual que esto puede dar lugar a resultados erróneamente positivos, como se ha explicado anteriormente, igualmente podría ocurrir lo contrario, que se obtuviera un resultado negativo al analizar células placentarias euploides mientras que la carga genética del feto es aneuploide.
- Fracción fetal límite: cuando un test posee una fracción fetal baja, pero dentro de los límites de lo que se considera adecuado (por ejemplo, entre 3-5%), existe una diferencia muy pequeña entre el porcentaje esperado (referencia de normalidad) y el porcentaje observado de fragmentos de los cromosomas a estudio (por ejemplo, del cromosoma 21). Si no se secuencian una cantidad

suficiente de fragmentos, al no identificar esta diferencia los resultados se informarán erróneamente como negativos.

- Variantes en el número de copias maternas: por el mismo mecanismo explicado anteriormente.
- Errores técnicos: el bajo contenido de guanina citosina del cromosoma 13 da errores en la *PCR* como se ha explicado con anterioridad, generando tasas de detección menores que para otras aneuploidías. Algunos laboratorios han intentado corregir este error mediante análisis bioinformático, no dando siempre resultado. En ocasiones, errores en la mezcla de muestras u otros problemas técnicos pueden causar falsos negativos laboratorio-dependientes.

#### 1.6.6.4. Interpretación del valor predictivo

Los valores predictivos de un test son variables y dependen de la prevalencia de la enfermedad a estudio dentro de la población de referencia. La sensibilidad y la especificidad, sin embargo, son características propias del test y no se modifican al variar la prevalencia. De esta forma, la sensibilidad y especificidad de una prueba diagnóstica le dan validez interna, mientras que los valores predictivos aportan validez externa (la que se obtiene al aplicar la prueba a un entorno poblacional).

La prevalencia se relaciona directamente con el valor predictivo positivo (VPP), e inversamente con el valor predictivo negativo (VPN), de tal forma que, si aumenta la prevalencia de una enfermedad, aumenta el VPP del test y disminuye el VPN, y a la inversa.

Dado que la prevalencia de aneuploidías es *a priori* baja en la población general, los valores predictivos negativos (VPN) para el TPNI son muy altos ( $\geq 99,9\%$ ).<sup>237</sup>

El VPP del TPNI es mayor que para otros métodos de cribado, como el CC1T y también es mayor en la población de mayor riesgo (al aumentar la prevalencia). Por esto último, los laboratorios deberían informar de forma ideal de los resultados en base al riesgo individual de la paciente (edad, hallazgos ecográficos, antecedentes, marcadores bioquímicos alterados, etc.), sin embargo, la mayoría de ellos tan solo informan del riesgo promedio en mujeres con detección positiva (VPP), considerando únicamente su edad.<sup>127</sup>

En la Tabla 12 podemos observar los valores predictivos del TPNI comparados con los proporcionados por el CC1T y específicos de cada cromosopatía.

Tabla 12. Valores predictivos positivos y negativos del cribado de aneuploidías mediante cribado combinado *versus* ADN-Ic.<sup>169</sup>

Trisomía	Tipo de cribado	Aplicación del test			
		Población general		Población de alto riesgo	
		VPP (%)	VPN (%)	VPP (%)	VPN (%)
21	Combinado	5 (1:20)	99,8 (600:1)	15 (1:6)	>99,9 (2200:1)
21	ADN fetal libre circulante	85 (6:1)	>99,9 (20.000:1)	95 (21:1)	>99,9 (>30.000:1)
18		69 (2:1)	>99,9 (12.000:1)	89 (8:1)	>99,9 (>30.000:1)
13		33 (1:2)	>99,9 (20.000:1)	68 (2:1)	>99,9 (>30.000:1)

VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo ;Población general=incluye a todas las gestantes de EEUU en 2015; Población de alto riesgo=gestantes de 35 años o más en la misma población. La prevalencia de las trisomías 21, 18 y 13 en el primer trimestre de gestación en la población general es de 1:340, 1:1100 y 1:3500, respectivamente. Mientras que en la población de alto riesgo es de 1:100, 1:340 y 1:1200.

Dado que la trisomía 18 es menos común (incluso en poblaciones de alto riesgo), el VPP es menor que el del Síndrome de Down (más prevalente). Sin embargo, con el TPNI, el VPP para el Síndrome de Edwards resulta bastante más alto que el mismo valor para el Síndrome de Down con el cribado combinado de primer trimestre. Por último, para el Síndrome de Turner, al no estar influenciado por la edad materna, se espera que el VPP sea igual para la población general que el grupo de mujeres mayores de 35 años. Sin embargo, si consideráramos otros aspectos “de riesgo” (hallazgos ecográficos, aumento de la TN, etc), deberíamos observar un aumento del VPP.<sup>169,238</sup>

Los laboratorios que han comercializado el TPNI para aneuploidías, no han enfatizado en la diferencia entre sensibilidad y valor predictivo positivo. Es necesario que las gestantes comprendan que, si reciben un resultado positivo para trisomía 21, la probabilidad de que el feto realmente esté afecto es menor al 99% (es decir, el VPP es menor que la sensibilidad). Así mismo, aquellas que reciben un resultado negativo deben saber que la probabilidad de que el feto esté sano (VPN), es alta, pero también depende de otros múltiples factores.<sup>127</sup>

## 1.6.7.INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS Y SEGUIMIENTO

### 1.6.7.1. Implicaciones de un resultado positivo o de “alto riesgo”

Siempre es necesario confirmar mediante una técnica invasiva en la que se obtenga tejido fetal un resultado positivo o de “alto riesgo” del TPNI. Dado que el origen del ADN-Ic no es fetal sino placentario, aunque la técnica fuera perfecta, el TPNI nunca podrá ser diagnóstico.

Al realizar el TPNI de una forma tan temprana (puede realizarse a partir de la semana 10), el tiempo de espera hasta la realización de una amniocentesis (no puede hacerse hasta la semana 15-16) es muy largo, por lo que puede genera ansiedad en los padres.<sup>29</sup> Dado que tras estudiar los resultados de más de 2000 biopsias coriales, se ha concluido que el 97% de las muestras son informativas y sólo un 3% de ellas precisa de amniocentesis posterior para excluir mosaicismos confinados a placenta, podemos utilizar esta técnica para el diagnóstico definitivo en casos de TPNI positivos. Sin

embargo, se sabe que en los casos de trisomía 13 y monosomía X dan con más frecuencia mosaicismos de placenta, por lo que cuando el TPNI detecte estas anomalías y el examen ecográfico sea normal, estará indicado esperar para realizar una amniocentesis.<sup>228,239</sup>

Para los trastornos en los que el diagnóstico definitivo no afecte a la continuidad o al control del embarazo (por ejemplo, las aneuploidías de cromosomas sexuales), se consideraría razonable la decisión de los padres de retrasar las pruebas diagnósticas hasta el nacimiento.<sup>127</sup>

#### 1.6.7.2. Implicaciones de un resultado negativo o de “bajo riesgo”

Cuando se obtiene un resultado negativo o de “bajo riesgo” en el TPNI, es altamente improbable que el feto esté afectado por las trisomías estudiadas. Por este motivo, a aquellas pacientes que obtengan un test negativo, no se les ofrece por lo normal la realización de una prueba invasiva, a no ser que desarrollen posteriormente una indicación de la misma por otro motivo como, por ejemplo, un hallazgo de una malformación mayor en la evaluación ecográfica del segundo trimestre (no así cuando se trate de un “marcador blando” aislado).<sup>127,202</sup>

#### 1.6.7.3. Resultado no concluyente o “no resultado”

Esto ocurre en el 1-5% de los test de ADN fetal libre circulante, principalmente por fracciones fetales insuficientes. Como ya se ha comentado, algunas situaciones como la obesidad materna pueden aumentar este porcentaje.<sup>127,163,164</sup>

Cuando nos encontremos ante esta situación, se plantean dos opciones. En primer lugar, podemos repetir el test en el laboratorio en caso de que no haya ninguna situación que lo impida (largas regiones de homocigosidad). En este caso, debemos informar a los padres de que en más de un 60% de los casos obtendremos un resultado en un segundo intento.

Por otra parte, es posible que los padres deseen evitar la ansiedad de repetir de nuevo el test, y por tanto deberíamos indicar una prueba invasiva para obtener un diagnóstico definitivo. Este caso está especialmente indicado en aquellas pacientes que dispusieran de un método de cribado previo con resultado de alto riesgo de cromosomopatías.<sup>164</sup>

### 1.6.8. SITUACIONES ESPECIALES

Existen una serie de particularidades en la aplicación del TPNI que detallaremos a continuación.

#### 1.6.8.1. Gestación múltiple

Unos pocos estudios han demostrado que el TPNI es también factible en gestaciones gemelares (salvo los que utilizan el método *SNP* para el análisis), aunque el número de casos estudiados es todavía muy pequeño para poder hablar del rendimiento del test con precisión.<sup>8</sup>

Cuando existe más de un feto, cada uno de ellos contribuye de forma diferente al total de ADN-*lc* en sangre materna por lo que, en caso de una gestación bicorial en la que un gemelo esté afecto por una trisomía y el co-gemelo sea euploide, puede ocurrir

que el gemelo afecto contribuya en una proporción menor al 4% pero el total de ADN fetal libre circulante analizado supere el punto de corte a expensas del gemelo sano, generando un resultado falso negativo. Para solventar este tipo de problemas, los laboratorios han establecido mecanismos para asegurar un mínimo suficiente para gemelo: subir el punto de corte para el cual ofrecer un resultado o no, del 4 al 6-8%, o determinando la fracción fetal individual de cada gemelo y ofreciendo resultados sólo si cada uno por separado supera el 4%.<sup>8,240-243</sup>

Debido a estas particularidades, en las gestaciones gemelares, la tasa de no resultados es mayor que en únicos.<sup>171</sup> Si explicamos esta limitación a las gestantes que van a someterse al test, parece razonable su utilización en este tipo de embarazos.

Un metaanálisis publicado en 2019 por *Gil et al.* (grupo de *Nicolaidis*) aporta los siguientes datos sobre el rendimiento del TPNI en gestantes:

Tabla 13. Capacidad del TPNI en el cribado de cromosomopatías en gestaciones gemelares (Metaanálisis de *Gil M. et al*, 2019).<sup>244</sup>

Aneuploidía	Estudios analizados	Casos	Controles	Tasa de detección (%)	Tasa de falsos positivos (%)
<b>Trisomía 21</b>	8	56	3.718	98,2 (IC 95%: 83,2-99,8)	0,05 (IC 95%: 0,01-0,26)
<b>Trisomía 18</b>	5	18	3.143	88,9 (IC 95%: 64,8-97,2)	0,03 (IC 95%: 0,00-0,33)
<b>Trisomía 13</b>	3	3	2.569	66,7*	0,19*

\*Muestra demasiado pequeña para establecer validez de los resultados

Sin embargo, cuando el número de fetos aumenta, este problema se acrecienta, por lo que actualmente no existen test con los que ofrecer resultados fiables en gestaciones de tres fetos o más.<sup>229</sup>

#### 1.6.8.2. Hallazgo de malformaciones en la evaluación ecográfica

Por consenso entre las diferentes Sociedades Científicas, siempre que se produzcan hallazgos de malformaciones fetales mayores en la evaluación ecográfica del primer trimestre, debe recomendarse una técnica invasiva para el diagnóstico prenatal. Esto es debido no solo a la alta prevalencia de las “trisomías clásicas” en este grupo de fetos, sino también por la posibilidad de encontrarse ante otras anomalías genéticas que se escapan al alcance actual de los TPNI.<sup>10,236,245</sup>

#### 1.6.9. ASPECTOS ECONÓMICOS

La sofisticada tecnología que precisa el análisis de muestras de material genético por parte de los laboratorios, así como la necesidad de realizarse por técnicos experimentados, hacen del TPNI una herramienta diagnóstica mucho más costosa que las pruebas de cribado habituales.

Las estimaciones de la implementación de un TPNI de forma universal suponen un incremento de gastos de unas 3,63 veces, excediendo el costo vital de un nacimiento con Síndrome de Down para el sistema, y el de los costos derivados de pérdida fetal evitada al remplazarlo por el método de cribado habitual.

Tabla 14. Comparación económica entre cuatro políticas de instauración del TPNI: rendimiento, costo marginal por nacimiento evitado con Síndrome de Down y costo promedio por pérdida fetal evitada, según el coste unitario del test.<sup>246</sup>

Política de cribado		Rendimiento		Costos marginales por nacimiento evitado con S.Down por coste unitario de ADN-Ic de:			Costo promedio por pérdida fetal evitada por coste unitario de ADN-Ic de:		
CC1T	TPNI	TD (%)	TFP (%)	1500 \$	1000 \$	500 \$	1500 \$	100 \$	500 \$
Ninguno	Todos	99,3	0,16	5,84	3,63	1,42	9,47	5,89	2,31
Todos	Contingente								
	10%	90,4	0,016	1,11	0,65	0,19	0,82	0,48	0,14
	15%	92,8	0,024	1,39	0,86	0,32	1,33	0,82	0,30
	20%	94,4	0,032	1,67	1,05	0,44	1,85	1,16	0,48
<35 años	≥35 años	85	2,1	2,90	1,73	0,57	2,35	4,41	0,46
<35 años	≥35 años o CC1T positivo	84,7	0,017	3,69	2,02	0,37	0,81	0,44	0,08

ADN-Ic: ADN libre circulante; CC1T: cribado combinado de 1er trimestre; TPNI: test prenatal no invasivo; TD: tasa diagnóstica, TFP: tasa de falsos positivos

Los beneficios reportados en el *screening* de cromosopatías mediante TPNI residen en el aumento de la tasa de detección respecto al Cribado Combinado de Primer Trimestre, en la consecuente reducción de procedimientos invasivos y por tanto la disminución de la tasa de pérdidas gestacionales asociadas a estos procedimientos, así como en la disminución del número de embarazos con fetos afectados por defectos congénitos que llegan a término. También hay que tener en cuenta los beneficios intangibles, como la disminución de la ansiedad de los padres al poder ofrecer un diagnóstico más temprano.

El mayor beneficio del cribado reside en la detección del Síndrome de Down ya que se trata de la aneuploidía más frecuente, que además tiene elevadas tasas de supervivencia, por lo que supone un elevado coste derivado de actos médicos para los sistemas sanitarios.<sup>247</sup>

A medida que se acumulan datos sobre la superioridad del TPNI en la detección de cromosopatías, hace más evidente que debe ser ofrecido a todas las gestantes. Pero, ¿son los Sistemas Sanitarios capaces de asumir estos costes? La introducción del TPNI en el sistema público puede suponer un importante impacto en los presupuestos. Las diferentes publicaciones disponibles hasta la fecha nos indican que la aplicación universal del test no es rentable en el análisis de costo-efectividad a nivel global.<sup>247,248</sup>

Por este motivo, se comenzaron a realizar estudios para su aplicación en un modelo contingente. Aunque hasta la fecha no hay suficientes datos al respecto, parece que el TPNI es más rentable como prueba de segundo nivel. La disminución del precio del test gracias a la competencia entre laboratorios y a la extensión de su uso a lo largo de los diferentes sistemas de salud podría hacer que fuese más rentable su implantación.<sup>249</sup>



De hecho, en los últimos años ya se ha comenzado a evidenciar una disminución en los precios del análisis de ADN libre circulante. Publicaciones internacionales del año 2015 hacen referencia a precios unitarios en torno a los 750\$ (690€) para el TPNI y a los 370\$ (340€), mientras que en estudios de costo-efectividad más recientes (2019) el precio del TPNI se encuentra en torno a los 490\$ (450€), frente a 200\$ (185€) para el CC1T.<sup>247-250</sup>

Actualmente, los precios sanitarios públicos de los servicios sanitarios prestados por medio del Sistema Andaluz Público de Andalucía, publicados en el BOJA nº92 del 15/5/2018, sitúan el precio del test de ADN-1c en 310€, frente a 120€ para el cribado combinado de primer trimestre.<sup>251</sup>

En el siguiente capítulo detallaremos los diferentes modelos de implantación posibles para el TPNI.

#### 1.6.10. APLICACIÓN CLÍNICA DEL TPNI

Se ha puesto en evidencia que el TPNI es altamente efectivo en el cribado de cromosomopatías, y tan solo supone para la paciente la toma de una muestra de sangre periférica, por tanto, debería ser rápidamente introducido a todos los niveles en la práctica clínica habitual.

Sin embargo, como hemos adelantado, su expansión está limitada fundamentalmente por su precio, ya que todavía es una prueba relativamente costosa. Además, existe una falta de consenso sobre la forma de introducción más óptima para la obtención del mayor rendimiento de la prueba a la vez que se mantienen todas las ventajas de los métodos existentes.<sup>202</sup>

A continuación, analizaremos las diferentes posibilidades de aplicación clínica del análisis de ADN fetal libre circulante en sangre materna.

##### 1.6.10.1. Cribado primario o universal:

En este método, se utiliza una única prueba de cribado.

Aunque el cribado mediante TPNI tiene mejor rendimiento que el CC1T para las trisomías 21, 18 y 13 (mayor tasa de detección y menor tasa de falsos positivos), los sistemas sanitarios son cautelosas a la hora de establecer su utilización como prueba de cribado primario para la población general.

Esto ocurre por varios motivos: en primer lugar y como ya se ha detallado, el coste más alto del TPNI frente a los test bioquímicos que componen el cribado combinado de primer trimestre supone una derivación de los recursos sanitarios difícilmente justificable en el sistema público; por otra parte, existen dudas sobre la disponibilidad de asesoramiento prenatal adecuado antes de la prueba y de consejo genético en las pacientes con un *screening* de bajo riesgo; y por último, la falta de consenso respecto a la forma de proceder en el seguimiento de aquellas mujeres en la población general que tienen un test con resultados no concluyentes (hasta un 5%).<sup>218</sup>

En el caso de que se superaran todas estas barreras, existirían dos formas de aplicar el TPNI como único método de cribado:

- Realización del test de ADN-Ic en semana 10 y la evaluación ecográfica del primer trimestre en las semanas 11-13: la mayor ventaja de tomar la muestra de sangre materna en la semana 10 radica en que dispondríamos de los resultados del cribado en el momento de la evaluación ecográfica. Además, permitiría realizar el cribado combinado de rescate en aquellos casos de resultados no concluyentes. Sin embargo, sería necesaria otra ecografía previa al TPNI para determinar la viabilidad, número de fetos, datar la gestación y detectar anomalías muy evidentes. Otros inconvenientes serían la realización del test de forma innecesaria a gestaciones que se interrumpían de forma espontánea tras la toma de la muestra o a aquellas que en la evaluación ecográfica de las 11-13 semanas se detecten malformaciones que precisen de una técnica invasiva para diagnosticar otro tipo de alteraciones cromosómicas.<sup>202,252-254</sup>
- Realizar el TPNI tras la evaluación ecográfica de primer trimestre (semanas 11-13): tras comprobar la viabilidad fetal y la ausencia de malformaciones se procedería a realizar el análisis de ADN-Ic para el cribado de aneuploidías. Juega en contra de esta estrategia el hecho de perder la posibilidad de realizar el cribado combinado de rescate a las gestantes con TPNI no concluyente. Sin embargo, con la progresiva disminución del tiempo de resultados gracias a los avances tecnológicos, es probable que este factor no sea condicionante en el futuro.<sup>202</sup>

#### 1.6.10.2. CRIBADO SECUNDARIO

En este método, el TPNI se utilizaría en un segundo plano tras estratificar el riesgo mediante el método de cribado de referencia actual (CC1T) y los hallazgos de la ecografía del primer trimestre.

La ventaja de un cribado secundario radica en la posibilidad de aumentar la validez interna del test (sensibilidad y especificidad). La alta especificidad de la suma de ambos métodos de cribado permitirá una gran reducción en el número de técnicas invasivas innecesarias, así como de los costes asociados a las mismas. La alta sensibilidad del TPNI contribuirá a garantizar que escasas mujeres gestantes de un feto afecto se reclasifiquen en un riesgo bajo erróneamente (pocos falsos negativos).<sup>218</sup>

##### 1.6.10.2.1. MODELO CONTINGENTE

En este modelo se propone la aplicación de una primera prueba de cribado (CC1T) mediante la cual se estratifica el riesgo, en función del cual serán sometidas bien a una segunda prueba de cribado (en este caso el TPNI) o a una prueba que confirme el diagnóstico de sospecha. Esta es la forma más habitual de integrar el TPNI como cribado secundario para el cribado de trisomía 21, 18 y 13.

En base al riesgo del test primario se establecerían las siguientes pautas de actuación:

- Alto riesgo: Se recomienda la realización de técnicas invasivas o una segunda prueba de cribado (TPNI). Suponen aproximadamente entre el 3-5% de las pacientes.

- Bajo riesgo: Finaliza el cribado y no se considera necesaria la realización de pruebas diagnósticas. El 80-85% de las pacientes pertenecen a este grupo.
- Riesgo intermedio: de primera elección se realiza la segunda prueba de cribado, tras ser informadas. En el caso de que el segundo test ofrezca un resultado de alto riesgo, se procederá a la realización de una técnica diagnóstica invasiva. Entre el 10-15% de las pacientes presentan un riesgo en rango intermedio.

La ventaja de este tipo de cribado contingente, es que tiene el potencial de aumentar las tasas de detección del *screening* ya que se está ofreciendo una evaluación secundaria al 10-15% de la población, lo que permite reducir los falsos positivos, evitando técnicas invasivas innecesarias. La detección real y las tasas de falsos positivos para un modelo contingente dependen de la proporción de pacientes que se encuentren en el grupo de riesgo intermedio, y esto a su vez depende de los puntos de corte que se establezcan para cada grupo de riesgo.<sup>256</sup>

Diversos grupos han evaluado la aplicación del TPNI en un modelo contingente en los últimos años, estableciendo diferentes puntos de corte en función de los análisis de costo-efectividad.<sup>257-260</sup>

En la Tabla 14 se muestra el porcentaje de la población que necesitaría TPNI, así como la tasa de detección del cribado y la tasa de pruebas invasivas que supondrían diferentes puntos de corte:

Tabla 15. Necesidad de TPNI según diferentes puntos de corte del CC1T (modelo contingente), sus tasas de detección y de técnicas invasivas.<sup>10</sup>

Punto de corte (1 en X)	ADN- Ic (%)	TD T21 (%)	TD T18/13 (%)	% Técnicas invasivas
100	2,6	86,7	88,9	0,52
200	4,3	90,1	91,4	0,54
300	5,8	91,5	92,6	0,56
400	7,1	92,5	93,2	0,56
500	8,3	93,2	93,8	0,57
1.000	13,4	95,6	95,1	0,61

TD: tasa de detección

El grupo de *Chity et al.* establece el “riesgo alto” para aquellas gestantes con un riesgo  $\geq 1/150$ , “riesgo intermedio” entre  $1/151$  y  $1/1000$ , y riesgo bajo para las gestantes con riesgo de cromosomopatías  $\leq 1/1000$ .

#### 1.6.10.2.2. MODELO REFLEXIVO<sup>261</sup>

En este modelo se aplicarían igualmente dos pruebas de cribado consecutivas en función de la misma estratificación del riesgo. Sin embargo, los que abogan por este modelo proponen la extracción de la sangre para realización del análisis de ADN-Ic en el mismo momento en el que se recoge suero para la determinación de los marcadores bioquímicos del cribado combinado.

La ventaja de esta forma de realizar el cribado es que precisa tan solo de una extracción y en las pacientes de riesgo intermedio, el laboratorio analiza directamente el ADN-Ic e informa del resultado, anulando la necesidad de una visita intermedia de asesoramiento. Este método pretende ahorrar tiempo y recursos.

Sin embargo, existe un gasto adicional debido a la recolección inicial de muestras de plasma en el 100% de las pacientes, cuando tan solo el 10-15% de ellas precisarán el segundo análisis.

En general, las tasas de detección y de falsos positivos son más predecibles con este modelo, y son equivalentes al rendimiento del modelo contingente.

#### 1.6.11. SITUACIÓN ACTUAL DEL TPNI EN EL CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS

En España, como en muchos países de Europa, el CC1T es el método de cribado de cromosomopatías, tanto en entornos privados como públicos. Sin embargo, a diferencia de otros países europeos, el cribado de cromosomopatías todavía no forma parte de los programas nacionales de cribado españoles y, por lo tanto, no existe una regulación para coordinarlo y controlarlo.

Actualmente la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO), en consenso con la Asociación Española de Diagnóstico Prenatal (AEDP), ha actualizado sus directrices para incorporar las pruebas de DNA-Ic como una opción de detección. Sugiere un cribado contingente estableciendo los puntos de corte en  $>1/50$  (riesgo alto),  $1/51-1/250$  (riesgo intermedio) y  $<1/250$  (riesgo bajo). En este caso, a las pacientes de riesgo alto se les realizará siempre una técnica invasiva, las de bajo riesgo no precisarán más pruebas, dejando el TPNI para aquellas pacientes de riesgo intermedio.

El objetivo de esta recomendación es reducir la tasa de procedimientos invasivos sin modificar la capacidad de detección de cromosomopatías ni aumentar el costo del cribado; pero esta metodología aún no ha sido aplicada de forma práctica en población general de bajo riesgo.<sup>10</sup>

Así, los objetivos de nuestro estudio son, por una parte, analizar la influencia de la implementación de forma contingente del TPNI en la capacidad de detección de cromosomopatías, evaluar la aceptabilidad de los pacientes de la realización del TPNI y por último valorar la diferencia en los costos después de implementar esta nueva metodología de cribado.

## 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

## 2.1. HIPÓTESIS

La realización de un test contingente con aplicación de ADN libre circulante supone una reducción de la realización de técnicas invasivas manteniendo los resultados en comparación con un cribado combinado de primer trimestre como método de cribado de cromosopatías.

## 2.2. OBJETIVOS

### 2.2.1.OBJETIVOS PRIMARIOS:

Al aplicar un cribado de cromosopatías basado en un test contingente con aplicación de ADN-Ic reduce la tasa de realización de técnicas invasivas de un 5% a un 3%, manteniéndose la tasa de detección de un Cribado Combinado de Primer Trimestre.

### 2.2.2.OBJETIVOS SECUNDARIOS:

1. Constatar que se consigue una instauración universal del cribado combinado de primer trimestre como método de cribado de cromosopatías, manteniendo una sensibilidad mayor al 80%.
2. Demostrar:
  - a. Que la tasa de doble test no supere el 10% de los cribados, siendo siempre una segunda opción en gestaciones con control de inicio tardío.
  - b. Que la tasa de falsos positivos total de cribado de cromosopatías no supera un 5% de la población cribada.
3. Confirmar que la metodología contingente con aplicación de ADN-Ic es aceptada por más del 80% de las gestantes a las que se les oferta.
4. Constatar que la instauración de la metodología contingente con aplicación de ADN-Ic no supone un incremento de los costos de forma significativa, mayor a un 5%.
5. Evaluar comparativamente en términos de sensibilidad, tasa de falsos positivos y costos la metodología contingente con aplicación de un test prenatal no invasivo según diferentes puntos de corte.

### 3. MATERIAL Y MÉTODO

### 3.1. MATERIAL

En nuestro estudio se incluyeron 7.719 gestantes con embarazos controlados en el Área Sanitaria Sur de Sevilla, pertenecientes a la Unidad de Gestión Clínica del Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme. Dichas pacientes realizaron los controles relativos a la gestación entre septiembre de 2.016 y julio de 2.019.

#### 3.1.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO

Para este estudio se recogieron los datos sobre el grupo de gestantes del Área Sanitaria Sur de Sevilla a quienes se les aplicó de forma universal el test combinado de cromosopatías de primer trimestre incluido en la cartera de servicios de la Junta de Andalucía como parte del protocolo de embarazo, parto y puerperio. Como método de rescate de cribado se aplica un Doble Test. En función del riesgo obtenido en dicha prueba, se les realizó una ecografía entre las 12 y las 17+6 semanas destinada a diagnosticar alteraciones morfológicas.

##### 3.1.1.1. Criterios de inclusión:

- Gestantes con resultado situado en el CC1T o en el Doble Test.
- Pacientes con edades gestacionales comprendidas entre las 12+6 y las 17+6 semanas de amenorrea.
- Gestantes que, tras ser informadas adecuadamente, acepten la realización de una Ecografía Morfológica Precoz (EMP) y/o Test Prenatal No Invasivo (TPNI) en caso de que procediera, y así lo expresen mediante la firma de un Consentimiento Informado.

##### 3.1.1.2. Criterios de exclusión:

- Gestantes que no acepten la realización del cribado combinado de primer trimestre, habiendo firmado la revocación del consentimiento informado.
- Pacientes con edades gestacionales mayores a 18+0 semanas de amenorrea.
- Gestaciones gemelares.



## 3.2. MÉTODO

El método de cribado de cromosomopatías utilizado en la Unidad de Diagnóstico Prenatal de la Unidad de Gestión Clínica de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme es el cribado combinado de primer trimestre (CC1T).

### 3.2.1. PROCEDIMIENTO

El procedimiento se realizó en los siguientes pasos:

#### 3.2.1.1. Recogida de datos e inclusión en el estudio:

Durante la primera visita de control gestacional en la consulta de Área de los Centros Periféricos del Área Sanitaria Sur de Sevilla, realizada entre las semanas 9-10 de amenorrea por la matrona, se informa a la gestante sobre el cribado de cromosomopatías, tal y como indica el Proceso Integrado de Embarazo, Parto y Puerperio de la Junta de Andalucía. Tanto la información proporcionada como la aceptación o revocación de la paciente para ser incluida en este proceso constan por escrito en el consentimiento informado (se muestra en el Anexo 1).

En la misma visita también se introducen estos datos (características generales de la gestante y datos de filiación) en el programa informático PACAC (Programa Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas), así como en la Historia Clínica Electrónica de la paciente (sistema informático *Diraya*) y en una hoja de cálculo como parte de la base de datos del estudio.

#### 3.2.1.2. Determinación de marcadores bioquímicos de cribado de primer trimestre:

Entre la semana 8+0 y 12+6 de amenorrea se procede a la extracción de sangre periférica a la gestante (siendo más adecuado entre las semanas 9 y 10), para la determinación, entre otros parámetros de importancia para el control del embarazo, de las dos hormonas incluidas en el cribado bioquímico: PAPP-A y f $\beta$ -hCG.

Desde los puntos de extracción de los Centros de Atención Especializada del Área Sanitaria Sur de Sevilla se envían todas las muestras de sangre al Servicio de Bioquímica del Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme, cumpliendo estrictamente las medidas de transporte de productos sanitarios según la normativa vigente, en un plazo máximo de tres horas, adecuando los controles de temperatura óptima.

Las muestras de suero de todas las gestantes se transportan a 4°C hasta que se procesan en el laboratorio mencionado, entre 24-72 horas. Se utilizó el analizador Inmulite 2000 (*Siemens Healthcare Diagnostic Germany*) y los correspondientes reactivos (PAPP-A Inmulite 2000 y beta-hCG Inmulite 2000). El método utilizado para el análisis de la muestra en todos los casos fue enzoinmunoanálisis quimioluminiscente en fase sólida.

### 3.2.1.3. Ecografía de primer trimestre no centralizada como parte del cribado de cromosomopatías de primer trimestre

La primera evaluación ecográfica gestacional se realiza entre las semanas 11+0 y 13+6, cuando la medida del CRL (*crown rump lenght*) se sitúa entre 45 y 84 mm. Dicha ecografía es realizada por obstetras con competencias ecográficas para la realización óptima de esta técnica, adquiridas en la Unidad de Diagnóstico Prenatal del Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme.

Además de la medición del CRL y la translucencia nuchal (TN), que forman parte del cribado combinado de cromosomopatías, se confirma la viabilidad fetal, se establece el número de embriones y la localización de la gestación, según establece la última Guía de Práctica Clínica publicada por la *International Society of Ultrasound in Obstetris and Gynecology* (ISUOG) relativa a ecografía de primer trimestre, recomendada por la *Fetal Medicine Foundation*. Además, se descarta la presencia de malformaciones mayores.

Para dicha evaluación se utilizaron equipos ecográficos situados en las Consultas Periféricas del Área Sanitaria Sur de Sevilla (Alcalá de Guadaira, Dos Hermanas, Morón de la Frontera) con sonda abdominal de 5 MHz o vaginal de 8 MHz en aquellas con mala visualización. Los ecógrafos son los siguientes:

- *Toshiba Famio* (Toshiba, Tokio, Japan)
- *Toshiba Nemio* (Toshiba, Tokio, Japan)
- *Toshiba Xario 200* (Toshiba, Tokio, Japan)

### 3.2.1.4. Cribado bioquímico de segundo trimestre. Doble test.

En aquellas gestaciones de captación tardía en las que no se ha podido realizar el cribado combinado de primer trimestre, se realiza un cribado bioquímico de segundo trimestre entre las 14+0 y las 18+0 semanas de amenorrea.

La determinación hormonal en este cribado consta de la alfa-fetoproteína (AFP) y la  $\beta$ -hCG. La extracción de sangre se realiza en los Centros de Atención Especializada del Área Sanitaria Sur de Sevilla, desde donde se envían dichas muestras al Servicio de Bioquímica del Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme, cumpliendo estrictamente las medidas de transporte de productos sanitarios según la normativa vigente, en un plazo máximo de tres horas, adecuando los controles de temperatura óptima.

Las muestras de suero de todas las gestantes se transportan a 4°C hasta que se procesan en el laboratorio mencionado, entre 24-72 horas. Se utilizó el analizador Inmulite 2000 (*Siemens Healthcare Diagnostic Germany*) y los correspondientes reactivos (AFP Inmulite 2000 y beta-hCG Inmulite 2000). El método utilizado para el análisis de la muestra en todos los casos fue enzoinmunoanálisis quimioluminiscente en fase sólida.

### 3.2.1.5. Integración de datos

La integración de datos para el cálculo del riesgo individual de una embarazada se realiza en el Servicio de Bioquímica del hospital a través del software PACAC versión 2.0 (Sevilla, España). Para obtener dicho resultado, debe multiplicarse el riesgo *a priori*

de la gestante (en base a la edad materna), por el *likelihood ratio* o razón de verosimilitud del perfil de los marcadores (bioquímicos y TN en el caso del primer trimestre).

La razón de verosimilitud es expresada como el cociente entre la altura de la curva de distribución de frecuencia de afectos por Síndrome de Down y la altura de la misma curva de los no afectos a nivel del valor discriminante del marcador considerado, que se expresa en forma de MoM (múltiplos de la mediana).

Los múltiplos de la mediana se obtuvieron del cociente entre el valor medido y la mediana para cada semana de amenorrea, y fueron corregidos en función de características maternas específicas como la raza, el peso, el hábito tabáquico, gemelaridad y técnicas de reproducción asistida avanzada (FIV).

Las medianas empleadas para los marcadores bioquímicos se ajustan cada 4-6 meses en base a nuestra población de gestantes. Los de la TN, sin embargo, se encuentran establecidos de forma fija para cada semana de gestación en el programa utilizado.

#### 3.2.1.6. Técnica invasiva

A las gestantes cuyo cribado ofrece un resultado de alto riesgo o existe un hallazgo ecográfico compatible con una malformación mayor o TN por encima del percentil de normalidad, se le oferta una técnica diagnóstica invasiva, previo consentimiento informado (se adjunta en el anexo 2), para determinación del cariotipo fetal mediante técnicas de cultivo celular. A aquellas que presenten malformaciones mayores o una  $TN \geq 3'5$  mm se les realizará además del cariotipo, un estudio genético por *microarrays*.

#### 3.2.1.7. Test prenatal no invasivo mediante análisis de ADN libre circulante en sangre materna

Para realizar este estudio genético de cribado, se precisa una extracción de sangre periférica materna entre las semanas 12 y 15 de gestación. La muestra se envía para su análisis sin ningún procesamiento adicional, a través de servicios de mensajería, a Madrid (*Harmony TM Prenatal Test. Ariosa Diagnostics. Inc. San José. CA. USA*).<sup>155,262</sup>

El método empleado para el análisis genético de la muestra es DANSR (*Digital ANalysis of Selected Regions*) o CSS (*Chromosome Selective Sequencing*), e incluye un ensayo simultáneo basado en *microarrays* de cromosomas no polimórficos (13, 18 y 21) y *loci* polimórficos, para estimar la proporción de cromosomas y la fracción fetal.

Para proporcionar las evaluaciones de riesgo específicas para cada paciente y trisomía, se utilizó el algoritmo de fracción optimizada de riesgo de evaluación de trisomías FORTE™ (Fetal fraction Optimized Risk of Trisomy Evaluation). Las puntuaciones de riesgo para las trisomías 21, 18 y 13 se representaron en porcentaje, considerándose de “alto riesgo” aquellas por encima del 1%.

En el anexo 3 se adjunta el consentimiento informado para la realización de esta técnica.

### 3.2.1.8. Interpretación de resultados

Para definir los casos se establecieron los siguientes puntos de corte en el riesgo de cromosomopatías según el cribado combinado de primer trimestre:

- BAJO RIESGO ( $<1/270$ ):

En caso de obtener un resultado negativo o de “bajo riesgo” para cromosomopatías, la paciente es derivada al proceso de gestación normal, e informada en la consulta de Área de los Centros Periféricos del Área Sanitaria Sur de Sevilla, por la matrona en torno a la semana 16 de gestación, tal y como indica el Proceso Integrado de Embarazo, Parto y Puerperio de la Junta de Andalucía.

Entre las 18-22 semanas de gestación se completa el cribado de defectos congénitos mediante la realización de una ecografía morfológica fetal en la Unidad de Medicina Fetal y Diagnóstico Prenatal del Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme, previa información a la gestante, que deberá firmar un consentimiento informado (anexo 4). Dicha evaluación ecográfica se realizará siguiendo las recomendaciones de la SEGO (Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia), RCOG (*Royal College of Obstetricians and Gynecologists*) y PACAC (Programa Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas) en cuanto a estructuras a explorar, características técnicas y del personal que debe realizarla. La información será recogida en un modelo *check-list*.

En caso de que durante esta exploración se objetive la presencia de una malformación mayor, se ofertará la realización de una técnica diagnóstica invasiva (amniocentesis).

- ALTO RIESGO ( $\geq 1/270$ ):

En caso de obtener un resultado positivo o de “alto riesgo” para cromosomopatías, la paciente es derivada a la Unidad de Medicina Fetal y Diagnóstico Prenatal del Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme para la realización de una evaluación ecográfica del riesgo de malformación estructural asociada (EMP).

o Ecografía Morfológica Precoz (EMP):

Otras indicaciones, aparte del cribado de alto riesgo, son el antecedente de un defecto congénito en una gestación anterior o padres portadores, así como la sospecha de malformación estructural en la ecografía no centralizada de primer trimestre.

Esta exploración es llevada a cabo mediante el ecógrafo *Toshiba Applio 500* con una sonda abdominal convexa de 9'2MHz, por ecografistas expertos y reuniendo los estándares recomendados por la Guía de Práctica Clínica sobre evaluación ecográfica de primer trimestre publicada por la ISUOG en 2013.

- En caso de hallazgo de alteraciones morfológicas en la EMP, se reclasificará a esta paciente como de “muy alto riesgo”.
- En caso de EMP sin hallazgos patológicos, se propone una segunda prueba de cribado: análisis de ADN-Ic en sangre materna o Test Prenatal No Invasivo (TPNI), revocando en el consentimiento informado la técnica invasiva (Anexo 3).

- Si el TPNI ofrece un resultado de “alto riesgo” de trisomía 21, 13 o 18, se reclasificará a esta paciente como de “muy alto riesgo”.
- En caso de TPNI de “bajo riesgo”, se detiene el proceso, devolviendo a la paciente al circuito de control de la gestación normal.

- MUY ALTO RIESGO ( $\geq 1/50$ , TPNI de alto riesgo, presencia de malformación estructural o TN  $\geq 3'5$  mm):

A las pacientes con criterios de inclusión en este grupo, se les indicará la realización de una técnica diagnóstica invasiva para estudio genético fetal. En caso de aceptar la realización de la misma, y tras firmar un consentimiento informado (anexo 2), se programa su realización en la Unidad de Medicina Fetal y Diagnóstico Prenatal del Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme.

### 3.2.2.METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

#### 3.2.2.1. Tipo de estudio

Se realizó un estudio analítico observacional.

#### 3.2.2.2. Tamaño muestral

Se utilizó el programa *nQuery Advisor 7.0* para determinar el tamaño muestral necesario para el estudio.

Para constatar una disminución de la tasa de falsos positivos del 2% entre el cribado combinado de primer trimestre y la nueva metodología contingente con TPNI, en una población de 7200, son necesarios 622 embarazos sin patologías, asumiendo un error  $\alpha$  del 5%, una potencia  $1-\beta$  del 80% para la prueba y un porcentaje de pérdida del 10%. Este tamaño de la muestra sería suficiente para estimar por intervalos de confianza al 95% la diferencia de tasas de falsos positivos entre pruebas diagnósticas, con un valor esperado de esta diferencia del 2% y una precisión del 1%.

Así mismo, para mantener la sensibilidad del método de cribado en un 85% entre el test combinado y la nueva metodología contingente, serían necesarios 21 embarazos patológicos, asumiendo un error  $\alpha$  del 5%, una potencia  $1-\beta$  del 80% y un porcentaje de pérdida del 10%. Este tamaño de la muestra sería suficiente para estimar por intervalos de confianza al 95% la diferencia de sensibilidades entre pruebas diagnósticas, con un valor esperado de esta diferencia del 20% y una precisión del 10%.

#### 3.2.2.3. Análisis descriptivo

Se utilizaron medias y desviaciones típicas para resumir las variables cuantitativas. En caso de aquellas distribuciones que presentaban una marcada asimetría, se utilizaron medianas y percentiles (p25 y p75).

Las variables cualitativas se describieron mediante frecuencias y porcentajes.

#### 3.2.2.4. Análisis inferencial

El análisis de los datos recogidos se realizó mediante el paquete estadístico *IBM SPSS Statistics 22* y el programa de análisis estadístico *G-STAT 2.0*.

Para realizar la evaluación de los test de cribado (cribado combinado de primer trimestre y modelo contingente con TPNI) se determinaron estimaciones puntuales y por intervalos de confianza al 95% de la sensibilidad, especificidad, proporción de falsos positivos y proporción de falsos negativos.

Se utilizó el test de *McNemar* para la comparación de dos proporciones en muestras apareadas (tasa de falsos positivos y sensibilidad entre los test), complementándose el resultado con los correspondientes intervalos de confianza al 95% de las diferencias de proporciones apareadas, que cuantificaron el decrecimiento en los valores de las tasas de falsos positivos y el incremento en los valores de la sensibilidad.

#### 3.2.3.EVALUACIÓN DE COSTO Y COSTO-EFECTIVIDAD DEL CRIBADO CONTINGENTE CON APLICACIÓN DE ADN-LC

Para la evaluación comparativa de los costos del test combinado y la metodología contingente con aplicación de ADN-Lc se siguieron los precios públicos de los servicios sanitarios prestados por centros dependientes del Sistema Sanitario Público de Andalucía, publicados en el BOJA núm. 92 de 15.05.2018.<sup>251</sup>

En la evaluación de los costos de los mencionados cribados se incluye:

- Costo del test combinado como primer paso de cribado, que incluye el costo de la evaluación ecográfica de primer trimestre y la valoración bioquímica con la inclusión de la determinación de PAPP-A, f $\beta$ -hCG y cálculo del riesgo. Costo de 120€ por test.
- Costo de la realización de técnica invasiva con la inclusión del costo de la prueba genética correspondiente. Costo de 260€ por prueba.
- Costo del test de ADN-Lc. Costo de 310€.
- Costo de la realización y control de la interrupción voluntaria del embarazo. Costo de 323,84€ por proceso.

Otros costos indirectos no se han incluido en la evaluación económica.

## 4. RESULTADOS

---

#### 4.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS PERINATALES. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS PERINATALES. PREVALENCIA DE DEFECTOS CONGÉNITOS, DETECCIÓN DE MALFORMACIONES ESTRUCTURALES.

El Área Sur de Sevilla compone un total de 385.382 habitantes (datos del censo municipal del año 2011), con un número medio de 2.545 partos anuales. A esta área sanitaria pertenecen los municipios de: Alcalá de Guadaíra, Dos Hermanas, El Arenal, Lebrija, Los Palacios y Villafranca, Morón de la Frontera, El Viso del Alcor y Mairena del Alcor.

Durante el periodo de estudio (entre septiembre del 2016 y julio del año 2019) se controlaron 7.719 embarazos en el Área Sanitaria Sur de Sevilla, los cuales resultaron en 7.783 recién nacidos. Se analizaron los datos perinatales correspondientes a dichas gestaciones. En la Tabla 16 se exponen los datos globales referentes a las gestaciones acontecidas en este periodo de tiempo.

Tabla 1. Resultados obstétricos en el Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme entre septiembre de 2016 y julio de 2019.

<b>Número de gestaciones</b>	7.719
<b>Número de gestaciones gemelares</b>	170 (2,2%)
<b>Edad media de las gestantes</b>	31,57 +/- 5,4 (15-47)
<b>Edad gestacional media al parto</b>	39,17 +/- 1,6 (25-42)
<b>Tasas de parto prematuro</b>	
< 37 semanas	11,4 %
< 32 semanas	0,8 %
<b>Tasa de cesárea</b>	21,29%
<b>Tasa de RRNN con peso ≤ 2.500g</b>	8,5 %
<b>Tasa de RRNN con peso ≤ 1.000g</b>	0,40 %
<b>Número de RRNN vivos</b>	7.783
<b>Número de RRNN muertos</b>	32
<b>Número de IVE</b>	74

RRNN: recién nacidos; IVE: interrupción voluntaria del embarazo

El 97,8% de las mismas (7.549) fueron gestaciones únicas y el 2,2% (170) fueron gestaciones múltiples. En cuanto a la vía de finalización del parto, el 56,1% de los partos fueron eutócicos, el 22,6% fueron partos vaginales instrumentados y el porcentaje de cesáreas fue de 21,3 %.

El 18,9% de las gestantes tenían una edad igual o mayor a 35 años, el 6,4% una edad igual o mayor a 38 años y el 2,1% superaban los 40 años, situándose la media de edad en los 31 años.

La edad gestacional media en el momento de la finalización del embarazo fue de 39,17 semanas. El 88,6% de los partos se produjeron a término (entre las semanas 37 y 42 de gestación), mientras que el 11,4% fueron partos pretérmino (por debajo de las 37 semanas).

En cuanto al peso al nacimiento, el 91,5% de los recién nacidos pesaron más de 2.500g, por lo que el 8,5% tuvieron un peso por debajo de dicha cifra. El 0,4% no alcanzó los 1.000g (muy bajo peso al nacimiento).



Durante el control de las 7.719 gestantes a estudio, se detectaron 184 defectos congénitos (malformaciones estructurales y/o cromosomopatías), suponiendo un 2,4% de las mismas. Ya que en el estudio se incluyen gestaciones múltiples, teniendo en cuenta el total de fetos (7.889), la prevalencia se sitúa en un 2,33%. Se contabilizaron 37 casos de cromosomopatías, lo que supone el 20,10% de los defectos congénitos y su prevalencia es de 0,47%. Por medio de la evaluación ecográfica se detectaron 147 casos de malformación estructural, situándose la prevalencia de las mismas intraútero en el 1,90%.

De las gestantes estudiadas, 74 se sometieron a una interrupción voluntaria del embarazo (IVE). En 35 de ellas el motivo fue un diagnóstico de cromosomopatía (47,3%) y en 39 se realizó tras el hallazgo de malformaciones estructurales por ecografía (52,7%).

Durante este periodo, del total de las gestaciones (7.719), en el 0,27% de los casos no fue posible la realización de la ecografía morfológica y en el 3,3% de las gestantes fue necesaria la repetición de la ecografía *a posteriori* por no haber sido efectuado el estudio morfológico completo en la semana 20.

Se contabilizaron 110 casos de anomalías congénitas al nacimiento, de 7.783 recién nacidos vivos, por lo que la prevalencia se encuentra en el 1,41%. Del total de recién nacidos vivos, 112 presentaban malformaciones estructurales (el 1,45% de 7.719 gestaciones). Teniendo en cuenta el número total de fetos (7.889), la prevalencia es del 1,42%. Se contabilizaron 37 casos de cromosomopatías, lo que supone el 20,10% de los defectos congénitos y su prevalencia es de 0,47%.

La sensibilidad de la evaluación ecográfica en la detección de malformaciones estructurales en nuestro centro se sitúa en un 80,27%, con una tasa de falsos positivos del 0,27%. En la Tabla 17 vemos reflejada la tasa de diagnóstico o de casos verdaderos positivos (sensibilidad), la tasa de falsos negativos y la tasa de falsos positivos.

Tabla 2. Sensibilidad, tasa de falsos negativos y tasa de falsos positivos de la ecografía para la detección de malformaciones estructurales.

Nº total malformaciones estructurales	Tasa de Verdaderos Positivos (total fetos afectados)	Tasa de Falsos Negativos (total fetos afectados)	Falsos positivos (total población sana)
147	118 (80,27%)	29 (19,72%)	4 (0,27%)

## 4.2. PREVALENCIA DE CROMOSOMOPATÍAS, CRIBADO COMBINADO DEL PRIMER TRIMESTRE, DOBLE TEST.

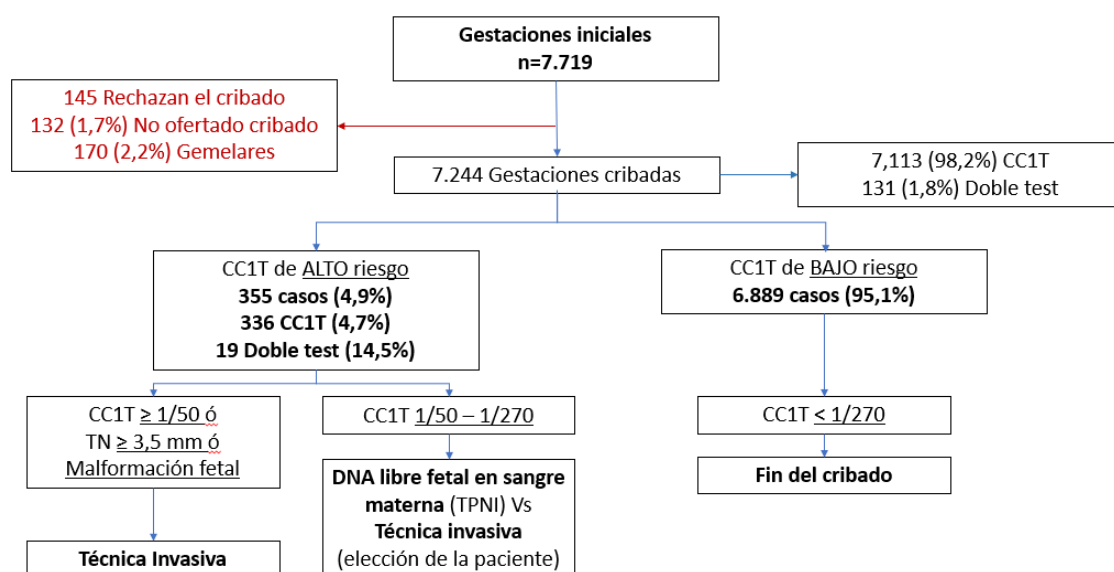
En nuestra población de gestantes, se diagnosticaron 37 casos de cromosomopatías a lo largo del periodo de estudio, constatando una prevalencia del 0,47%. Teniendo en cuenta únicamente los casos que llegaron al final de la gestación (ya que el 95% de estos embarazos se interrumpieron), la prevalencia de cromosomopatías en recién nacidos es de un 0,025%. El 56,7% (21 casos) de las cromosomopatías diagnosticadas correspondieron a Síndrome de Down (trisomía 21), siendo por tanto la más frecuente. En la Tabla 18 se recoge la distribución de las cromosomopatías en el periodo de estudio. El total de cromosomopatías se diagnosticaron en gestaciones simples.

Tabla 3. Distribución de las cromosomopatías en el periodo de estudio.

TIPO DE CROMOSOMOPATÍA	NÚMERO/TOTAL (%)
Trisomía 21	21 (56,7%)
Trisomía 18	9 (24,3%)
Trisomía 13	2 (5,4%)
45 X0	2 (5,4%)
Otras	3 (8,1%)
<b>TOTAL</b>	<b>37 (100%)</b>

Se ofertó el cribado de cromosomopatías a 7.587 gestantes (el 98,29% del total de las gestaciones controladas). No fue ofrecido al 1,71% restante. 145 gestantes revocaron el consentimiento informado para la realización del cribado de cromosomopatías, lo que supone el 1,87%. El 2,2% de las gestaciones fueron gemelares (170 pacientes). El 98,19% de las pacientes cribadas se sometió al CC1T (7.113 gestantes) y el 1,81% se realizó un doble test en el segundo trimestre (131 casos). Se representa en la Figura 2.

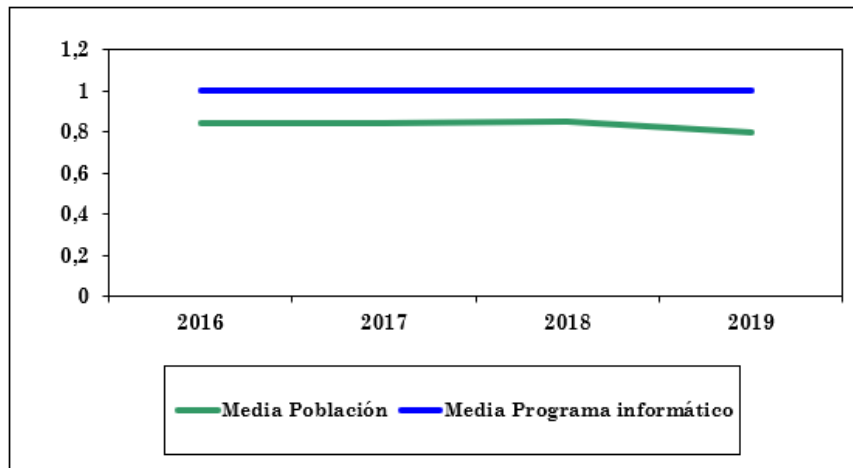
Figura 1. Distribución del cribado de cromosomopatías en el grupo de estudio (n=7719).



CC1T: Cribado combinado de primer trimestre; TN: Translucencia nucal; TPNI: test prenatal no invasivo

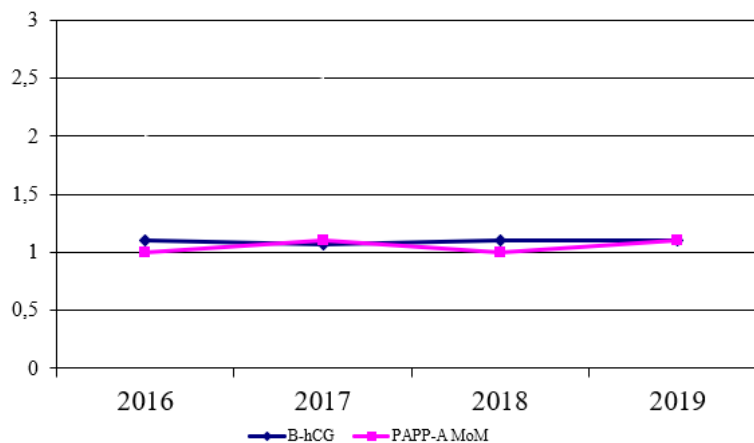
El CC1T se realiza de forma consecutiva con una edad gestacional media en la extracción bioquímica a las 9 semanas y en la valoración de la TN a las 12 semanas con un CRL medio de 52 mm. En un 1,6% de los casos fue necesaria la reevaluación ecográfica de la TN por imposibilidad técnica en la primera visita. Se observa que la valoración media de la TN a todas las edades gestacionales es de 0,87 MoM por debajo de la media que aporta el programa PACAC (Gráfica 3).

Gráfica 3. Media (MoM) de la TN durante el periodo de estudio.



En cuanto a los valores de los marcadores bioquímicos, en las siguientes gráficas se ven reflejadas las medias de la  $\beta$ -HCG y las de la PAPP-A corregidas a sus MoM (Gráfica 4) en los distintos años del periodo de estudio

Gráfica 4. Media (MoM) de la  $\beta$ -HCG y la PAPP-A en el periodo de estudio.



Durante el periodo de estudio se han observado 37 cromosomopatías de las cuales en todos los casos han aceptado el cribado de cromosomopatías. El cribado combinado de primer trimestre o con el doble test ha identificado prenatalmente 29 casos de las cromosomopatías (78,3 % del total de cromosomopatías). De los 21 casos de trisomía 21 se diagnosticaron con el cribado combinado de primer trimestre o con el doble test 18 casos (85,7% del total de cromosomopatías).

Para la detección de trisomía 21, el CC1T ha obtenido una sensibilidad del 85,7% en nuestro estudio, detectando 18 casos de 21. Para el total de cromosopatías cribadas, la sensibilidad fue del 78,3% (se detectaron 29 casos de 37). El total de cribados positivos fue de 355 (336 casos en el CC1T y 19 casos en el doble test del segundo trimestre). Obtuvimos una tasa de falsos positivos del 4,24% para el CC1T (302/7113) y del 14,5% (19/131) para el doble test.

En la Tabla 19 se expone los datos del cribado de los casos de trisomía 21. En la Tabla 20 los datos del cribado de las cromosopatías diferentes a la trisomía 21.

Tabla 4. Casos de trisomía 21 en la población a estudio.

ID	EDAD (años)	R. edad	BHCG (MoM)	PAPP-A (MoM)	R. BQ	CRL (mm)	TN (mm)	Riesgo CC1T	Cario-tipo	Ev.	Observación	EG al dx ECO
1	38	110	1,1	0,13	11	61,9	3,8	2	47XY+21	IVE	Canal AV	12+3
2	38	100	0,44	0,31	840	70,9	2,4	947	47XY+21	RN	--	13+1
3	46	31	2,76	0,72	7	66	2,11	11	47XX+21	IVE	C.Congénita Derrame Pericardico	12+5
4	35	271	2,17	0,57	67	63	2,4	54	47XX+21	IVE	Hipoplasia de Ventric. izq	12+4
5	41	52	2,88	0,34	4	63	2,1	6	47XX+21	IVE	-	12+4
6	38	100	1,37	0,12	4	45	2,38	2	47XY+21	IVE	-	11+1
7	32	587	2,96	0,72	104	66	6	2	47XX+21	IVE	Canal AV	12+5
8	38	97	1,13	0,4	67	58	2,49	32	47XY+21	IVE	CIV Muscular	12+1
9	44	36	1,62	0,42	11	70,6	4,6	2	47XY+21	IVE	--	13+0
10	34	338	0,48	0,24	866	64,5	1,6	2696	47XY+21	RN	Pies Zambos Bilateral	12+4
11	39	84	0,62	0,28	139	64,2	16	435	47XY+21	IVE	Canal AV Parcial. Pies Zambos	20+1
12	43	40	1,84	1,93	139	62,6	3,4	15	47XX+21	IVE	CIV	11+1
13	37	159	1,21	0,25	29	57,2	5,6	2	47XX+21	IVE	Canal AV	12+1
14	40	64	1,3	0,37	23	60,9	1,2	112	47XX+21	IVE	--	12+3
15	37	151	2,62	0,1	2	45	0,6	13	47XY+21	IVE	Hidrops, Hipoplasia Vizq	11+1
16	37	161	4,26	0,34	3	56	1,88	5	47XY+21	IVE	Canal AV	12+0
17	40	63	2,44	0,34	5	55,9	0,8	33	47XY+21	IVE	Canal AV	12+0
18	37	152	3,95	0,29	3	79,2	1,13	14	47XY+21	IVE	--	13+4
19	43	38	1,15	0,22	6	62,5	0,93	29	47XY+21	IVE	--	12+3
20	34	360	1,57	0,68	294	68	4,5	9	47XX+21	IVE	Canal AV	12+6
21	44	35	1,42	0,25	4	60	2	6	47XX+21	IVE	--	12+2

ID: identificación; R: riesgo; BQ: bioquímico; EG: edad gestacional; Ev.: evolución

Tabla 5. Casos de otras cromosomopatías en la población a estudio.

ID	EDAD (años)	R. edad	BHCG (MoM)	PAPP-A (MoM)	R. BQ	CRL (mm)	TN (mm)	Riesgo CC1T	Cario-tipo	Ev.	Observación	EG al dx ECO
1	43	39	0,57	0,2	20	57	7	2	47XX+18	IVE	Hidrops, Hipoplasia Ventric. izq	12+1
2	28	986	4,06	0,43	32	55	4,5	2	45X0	IVE	Hidrops. Onfalocele	11+6
3	42	43	0,26	0,49	532	52,2	3,5	20	47XY+18	IVE	Onfalocele	11+5
4	41	48	1,62	1,15	-	50,4	1,5	418	47XY+18	IVE	Malposición Manos. Hernia diafragmatica	18+4
5	39	92	0,07	0,22	192	45	2,4	128	47XY+18	IVE	Lleporino. CIV Malp Manos	11+1
6	30	783	0,8	1,79	4232	66,8	1,4	14	46XY t(9:15)	IVE	----	12+6
7	43	37	0,89	0,2	5	60,4	0,9	29	47XY+16	IVE	CIV. Agenesia C Calloso	12+2
8	29	929	0,25	0,2	1839	46,6	1,8	1638	47XX+18	IVE	CIV Hipoplasia Vizq	19+2
9	36	217	0,04	0,2	1050	52	1,75	1584	69XXX	IVE	Truncus A.C	19+5
10	38	100	0,2	0,26	323	45	2,7	22	47XX+18	IVE	H.Diafragma	11+1
11	39	78	0,16	0,28	541	55	1,2	1961	47XY+18	IVE	Canal AV. Onfalocele	11+6
12	40	64	3,55	0,34	2	75,4	6,5	2	47XY+18	IVE	Hidrops. Canal AV	13+3
13	33	407	0,1	0,27	417	59	2,9	30	47XX+13	IVE	Malposicion Manos. C.C (Fallot)	12+2
14	43	38	1,24	1	109	60,1	1,1	432	45X0	IVE	Hidrops	14+2
15	33	392	0,21	0,28	7527	68	8,1	3	47XX+18	IVE	Hidrops canal AV	12+0
16	41	52	0,88	0,25	24	59	3,1	5	47XX+13	IVE	Onfalocele	12+2

ID: identificación; R: riesgo; BQ: bioquímico; EG: edad gestacional; Ev.: evolución

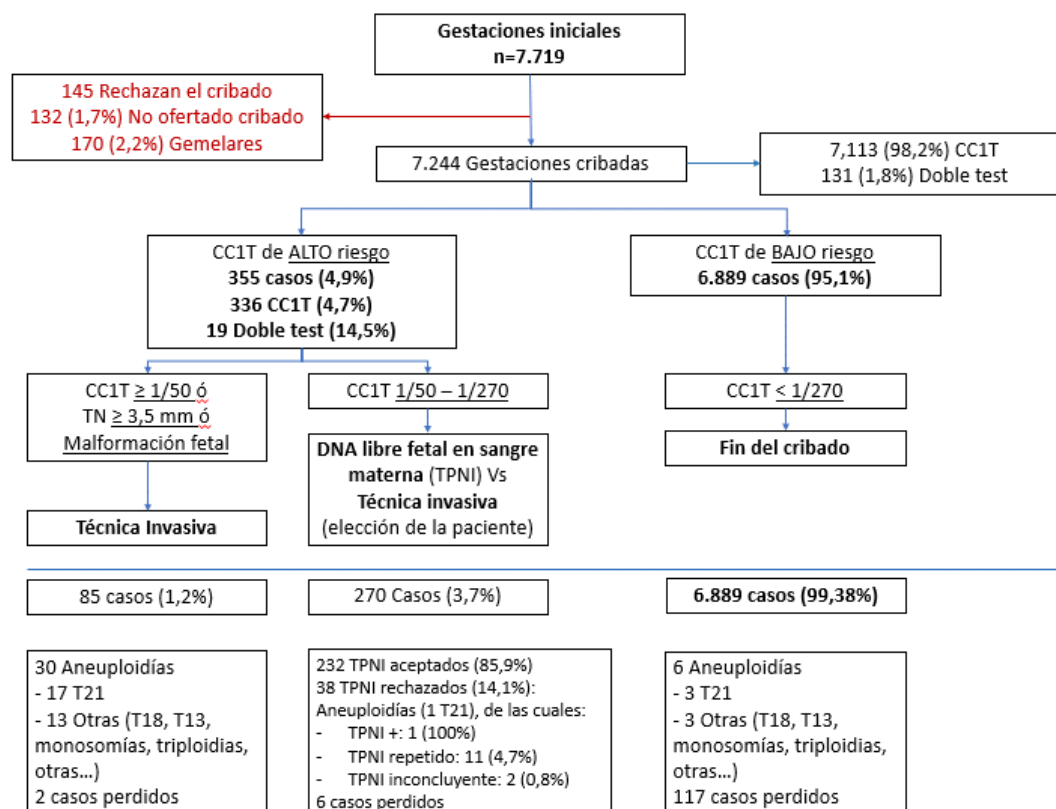
### 4.3. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DE ADN-LC

Del total de 7.719 gestantes, 7.244 gestantes fueron finalmente incluidas en nuestra metodología de cribado contingente. Se les aplicó un primer cribado que discernía el riesgo de cromosomopatías en dos niveles: “riesgo alto” ( $\geq 1/270$ ), en el que se incluyeron 355 casos (4,9%), 336 de las cuales procedían del cribado combinado y el resto, es decir 19 de ellas, del doble test. Por tanto, el 95,1% de las pacientes (6.889 gestantes) presentaron un cribado de “bajo riesgo”.

Posteriormente, el grupo de “alto riesgo” se subdividió en otros dos grupos de riesgo: “muy alto riesgo”, en el que se incluyeron 85 casos y “riesgo intermedio” donde se encontraban 270 pacientes.

El manejo clínico de esta modalidad de cribado se presenta en la Figura 3.

Figura 2. Modelo de cribado de cromosomopatías contingente con aplicación del ADN-Ic.



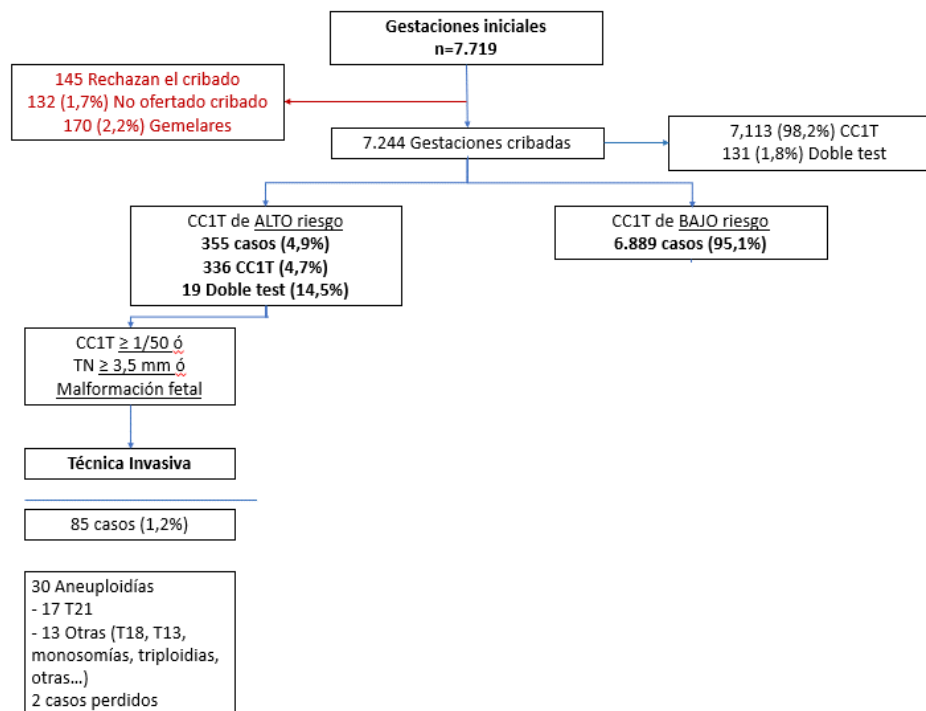
CC1T: Cribado combinado de primer trimestre; TN: Translucencia nucal; TPNI: test prenatal no invasivo; T21, 18, 13: Trisomías 21, 18 y 13

#### 4.3.1. GRUPO DE MUY ALTO RIESGO (CC1T $\geq 1/50$ , TN $\geq 3,5$ mm o malformación fetal):

En este grupo se incluyó el 1,2% de la población cribada (85 casos). A todas estas gestantes se les realizó una técnica diagnóstica invasiva. En 2 casos se perdió su seguimiento (Figura 4). En la Tabla 21 se describe la distribución los casos dentro de

este grupo. Se diagnosticaron 30 aneuploidías, lo que supone el 35,2% de los casos de este grupo (81% del total de cromosomopatías diagnosticadas). En las Tablas 22 y 23 se describen estos casos.

Figura 3. Manejo clínico del grupo de “muy alto riesgo”. Modelo de cribado de cromosomopatías contingente con aplicación del ADN-Ic.



CC1T: Cribado combinado de primer trimestre; TN: Translucencia nucal; TPNI: test prenatal no invasivo; T21, 18, 13: Trisomías 21, 18 y 13

Tabla 6. Casos del grupo de “muy alto riesgo” (n=85).

	Número
<b>Casos con CC1T &gt;1/50</b>	33
<b>Casos con TN &gt; 3,5 mm aislado</b>	15
<b>Casos con malformación fetal</b>	37
<b>SISTEMA MALFORMATIVO</b>	
<b>Acráneo</b>	2
<b>Hidrops fetal</b>	5
<b>Sistema cardiovascular (3 hipoplasias del ventrículo izquierdo, 5 canales auriculoventriculares, 2 comunicaciones interventriculares, 4 otras)</b>	13
<b>Pared abdominal anterior, onfalocele</b>	6
<b>Megavejiga</b>	2
<b>Malformaciones múltiples</b>	6
<b>Otras (hipoplasia torácica, malposición de manos, regresión caudal)</b>	3

CC1T: cribado combinado de primer trimestre; TN: translucencia nucal

Tabla 7. Casos de trisomía 21 en el grupo de “muy alto riesgo”:

ID	EDAD (años)	R. edad	BHCG (MoM)	PAPP-A (MoM)	R. BQ	CRL (mm)	TN (mm)	Riesgo CC1T	Cario-tipo	Ev.	Observación	EG al dx ECO
1	38	110	1,1	0,13	11	61,9	3,8	2	47XY+21	IVE	Canal AV	12+3
3	46	31	2,76	0,72	7	66	2,11	11	47XX+21	IVE	C.Congénita Derrame Pericardico	12+5
4	35	271	2,17	0,57	67	63	2,4	54	47XX+21	IVE	Hipoplasia de Ventric. izq	12+4
5	41	52	2,88	0,34	4	63	2,1	6	47XX+21	IVE	-	12+4
6	38	100	1,37	0,12	4	45	2,38	2	47XY+21	IVE	-	11+1
7	32	587	2,96	0,72	104	66	6	2	47XX+21	IVE	Canal AV	12+5
8	38	97	1,13	0,4	67	58	2,49	32	47XY+21	IVE	CIV Muscular	12+1
9	44	36	1,62	0,42	11	70,6	4,6	2	47XY+21	IVE	--	13+0
12	43	40	1,84	1,93	139	62,6	3,4	15	47XX+21	IVE	CIV	11+1
13	37	159	1,21	0,25	29	57,2	5,6	2	47XX+21	IVE	Canal AV	12+1
15	37	151	2,62	0,1	2	45	0,6	13	47XY+21	IVE	Hidrops, Hipoplasia Vizq	11+1
16	37	161	4,26	0,34	3	56	1,88	5	47XY+21	IVE	Canal AV	12+0
17	40	63	2,44	0,34	5	55,9	0,8	33	47XY+21	IVE	Canal AV	12+0
18	37	152	3,95	0,29	3	79,2	1,13	14	47XY+21	IVE	--	13+4
19	43	38	1,15	0,22	6	62,5	0,93	29	47XY+21	IVE	--	12+3
20	34	360	1,57	0,68	294	68	4,5	9	47XX+21	IVE	Canal AV	12+6
21	44	35	1,42	0,25	4	60	2	6	47XX+21	IVE	--	12+2

ID: identificación; R: riesgo; BQ: bioquímico; EG: edad gestacional; Ev.: evolución



Tabla 8. Casos de otras cromosomopatías en el grupo de “muy alto riesgo”.

ID	EDAD (años)	R. edad	BHCG (MoM)	PAPP-A (MoM)	R. BQ	CRL (mm)	TN (mm)	Riesgo CC1T	Cariotipo	Ev.	Observación	EG al dx ECO
1	43	39	0,57	0,2	20	57	7	2	47XX+18	IVE	Hidrops, Hipoplasia Ventric. izq	12+1
2	28	986	4,06	0,43	32	55	4,5	2	45X0	IVE	Hidrops. Onfalocele	11+6
3	42	43	0,26	0,49	532	52,2	3,5	20	47XY+18	IVE	Onfalocele	11+5
5	39	92	0,07	0,22	192	45	2,4	128	47XY+18	IVE	Lleporino. CIV Malp Manos	11+1
6	30	783	0,8	1,79	4232	66,8	1,4	14	46XY t(9:15)	IVE	----	12+6
7	43	37	0,89	0,2	5	60,4	0,9	29	47XY+16	IVE	CIV. Agenesia C Calloso	12+2
10	38	100	0,2	0,26	323	45	2,7	22	47XX+18	IVE	H. Diafragma	11+1
11	39	78	0,16	0,28	541	55	1,2	1961	47XY+18	IVE	Canal AV. Onfalocele	11+6
12	40	64	3,55	0,34	2	75,4	6,5	2	47XY+18	IVE	Hidrops. Canal AV	13+3
13	33	407	0,1	0,27	417	59	2,9	30	47XX+13	IVE	Malposicion Manos. C.C (Fallot)	12+2
14	43	38	1,24	1	109	60,1	1,1	432	45X0	IVE	Hidrops	14+2
15	33	392	0,21	0,28	7527	68	8,1	3	47XX+18	IVE	Hidrops canal AV	12+0
16	41	52	0,88	0,25	24	59	3,1	5	47XX+13	IVE	Onfalocele	12+2

ID: identificación; R: riesgo; BQ: bioquímico; EG: edad gestacional; Ev.: evolución

#### 4.3.2. GRUPO DE RIESGO INTERMEDIO (CC1T 1/50-1/270):

En el grupo de “riesgo intermedio” se incluyeron 270 casos (3,7% del total de la población cribada). Se expone en la Figura 5 y la Tabla 24. A todas las gestantes con riesgo intermedio se les consiguió ofertar un test de ADN-Ic. En la Tabla 25 se describen las características de este grupo.

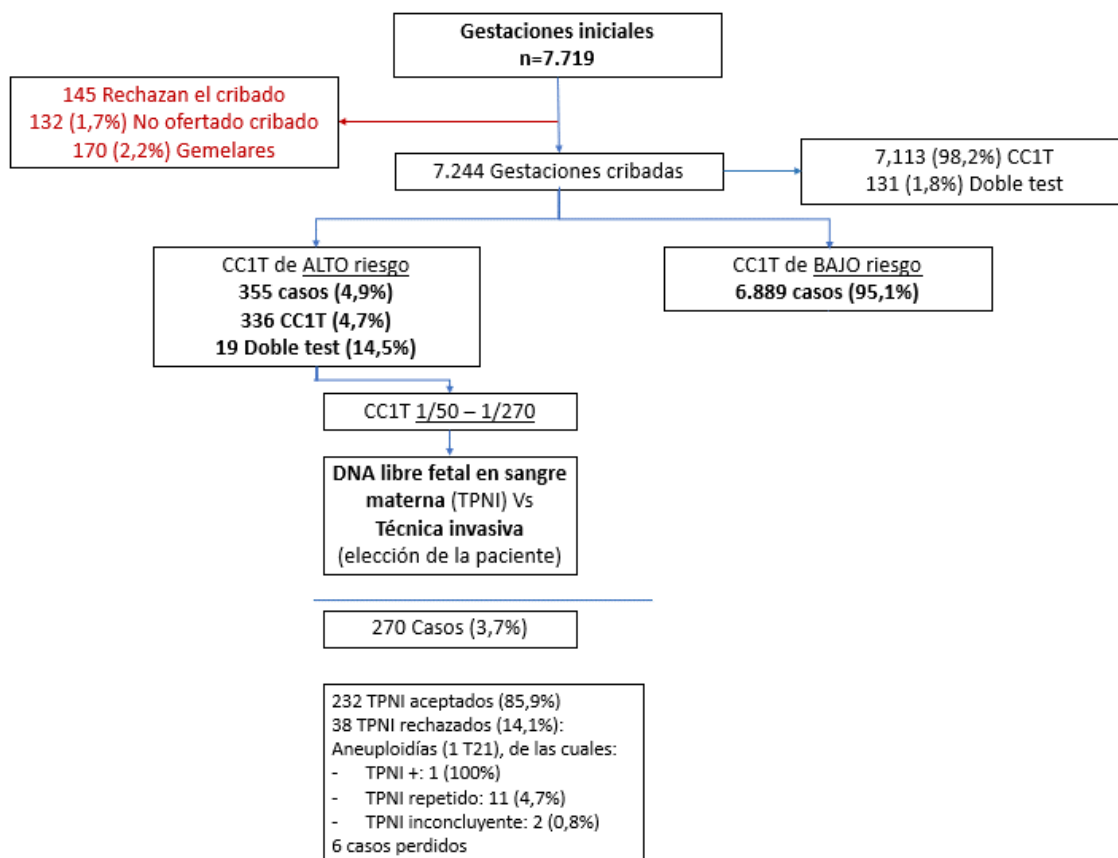
El primer año de aplicación de esta metodología revocaron su realización un 50% de las pacientes (19 gestantes). El segundo año no lo aceptaron un 39,4% (15 gestantes) y el tercero el número de rechazos descendió a un 10,5% (4 gestantes).

De forma global durante el periodo de estudio, el 86% de las pacientes aceptó la realización de un TPNI en los casos seleccionados (232 gestantes), mientras que la rechazaron un 14% (38 casos).

En este grupo se diagnosticó una trisomía 21, lo que supone el 0'37% de las gestantes este grupo y un 2,7% del total de cromosomopatías.

De las gestantes que aceptaron la realización del test de ADN-Ic, en 11 casos (5%) fue necesaria la repetición de esta prueba y en 2 casos (0,8%) no se obtuvo resultado (ambas gestantes decidieron no realizarse más estudios, naciendo dos niños sin aneuploidías).

Figura 4. Manejo clínico del grupo “intermedio”. Modelo de cribado de cromosopatías contingente con aplicación de ADN-ic.



CC1T: Cribado combinado de primer trimestre; TN: Translucencia nucal; TPNI: test prenatal no invasivo; T21: Trisomía 21

Tabla 9. Casos de trisomía 21 en el grupo de riesgo “intermedio”.

ID	EDAD (años)	R. edad	BHCG (MoM)	PAPP-A (MoM)	R. BQ	CRL (mm)	TN (mm)	Riesgo CC1T	Cario-tipo	Ev.	Observación	EG al dx ECO
14	40	64	1,3	0,37	23	60,9	1,2	112	47XX+21	IVE	--	12+3

ID: identificación; R: riesgo; BQ: bioquímico; EG: edad gestacional; Ev.: evolución

Tabla 10. Características maternas y gestacionales en los casos en los que se realiza un test de ADN-Ic (243 casos)

<b>Características Maternas</b>	
Edad Materna, media (IQR)	32,0 (28,5-35,1)
Edad Gestacional en semanas; media (IQR)	12,6 (12,2-13,1)
Peso Materno en Maternal Kg; media (IQR)	66,73 (59,0-74,4)
Índice de Masa Corporal Kg/m <sup>2</sup> ; media (IQR)	25,0 (23,4-29,1)
<b>Origen Racial:</b>	
Caucásicas; n (%)	232 (95,4)
Norte Africana; n (%)	8 (3,3)
Afro-Caribeña; n (%)	1 (0,41)
Este Asiática; n (%)	2 (0,82)
Fumadoras; n (%)	70 (28,7)
Diabetes Mellitus con Insulina; n (%)	4 (1,6)
Reproducción Asistida; n (%)	9 (3,7)
<b>Características Gestacionales</b>	
Longitud Craneo-Caudal (mm); media (IQR)	61,1 (56,4-66,1)
Translucencia Nucal (mm); media (IQR)	1,3 (1,1-1,7)
Delta Translucencia Nucal; media (IQR)	0,9 (0,8-1,1)
β-hCG (MoM); media (IQR)	1,2 (0,85-1,58)
PAPP-A (MoM); media (IQR)	1,1 (0,75-1,45)
<b>Resultado del cell-free DNA test</b>	
Fracción Fetal en %; media (IQR)	10,9 (6,8-14,5)
Casos sin resultado en la primera evaluación del test de ADN-Ic; n (%)	11 (5,0)
Casos sin resultado en la segunda evaluación del test de ADN-Ic; n (%)	2 (0,8)

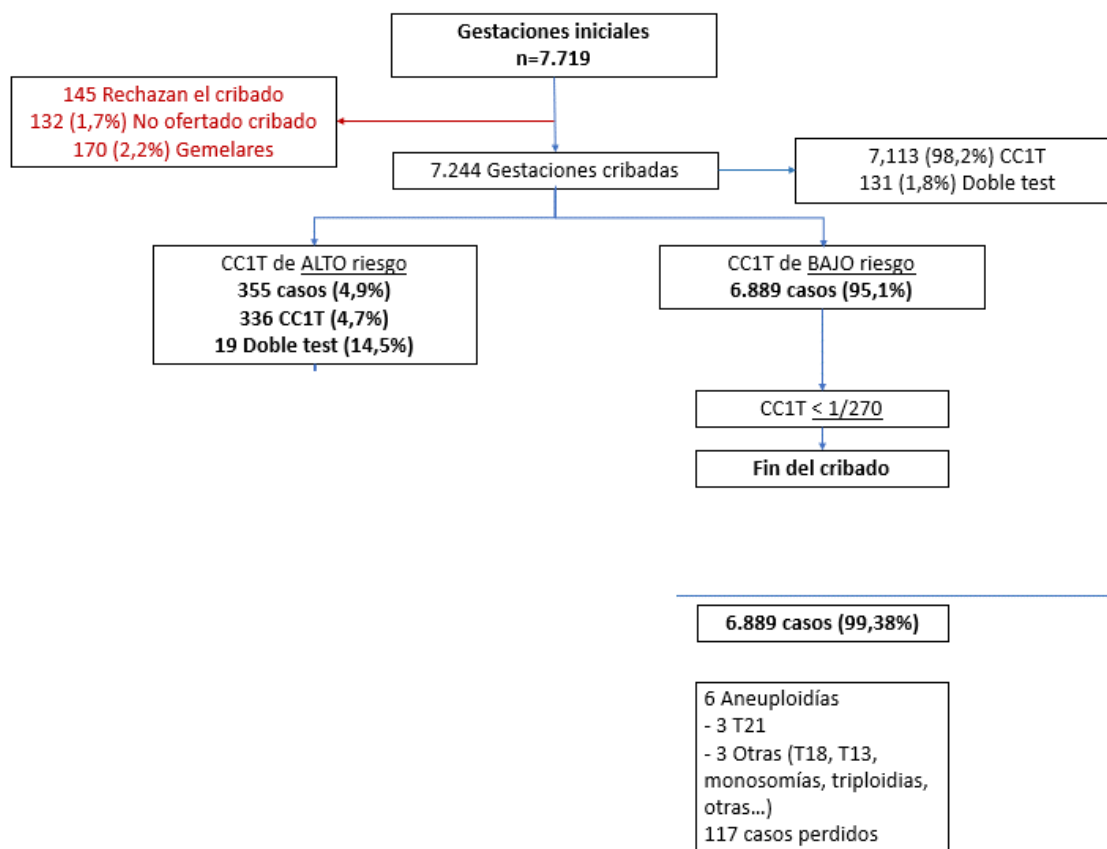
β-hCG: gonadotropina coriónica humana; PAPP-A: proteína A plasmática asociada al embarazo

#### 4.3.3. GRUPO DE BAJO RIESGO (CC1T<1/270).

Del total de 6.889 casos con primer paso de cribado de cromosomopatía (CC1T o doble test) de bajo riesgo (<1/270) se les realizó una evaluación mediante sonografía genética en la ecografía morfológica fetal (ecografía de las 18-22 semanas) a 6.772 pacientes (98,3%), con 117 casos perdidos. En este grupo se incluye 1 caso de trisomía 21, 2 casos de trisomía 18 y 1 caso de triploidía (Figura 6).

En la Tabla 26 presentamos los resultados del sonograma genético en el grupo de trisomía 21 y otras cromosomopatías que no han sido diagnosticadas con el cribado combinado y con el doble test.

Figura 5. Manejo clínico del grupo “bajo riesgo”. Modelo de cribado de cromosopatías contingente con aplicación del ADN-1c.



CC1T: Cribado combinado de primer trimestre; TN: Translucencia nucal; TPNI: test prenatal no invasivo; T21, 18, 13: Trisomías 21, 18 y 13

Tabla 11. Casos de cromosopatías en el grupo de “bajo riesgo”

ID	EDAD (años)	R. edad	BHCG (MoM)	PAPP-A (MoM)	R. BQ	CRL (mm)	TN (mm)	Riesgo CC1T	Cario-tipo	Ev.	Observación	EG al dx ECO
2	38	100	0,44	0,31	840	70,9	2,4	947	47XY+21	RN	--	13+1
10	34	338	0,48	0,24	866	64,5	1,6	2696	47XY+21	RN	Pies Zambos Bilateral	12+4
11	39	84	0,62	0,28	139	64,2	16	435	47XY+21	IVE	Canal AV Parcial. Pies Zambos	20+1
4	41	48	1,62	1,15	-	50,4	1,5	418	47XY+18	IVE	Malposición Manos. Hernia diafragmatica	18+4
8	29	929	0,25	0,2	1839	46,6	1,8	1638	47XX+18	IVE	CIV Hipoplasia Vizq	19+2
9	36	217	0,04	0,2	1050	52	1,75	1584	69XXX	IVE	Truncus A.C	19+5

ID: identificación; R: riesgo; BQ: bioquímico; EG: edad gestacional; Ev.: evolución

El sonograma genético asociado al cribado combinado o doble test presenta una sensibilidad para el diagnóstico de T-21 de 90,4% (19/21) y para todas las cromosopatías de 94,5% (35/37)

La tasa de falsos positivos del modelo secuencial es de un 5,5% (399/7.209).

En la Tabla 27 se exponen los motivos del sonograma genético indicativo de la realización de una técnica invasiva (63 casos positivos).

Tabla 12. Casos positivos en el sonograma genético. Indicaciones de técnica invasiva por sonograma genético alterado (n=63).

<b>SISTEMA MALFORMATIVO</b>	<b>NÚMERO</b>
<b>Sistema nervioso central</b>	5
<b>Cara-cuello</b>	1
<b>Sistema cardiovascular</b>	24
<b>Hernia diafragmática</b>	3
<b>Pared abdominal anterior</b>	1
<b>Tracto gastrointestinal</b>	2
<b>Renal</b>	7
<b>Malformaciones múltiples, hidrops</b>	11
<b>CIR precoz</b>	8
<b>Edema nuczal</b>	1

#### 4.4. TÉCNICAS INVASIVAS EN EL CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS. EVOLUCIÓN HISTÓRICA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO NUESTRA SEÑORA DE VALME

En la Tabla 28 se exponen el número cribados positivos, el número de técnicas invasivas realizadas por este motivo y la tasa de revocaciones de estas técnicas invasivas desde el año 2.008 hasta el 2.015 en la Unidad de Medicina Fetal del Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme.

En el periodo de enero de 2.013 a diciembre de 2.015, en el Área Sanitaria Sur de Sevilla se cribaron 9.230 gestaciones, de las cuales, 443 obtuvieron un riesgo alto en el CC1T. A 351 de ellas se les realizó una técnica invasiva, mientras que el resto las revocaron, bien por no deseo o bien por preferir la realización del TPNI. A esta cifra, hay que añadir 84 gestantes a las que se les realizó una técnica invasiva debido a la sospecha ecográfica de una malformación en la ecografía morfológica fetal (precoz y de 20 semanas). Así pues, en dicho periodo se realizó un 4,8% de técnicas invasivas (443/9.230).

En el grupo de estudio hay un total de 418 casos indicados de realización de técnica invasiva por (355 cribado de cromosomopatías y 63 por evaluación ecográfica a las 20 semanas), esto supone un 5,7% de la población. En la Tabla 29 presentamos las técnicas invasivas realizadas durante el periodo de estudio. La tasa de realización de procedimientos invasivos fue del 2,6% en la población cribada (193 / 7.244 casos). Se realizaron 186 técnicas invasivas, y al resto de pacientes se les aplicó el TPNI (salvo una paciente que rechazó ambos procedimientos). Otras 7 pacientes fueron sometidas a técnicas invasivas por otros motivos (antecedentes de alteración genética o padres portadores de una alteración cromosómica).

Tras la aplicación del cribado contingente con la oferta de test de ADN-Ic, la realización de técnicas invasivas desciende en total en un 76,1% (193/418) y en el grupo de oferta de ADN-Ic desciende un 85,9% (38/270).

Tabla 13. Técnicas invasivas y tasa de revocaciones realizadas desde el año 2008 hasta el 2015.

AÑO	CRIBADOS POSITIVOS	TÉCNICAS INVASIVAS	REVOCACIÓN DE TÉCNICA INVASIVA	MOTIVO	
				Número (%)	No deseo
2008	152	144	8 (5,2%)	8	-
2009	112	102	10(8,9%)	10	-
2010	157	146	11(7%)	11	-
2011	130	120	10(7,7%)	10	-
2012	147	135	12(8,1%)	12	-
2013	155	120	35(22,5%)	8	27
2014	159	128	31(19,4%)	5	26
2015	129	103	26(20,1%)	4	22

Tabla 14. Técnicas invasivas y tasa de revocaciones realizadas desde septiembre de 2016 hasta julio de 2019.

Fecha	CRIBADOS POSITIVOS	1.	2.	3.	TÉCNICAS INVASIVAS	REVOCACIÓN DE TÉCNICA INVASIVA		
						Número (%)	MOTIVO	
							No deseo	TPNI
<b>9/2016-8/2017</b>	122	29	21	19	69	74 (60,6%)	0	74
<b>9/2017-8/2018</b>	115	30	20	15	65	70(60,8%)	0	70
<b>9/2018-8/2019</b>	118	26	22	4	52	88(74,5%)	1	87

1: Grupo de "muy alto riesgo"; 2: Casos de indicación de técnica invasiva por malformación en segundo trimestre; 3: Casos de revocación del TPNI. TPNI: Test prenatal no invasivo

Así, el cribado de cromosomopatías basado en una metodología contingente con aplicación del TPNI en nuestra población de estudio ha presentado una sensibilidad para trisomía 21 del 85,7% (18/21) para una tasa de realización de técnicas invasivas del 2,6% (193/7.244).

#### 4.5. EVALUACIÓN DE COSTES Y COSTO-EFECTIVIDAD DEL CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DE ADN-LC

Realizamos una evaluación comparativa de costo y costo efectividad entre un cribado de cromosomopatías basado en un CC1T y en test contingente con aplicación de ADN-lc (Tabla 30). En la evaluación de los costos se incluye los costos de 63 técnicas invasivas indicadas por la ecografía de las 19-21 semanas de gestación y 7 casos por antecedentes de cromosomopatía o padres portadores de cromosomopatía.

El costo total de un cribado de cromosomopatías basado en un test contingente con aplicación de ADN-lc ha sido de 1.000.942,96 € con un costo-efectividad de 28.598,3 € en comparación un costo total de 985.932,96 € y costo-efectividad de 28.169,5 € de un cribado combinado. Esto supone un incremento de los costos del cribado de un 1,5%.

Tabla 15. Evaluación económica del modelo de cribado de cromosomopatías basado en el cribado combinado de primer trimestre y del modelo de cribado de cromosomopatías basado en un modelo contingente con aplicación de ADN-lc.

<b>Modelo de Cribado</b>	<b>Cribado combinado de primer trimestre (CC1T)</b>	<b>Test contingente con ADN-lc</b>
<b>Número de casos</b>	7.244	7.244
<b>Screening positivos del CC1T</b>	355 (4,9%)	355 (4,9%)
<b>Casos de test de ADN-lc</b>	----	243
<b>Casos de TI</b>	425	193
<b>Sensibilidad T21 del cribado de 1 trimestre</b>	18/21 (85,7%)	18/21 (85,7%)
<b>Sensibilidad Total del cribado de 1 trimestre</b>	31/37 (83,7%)	31/37 (83,7%)
<b>Sensibilidad T21 después del cribado de anomalías de 19-21 semanas</b>	19/21 (90,4%)	19/21 (90,4%)
<b>Sensibilidad Total después del cribado de anomalías de 19-21 semanas</b>	35/37 (94,5%)	35/37 (94,5%)
<b>Costo de CC1T (120 € por test)</b>	869.280 €	869.280 €
<b>Costo de TI (260 € por test)</b>	110.500 €	50.180 €
<b>Costo de test de ADN-lc (310 € por test)</b>	---	75.330 €
<b>Costo de IVE (323,84 € por proceso)</b>	6.152,96 €	6.152,96 €
<b>Costo Total</b>	985.932,96 €	1.000.942,96 €
<b>Costo / efectividad</b>	28.169,5 €	28.598,3 €

CC1T: cribado combinado de primer trimestre, ADN-lc: ADN libre circulante; T21: Trisomía 21, TI: Técnica invasiva



#### 4.6. EVALUACIÓN COMPARATIVA DE DIFERENTES MODELOS DE CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DE ADN-LC

En la Tabla 31 realizamos una evaluación comparativa evaluando: sensibilidad, tasa de falsos positivo y costos, entre un cribado combinado y diferentes metodologías de cribado de cromosomopatías contingente con aplicación de ADN-lc en diferentes puntos de corte.

En esta evaluación observamos cómo una metodología contingente con aplicación de ADN-lc con punto de corte en 1/270 supone una reducción de la tasa de falsos positivos de un 3,7% manteniendo la sensibilidad para T21 en un 85,7% y solo supone un incremento de los costos en un 1,5%.

Si establecemos el punto de corte en 1/500, esto supone un aumento de la tasa de falsos positivos de un 2,9% con un aumento de la sensibilidad para T21 hasta un 90,4% y un incremento de los costos de un 6,3%.

Se consigue un incremento importante de la sensibilidad para T21 (95,2%) con la aplicación de un punto de corte de 1/2.000, pero esto supone un incremento de la tasa de falsos positivos del 17,6% y un aumento de los costos de un 40%.

Tabla 16. Evaluación comparativa de diferentes modelos de cribado de cromosopatías contingente con aplicación de ADN-Ic según diferentes puntos de corte. Evaluación de sensibilidad, tasa de falsos positivos, costos y costo-efectividad (7.244 casos).

Estrategia de cribado	Casos en grupo Alto Riesgo (TC $\geq$ 150 o TN $\geq$ 3,5 mm o malformación fetal)	Casos en Grupo Intermedio	Casos en Grupo de Bajo Riesgo	Tasa de Falsos Positivos	Sensibilidad T21 del cribado de 1 trimestre	Sensibilidad Total del cribado de 1 trimestre	Sensibilidad T21 después del cribado de anomalías de 19-21 semanas	Sensibilidad Total después del cribado de anomalías de 19-21 semanas	Costo Total	Costo / efectividad	Incremento de costo del modelo de cribado
CCIT	355 (4,9%)	---	6.889 (95,1%)	4,9 %	18/21 (85,7%)	31/37 (83,7%)	19/21 (90,4%)	35/37 (94,5%)	985.932,96 €	28.169,5 €	---
Modelo Contingente con ADN-Ic Grupo 1/50 - 1/270	85 (1,2%)	270(3,7%)	6.889 (95,1%)	1,2 %	18/21 (85,7%)	31/37 (83,7%)	19/21 (90,4%)	35/37 (94,5%)	1.000.942,96 €	28.598,3 €	1,5%
Modelo Contingente con ADN-Ic Grupo 1/50 - 1/500	85 (1,2%)	470 (6,5%)	6.689 (92,3%)	7,8%	19/21 (90,4%)	33/37 (89,1%)	19/21 (90,4%)	35/37 (94,5%)	1.048.414,4 €	29.954,6 €	6,3%
Modelo Contingente con ADN-Ic Grupo 1/50 - 1/1.000	85 (1,2%)	1.006(13,9%)	6.153(84,9%)	15,1%	19/21 (90,4%)	33/37 (89,1%)	19/21 (90,4%)	35/37 (94,5%)	1.214.570,4 €	34.702,0 €	23,1%
Modelo Contingente con ADN-Ic Grupo 1/50 - 1/2.000	85 (1,2%)	1.543(21,3%)	5.795(77,5%)	22,5%	20/21 (95,2%)	36/37 (97,2%)	20/21 (95,2%)	36/37 (97,2%)	1.381.059,2 €	38.362,7 €	40,0%
Modelo Contingente con ADN-Ic Grupo 1/50 - 1/2.500	85 (1,2%)	2.202(30,4%)	4.957(68,4%)	31,6%	21/21 (100%)	37/37 (100%)	21/21 (100%)	37/37 (100%)	1.585.902,0 €	42.864,3 €	60,8%
Modelo Contingente con ADN-Ic Grupo 1/50 - 1/3.000	85 (1,2%)	3.013(40,4%)	3.811(51,4%)	33,3%	20/21 (95,2%)	36/37 (97,2%)	20/21 (95,2%)	36/37 (97,2%)	2.238.278,45 €	34.566,4 €	60,3%

Se realizan 67 Técnicas Invasivas por evaluación ecográfica de 19-21 semanas. La evaluación del costo incluye: 1) Costo del cribado combinado de primer trimestre (120 € por test); 2) Costo de la técnica invasiva (310 € por procedimiento); 3) Coste del test de AND-Ic (310 €); 4) Coste de interrupción del embarazo (323,84 € por procedimiento.).

## 5. DISCUSIÓN

---

## 5.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS PERINATALES. PREVALENCIA DE DEFECTOS CONGÉNITOS. DETECCIÓN DE MALFORMACIONES ESTRUCTURALES.

Durante el periodo de estudio (entre septiembre del 2016 y julio del año 2019) se controlaron 7.719 gestaciones en el Área Sanitaria Sur de Sevilla, las cuales resultaron en 7.783 recién nacidos. El 97,8% de las mismas (7.549) fueron gestaciones únicas y el 2,2% (170) fueron gestaciones múltiples. Según los datos que ofrece la SEGO, la prevalencia de las gestaciones gemelares espontáneas se encontraba entre el 1-2%. Sin embargo, en las últimas décadas, en los países desarrollados, debido al incremento de la edad materna por el retraso electivo de la maternidad y las técnicas de reproducción asistidas, ha aumentado a un 3-4%.<sup>266</sup> La prevalencia en nuestra población a estudio se encuentra en la actualidad, por tanto, muy próxima a esas cifras.

El 18,9% de las gestantes tenían una edad igual o mayor a 35 años, el 6,4% una edad igual o mayor a 38 años y el 2,1% superaban los 40 años, situándose la media de edad en los 31 años. Los datos sobre la población nacional ofrecen medias de edad similares.<sup>4,264</sup>

La edad gestacional media en el momento de la finalización del embarazo fue de 39,17 semanas. El 88,6% de los partos se produjeron a término (entre las semanas 37 y 42 de gestación), mientras que el 11,4% fueron partos pretérmino (por debajo de las 37 semanas). En la población española, la tasa de partos prematuros se sitúa en un 7%, siendo similar en el resto de países desarrollados, salvo Estados Unidos, donde se eleva hasta un 12-13%.<sup>267</sup> Podemos observar que nuestra población a estudio presenta una prevalencia de partos pretérmino algo mayor que la nacional.

En cuanto al peso al nacimiento, el 91,5% de los recién nacidos pesaron más de 2500g, por lo que el 8,5% tuvieron un peso por debajo de dicha cifra. El 0,4% no alcanzó los 1000g. Se describen cifras similares de pesos al nacimiento en las distintas poblaciones internacionales según los registros disponibles.<sup>43,45,46,264</sup>

Durante el control de las 7.719 gestantes a estudio, se detectaron 184 defectos congénitos (malformaciones estructurales y/o cromosomopatías), suponiendo un 2,4% de las mismas. Por medio de la evaluación ecográfica se detectaron 147 casos de malformación estructural, situándose la prevalencia de las mismas intra útero en el 1,90%.

De las gestantes estudiadas, 74 se sometieron a una interrupción voluntaria del embarazo (IVE). En 35 de ellas el motivo fue un diagnóstico de cromosomopatía (47,3%) y en 39 se realizó tras el hallazgo de malformaciones estructurales por ecografía (52,7%).

Se contabilizaron 110 casos de anomalías congénitas al nacimiento, de 7.783 recién nacidos vivos, por lo que la prevalencia se encuentra en el 1,41%. Del total de recién nacidos vivos, 112 presentaban malformaciones estructurales (el 1,45% de 7.719 gestaciones). Teniendo en cuenta el número total de fetos (7.889), la prevalencia es del 1,42%.

En la población general, la prevalencia de defectos congénitos al nacimiento se encuentra entre el 2-3%. El 1-1,5% de los mismos están constituidos por

malformaciones estructurales (60% del total), y el 0,6% causados por cromosomopatías (12-15% del total).<sup>263</sup> Según los datos arrojados en los últimos informes del EUROCAT, la prevalencia global europea de defectos congénitos en los últimos años (2011-2017) es de un 1,1%% y la prevalencia de malformaciones estructurales se encuentra actualmente en un 2,04%.<sup>43,264</sup>

El ECEMC (con una cobertura poblacional que ronda el 20%) sitúa la prevalencia de defectos congénitos en España en el año 2011 en un 1,18%, mientras que en Andalucía es del 0,93% (ascendiendo a un 1,49% y 1,11% respectivamente en el análisis de datos en el periodo comprendido entre 1986 y 2011).<sup>45</sup> Tal como hemos detallado previamente, podemos observar que nuestra población a estudio se asemeja bastante a estas cifras, situándose en un 1,41% y 1,42% la prevalencia de anomalías congénitas y malformaciones estructurales, respectivamente.

Por tanto, nos encontramos ante una población con bajo riesgo de padecer defectos congénitos.

Como podemos observar, la prevalencia de defectos congénitos disminuye de un 2,33% a un 1,41% tras aplicar nuestro método de cribado de cromosomopatías, lo que supone un impacto significativo.

Según referentes, la detección ecográfica de anomalías estructurales debe mantener unos estándares aceptables en las unidades de diagnóstico prenatal, que se establecen en una sensibilidad de entre el 60-80%.<sup>263,265</sup> La sensibilidad de la evaluación ecográfica en la detección de malformaciones estructurales en nuestro centro se sitúa en un 80,27%, con una tasa de falsos positivos del 0,27%, por lo que podemos decir que ofrecemos a nuestras gestantes una asistencia de calidad en el diagnóstico prenatal.

## 5.2. PREVALENCIA DE CROMOSOMOPATÍAS. CRIBADO COMBINADO DE PRIMER TRIMESTRE. DOBLE TEST.

En la década de los 90 se produjo el desplazamiento del cribado del Síndrome de Down del segundo al primer trimestre de gestación, gracias a la evidencia aportada por dos grandes estudios multicéntricos: FASTER y SURUSS.

El SURUSS<sup>7</sup>, es un estudio prospectivo multicéntrico (25 maternidades) auspiciado por la Agencia de Evaluación de Tecnología Sanitaria Británica (*HTA: Health Technology Assessment*) entre los años 1996 y 2000. Se analizaron 47.053 gestaciones únicas con el objetivo de identificar un método de cribado prenatal de cromosomopatías más eficiente, seguro y costo-efectivo. Este método estaba sustentado en el análisis de marcadores ecográficos (TN), urinarios y serológicos en el primer y segundo trimestre de gestación.

El estudio FASTER<sup>6</sup> fue un ensayo prospectivo observacional, que se realizó entre 1999 y 2002 en 15 centros estadounidenses. Sus resultados fueron superponibles a los presentados por el estudio SURUSS.

Tras los resultados ofrecidos por estos dos estudios, las diferentes sociedades científicas recomendaron el CC1T como *gold standard* el cribado de cromosomopatías por su elevada sensibilidad (85% para una TFP del 4,3%) y su facilidad de aplicación a la población en etapas tempranas de la gestación.

Mediante el CC1T se diagnosticaron en nuestra población de gestantes 37 casos de cromosomopatías a lo largo del periodo de estudio, constatando una prevalencia del 0,47%. Teniendo en cuenta únicamente los casos que llegaron al final de la gestación (ya que el 95% de estos embarazos se interrumpieron), la prevalencia de cromosomopatías en recién nacidos es de un 0,025%. El 56,7% (21 casos) de las cromosomopatías diagnosticadas correspondieron a Síndrome de Down (trisomía 21), siendo por tanto la más frecuente. El total de cromosomopatías se diagnosticaron en gestaciones simples.

Para la detección de trisomía 21, el CC1T ha obtenido una sensibilidad del 85,7% en nuestro estudio, detectando 18 casos de 21. Para el total de cromosomopatías cribadas, la sensibilidad fue del 78,3% (se detectaron 29 casos de 37). El total de cribados positivos fue de 355 (336 casos en el CC1T y 19 casos en el doble test del segundo trimestre). Obtuvimos una tasa de falsos positivos del 4,24% para el CC1T (302/7113) y del 14,5% (19/131) para el doble test. Por tanto, la tasa global de falsos positivos para el cribado de cromosomopatías en su conjunto fue del 4,43% (321/7244).

Las diferentes sociedades científicas de referencia (RCOG, ACOG, SEGO)<sup>10,95,100</sup> determinan que un cribado de calidad debe poseer una sensibilidad superior al 85-95%, manteniendo una TFP menor al 5%. Podemos observar que nuestro cribado también cumple este criterio de calidad.

Así pues, podemos afirmar que cumplimos el primero de nuestros objetivos secundarios, al considerar que en el Área Sanitaria Sur de Sevilla se ha implementado un cribado de cromosomopatías basado en un test de calidad, con una adecuada sensibilidad y una baja tasa de falsos positivos.

### 5.3. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DE TPNI. CAPACIDAD DE IMPLEMENTACIÓN. SENSIBILIDAD. GRADO DE ACEPTACIÓN EN LA GESTANTE.

Como ya se adelantaba, gracias a los numerosos avances tecnológicos en diagnóstico genético y la secuenciación completa del genoma humano, a partir de 2011 comenzó a implementarse el análisis de ADN fetal libre circulante para el diagnóstico de cromosomopatías en los diferentes países.<sup>9</sup>

Múltiples estudios demostraron la alta sensibilidad y especificidad del TPNI en el cribado de cromosomopatías en gestaciones de alto riesgo.<sup>126,127,170,218-220</sup> Sin embargo, se evidenció la necesidad de extrapolar estos resultados a la población general si se pretendía establecer como cribado de cromosomopatías en un futuro próximo.<sup>277</sup> Por este motivo, diferentes grupos como el de *Nicolaides et al*<sup>8</sup> comenzaron a evaluar la capacidad del TPNI en población de bajo riesgo, obteniendo tasas de detección del 99% para T21 y disminuyendo la TFP a menos del 0,1%.

Desde su desarrollo, el uso del TPNI se ha diseminado de una forma veloz y ha ido volviéndose cada vez más disponible para las mujeres embarazadas a lo largo de todo el mundo.<sup>277</sup>

Los análisis de costo-efectividad de múltiples grupos han demostrado que la aplicación universal del TPNI en el cribado de cromosomopatías no es costo-efectiva para su implementación en los sistemas públicos de salud, ya que, a pesar de obtener unos muy buenos resultados en cuanto a detección de cromosomopatías y disminución del número de técnicas invasivas, debido al coste unitario que el test tiene en la actualidad, es insostenible económicamente ofrecerlo a todas las gestantes.<sup>170,247-249,256</sup>

Por este motivo se valoró la implementación del TPNI en un modelo contingente. Varios grupos han diseñado modelos económicos en función al establecimiento de diferentes puntos de corte<sup>10,246,250</sup>. Entre ellos, el grupo de *Gil et al*<sup>252</sup>, establece que para un punto de corte de 1/250 en el CC1T, es costo-efectivo aplicar el análisis de ADN-ic.

Sin embargo, para poder extrapolar los resultados, consideramos necesario aplicar estos modelos de forma práctica en base a una población real de bajo riesgo de cromosomopatías, y este precisamente es el objetivo de nuestro estudio, siendo uno de los primeros grupos en llevar a cabo este propósito.

Como se ha descrito previamente, se controlaron 7.719 gestaciones en el Área Sanitaria Sur de Sevilla durante el periodo de estudio, a las que se les pretendió aplicar un cribado de cromosomopatías en un modelo contingente.

Se ofertó el cribado de cromosomopatías a 7.587 gestantes (el 98,29% del total de las gestaciones controladas). No fue ofrecido al 1,71% restante. 145 gestantes revocaron el consentimiento informado para la realización del cribado de cromosomopatías, lo que supone el 1,87%. El 2,2% de las gestaciones fueron gemelares (170 pacientes), por lo que al no poder aplicar actualmente el TPNI en nuestro centro a gestaciones múltiples,

se excluyeron del cribado contingente (cribando en este caso únicamente con el CC1T y los hallazgos ecográficos).

A la hora de implementar un método de cribado, es importante tener en cuenta la capacidad de cobertura del mismo, ya que, si aplicamos un método de cribado con una adecuada sensibilidad, pero no logramos aplicarlo a la mayoría de la población, es decir, si tenemos una baja cobertura, no conseguiremos identificar los casos afectos. Al implementar nuestro método de cribado, observamos una cobertura superior al 90%, por lo que podemos afirmar que cumple ampliamente este criterio de calidad.

Por el hecho de utilizar un método de cribado que se aplica en el primer trimestre de gestación, podríamos perder un importante porcentaje de embarazos cuya captación se realiza de forma tardía. Al ofrecer también la posibilidad de aplicar un cribado de segundo trimestre (doble test), podemos rescatar ese grueso de pacientes, manteniendo una alta tasa de cobertura.

El 98,19% de las pacientes cribadas se sometió al CC1T (7.113 gestantes) y el 1,81% se realizó un doble test en el segundo trimestre (131 casos), cumpliendo así uno de nuestros objetivos secundarios.

A las 7.244 gestantes que finalmente fueron incluidas en nuestra metodología de cribado contingente, se les aplicó un primer cribado que discernía el riesgo de cromosomopatías en dos niveles: “riesgo alto” ( $\geq 1/270$ ), en el que se incluyeron 355 casos (4,9%), 336 de las cuales procedían del cribado combinado y el resto, es decir 19 de ellas, del doble test. Por tanto, el 95,1% de las pacientes (6.889 gestantes) presentaron un cribado de “bajo riesgo”.

Posteriormente, el grupo de “alto riesgo” se subdividió en otros dos grupos de riesgo: “muy alto riesgo” y “riesgo intermedio”.

En el grupo de “muy alto riesgo” se incluyó el 1,2% de la población cribada (85 casos). A todas estas gestantes se les realizó una técnica diagnóstica invasiva. En 2 casos se perdió su seguimiento. Se diagnosticaron 30 aneuploidías, lo que supone el 35,2% de los casos de este grupo (81% del total de cromosomopatías diagnosticadas).

El grupo de “riesgo intermedio” incluyó 270 casos (3,7% de la población cribada). Por el método contingente, al total de las pacientes incluidas en este grupo se les ofertó una segunda prueba de cribado, el TPNI o análisis de ADN-Ic.

La elevada prevalencia de cromosomopatías en el grupo de “muy alto riesgo” nos reafirma en el hecho de que debemos tratar este grupo de pacientes con especial atención, y por tanto existe rentabilidad diagnóstica en la realización directa de técnicas invasivas. Nuestros datos coinciden con estudios previos del grupo de *Nicolaides et al*<sup>281</sup> donde se observaba una tasa de cromosomopatías del 70% en el grupo de “muy alto riesgo”.

Tras el desarrollo de las diferentes técnicas de análisis de ADN-Ic y su aplicación como método de cribado de cromosomopatías, las diferentes sociedades científicas ofrecen diferentes recomendaciones en cuanto a las estrategias de su aplicación en los distintos sistemas sanitarios, desde realizarlo a los casos de mayor riesgo como alternativa a las técnicas invasivas, hasta su aplicación como método de cribado universal. Así, Bélgica y Países Bajos ofrecen actualmente el TPNI como primera línea de cribado a todas las



gestantes, con una aceptación mayor al 75% en el primero y del 47% en el segundo.<sup>283</sup> La sensibilidad del test en Países Bajos es del 98% para detección de trisomía 21.<sup>277</sup>

Otras sociedades científicas, como la SEGO desde 2.018, recomiendan la utilización del ADN-Ic en España como alternativa a las técnicas invasivas en caso de CC1T de alto riesgo, excluyendo su aplicación en casos de riesgo muy elevado o hallazgo de malformaciones fetales (por la elevada probabilidad de hallazgo de aneuploidías).<sup>10</sup> Sin embargo, esta metodología aún no ha sido evaluada y nuestro trabajo se propone dicho fin.

La aplicación del análisis de ADN-Ic en el cribado de cromosomopatías ha llevado a plantear una serie de cuestiones éticas y de índole social. En primer lugar, el hecho de que cuando apareció se trataba de una técnica de elevado coste económico y no pudo ser ofrecida por los sistemas sanitarios públicos o básicos, llevó a que fuera ofertada únicamente de forma privada o mediante métodos de copago. Esta barrera financiera supone una desigualdad entre gestantes, que impide a la mayoría de ellas utilizar el TPNI no solo como un método de cribado de cromosomopatías, sino como una fuente de información y opciones reproductivas segura y precisa.<sup>278,280</sup>

El sistema público garantiza la oferta del TPNI a todas las gestantes por igual, que pueden utilizarlo voluntariamente e independientemente de sus posibilidades económicas.<sup>280</sup> Aquí radica por tanto la importancia de llevar a cabo estudios económicos que faciliten a los sistemas sanitarios su implantación costo-efectiva.

Por otra parte, al tratarse de una técnica de cribado y no una técnica diagnóstica, nos planteamos como posibilidad que nuestro grupo de pacientes no aceptara la realización del TPNI, ya que se trata de una prueba que oferta un resultado en términos de probabilidad frente a la certeza del diagnóstico definitivo obtenido mediante amniocentesis o biopsia corial. El primer año de aplicación de esta metodología revocaron su realización un 50% de las pacientes (19 gestantes). El segundo año no lo aceptaron un 39,4% (15 gestantes) y el tercero el número de rechazos descendió a un 10,5% (4 gestantes).

Se ha constatado que la aceptación de la prueba por parte de las pacientes depende en gran medida de la información de la que disponen. Esto influye además en la capacidad de detección del test, que aumenta a medida que lo hace el número de cribados realizados.<sup>256,278</sup>

Las circunstancias puntuales de cada mujer modulan la información que más valoran y necesitan en el contexto de una toma de decisiones. Algunos estudios han comprobado que las pacientes a menudo buscan información sobre el cribado de cromosomopatías a través de páginas web, noticias o foros de debate, sin embargo, la mayoría de ellas preferiría que esta información proviniera del clínico que las atiende. La mayor disponibilidad de información de confianza sobre el TPNI, así como la atención y facilitación del asesoramiento pueden ayudar a facilitar la toma de decisiones.<sup>278</sup>

Pese a que el asesoramiento de los padres previo a la realización del TPNI puede suponer un incremento del coste del proceso al sistema de salud, es un aspecto importante a la hora de reducir la ansiedad que experimentan durante el proceso de cribado de aneuploidías. Por esto, recientemente se han publicado estudios que

incluyen la provisión de información en la evaluación económica de este método de cribado<sup>279</sup>

Podemos observar que, con el tiempo, al ampliar la información respecto al nuevo método a nuestras gestantes, así como poder ofrecerles fiabilidad en términos de sensibilidad, aumentó progresivamente la aceptación de las pacientes, que valoraron las ventajas de evitar una técnica invasiva en estos casos. De forma global durante el periodo de estudio, el 86% de las pacientes aceptó la realización de un TPNI en los casos seleccionados (232 gestantes), mientras que la rechazaron un 14% (38 casos).

En este grupo se diagnosticó una trisomía 21, lo que supone el 0,37% de las gestantes este grupo y un 2,7% del total de cromosomopatías.

De las gestantes que aceptaron la realización del test de ADN-Ic, en 11 casos (5%) fue necesaria la repetición de esta prueba y en 2 casos (0,8%) no se obtuvo resultado (ambas gestantes decidieron no realizarse más estudios, naciendo dos niños sin aneuploidías).

En el grupo de “bajo riesgo” se realizó una evaluación mediante sonografía genética en la ecografía morfológica fetal (ecografía de las 18-22 semanas) a 6.772 pacientes (98,3%), con 117 casos perdidos. En este grupo se incluye 1 caso de trisomía 21, 2 casos de trisomía 18 y 1 caso de triploidía. Así, la sensibilidad final del cribado, para el total de cromosomopatías, es de un 94,5% (35/37) para una tasa de falsos positivos del modelo secuencial de un 5,5% (399/7.209).

La aplicación de un cribado de cromosomopatías basado en una metodología contingente con aplicación del TPNI en nuestra población de estudio ha presentado una sensibilidad para trisomía 21 del 85,7% (18/21) para una tasa de falsos positivos del 1,7% (123/7.244).

Por tanto, podemos afirmar que el modelo contingente con aplicación de TPNI permite un cribado de cromosomopatías basado en un test de aplicación universal, con una adecuada sensibilidad y una buena aceptación por las pacientes en el Área Sanitaria Sur de Sevilla, cumpliendo así con otro de nuestros objetivos secundarios.

## 5.4. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DEL TPNI. INFLUENCIA EN LA TASA DE REALIZACIÓN DE TÉCNICAS INVASIVAS.

El objetivo principal de nuestro trabajo consiste en reducir la tasa de realización de técnicas invasivas al aplicar un cribado de cromosomopatías basado en un modelo contingente con aplicación del TPNI, manteniendo la tasa de detección del CC1T.

Como ya se ha introducido, las técnicas invasivas conllevan una serie de riesgos para la gestante y para el feto. La tasa de pérdida fetal se encuentra en torno a un 0,5-1%.<sup>95</sup> Al analizar la metodología de cribado contingente con aplicación de TPNI, un resultado común en todos los estudios es la disminución de la tasa de técnicas invasivas y por tanto, de las pérdidas fetales relacionadas con este procedimiento.<sup>170,248,250,256,277</sup>

Si conseguimos reducir la tasa de realización de técnicas invasivas en nuestra área sanitaria, podremos también disminuir el número de pérdidas gestacionales atribuidas a la técnica.

Para valorar cómo ha disminuido la tasa de técnicas invasivas realizadas en nuestra área sanitaria con la aplicación del modelo de cribado contingente con aplicación de ADN-Ic, detallaremos la evolución histórica de las mismas.

En el periodo de enero de 2.013 a diciembre de 2.015, en el Área Sanitaria Sur de Sevilla se cribaron 9.230 gestaciones, de las cuales, 443 obtuvieron un riesgo alto en el CC1T. A 351 de ellas se les realizó una técnica invasiva, mientras que el resto las revocaron, bien por no deseo o bien por preferir la realización del TPNI. A esta cifra, hay que añadir 84 gestantes a las que se les realizó una técnica invasiva debido a la sospecha ecográfica de una malformación en la ecografía morfológica fetal (precoz y de 20 semanas). Así pues, en dicho periodo se realizó un 4,8% de técnicas invasivas (443/9.230).

Posteriormente, comenzó a aplicarse el TPNI en un modelo contingente de cribado tal y como se ha detallado. En nuestro periodo de estudio, de septiembre de 2.016 hasta julio de 2.019, se cribaron 7.244 gestaciones, de las cuales 355 obtuvieron un cribado positivo. Se realizaron 186 técnicas invasivas, y al resto de pacientes se les aplicó el TPNI (salvo una paciente que rechazó ambos procedimientos). Otras 7 pacientes fueron sometidas a técnicas invasivas por otros motivos (antecedentes de alteración genética o padres portadores de una alteración cromosómica). La aplicación del cribado contingente con la oferta del test de ADN-Ic supuso por tanto una reducción de la tasa de realización de técnicas invasivas a un 3,1%. Se pasó de una tasa de indicaciones de realización de técnica invasiva de un 5,7% (418/7.244) a un 2,6% (193/7.244).

Gracias a esta estrategia, observamos como se minimizan los riesgos de las técnicas invasivas tal y como proponen las sociedades científicas, entre ellas la SEGO, en su propuesta de aplicación del cribado de cromosomopatías contingente con aplicación del ADN-Ic.<sup>10</sup>, cumpliendo así con el objetivo principal de nuestro trabajo.

Existen varios estudios que han evaluado cómo valoran las pacientes la realización de un TPNI, mediante encuestas de satisfacción. Los cuestionarios incluían preguntas sobre la experiencia con el procedimiento, los sentimientos de tranquilidad, ansiedad y satisfacción. La mayoría (96,1%) se alegraron de haberse realizado el TPNI, y el 80,9%

se sintieron tranquilizadas con los resultados de la prueba.<sup>284</sup> Se demostró que las pacientes se mostraban positivas acerca de la oportunidad de someterse a una prueba segura, precisa y que redujera la necesidad de pruebas invasivas. Todas las gestantes entrevistadas pensaron que el TPNI debería ser adoptado de forma rutinaria en la práctica clínica.<sup>285</sup>

Podemos concluir que el cribado de cromosopatías basado en una metodología contingente con aplicación del TPNI en nuestra población de estudio ha presentado una sensibilidad para trisomía 21 del 85,7% (18/21) para una tasa de realización de técnicas invasivas del 2,6% (193/7.244).

## 5.5. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DEL TPNI. EVALUACIÓN DE COSTES Y COSTO-EFECTIVIDAD.

La introducción del TPNI en los sistemas públicos de salud pueden tener un impacto importante en el presupuesto si no se restringe a embarazos de alto riesgo. Se espera que, con el tiempo, gracias a la disminución del coste de esta técnica y a las progresivas mejoras en su rendimiento, pueda convertirse en una prueba de cribado universal. Mientras tanto, las autoridades sanitarias deben equilibrar los costos y los resultados de los diferentes métodos vigentes para ofrecer a las pacientes el cribado de cromosomopatías más adecuado.<sup>248</sup>

Nos planteamos como uno de los objetivos secundarios de nuestro trabajo, demostrar que la instauración de la metodología contingente con aplicación del TPNI no supone un incremento significativo de los costos.

Si revisamos la literatura sobre evaluaciones económicas de este método de cribado, encontramos una amplia heterogeneidad de resultados. Algunos estudios encuentran el modelo contingente con aplicación de TPNI más costoso y más efectivo<sup>272,273</sup>, mientras que otros concluyen que esta estrategia detectó menos casos a un coste menor del habitual.<sup>274,275</sup> Al observar resultados tan inconsistentes, es difícil obtener una conclusión sobre qué estrategia puede resultar más rentable. La mayoría de estudios coinciden en que la aplicación universal actualmente resulta demasiado costosa y por tanto no abordable por la mayoría de sistemas sanitarios. La disminución del coste unitario del TPNI parece ser el parámetro clave para hacer del cribado universal una estrategia rentable<sup>248</sup> El grupo de *Palomaki* et al. llegó a la conclusión de que si el coste unitario del test de ADN-Ic era menor del 96% del coste unitario de la técnica invasiva, podría establecerse un ahorro neto (4% de los costos asociados a los fallos del test y la confirmación por técnicas invasivas tras un resultado positivo en el TPNI).<sup>145</sup>

Las diferentes técnicas de cribado, los criterios para su indicación y los costes pueden diferir significativamente entre centros sanitarios y todavía más entre diferentes países, por lo que los hallazgos de cada estudio son difícilmente generalizables.<sup>271</sup> Por este motivo nos planteamos realizar una evaluación de costos y costo-efectividad en nuestro centro, que nos permita establecer decisiones en nuestra área sanitaria en base a los resultados en nuestra población.

En el Área Sanitaria Sur de Sevilla, durante el periodo de estudio establecido, el costo total de un cribado de cromosomopatías basado en un modelo contingente con aplicación de ADN-Ic ha sido de 1.000.942,96€, con un costo-efectividad de 28.598,3€. Si lo comparamos con un costo total de 985.932,96€ y costo efectividad de 28.169,5€ del CC1T, observamos un incremento de los costos del cribado del 1,5%.

Si revisamos la literatura, existen múltiples estudios de comparación de costos y costo-efectividad en la aplicación universal versus contingente del TPNI, sin embargo, apenas podemos encontrar estudios que comparen el CC1T con la aplicación contingente del TPNI. En estos estudios se pone de manifiesto incrementos de los costos de en torno al 4%.<sup>249</sup>

Por tanto, tras ofrecer resultados similares a los publicados en la literatura, podemos afirmar cumplir uno de los objetivos secundarios de nuestro estudio al constatar que la aplicación del modelo contingente de cribado con aplicación del TPNI supone un incremento de los costos poco significativo, menor al 5%.

## 5.6. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS CONTINGENTE CON APLICACIÓN DEL TPNI. EVALUACIÓN COMPARATIVA. SU SIGNIFICADO.

Se ha descrito que uno de los factores más importantes que determinan la rentabilidad del cribado contingente es el punto de corte a partir del cual realizar el TPNI.<sup>256,269,270</sup>

En los estudios que ofrecen resultados en términos de disminución de costos del modelo de cribado, se observa una consecuente disminución de la capacidad de detección de cromosomopatías del test (sensibilidad).<sup>274,275</sup>

Debido a las diferencias en las características poblacionales, las pruebas de cribado evaluadas, en costos de cada test y en los diferentes modelos analíticos de decisión empleados entre los diferentes estudios (realizados en países con sistemas sanitarios y económicos muy diversos) es difícil realizar comparaciones que permitan establecer conclusiones sobre la mejor estrategia de cribado en cuanto al costo-efectividad.

Se han realizado varios trabajos de costo-efectividad que proponen modelos razonables para un cribado contingente en función de diferentes puntos de corte.<sup>10,246,250,256</sup>

En la evaluación económica realizada por la SEGO<sup>10</sup>, para un punto de corte de 1/250 establece una TFP del 5% y una sensibilidad próxima al 93% a un coste global de 4 millones de euros. Cuando amplía el punto de corte a 1/500, la sensibilidad asciende a un 93,8% a expensas de una TFP del 7,2% y un coste global de 5,76 millones de euros. Al subir el punto de corte a 1/2000, la TFP aumenta hasta un 19% y el coste global a 15,2 millones de euros. Esta evaluación económica está realizada en base a una población ficticia de 400.000 gestantes con 800 casos de T21 (prevalencia 1 en 500) y con un precio estimado de 200€ por test.

El grupo de *Nicolaides*<sup>282</sup> obtiene resultados similares para su modelo contingente. Y si revisamos la literatura publicada, la mayoría de estudios de evaluación económica realizados, concluyen igualmente que cualquier punto de corte superior a 1/250-1/500 no resulta costo-efectivo para los sistemas sanitarios.<sup>8,249,250,256</sup>

Nos planteamos como objetivo secundario del estudio, analizar en una población real (Área Sanitaria Sur de Sevilla) cómo afecta la variación de los puntos de corte del riesgo en el CC1T para la realización contingente del análisis de ADN-Ic a la sensibilidad y tasa de falsos positivos del test.

En nuestra evaluación observamos como una metodología contingente con aplicación de ADN-Ic con punto de corte en 1/270 supone una reducción de la tasa de falsos positivos de un 3,7% manteniendo la sensibilidad para T21 en un 85,7% y solo supone un incremento de los costos en un 1,5%.

Si establecemos el punto de corte en 1/500, esto supone un aumento de la tasa de falsos positivos de un 2,9% con un aumento de la sensibilidad para T21 hasta un 90,4% y un incremento de los costos de un 6,3%.

Se consigue un incremento importante de la sensibilidad para T21 (95,2%) con la aplicación de un punto de corte de 1/2.000, pero esto supone un incremento de la tasa de falsos positivos del 17,6% y un aumento de los costos de un 40%.

Por tanto, si pretendemos cumplir con nuestro objetivo (y el marcado por las sociedades científicas de referencia para un adecuado cribado de cromosomopatías) de mantener una TFP menor al 5% y una sensibilidad mayor al 80%, con los datos disponibles en nuestra población, debemos mantener el punto de corte en 1/270. Esto además conlleva un aumento asumible de los costos asociados (1,5%).



## 6. LIMITACIONES Y CONCLUSIONES

## 6.1. LIMITACIONES

Consideramos como limitaciones de nuestro estudio:

- El haber aplicado como metodología de rescate del cribado combinado del primer trimestre un doble test y no aplicar un cuádruple test.
- No tener implementado un método de control de calidad de la evaluación ecográfica del cribado combinado del primer trimestre (CRL y TN).
- La metodología contingente no se ha aplicado en casos de gestaciones gemelares por no conocerse con seguridad la sensibilidad del test de ADN-Ic en estas gestaciones.
- La evaluación de costes y costo-efectividad se limita a la valoración de costos sin haber incluido en esta evaluación los costos indirectos y marginales.
- El control postnatal de los recién nacidos se limita a tres días postparto por lo que la presencia de algún defecto congénito menor puede no haberse registrado en el estudio.

## 6.2. CONCLUSIONES

1. En el Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme existe un cribado de cromosomopatías basado en un cribado combinado del primer trimestre que se aplica de forma universal y presenta una sensibilidad (85,7%) y una tasa de falsos positivos (4,9%) adecuados, según criterios internacionales.
2. La tasa de aplicación del doble test, que se realiza siempre como segunda opción de cribado de cromosomopatías en pacientes con inicio de control tardío de la gestación, es baja (1,81%).
3. La aplicación de una metodología de cribado de cromosomopatías de forma contingente en población de bajo riesgo, basada en un cribado combinado del primer trimestre asociado a un TPNI mejora los resultados del cribado combinado del primer trimestre ya que presenta la misma sensibilidad (85,7%) y reduce la tasa de realización de técnicas invasivas a un 2,6%.
4. La metodología de cribado de cromosomopatías de forma contingente, basada en un cribado combinado del primer trimestre asociado a un TPNI es aceptado por el 85,9% de las gestantes a las que se le ofreció.
5. La aplicación de la metodología de cribado de cromosomopatías de forma contingente, basada en un cribado combinado del primer trimestre asociado a un TPNI supuso un incremento mínimo (1,5%) de los costos del cribado de cromosomopatías.
6. En nuestra evaluación comparativa de diferentes puntos de corte de la metodología de cribado de cromosomopatías de forma contingente, basada en un cribado combinado del primer trimestre asociado a un TPNI, solo son aplicables en términos de sensibilidad, tasa de falsos positivos y costos los puntos de cortes de 1/270 y 1/500.
7. Como conclusión final, la metodología de cribado de cromosomopatías de forma contingente, basada en un cribado combinado del primer trimestre asociado a un TPNI mantiene la sensibilidad para T-21 en un 85,7% con una disminución de la realización de técnicas invasivas de un 3,1% y solo supone un incremento del 1,5% de los costos.



## 7. ANEXOS

---

# Anexo 1. Consentimiento Informado del Cribado Combinado de Primer Trimestre de la Junta de Andalucía.

Sistema de Información de Cribado de Anomalías Cónogenitas

Página 1 de 4

**JUNTA DE  
ANDALUCÍA**

**CONSEJERÍA DE SALUD**

## FORMULARIO DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO

Orden de 8 de julio de 2009 (BOJA nº 152 de fecha 6 de agosto de 2009) por la que se dictan instrucciones a los Centros del Sistema Sanitario Público de Andalucía, en relación al Consentimiento Informado.

SERVICIO ANDALUZ DE SALUD

UGC DE OBSTETRICIA Y  
GINECOLOGIA Y UG DE LOS  
LABORATORIOS CLÍNICOS

### 1 DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA REALIZACIÓN DE LA PRUEBA DE CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS

Este documento sirve para que usted, o quien le represente, dé su consentimiento para esta prueba.

Puede usted retirar este consentimiento cuando lo desee. De su rechazo no se derivará ninguna consecuencia adversa respecto a la calidad del resto de la atención recibida. Antes de firmar, es importante que lea despacio la información siguiente. **Díganos si tiene alguna duda o necesita más información.** Le atenderemos con mucho gusto.

**LE OFRECEMOS UNA TÉCNICA DE CRIBADO PRENATAL Y EL RESULTADO SE VALORA COMO LA PROBABILIDAD, O RIESGO, DE PADECER LA PATOLOGÍA QUE SE EVALÚA. Así una técnica de cribado NO es nunca una prueba diagnóstica definitiva, y precisa de una confirmación en los casos en que la probabilidad o el riesgo sean altos.**

#### 1.1 LO QUE USTED DEBE SABER:

**EN QUÉ CONSISTE. PARA QUÉ SIRVE:** Consiste en la combinación de pruebas bioquímicas, ecográficas y de datos demográficos y hábitos de la gestante, para establecer el riesgo de que el feto padezca el síndrome de Down.

**Para la prueba bioquímica** se solicita una muestra de sangre consistente en la extracción de 10 mL de suero entre las semanas 9 a 12 de gestación.

La prueba ecográfica se realiza entre la semana 11 y la 13. **El resultado de esta combinación de pruebas**, sólo informan sobre la mayor o menor probabilidad de que el feto padezca alguna de estas alteraciones cromosómicas. Es decir orientan sobre la mayor o menor conveniencia de someterse a otras pruebas de diagnóstico, que en este caso consistiría en una amniocentesis o una biopsia corial.

**CÓMO SE REALIZA:** Se procederá a la extracción de una muestra de 10 mililitros de sangre periférica por venopunción. Se practicará en la consulta de enfermería de su ambulatorio por personal cualificado. Con posterioridad se realizará una ecografía en la consulta de obstetricia, cuyo resultado se combinará con los resultados de la analítica.

**QUÉ EFECTOS LE PRODUCIRÁ:** Cuando se inserta la aguja para extraer la sangre, algunas personas sienten un dolor moderado, mientras que otras sólo sienten un pinchazo o sensación de picadura.

**EN QUÉ LE BENEFICIARÁ:** El cribado combinado del primer trimestre actualmente tiene una sensibilidad del 75% para detectar los fetos portadores de síndrome de Down, con una tasa de falsos positivos entre el 5% y el 10%. Esto significa que existe entre un 5% y un 10% de posibilidades de que siendo el cribado positivo, el feto sea cromosómicamente normal, y que existe 25% de probabilidades de que resultando cribado negativo o de bajo riesgo, el feto sea portador de una anomalía cromosómica.

**OTRAS ALTERNATIVAS DISPONIBLES EN SU CASO:** Si no desea conocer el riesgo de que el feto padezca síndrome de Down, debe hacer constar por escrito su renuncia a esta técnica de cribado. No existen alternativas sin riesgo para el feto, con la precisión del cribado combinado del primer trimestre.

**QUÉ RIESGOS TIENE:** Los riesgos derivados de esta prueba son los propios de una venopunción (extracción de sangre venosa), técnica que le será realizada en cualquiera de los puntos de extracción del Área Sanitaria a la que este Complejo Hospitalario da cobertura.

**Riesgos personalizados**

Derivados de la situación particular de cada paciente (cumplimentar si procede):

**SITUACIONES ESPECIALES QUE DEBEN SER TENIDAS EN CUENTA:**

**OTRAS INFORMACIONES DE INTERÉS (a considerar por el/la profesional):**

**Resultados:** Los resultados de estas pruebas serán incluidos en la historia clínica de la paciente, se dará un Informe analítico al facultativo solicitante del estudio.

Y éste lo comunicara al usuario, caso de existir alguna anomalía se le ofertarán a la gestante las pruebas diagnósticas de confirmación a la mayor brevedad posible.

**REPERCUSIONES SI RECHAZA:** El estudio precoz de las posibles patologías que puedan surgir en su embarazo puede quedar incompleto.

**2 CONSENTIMIENTO INFORMADO****2.1 DATOS DEL/ DE LA PACIENTE Y DE SU REPRESENTANTE (solo en caso de incapacidad del/de la paciente)**

APELLIDOS Y NOMBRE DEL PACIENTE      DNI / NIE

APELLIDOS Y NOMBRE DEL/DE LA      DNI / NIE  
REPRESENTANTE LEGAL

**2.2 PROFESIONALES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE INFORMACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO**

APELLIDOS Y NOMBRE      FECHA      FIRMA

APELLIDOS Y NOMBRE      FECHA      FIRMA

**2.3 CONSENTIMIENTO**

Yo, D/Dña.

\_\_\_\_\_ ,  
manifiesto que estoy conforme con el procedimiento que se me ha propuesto. He leído y comprendido la información anterior. He podido preguntar y aclarar todas mis dudas. Por eso he tomado consciente y libremente la decisión de autorizarla. También sé que puedo retirar mi consentimiento cuando lo estime oportuno.

- o SI o NO Autorizo a que se me realice la prueba combinada para el cribado del primer trimestre, que implica pruebas bioquímicas y una ecografía.
- o SI o NO Autorizo a que se realicen la extracción de sangre periférica para la realización del cribado bioquímico del primer trimestre.
- o SI o NO Autorizo la punción digital para extraer unas gotas de sangre y participar en el estudio piloto de cribado bioquímico del primer trimestre en papel.

NOTA: Márquese con una cruz.

En \_\_\_\_\_, a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_

LA PACIENTE

EL/LA REPRESENTANTE  
LEGAL  
(sólo en caso de incapacidad de la  
paciente)

Fdo.:

Fdo.:



#### 2.4 RECHAZO DEL PROCEDIMIENTO

Yo, D/Dña.

\_\_\_\_\_, no autorizo a la realización de este procedimiento. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.

En \_\_\_\_\_, a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_

LA PACIENTE

EL/LA REPRESENTANTE  
LEGAL  
(sólo en caso de incapacidad de la  
paciente)

Fdo.:

Fdo.:

#### 2.5 REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Yo, D/Dña.

\_\_\_\_\_, de forma libre y consciente he decidido retirar el consentimiento para esta intervención. Asumo las consecuencias de que ello puedan derivarse para la salud o la vida.

En \_\_\_\_\_, a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_

LA PACIENTE

EL/LA REPRESENTANTE  
LEGAL  
(sólo en caso de incapacidad de la  
paciente)

Fdo.:

Fdo.:

## Anexo 2. Consentimiento Informado para la realización de Técnicas Invasivas (Amniocentesis y Biopsia Corial) de la Junta de Andalucía.

**JUNTA DE ANDALUCÍA**

**CONSEJERÍA DE SALUD**

### **FORMULARIO DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO**

Orden de 8 de julio de 2009 (BOJA nº 152 de fecha 6 de agosto) por la que se dictan instrucciones a los Centros del Sistema Sanitario Público de Andalucía, en relación al procedimiento de Consentimiento Informado.

<b>CENTRO SANITARIO</b>	<b>SERVICIO DE</b>
-------------------------	--------------------

### **1. DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA (\*) AMNIOCENTESIS GENÉTICA**

Este documento sirve para que usted, o quien lo represente, dé su consentimiento para esta intervención. Eso significa que nos autoriza a realizarla. Puede usted retirar este consentimiento cuando lo desee. Firmarlo no le obliga a usted a hacerse la intervención. De su rechazo no se derivará ninguna consecuencia adversa respecto a la calidad del resto de la atención recibida. Antes de firmar, es importante que lea despacio la información siguiente.

**Diganos si tiene alguna duda o necesita más información.** Le atenderemos con mucho gusto.

(\*) Indicar el nombre del procedimiento/intervención a realizar; si es posible, además del nombre técnico que siempre debe figurar, puede tratar de expresarlo con un nombre más sencillo.

#### **1.1 LO QUE USTED DEBE SABER:**

##### **EN QUÉ CONSISTE. PARA QUÉ SIRVE:**

Este procedimiento consiste en extraer líquido de dentro del útero, donde está alojado el feto (cavidad amniótica) para hacer un estudio genético. Sirve para obtener las células fetales necesarias para analizar los cromosomas del feto y saber si tienen algún tipo de anomalía. Se obtiene así el cariotipo fetal (el mapa de sus cromosomas) que es preciso conocer cuando la edad de la madre es avanzada, tiene ya un hijo/a con un problema cromosómico, o han aparecido resultados anormales en los análisis realizados o en la ecografía.

##### **CÓMO SE REALIZA:**

No necesita ser ingresada. Ni precisa de anestesia. Se hace de forma ambulatoria. Se realiza introduciendo una aguja fina a través del abdomen para llegar al útero y sacar un poco de líquido amniótico. De este líquido es de donde se obtienen las células del feto para analizar sus cromosomas.

##### **QUÉ EFECTOS LE PRODUCIRÁ:**

Solo sentirá mínimas molestias. Y podrá realizar una actividad física normal, evitando solo los esfuerzos.

##### **EN QUÉ LE BENEFICIARÁ:**

En conocer si su hijo/a tiene una alteración en sus cromosomas. Esta exploración no informa de defectos congénitos de otra naturaleza. Por ello, un resultado normal de éste no garantiza que el niño/a nazca sin un defecto o un retraso mental.

---

**OTRAS ALTERNATIVAS DISPONIBLES EN SU CASO:**

Una alternativa es decidir no hacerse la prueba.

---

**QUÉ RIESGOS TIENE:**

Cualquier actuación médica tiene riesgos. La mayor parte de las veces los riesgos no se materializan, y la intervención no produce daños o efectos secundarios indeseables. Pero a veces no es así. Por eso es importante que usted conozca los riesgos que pueden aparecer en este proceso o intervención.

- **LOS MÁS FRECUENTES:**
  - Que no se haya podido conseguir extraer líquido amniótico y no sea posible obtener un diagnóstico completo.
  - Que tenga sangrado vaginal o pérdida de líquido amniótico por vagina. Suelen ceder con reposo en unos días.
  
- **LOS MÁS GRAVES:**

Si bien son infrecuentes pueden ocurrir:

  - Infección del líquido de dentro del útero (líquido amniótico).
  - Que se forme una brida amniótica.
  - Existe riesgo de aborto.
  
- **LOS DERIVADOS DE SUS PROBLEMAS DE SALUD:**

---

**SITUACIONES ESPECIALES QUE DEBEN SER TENIDAS EN CUENTA:**

Pueden existir circunstancias que aumenten la frecuencia y gravedad de riesgos y complicaciones a causa de enfermedades que usted ya padece. Para ser valoradas debe informar a su médico de sus posibles alergias medicamentosas, alteraciones de la coagulación, enfermedades, medicaciones actuales o cualquier otra circunstancia que considere importante.

---

**OTRAS INFORMACIONES DE INTERÉS (a considerar por el/la profesional):**

---

**OTRAS CUESTIONES PARA LAS QUE LE PEDIMOS SU CONSENTIMIENTO:**

- A veces, durante la intervención, se producen hallazgos imprevistos. Pueden obligar a tener que modificar la forma de hacer la intervención y utilizar variantes de la misma no contempladas inicialmente.

- A veces es necesario tomar muestras biológicas para estudiar mejor su caso. Pueden ser conservadas y utilizadas posteriormente para realizar investigaciones relacionadas con la enfermedad que usted padece. No se usaran directamente para fines comerciales. Si fueran a ser utilizadas para otros fines distintos se le pediría posteriormente el consentimiento expreso para ello. Si no da su consentimiento para ser utilizadas en investigación, las muestras se

**JUNTA DE ANDALUCÍA****CONSEJERÍA DE SALUD**

destruirán una vez dejen de ser útiles para documentar su caso, según las normas del centro. En cualquier caso, se protegerá adecuadamente la confidencialidad en todo momento.

- También puede hacer falta tomar imágenes, como fotos o videos. Sirven para documentar mejor el caso. También pueden usarse para fines docentes de difusión del conocimiento científico. En cualquier caso serán usadas si usted da su autorización. Su identidad siempre será preservada de forma confidencial.

**JUNTA DE ANDALUCÍA**

**CONSEJERÍA DE SALUD**

### **FORMULARIO DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO**

Orden de 8 de julio de 2009 (BOJA nº 152 de fecha 6 de agosto) por la que se dictan instrucciones a los Centros del Sistema Sanitario Público de Andalucía, en relación al procedimiento de Consentimiento Informado.

<b>CENTRO SANITARIO</b>	<b>SERVICIO DE</b>
-------------------------	--------------------

#### **1. DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA (\*) BIOPSIA CORIAL**

Este documento sirve para que usted, o quien lo represente, dé su consentimiento para esta intervención. Eso significa que nos autoriza a realizarla.

Puede usted retirar este consentimiento cuando lo desee. Firmarlo no le obliga a usted a hacerse la intervención. De su rechazo no se derivará ninguna consecuencia adversa respecto a la calidad del resto de la atención recibida. Antes de firmar, es importante que lea despacio la información siguiente.

**Díganos si tiene alguna duda o necesita más información.** Le atenderemos con mucho gusto.

(\*) Indicar el nombre del procedimiento/intervención a realizar; si es posible, además del nombre técnico que siempre debe figurar, puede tratar de expresarlo con un nombre más sencillo.

##### **1.1 LO QUE USTED DEBE SABER:**

###### **EN QUÉ CONSISTE. PARA QUÉ SIRVE:**

Este procedimiento consiste en obtener una muestra de tejido (de vellosidades coriales).

Sirve para obtener células embrionarias y realizarles un análisis cromosómico o bioquímico y saber si el feto tiene algún tipo de anomalía. Se obtiene así el cariotipo fetal (el mapa de sus cromosomas) que es preciso conocer cuando la edad de la madre es avanzada, tiene ya un hijo/a con un problema cromosómico, o han aparecido resultados anormales en los análisis realizados o en la ecografía.

###### **CÓMO SE REALIZA:**

Puede ser necesaria anestesia local. La muestra se obtiene introduciendo una aguja o pinza especial. Puede realizarse a través del abdomen materno (vía transabdominal) o por vía vaginal a través del cuello del útero (vía transcervical). Se hace todo bajo control ecográfico.

###### **QUÉ EFECTOS LE PRODUCIRÁ:**

La técnica sólo le provocará la molestia de una punción.

Si Usted presentara sangrado vaginal abundante, pérdida de líquido o fiebre, debe acudir al Hospital.

###### **EN QUÉ LE BENEFICIARÁ:**

En conocer si su hijo/a tiene una alteración en sus cromosomas.

Esta exploración no informa de defectos congénitos de otra naturaleza. Por ello, un resultado normal de este no garantiza que el niño/a nazca sin un defecto o un retraso mental.

001530

**OTRAS ALTERNATIVAS DISPONIBLES EN SU CASO:**

Una alternativa es realizar otro procedimiento como una amniocentesis genética. O bien puede decidir no hacerse la prueba.

En su caso:

**QUÉ RIESGOS TIENE:**

Cualquier actuación médica tiene riesgos. La mayor parte de las veces los riesgos no se materializan, y la intervención no produce daños o efectos secundarios indeseables. Pero a veces no es así. Por eso es importante que usted conozca los riesgos que pueden aparecer en este proceso o intervención.

- **LOS MÁS FRECUENTES:**
  - Puede tener sangrado vaginal, sobre todo si se le ha hecho a través de la vagina.
  
- **LOS MÁS GRAVES:**  
Son complicaciones menos frecuentes:
  - La rotura de la bolsa de las aguas.
  - La sensibilización Rh.
  - La infección del líquido de dentro del útero (líquido amniótico).
  - El riesgo de aborto.
  
- **LOS DERIVADOS DE SUS PROBLEMAS DE SALUD:**

**SITUACIONES ESPECIALES QUE DEBEN SER TENIDAS EN CUENTA:**

Si Usted padece de alergias a medicamentos, de alteraciones de la coagulación, o de otras enfermedades, debe informar a su médico. También comunicarle los medicamentos que actualmente tome y cualquier otra circunstancia que considere importante.

Si presentara sangrado vaginal importante u otros signos de aborto, presencia de hematomas intrauterinos o haberse sensibilizado por RH, no está indicado realizar esta prueba.

**OTRAS INFORMACIONES DE INTERÉS (a considerar por e/la profesional):****OTRAS CUESTIONES PARA LAS QUE LE PEDIMOS SU CONSENTIMIENTO:**

- A veces, durante la intervención, se producen hallazgos imprevistos. Pueden obligar a tener que modificar la forma de hacer la intervención y utilizar variantes de la misma no contempladas inicialmente.

## JUNTA DE ANDALUCÍA

## CONSEJERÍA DE SALUD

- A veces es necesario tomar muestras biológicas para estudiar mejor su caso. Pueden ser conservadas y utilizadas posteriormente para realizar investigaciones relacionadas con la enfermedad que usted padece. No se usarán directamente para fines comerciales. Si fueran a ser utilizadas para otros fines distintos se le pediría posteriormente el consentimiento expreso para ello. Si no da su consentimiento para ser utilizadas en investigación, las muestras se destruirán una vez dejen de ser útiles para documentar su caso, según las normas del centro. En cualquier caso, se protegerá adecuadamente la confidencialidad en todo momento.

- También puede hacer falta tomar imágenes, como fotos o videos. Sirven para documentar mejor el caso. También pueden usarse para fines docentes de difusión del conocimiento científico. En cualquier caso serán usadas si usted da su autorización. Su identidad siempre será preservada de forma confidencial.

001530

**1.2 IMÁGENES EXPLICATIVAS:**

(En este espacio podrán insertarse con carácter opcional imágenes explicativas, esquemas anatómicos, pictogramas etc. que faciliten y permitan explicar de manera más sencilla la información al paciente.)

---



## JUNTA DE ANDALUCÍA

## CONSEJERÍA DE SALUD

<b>CENTRO SANITARIO</b>	<b>SERVICIO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA</b>
-------------------------	--

### 2. CONSENTIMIENTO INFORMADO

(En el caso de INCAPACIDAD DEL/DE LA PACIENTE será necesario el consentimiento del/de la representante legal)

(En el caso del MENOR DE EDAD, cuando se considere que carece de madurez suficiente, el consentimiento lo darán sus representantes legales, aunque el menor siempre será informado de acuerdo a su grado de entendimiento y, si tiene más de 12 años, se escuchará su opinión. Si el paciente está emancipado o tiene 16 años cumplidos será él quien otorgue el consentimiento. Sin embargo, en caso de actuación de grave riesgo, según el criterio del facultativo, los representantes legales también serán informados y su opinión será tenida en cuenta para la decisión.)

#### 2.1 DATOS DEL/DE LA PACIENTE Y DE SU REPRESENTANTE LEGAL (si es necesario)

APELLIDOS Y NOMBRE, DEL PACIENTE	DNI / NIE
APELLIDOS Y NOMBRE, DEL/DE LA REPRESENTANTE LEGAL	DNI / NIE

#### 2.2 PROFESIONALES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE INFORMACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO

APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA

#### 2.3 CONSENTIMIENTO

**JUNTA DE ANDALUCÍA****CONSEJERÍA DE SALUD**

Yo, D/Dña \_\_\_\_\_, manifiesto que estoy conforme con la intervención que se me ha propuesto. He leído y comprendido la información anterior. He podido preguntar y aclarar todas mis dudas. Por eso he tomado consciente y libremente la decisión de autorizarla. También sé que puedo retirar mi consentimiento cuando lo estime oportuno.

\_\_\_SI\_\_\_NO Autorizo a que se realicen las actuaciones oportunas, incluyendo modificaciones en la forma de realizar la intervención, para evitar los peligros o daños potenciales para la vida o la salud, que pudieran surgir en el curso de la intervención.

\_\_\_SI\_\_\_NO Autorizo la conservación y utilización posterior de mis muestras biológicas para investigación relacionada directamente con la enfermedad que padezco.

\_\_\_SI\_\_\_NO Autorizo que, en caso de que mis muestras biológicas vayan a ser utilizadas en otras investigaciones diferentes, los investigadores se pongan en contacto conmigo para solicitarme consentimiento.

\_\_\_SI\_\_\_NO Autorizo la utilización de imágenes con fines docentes o de difusión del conocimiento científico.

(NOTA: Márquese con una cruz.)

En \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

EL/LA PACIENTE \_\_\_\_\_ Consentimiento/Visto Bueno de EL/LA REPRESENTANTE LEGAL \_\_\_\_\_

Fdo.:

Fdo.:

<b>CENTRO SANITARIO</b>	<b>SERVICIO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA</b>
-------------------------	--

**2.4 RECHAZO DE LA INTERVENCIÓN**

Yo, D/Dña \_\_\_\_\_, no autorizo a la realización de esta intervención. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.

En \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

EL/LA PACIENTE \_\_\_\_\_ Consentimiento/Visto Bueno de EL/LA REPRESENTANTE LEGAL \_\_\_\_\_

Fdo.:

Fdo.:

**2.5 REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO**

**JUNTA DE ANDALUCIA**

**CONSEJERÍA DE SALUD**

Yo, D/Dña \_\_\_\_\_, de forma libre y consciente he decidido retirar el consentimiento para esta intervención. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.

En \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

EL/LA PACIENTE                      Consentimiento/Visto Bueno de EL/LA REPRESENTANTE LEGAL

Fdo.: \_\_\_\_\_ Fdo.: \_\_\_\_\_

001530

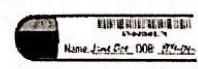
### Anexo 3. Consentimiento Informado del Test Prenatal no Invasivo (análisis de ADN fetal libre circulante).

**harmony\***  
PRENATAL TEST

realizado en España

Cumplimentar todos los campos del consentimiento informado

Etiqueta de la muestra  
del laboratorio solicitante

Información de la paciente	Información de la clínica
Nombre y apellidos _____	Número de cuenta 17998    Nombre de la cuenta Megalab _____
Fecha de nacimiento _____	Médico prescriptor _____
Dirección _____	Nombre del centro _____
Ciudad o provincia _____	Dirección _____
País/Código postal _____	Ciudad o provincia _____
DNI _____	País/Código postal _____
Teléfono _____	Teléfono _____
Peso (Kg) _____    Estatura (m) _____	Correo electrónico _____
Correo electrónico _____	
Firma de la paciente para el consentimiento informado	Firma del médico
<p>Mi firma en este formulario indica que he leído, o me han leído, el consentimiento informado al dorso de este formulario. Comprendo el consentimiento informado y autorizo a Megalab a realizar los análisis de laboratorio seleccionados. He tenido la oportunidad de hacer preguntas y analizar las posibilidades, las limitaciones y los posibles riesgos de la(s) prueba(s), con mi profesional sanitario o con quien él o ella haya designado. Sé que, si lo deseo, puedo recibir asesoramiento genético profesional antes de firmar este consentimiento.</p> <p>Expresamente acepto y autorizo que mis datos personales incluidos en este formulario de solicitud de prueba (entre otros, mi nombre, dirección, información acerca de mi embarazo y otra información pertinente) así como mi muestra de sangre se envíen y transmitan a Megalab en Madrid con el fin de que se lleve(n) a cabo la(s) prueba(s) Harmony. En caso de que cancele mi consentimiento o solicite no recibir los resultados de la(s) prueba(s) Harmony, Megalab adoptará las medidas comercialmente razonables para destruir de inmediato mi muestra de sangre conforme a las leyes vigentes y con los protocolos estándar de Megalab para la destrucción de muestras. Estoy de acuerdo en que, en caso de que Megalab realice la(s) prueba(s) Harmony seleccionadas en este formulario, Megalab pueda conservar mis datos personales (incluidos los resultados de mi prueba), y el remanente de mi muestra (si lo hubiera) durante el plazo que sea necesario, en conformidad con lo dispuesto en el RGPD (UE) 2016/679, normativa española vigente en materia de protección de datos y la Ley 41/2002, Básica reguladora de la autonomía del Paciente.</p> <p><input type="checkbox"/> Deseo participar    <input type="checkbox"/> No deseo participar</p> <p>Marque la opción que corresponda para indicar si da su consentimiento para que se realicen estudios anonimizados de desarrollo y validación de laboratorio. Si marca la casilla Deseo participar, reconozco y acepta que, después de que finalicen la(s) prueba(s) que haya seleccionado, sus datos personales (incluida, entre otros, la información que consta en este formulario de solicitud de prueba y en los resultados de las pruebas) y el remanente sin utilizar de su muestra, que puede conservarse durante más de 60 días, se anonimicen y puedan emplearse en estudios de validación, desarrollo de procesos y/o control de calidad de laboratorio en Megalab. Si no marca la casilla Deseo participar, sus datos personales y el remanente sin utilizar de su muestra no se emplearán en estudios de desarrollo o validación de laboratorio. En todos los casos, las muestras de las pacientes y los datos personales, incluidos los resultados, se conservarán, utilizarán y destruirán de conformidad con las leyes españolas.</p> <p>Firma de la paciente _____</p> <p>Fecha _____</p>	<p>Certificado que mi paciente ha recibido toda la información sobre los detalles, las posibilidades y las limitaciones de la(s) prueba(s). La paciente ha dado su pleno consentimiento para que se realice esta prueba.</p> <p>Firma del médico _____</p> <p>Fecha _____</p>
Información de facturación	Opciones del menú de prueba e información clínica
<p><input type="checkbox"/> Tarjeta de crédito</p> <p><input type="checkbox"/> Cliente/Proveedor</p>	<p><input checked="" type="checkbox"/> Harmony Prenatal Test (T21, T18, T13)</p> <p>Marque las otras opciones de prueba que solicita:</p> <p><input type="checkbox"/> Sexo fetal</p> <p><input type="checkbox"/> Monosomía X (Sólo embarazos de un feto)</p> <p><input type="checkbox"/> Panel de aneuploidía de los cromosomas sexuales (Sólo embarazos de un feto)</p> <p><input type="checkbox"/> 22q11.2 (sólo embarazos de un feto)</p> <p>Edad gestacional, elija A o B:</p> <p>A. _____ semanas    días    medido el _____</p> <p>B.    <input type="checkbox"/> FUM<sup>1</sup>    <input type="checkbox"/> FPP<sup>2</sup>    <input type="checkbox"/> FIV<sup>3</sup>    Fecha _____</p> <p><sup>1</sup> Fecha de la última menstruación    <sup>2</sup> Fecha probable de parto    <sup>3</sup> Fecha de la transferencia embrionaria</p> <p>Número de fetos    <input type="checkbox"/> 1    <input type="checkbox"/> 2</p> <p>¿Embarazo por FIV? O No O Sí → <span style="border-left: 1px solid black; padding-left: 5px;">Óvulo utilizado en la FIV: <input type="checkbox"/> Paciente    <input type="checkbox"/> Donante Edad de la paciente/donante en la obtención del óvulo: _____ Años</span></p>
Información importante sobre la extracción de sangre	
<p>A. Fecha de obtención: _____</p> <p>B. Adherir las etiquetas del laboratorio a los tubos y al consentimiento informado. → </p>	

\*En cumplimiento de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica, concretamente sus artículos 47 y 48, el médico prescriptor deberá obtener consentimiento informado para la realización de pruebas genéticas. La firma de la paciente en este consentimiento va encaminada a cumplir con dicho requisito\*.

# harmony\*

PRENATAL TEST

realizado en España

El Test Prenatal Harmony permite evaluar el riesgo fetal de presentar las trisomías 21, 13 y 18, así como el análisis opcional del sexo fetal, la evaluación del riesgo para aneuploidias de los cromosomas sexuales (X, Y) y la microdelección 22q11.2 a través de la cuantificación del ADN fetal libre y circulante presente en plasma materno.

El Test Prenatal Harmony analiza fragmentos de los cromosomas específicos mediante la tecnología de microarray. Esta técnica es un método de cuantificación altamente preciso, ya que aborda un análisis dirigido únicamente a los cromosomas de interés (21, 13, 18, X, Y y 22). Para ello se utilizan dos algoritmos: DANSR, que permite un abordaje dirigido a los cromosomas sexuales, 21, 13, 18 y 22 y FORTE que incorpora la medición del porcentaje de ADN fetal en sangre materna, la edad gestacional y la edad materna.

El Test Prenatal Harmony presenta una sensibilidad y especificidad > 99% y una tasa de falsos positivos < 0,1% para los cromosomas sexuales, 21, 13 y 18; en el estudio de la microdelección 22q11.2 la tasa de detección es del 75% y la tasa de falsos positivos es < 0,6%.

### ¿Quién puede optar por el análisis Harmony Prenatal Test?

Las pacientes deben estar como mínimo en la semana 10 de gestación para hacerse cualquiera de las opciones de la prueba Harmony. Las pacientes que hayan recibido trasplantes de médula ósea o de órganos o que tengan cáncer metastásico no pueden realizarse el Harmony Prenatal Test. Consulte los otros criterios de idoneidad a continuación:

	Harmony (Trisomía 21, 13 y 18) con o sin la opción de sexo fetal	Harmony con panel de aneuploidia de los cromosomas sexuales monosomía X o 22q11.2
Embarazos de un solo feto incluyendo FIV	✓	✓
Embarazos de mellizos o gemelos incluyendo FIV	✓	No apta
Más de 2 fetos	No apta	No apta

### ¿Cuáles son las limitaciones del Harmony Prenatal Test?

- Anomalías investigadas:** La prueba está dirigida a la evaluación de las trisomías 21, 13 y 18. La prueba de la microdelección 22q11.2, el sexo fetal y las anomalías cromosómicas sexuales son opcionales. No detecta la presencia de mosaicismos y otras condiciones distintas a las descritas anteriormente.
- Riesgo Residual:** Las trisomías principales de la prueba, representan en torno al 50% de la patología cromosómica fetal asociada a consecuencias clínicamente significativas, por ello existe un riesgo residual para otras anomalías cromosómicas fatales no investigadas por la prueba (Grati y cols., *Am J Med Genet A* 2010; Ferreira, Grati y cols 2016)
- Falsos positivos y negativos:** El Test Harmony se basa en el estudio y cuantificación de fragmentos de ADN fetal libre y circulante procedente de la apoptosis de células placentarias. Por ello puede haber discrepancias (falsos positivos y negativos) entre el resultado de la prueba y la constitución cromosómica fetal real, debido a la existencia de mosaicismo feto-placentar (1-2% frecuencia de representación). La presencia de un feto evanescente\* en gestaciones gemelares, transfusiones maternas o trasplantes, anomalías cromosómicas maternas y tumores maternos son otras fuentes de discrepancia conocidas hasta la fecha (Mayo 2018) (Grati y cols. *Med Genet* 2014). Ante el desconocimiento de estas condiciones antes de la prueba no se recomienda realizar una evaluación basada en el ADN circulante. \*Feto evanescente: En los casos de embarazos múltiples en los que se pierda uno de los fetos no está recomendado la realización del test ya que no está validado para estos casos. Existe un consentimiento anexo para que, en el caso de querer seguir adelante con la prueba, la paciente pueda firmarlo y continuar con el test.
- Gestión de los resultados de alto riesgo:** Por las razones anteriores, en el caso de un resultado de alto riesgo, se recomienda la confirmación mediante técnicas de diagnóstico prenatal convencional (amniocentesis o biopsia de vellosidad corial, bajo criterio del obstetra). En gestaciones en las que exista algún parámetro ecográfico alterado, se recomienda, con independencia de la realización o no del Test Harmony un diagnóstico prenatal invasivo y pruebas moleculares adicionales sobre ADN fetal puro con el objetivo de identificar la causa genética de la anomalía. La prueba para la región 22q11.2 investiga la presencia de una delección en el cromosoma 22 (Síndrome de di George). El 75% de los casos son detectados por lo que, ante un resultado de bajo riesgo, existe un riesgo residual de la presencia de la microdelección en el feto (Schmid y Cols., 2017).

Para aclaraciones y/o información contacte con:

- Dr. Iván Gómez (igomez@megalab.es). Responsable sección NIPT.
- Marta Donas (mdonas@megalab.es). Biólogo Adjunta sección NIPT.

\* Harmony y el diseño Harmony son marcas registradas de Ariosa Diagnostics, Inc en EE.UU. Harmony es una marca comercial de Roche en otros países. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios.

- Otras limitaciones:** El resultado para trisomías 21, 13 y 18 y microdelección 22q11.2 no es concluyente en aproximadamente el 2% de los casos y por lo tanto se requiere una segunda muestra de sangre materna sin coste adicional; en el 0,5-1 % de los casos la prueba no proporciona ningún resultado incluso después de haber analizado una segunda muestra. En estos casos se procede a la devolución del importe abonado por la prueba. En el 1 % de los casos la prueba resulta no concluyente para el panel de aneuploidias de los cromosomas sexuales; ante un resultado de este tipo y obteniendo un resultado concluyente para las trisomías 21, 13 y 18 (y microdelección 22q11.2 cuando es necesario) no se repetirá la prueba con una segunda muestra ni se reembolsará el coste de la misma. El sobrepeso y obesidad, así como realizar ejercicio físico intenso antes de la extracción de la muestra de sangre periférica materna, supone una limitación del test ya que estos parámetros pueden dar lugar a una dilución del ADN fetal en plasma materno, lo que podría conllevar a un resultado no concluyente.
- Embarazos gemelares:** En el estudio de las trisomías 21, 13 y 18 se emitirá un único informe de ALTO o BAJO riesgo que hace referencia a los dos fetos. En estos casos solo puede solicitarse la determinación del sexo fetal de manera opcional. Un resultado de SEXO FETAL FEMENINO indica que ambos fetos son de sexo femenino; un resultado de SEXO FETAL MASCULINO indica que al menos uno de los dos fetos es de sexo masculino.

### CONCLUSIONES

- El Test Prenatal Harmony es una prueba opcional de SCREENING. No sustituye al diagnóstico prenatal convencional, sino que es una herramienta más dentro de todas las pruebas rutinarias que se realizan a lo largo de una gestación.
- El Test Prenatal Harmony constituye una evaluación altamente precisa del riesgo de presentar anomalías cromosómicas fatales, con la fiabilidad, especificidad y límites expresados anteriormente.
- El tiempo de emisión del informe es de 3 a 5 días laborales. Los resultados de la prueba deben considerarse estrictamente confidenciales y sujetos a la restricción del secreto profesional.

### ¿Qué se hace con mi muestra una vez que se completa el análisis?

No se realizarán más análisis clínicos con su muestra de sangre excepto los que haya autorizado su profesional sanitario. Eurofins Megalab divulgará los resultados de la prueba sólo a los profesionales sanitarios mencionados en la primera página de este formulario, o a su representante, salvo que usted autorice otra opción o según lo exijan las leyes, las regulaciones o una orden judicial.

EUROFINS MEGALAB, S. A. como responsable del tratamiento de sus datos personales, le informa de que estos datos serán tratados de conformidad con lo dispuesto en el RGPD (UE) 2016/679 y normativa española vigente, para la realización de pruebas diagnósticas, análisis e informes clínicos, facturación y gestión de incidencias. La base jurídica para estos tratamientos es lo dispuesto en el artículo 6.1 apartados b, c y f RGPD. Serán conservados durante el tiempo que dure el tratamiento, o en su caso, el tiempo legal establecido para cada una de las obligaciones legales que deriven de los tratamientos llevados a cabo.

Se le informa de la posibilidad de retirar su consentimiento en cualquier momento. Si bien, esta retirada no afectará a los tratamientos anteriores a la misma. Asimismo, se le informa de que puede ejercitar sus derechos de acceso a los datos, rectificación, supresión, oposición, limitación de su tratamiento o portabilidad de los mismos según lo establecido en el RGPD. Podrá ejercitar estos derechos, o revocar el consentimiento, por escrito en EUROFINS MEGALAB, S.A. Valderribas, 71 - 28007 o en correo electrónico [dpd@megalab.es](mailto:dpd@megalab.es), junto a copia de su DNI.

Asimismo, se le informa de su derecho a presentar reclamación ante la Autoridad de Control, Agencia Española de Protección de Datos

Es una norma de atención médica que los médicos obtengan el consentimiento informado para realizar análisis genéticos.

Firma de la paciente

Fecha

eurofins | MEGALAB

LABORATORIO Eurofins MEGALAB  
[www.laboratorio-megalab.com](http://www.laboratorio-megalab.com) Tel. 800 100 007

f t in  
 laboratorio-megalab @MEGALAB.es

## Anexo 4. Consentimiento Informado de la Ecografía Morfológica Fetal (18-22 semanas) del PACAC.

	Servicio Andaluz de Salud <b>CONSEJERÍA DE SALUD</b>	<b>Programa Andaluz para el Cribado de Anomalías Congénitas (PACAC)</b>
<b>CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA EXPLORACIÓN ECOGRÁFICA NORMALIZADA EN LA SEMANA 20</b>		
<b>DOÑA</b> ..... (NOMBRE Y DOS APELLIDOS DE LA PACIENTE) <b>CON DNI nº</b> .....		
<b>DON</b> ..... (NOMBRE Y DOS APELLIDOS) <b>CON DNI nº</b> ..... <b>EN CALIDAD DE</b> ..... (REPRESENTANTE LEGAL, FAMILIAR O ALLEGADO) <b>DE</b> ..... (NOMBRE Y DOS APELLIDOS DE LA PACIENTE)		
<b>DECLARO:</b>		
Que el <b>DOCTOR/A</b> ..... (NOMBRE Y DOS APELLIDOS DEL FACULTATIVO QUE PROPORCIONA LA INFORMACION) me ha informado de la conveniencia de efectuar el cribado ecográfico morfológico o ecografía de la semana 20.		
La ecografía morfológica es una exploración no invasiva que no perjudica el desarrollo y evolución de la gestación, que permite la visualización del feto y su entorno (placenta, líquido amniótico, etc.) y cuya finalidad es valorar la morfología fetal.		
La sensibilidad o capacidad diagnóstica promedio de la ecografía morfológica es del 56%, con una importante variabilidad (entre 18% y 85%). Esta variabilidad diagnóstica depende de la época de la gestación (más fiable alrededor de las 20 semanas), del tipo de anomalías (algunas tienen poca o nula expresividad ecográfica), así como de las condiciones de la gestante (la obesidad, oligoamnios, etc.) y de la posición fetal, que puedan dificultar la exploración.		
Existen otras dificultades al diagnóstico de las anomalías congénitas:		
Algunos anomalías se originan y/o manifiestan en una etapa avanzada de la gestación, por lo que su detección será forzosamente tardía (infecciones fetales, algunas anomalías digestivas, obstrucciones urinarias o intestinales, displasias esqueléticas, etc.).		
Existen otras anomalías congénitas (la mayoría de la enfermedades hereditarias, las anomalías cromosómicas y una parte importante de los casos de retraso mental) que no pueden ser detectadas por ecografía.		
Así pues he comprendido:		
Que las limitaciones inherentes a la técnica de exploración ecográfica no permiten que todos los problemas fetales puedan verse en la ecografía de cribado de la semana 20. También he comprendido que no en todos los casos es posible ver los problemas fetales que teóricamente puedan ser detectados en la ecografía de cribado de la semana 20.		

Que la ecografía, aunque orienta sobre la condición fetal, no tiene por sí sola un valor absoluto para asegurar el bienestar fetal.

Por tanto, entiendo que un resultado normal de mi exploración ecográfica no permite garantizar que mi hijo/a nacerá sin anomalías (morfológicas o de otro tipo, como retraso mental).

Las explicaciones se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo, y el facultativo ha atendido las observaciones y preguntas que he realizado, y me ha aclarado las dudas que le he planteado.

También sé que en cualquier momento, y sin necesidad de dar ninguna explicación, puedo revocar el consentimiento que ahora presto.

Por ello, manifiesto que estoy satisfecha con la información recibida y que comprendo el alcance del examen ecográfico de cribado de la semana 20.

Y en tales condiciones,

**CONSIENTO Y SOLICITO**

Que se me realice el examen ecográfico de cribado de la semana 20.

En .....  
(LUGAR Y FECHA)

Fdo. EL MEDICO,

Fdo. LA PACIENTE,

**REVOCACIÓN**

DOÑA .....  
(NOMBRE Y DOS APELLIDOS DE LA PACIENTE)  
CON DNI nº .....

DON .....  
(NOMBRE Y DOS APELLIDOS)  
CON DNI nº .....  
EN CALIDAD DE .....  
(REPRESENTANTE LEGAL, FAMILIAR O ALLEGADO)  
DE .....  
(NOMBRE Y DOS APELLIDOS DE LA PACIENTE)


Revoco el consentimiento prestado en fecha .....  
y no deseo proseguir las exploraciones ecográficas, que doy con esta fecha finalizadas.

En .....  
(LUGAR Y FECHA)

Fdo. EL MEDICO,

Fdo. LA PACIENTE,

## Anexo 5. Informe del Comité de Ética

 Servicio Andaluz de Salud  
CONSEJERÍA DE SALUD

ÁREA HOSPITALARIA DE VALME

**INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN SEVILA  
SUR**

**D. RAMON MORILLO VERDUGO**

**Secretario del Comité de Ética de la Investigación Sevilla Sur del Hospital  
Universitario de Valme de Sevilla**

**CERTIFICA:**


Que este Comité ha **APROBADO** las respuestas a las alegaciones solicitadas en la reunión de 29 de Septiembre de 2017 sobre los aspectos éticos del proyecto titulado

**“Estrategia Contingente en el cribado prenatal de Trisomía 21: Evaluación de modelos implementados a partir del Cribado Combinado de 1 Trimestre y del Test Prenatal No invasivo”. CONTINGENTET21**  
CODIGO INTERNO: 1170-N-17

Cuyo investigador principal es:

**D. José Antonio Sainz Bueno**

Lo que firmo en Sevilla a 30 de enero de 2018

  
Fdo.: Ramón Morillo Verdugo  
Secretario del Comité de Ética de la  
Investigación Sevilla Sur



## 8. BIBLIOGRAFÍA

---

- <sup>1</sup> World Health Organization (WHO). Centro de prensa: notas descriptivas; anomalías congénitas. *Publicado el 7 de septiembre de 2016*. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/congenital-anomalies>
- <sup>2</sup> Bacino CA. Birth defects: Epidemiology, types, and patterns - *UpToDate*. Feb 27, 2019
- <sup>3</sup> Holmes LB. Current concepts in genetics. Congenital malformations. *N Engl J Med*, Jul 22;295(4):204-7
- <sup>4</sup> Sánchez-Sánchez PJ. Epidemiología de los defectos congénitos. *Cienc Gynecol-2006*;1:1-5
- <sup>5</sup> Cuckle H, Wald N, Thompson S. Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum alphafetoprotein. *BR J Obstet Gynaecol*. 1987;94:387-402
- <sup>6</sup> Malone FD, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski R et al. First and Second – Trimester Evaluation of Risk (FASTER) Research Consortium. First trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. *N Engl J Med*. 2005;353:2001-11
- <sup>7</sup> Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *J Med Screen*. 2003;10:56-104
- <sup>8</sup> Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH. Analysis of Cell-Free DNA in Maternal Blood in Screening For Aneuploidies: Updated Meta-Analysis Ultrasound *Obstet Gynecol*. 2017 Apr 11 DOI: 10.1002/uog.17484
- <sup>9</sup> Santacruz B, Gil MM, Adiego MB. Test prenatal no invasivo de cromosomopatías. Metodología, cromosomopatías cribadas, requisitos y evaluación comparativa de las plataformas. En: Bartha JL, Sainz JA. Ecografía del primer trimestre: cambio de visión. YOU & US, S.A. 2018, p103-109
- <sup>10</sup> Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. Cribado y diagnóstico precoz de anomalías genéticas. *Prog Obstet Ginecol* 2018;61(6):605-629
- <sup>11</sup> WHO /CDC/ICBDSR. Vigilancia de anomalías congénitas. Atlas de algunos defectos congénitos. *Ginebra: World Health Organization (WHO)*. 2015
- <sup>12</sup> Vora N, Harris S. Prenatal genetic evaluation of the fetus with anomalies or soft markers - *UpToDate*. Aug 27, 2019
- <sup>13</sup> Staebler M, Donner C, Van Regemorter N, Duprez L, De Maertelaer V, Devreker F, Avni F. Should determination of the karyotype be systematic for all malformations detected by obstetrical ultrasound? *Prenat Diagn*. 2005;25(7):567
- <sup>14</sup> van Zalen-Sprock MM, van Vugt JM, Karsdorp VH, Maas R, van Geijn HP. Ultrasound diagnosis of fetal abnormalities and cytogenetic evaluation. *Prenat Diagn*. 1991;11(8):655-60

- 15 Nicolaides KH, Snijders RJ, Gosden CM, Berry C, Campbell S. Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal abnormalities. *Lancet*. 1992;340(8821):704
- 16 Bacino CA. Birth defects: Approach to evaluation. - *UpToDate*. Jun 11, 2019
- 17 Leppig KA, Werler MM, Cann CI, Cook CA, Holmes LB. Predictive value of minor anomalies. I. Association with major malformations. *J Pediatr*. 1987;110(4):531
- 18 Méhes K, Mestyán J, Knoch V, Vincellér M. Minor malformations in the neonate. *Helv Paediatr Acta*. 1973;28(5):477
- 19 Jones KL. Dysmorphology approach and classification. In: Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation, 7th ed, *Elsevier Saunders, Philadelphia* 2013. p.1
- 20 Potter EL. Bilateral renal agenesis. *J Pediatr* 1946;29-68
- 21 Thomas IT, Smith DW Oligohydramnios, cause of the nonrenal features of Potter's syndrome, including pulmonary hypoplasia. *J Pediatr*. 1974;84(6):811
- 22 Opitz JM, Herrmann J, Pettersen JC, Bersu ET, Colacino SC. Terminological, diagnostic, nosological, and anatomical-developmental aspects of developmental defects in man. *Adv Hum Genet*. 1979;9:71.
- 23 Hersh JH, Angle B, Fox TL, Barth RF, Bendon RW, Gowans G. Developmental field defects: coming together of associations and sequences during blastogenesis. *Am J Med Genet*. 2002;110(4):320
- 24 Temtamy SA, Miller JD. Extending the scope of the VATER association: definition of the VATER syndrome. *J Pediatr*. 1974;85(3):345
- 25 Graham JM. Clinical approach to deformation problems. In: Smith's recognizable patterns of human deformation, *Elsevier Saunders, Philadelphia* 2007. p.3
- 26 Holmes LB, Westgate MN, Nasri H, Toufaily MH. Malformations attributed to the process of vascular disruption. *Birth Defects Res*. 2018;110(2):98
- 27 Documento EB126/2010/REC/2, acta resumida de la séptima sesión de la 63ª sesión de la Asamblea Mundial de la Salud Ginebra del 17 al 21 de mayo de 2010. Management of birth defects and haemoglobin disorders: report of a joint WHO March of Dimes meeting, Ginebra (Suiza), 17 mayo de 2006. *Ginebra, World Health Organization (WHO)*
- 28 Jones KL. Smith's recognizable patterns of human malformation, 6th ed, *Elsevier Saunders, Philadelphia* 2006
- 29 Ghi T, Sotiriadis A, Calda P, Da Silva Costa F, Raine-Fenning N, Alfirevic Z, McGillivray G. ISUOG Practice Guidelines: invasive procedures for prenatal diagnosis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016;48(2):256-68

- <sup>30</sup> Garone C, Minczuk M, Carelli V, La Morgia C. Clinical syndromes associated with mtDNA mutations: where we stand after 30 years. *Essays Biochem* 20 July 2018;62(3):235–254
- <sup>31</sup> Parra M. Cromosomopatías: aspectos de mayor relevancia en medicina fetal. En: Gratacós E, Gómez R, Nicolaidis K, Romero R, Cabero L editores. *Medicina Fetal*. Madrid: Panamericana SA; 2009; p 511-516
- <sup>32</sup> Mueller RF, Young ID. *Genética médica de Emerys*. 10 Edición. Madrid, Marban Libros, 2001
- <sup>33</sup> Nicolaidis KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn*. 2011;31:7-15
- <sup>34</sup> Raby BA. Overview of genetic variation. - *UpToDate*. Mar 10, 2020
- <sup>35</sup> Bull MJ. Committee on Genetics. Health supervision for children with Down syndrome. *Pediatrics* 2011; 128:393
- <sup>36</sup> Irving CA, Chaudhari MP. Cardiovascular abnormalities in Down's syndrome: spectrum, management and survival over 22 years. *Arch Dis Child*. 2012;97:326
- <sup>37</sup> Bathia S, Verma IC, Shrivasta S. Congenital heart disease in Down Syndrome: an ecocardiographic study. *Indian Pediatrics* 1992;29(9):1113-6
- <sup>38</sup> Fabia J, Drolette M. Malformations and leukemia in children with Down's syndrome. *Pediatrics* 1970;45:60
- <sup>39</sup> Roizen NJ, Mets MB, Blondis TA. Ophthalmic disorders in children with Down syndrome. *Dev Med Child Neurol* 1994;36:594
- <sup>40</sup> ISUOG Practice Guidelines: performance of first-trimester fetal ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;41:102–113
- <sup>41</sup> Edwards J, Hernden D, Cameron A, Crosse V, Wolff O. A new trisomic Syndrome. *The Lancet*. 1960;1:789-9
- <sup>42</sup> Nicolaidis KH, Sebire N, Sjindres J. The 11-14 weeks scan, the diagnosis of fetal abnormalities. *Am J Obs Gynecologist*. 2004;191:45-67
- <sup>43</sup> Garne E, Dolk H, Loane M, & Eurocat, P. A. B. Eurocat Website Data on Prenatal Detection Rates of Congenital Anomalies. *Journal of Medical Screening*, 17(2), 97–98
- <sup>44</sup> Barisic I, Loane M et al. Joint Action EUROCAT 2011-2013 Funded by the Public Health Programme 2008-2013 of the European Commission. *Hrvatski časopis za javno zdravstvo*. 8. 21-24
- <sup>45</sup> International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research (ICBDSR). Annual Report 2014. Disponible en: <http://www.icbdsr.org>

- <sup>46</sup> Boletín del ECEMC (Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas). Memoria anual 2018. Disponible en: <http://www.fundacion1000.es/IMG/pdf/-56.pdf>
- <sup>47</sup> Registre de defectes congènits de la ciutat de Barcelona (REDCB), Informe anual. 2008 Agència de Salut Pública de Barcelona. Disponible en: <https://bcnroc.ajuntament.barcelona.cat/jspui/bitstream/11703/91835/1/7293.pdf>
- <sup>48</sup> Registro de Anomalías Congénitas Comunidad Autónoma del País Vasco (RACAV). Memoria 2010-2015. Publicado en 2019. Disponible en: [https://www.euskadi.eus/contenidos/informacion/registro\\_anomalias\\_congenitas/es\\_def/adjuntos/Memoria-RACAV-2010-2015.pdf](https://www.euskadi.eus/contenidos/informacion/registro_anomalias_congenitas/es_def/adjuntos/Memoria-RACAV-2010-2015.pdf)
- <sup>49</sup> Registro de Defectos Congénitos de Asturias (RDCA). Disponible en: <https://www.astursalud.es/noticias/-/noticias/registro-de-defectos-congenitos-de-asturias-rdca->
- <sup>50</sup> Sainz JA, Bartha JL. Cribado de Cromosomopatías. Evolución histórica y definición de diferente metodología. En: Bartha JL, Sainz JA. Ecografía del primer trimestre: cambio de visión. YOU & US, S.A. 2018, p81-88
- <sup>51</sup> Benacerraf BR. The history of the second trimester sonographic markers for detecting fetal Down syndrome, and their current role in obstetric practice. *Prenat Diagn.* 2010;30:644-52
- <sup>52</sup> Nyberg D, Souter V, El-Bastawissi A, Young S, Lurthhardt F, Luthy D. Isolated sonographic markers for detection of fetal Down síndrome in the second trimester of pregnancy. *J Ultrasound Med.* 2001;20:1053-63
- <sup>53</sup> Bromely B, Lieberman E, Shipp T, Benacerraf BR. The genetic sonogram: a method of risk assessment for Down síndrome in the second trimester. *J Ultrasound Med.* 2002;21:1087-96
- <sup>54</sup> Sainz JA, Zurita MJ, Borrero C, Serrano R, Turmo E, Almeida C, Caballero V, Garrido R. Role of fetal ecocardiography in stepwise sequential screening for chromosomal disorders (combined test associated with modified genetic sonography). *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012;25(11):2216-20
- <sup>55</sup> Agathokleous M, Chaveeva P, Poon LC, Kosinski P, Nicolaidis KH. Meta-analysis of second-trimester markers for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013; 41(3):247-61
- <sup>56</sup> Messerlian GM, Farina A, Palomaki GE. First-trimester combined test and integrated test for screening for Down syndrome and trisomy 18 - *UpToDate.* Oct 17, 2019
- <sup>57</sup> Kagan KO, Wright D, Spencer K, Molina FS, Nicolaidis KH. First-trimester screening for trisomy 21 by free beta-human chorionic gonadotropina and pregnancy-associated plasma protein-A: impact of maternal and pregnancy characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31:493-502
- <sup>58</sup> Cuckle HS, van Lith JMM. Appropriate biochemical parameters in first-trimester screening for Down syndrome. *Prenat Diagn.* 1999;19:505-12

- <sup>59</sup> Nicolaides KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *BMJ* 1992;304:867-9
- <sup>60</sup> von Kaisenberg CS, Krenn V, Ludwig M, Nicolaides KH, Brand-Saberi B. Morphological classification of nuchal skin in human fetuses with trisomy 21, 18 and 13 at 12-18 weeks in a trisomy 16 mouse. *Anat Embryol (Berl)* 1998;197(2):105-24
- <sup>61</sup> Aquise A, García JA, Peral I, Sainz JA. Test combinado como método actual de cribado de cromosomopatías. Aspectos ecográficos y bioquímicos. En: Bartha JL, Sainz JA. Ecografía del primer trimestre: cambio de visión. YOU & US, S.A. 2018, p89-102
- <sup>62</sup> Souka AP, von Kaisenberg CS, Hyett JA, Sonek JD, Nicolaides KH. Increased nuchal translucency with normal karyotype. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(4):1005-21
- <sup>63</sup> Hyett JA, Perdu M, Sharland G, Snijders R, Nicolaides KH. Using fetal nuchal translucency to screen for major congenital cardiac defects at 10-14 weeks of gestation: population based cohort study. *BMJ* 1999;318(7176):81-5
- <sup>64</sup> Sotiriadis A, Papatheodorou S, Makrydimas G. Neurodevelopmental outcome of fetuses with increased nuchal translucency and apparently normal prenatal and/or postnatal assessment: a systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012;39:10-19
- <sup>65</sup> Nicolaides KH, Falcon O. La ecografía de las 11-13+6 semanas. *The fetal Medicine Foundation*. Disponible en: <https://fetalmedicine.org/education/the-11-13-weeks-scan>
- <sup>66</sup> Maíz N, Valencia C, Kagan KO, Wright D, Nicolaides KH. Ductus venosus Doppler in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11-13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;33:512-7
- <sup>67</sup> Kagan KO, Valencia C, Livanos P, Wright D, Nicolaides KH. Tricuspid regurgitation in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11-13+6 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;33:18-22
- <sup>68</sup> Bindra R, Heath V, Liao A, Spencer K, Nicolaides KH. One stop clinic for assessment of risk for trisomy 21 at 11-14 weeks: a prospective study of 15.030 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002;20:219-25
- <sup>69</sup> Madsen H, Ball S, Wright D, Topping N, Petersen O, Nicolaides KH, Spencer K. A reassessment of biochemical marker distributions in trisomy 21-affected and unaffected twin pregnancies in the first trimester. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011;37:38-47
- <sup>70</sup> Screening standards for the NHS Fetal Anomaly Screening Programme (FASP). Public Health England Last updated 26 July 2019. Disponible en: [https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/421650/FASP\\_Standards\\_April\\_2015\\_final\\_2\\_.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/421650/FASP_Standards_April_2015_final_2_.pdf)

- <sup>71</sup> Arbues J, Galindo A. Técnicas invasivas al inicio de la gestación. Amniocentesis versus biopsia corial. En: Bartha JL, Sainz JA. Ecografía del primer trimestre: cambio de visión. YOU & US, S.A. 2018, p143-149
- <sup>72</sup> Spencer K, Kagan K, Nicolaides KH. Screening for trisomy 21 in twin pregnancies in the first trimester: an update of the impact of chorionicity on maternal serum markers. *Prenat Diagn* 2008;28:49-52
- <sup>73</sup> Ghidini A. Diagnostic amniocentesis – *Up to date*. Oct 10, 2019
- <sup>74</sup> Gosden CM. Amniotic fluid cell types and culture. *Br Med Bull* 1983;39:348
- <sup>75</sup> Wulff CB, Gerds TA, Rode L, Ekelund CK, Petersen OB, Tabor A; Danish Fetal Medicine Study Group. The risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first trimester risk screening for Down syndrome – a national cohort of 147 987 singleton pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47: 38–44.
- <sup>76</sup> Poenaru L. First trimester prenatal diagnosis of metabolic diseases: a survey in countries from the European community. *Prenatal Diagn*. 1987;7:333-41
- <sup>77</sup> WHO/PAHO Consultation on CVS. Evaluation of chorionic villus sampling safety. *Prenat Diagn* 1999;19:97-9
- <sup>78</sup> Ghidini A. Chorionic villus sampling. – *Up to date*. Apr 01, 2019
- <sup>79</sup> Tongsong T, Wanapirak C, Kunavikantikul C, Sirirchotiyakul S, Piyamongkol W, Chanprapaph P. Fetal loss rate associated with cordocentesis at midgestation. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:719–23
- <sup>80</sup> Maxwell DJ, Johnson P, Hurley P, Neales K, Allan L, Knott P. Fetal blood sampling and pregnancy loss in relation to indication. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98:892–97
- <sup>81</sup> Antsaklis A, Daskalakis G, Papantoniou N, Michalas S. Fetal blood sampling--indication-related losses. *Prenat Diagn* 1998;18: 934–940
- <sup>82</sup> Hixson L, Goel S, Schuber P, Faltas V, Lee J, Karayakkadan A et al. An Overview on Prenatal Screening for Chromosomal Aberrations. *J Lab Autom*. 2015;20:562-73
- <sup>83</sup> Grimshaw GM, Szczepura A, Hultén M, MacDonald F, Nevin NV, Sutton F et al. Evaluation of molecular tests for prenatal diagnosis of chromosome abnormalities. *Health Technol Assess*. 2003;7(10):1-146
- <sup>84</sup> Shaffer LG, Bui TH. Molecular cytogenetic and rapid aneuploidy detection methods in prenatal diagnosis. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2007 Feb 15;145C(1):87-98
- <sup>85</sup> Hultén MA, Dhanjal S, Pertl B. Rapid and simple prenatal diagnosis of common chromosome disorders: Advantages and disadvantages of the molecular methods FISH and QF-PCR. *Reproduction*. 2003;126(3):279-97

- <sup>86</sup> Mann K, Donaghue C, Fox SP, Docherty Z, Oglivie CM. Strategies for the rapid prenatal diagnosis of chromosome aneuploidy. *Eur J Hum Genet.* 2004 Nov 4;12(11):907-15
- <sup>87</sup> Sparkes R, Johnson JA, Langlois S, Wilson RD, Allen V, Blight C et al. New molecular techniques for the prenatal detection of chromosomal aneuploidy. *SOGC Tech Updat.* 2008(210).
- <sup>88</sup> Adinolfi M, Sherlock J. Prenatal detection of chromosome disorders by QF-PCR. *Lancet* 2001;20:562-73
- <sup>89</sup> Cirigliano V, Voglino G, Cañadas MPP, Marongiu A, Ejarque M, Ordóñez E et al. Rapid prenatal diagnosis of common chromosome aneuploidies by QF-PCR. Assessment on 18.000 consecutive clinical samples. *Mol Hum Reprod* 2004 Oct 1; 10(11):839-46
- <sup>90</sup> Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(12):e57
- <sup>91</sup> Eggermann T, Brioude F, Russo S, Lombardi MP, Bliiek J, Maher ER et al. Prenatal molecular testing for Beckwith-Wiedemann and Silver-Russel syndromes: a challenge for molecular analysis and genetic counseling. *Eur J Hum Genet.* 2006;24(6):784-93
- <sup>92</sup> Suela J, López-Expósito I, Querejeta ME, Martorell R, Cuatrecasas E, Armengol L et al. Recomendaciones para el uso de microarrays en el diagnóstico prenatal. *Med Clin (Barc).* 2017 Apr 7;148(7):328.e1-328.e8
- <sup>93</sup> Mori MA, Mansilla E, García-Santiago F, Vallespín E, Palomares M, Martín R et al. Diagnóstico prenatal y array-hibridación genómica comparada (CGH) (I). Gestaciones de elevado riesgo. *Diagn Prenat* 2012;23(2):34-48
- <sup>94</sup> Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet.* 2006;7(2):85-97
- <sup>95</sup> Royal College of Obstetricians and Gynecologists. Amniocentesis and chorionic villus sampling. Green-Top Guideline N°8. *Londres* 2010
- <sup>96</sup> Mujezinovic F, Alfirevic Z. Procedure-related complications of amniocentesis and chorionic villous sampling: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2007;110:687
- <sup>97</sup> Smidt-Jensen S, Permin M, Philip J, et al. Randomised comparison of amniocentesis and transabdominal and transcervical chorionic villus sampling. *Lancet* 1992;340:1237
- <sup>98</sup> Louis-Jacques A, Burans C, Robinson S, Schofield E, Smulian J, Rochon M. Effect of commercial cell-free fetal DNA tests for aneuploidy screening on rates of invasive testing. *Obstet Gynecol.* 2014 May;123(1):67S
- <sup>99</sup> Turner AL, Rad S, Afshar Y, Aghajanian P, Williams J 3rd, Esakoff TF. Declining rate of invasive procedures for prenatal diagnosis in the era of noninvasive prenatal testing. *Obstet Gynecol.* 2014;123(1):196S-7S



- <sup>100</sup> American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Obstetrics, Committee on Genetics, Society for Maternal–Fetal Medicine. Practice Bulletin No.162: Prenatal Diagnostic Testing for Genetic Disorders. *Obstet Gynecol* 2016;127:e108.
- <sup>101</sup> Theodora M, Antsaklis A, Antsaklis P, Blanas K, Dakalakis G, Sindos M, Mesogitis S, Papantoniou N. Fetal loss following second trimester amniocentesis. Who is a greater risk? How to counsel pregnant women? *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016; 29:590-5
- <sup>102</sup> Silver RK, MacGregor SN, Sholl JS, et al. An evaluation of the chorionic villus sampling learning curve. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:917
- <sup>103</sup> Caughey AB, Hopkins LM, Norton ME. Chorionic villus sampling compared with amniocentesis and the difference in the rate of pregnancy loss. *Obstet Gynecol* 2006;108:612.
- <sup>104</sup> Rhoads GG, Jackson LG, Schlesselman SE, et al. The safety and efficacy of chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities. *N Engl J Med* 1989;320:609.
- <sup>105</sup> Bakker M, Birnie E, Robles de Medina P, et al. Total pregnancy loss after chorionic villus sampling and amniocentesis: a cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 49:599.
- <sup>106</sup> Hogge WA, Schonberg SA, Golbus MS. Chorionic villus sampling: experience of the first 1000 cases. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154:1249.
- <sup>107</sup> Brambati B, Oldrini A, Ferrazzi E, Lanzani A. Chorionic villus sampling: an analysis of the obstetric experience of 1,000 cases. *Prenat Diagn* 1987;7:157
- <sup>108</sup> Tabor A, Philip J, Madsen M, Bang J, Obel EB, Nørgaard-Pedersen B. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet*. 1986;1(8493):1287
- <sup>109</sup> Simpson JL, Socol ML, Aladjem S, Elias S. Normal fetal growth despite persistent amniotic fluid leakage after genetic amniocentesis. *Prenat Diagn* 1981;1:277
- <sup>110</sup> Crane JP, Rohland BM. Clinical significance of persistent amniotic fluid leakage after genetic amniocentesis. *Prenat Diagn* 1986;6:25
- <sup>111</sup> Levine D, Callen PW, Pender SG, et al. Chorioamniotic separation after second-trimester genetic amniocentesis: importance and frequency. *Radiology* 1998;209:175
- <sup>112</sup> Isenberg SJ, Heckenlively JR. Traumatized eye with retinal damage from amniocentesis. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 1985;22:65
- <sup>113</sup> Admoni MM, BenEzra D. Ocular trauma following amniocentesis as the cause of leukocoria. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 1988;25:196
- <sup>114</sup> Cederholm M, Haglund B, Axelsson O. Infant morbidity following amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal karyotyping. *BJOG* 2005;112:394

- <sup>115</sup> Baird PA, Yee IM, Sadovnick AD. Population-based study of long-term outcomes after amniocentesis. *Lancet* 1994;344:1134
- <sup>116</sup> Jackson LG, Zachary JM, Fowler SE, et al. A randomized comparison of transcervical and transabdominal chorionic-villus sampling. The U.S. National Institute of Child Health and Human Development Chorionic-Villus Sampling and Amniocentesis Study Group. *N Engl J Med* 1992;327:594
- <sup>117</sup> Alfirevic Z, Navaratnam K, Mujezinovic F. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 9:CD003252
- <sup>118</sup> Medical Research Council European trial of chorion villus sampling. MRC working party on the evaluation of chorion villus sampling. *Lancet* 1991;337:1491
- <sup>119</sup> Brambati B, Lanzani A, Oldrini A. Transabdominal chorionic villus sampling. Clinical experience of 1159 cases. *Prenat Diagn* 1988 8:609
- <sup>120</sup> Giorlandino C, Bilancioni E, D'Alessio P, Muzii L. Risk of iatrogenic fetal infection at prenatal diagnosis. *Lancet* 1994;343:922
- <sup>121</sup> Minola E, Maccabruni A, Pacati I, Martinetti M. Amniocentesis as a possible risk factor for mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Hepatology* 2001; 33:1341
- <sup>122</sup> Mujezinovic F, Alfirevic Z. Analgesia for amniocentesis or chorionic villus sampling. American College of Medical Genetics. *Genet Med* 2000; 2: 356–61
- <sup>123</sup> Rekawek P, Stone JL, Robles B, Connolly KA, Bigelow CA, Tudela F et al. Pain perception during transabdominal chorionic villus sampling: a randomized trial comparing topical ethyl chloride anesthetic spray and lidocaine injection. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019 Apr 25:1-7
- <sup>124</sup> Katsogiannou M, Donato XC, Loundou A, Glowaczower E, Raffray M, Planchet-Barraud B, Quarello E, Brechard MP, Desbriere R. Managing pain and anxiety during transabdominal chorionic villus sampling. A noninferiority randomized trial of nitrous oxide vs local anesthesia. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2019 Mar;98(3):351-358
- <sup>125</sup> Klages K, Kundu S, Erlenwein J, et al. Maternal anxiety and its correlation with pain experience during chorion villus sampling and amniocentesis. *J Pain Res.* 2017; 10:591-600
- <sup>126</sup> Drury S, Hill M, Chitty LS. Cell-Free Fetal DNA Testing for Prenatal Diagnosis. *Adv Clin Chem.* 2016;76:1-35
- <sup>127</sup> Palomaki GE, Messerlian GM, Halliday JV. Prenatal screening for common aneuploidies using cell-free DNA. – *Up to date.* Apr 01, 2020.
- <sup>128</sup> Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997;350: 485-487
- <sup>129</sup> Bianchi DW. Fetal cells in the maternal circulation: feasibility for prenatal diagnosis. *Br J Haematol* 105 (1999); 574-583
- <sup>130</sup> Bianchi DW. Circulating fetal DNA: its origin and diagnostic potential- a review. *Placenta* 2004;25(A);S93-S101

- <sup>131</sup> Zhong XY, Holzgreve W, Hahn S. Cell-free fetal DNA in the maternal circulation does not stem from the transplacental passage of fetal erythroblasts. *Mol Hum Reprod* 2002;8: 864-870
- <sup>132</sup> Angert RM, LeShane ES, Lo YMD, Chan LYS, Delli-Bovi LC, Bianchi DW. Fetal cell-free plasma DNA concentrations in maternal blood are stable 24 hours after collection: analysis of first- and third-trimester samples. *Clin Chem* 2003;49:195-198
- <sup>133</sup> Sekizawa A, Samura O, Zhen DK, et al. Apoptosis in fetal nucleated erythrocytes circulating in maternal blood. *Prenat Diagn* 2000;20:886.
- <sup>134</sup> Tjoa ML, Cindrova-Davies T, Spasic-Boskovic O, et al. Trophoblastic oxidative stress and the release of cell-free fetal-placental DNA. *Am J Pathol* 2006;169:400
- <sup>135</sup> Lui YY, Chik KW, Chiu RW, et al. Predominant hematopoietic origin of cell-free DNA in plasma and serum after sex-mismatched bone marrow transplantation. *Clin Chem* 2002;48:421
- <sup>136</sup> Lo YM, Lo ES, Watson N, et al. Two-way cell traffic between mother and fetus: biologic and clinical implications. *Blood* 1996;88:4390
- <sup>137</sup> Chim SSC, Tong YK, Chiu RWK, Lau TK, Leung TN, Chan LYS et al. Detection of the placental epigenetic signature of the maspin gene in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:14753-8
- <sup>138</sup> Chiu RWK, Chim SSC, Wong IHN, Wong CSC, Lee WS, To KF et al. Hypermethylation of RASSF1A in human and Rhesus placentas. *Am J Pathol* 2007;170:941-50
- <sup>139</sup> Alberry M, Maddocks D, Jones M, Abdel Hadi M, Abdel-Fatta S, Avent N et al. Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast. *Prenat Diagn* 2007;27:415-8
- <sup>140</sup> Lo YM, Zhang J, Leung TN, Lau TK, Chang AM, Hjelm NM. Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma. *Am J Hum Genet* 1999;64:218-24
- <sup>141</sup> Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ, Sylvester S, DeMaria MA. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:705-8
- <sup>142</sup> Chan KC, Zhang J, Hui AB et al. Size distributions of maternal and fetal DNA in maternal plasma. *Clin Chem* 2004;50:88
- <sup>143</sup> Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:266-71
- <sup>144</sup> Chiu RWK, Chan KC, Gao Y, Lau VY, Zheng W. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:20458-63

- <sup>145</sup> Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Neveux LM et al. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: An international clinical validation study. *Genet Med* 2011;13:913-20
- <sup>146</sup> Lo YM, Tein MS, Lau TK, et al. Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis. *Am J Hum Genet* 1998;62(4):768-75
- <sup>147</sup> Papageorgiou EA, Fiegler H, Rakyan V, et al. Sites of differential DNA methylation between placenta and peripheral blood: molecular markers for noninvasive prenatal diagnosis of aneuploidies. *Am J Pathol* 2009;174(5):1609-18
- <sup>148</sup> Chim SS, Jin S, Lee TY, et al. Systematic search for placental DNA-methylation markers on chromosome 21: toward a maternal plasma-based epigenetic test for fetal trisomy 21. *Clin Chem* 2008;54(3):500-11
- <sup>149</sup> Palomaki GE, Deciu C, Kloza EM, et al. DNA sequencing of maternal plasma reliably identifies trisomy 18 and trisomy 13 as well as Down syndrome: an international collaborative study. *Genet Med* 2012;14 (3):296-305
- <sup>150</sup> Ehrich M, Deciu C, Zwiefelhofer T, et al. Noninvasive detection of fetal trisomy 21 by sequencing of DNA in maternal blood: a study in a clinical setting. *Am J Obstet Gynecol* 2011;204(3):201-11
- <sup>151</sup> Sparks AB, Struble CA, Wang ET, Song K, Oliphant A. Noninvasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 2012;206:319.e1-9
- <sup>152</sup> Ashoor G, Syngelaki A, Wagner M, Bidir C, Nicolaides KH. Chromosome selective sequencing of maternal plasma cell-free DNA for first-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 2012;206:322.e1-5
- <sup>153</sup> Nicolaides KH, Syngelaki A, Ashoor G, Bidir C, Touzet G. Noninvasive prenatal testing for fetal trisomies in a routinely screened first-trimester population. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;207:374.e1-6
- <sup>154</sup> Juneau K, Bogard PE, Huang S, Mohseni M, Wang ET et al. Microarray-based cell-free DNA analysis improves noninvasive prenatal testing. *Fetal Diagn Ther*. 2014;36:282-6
- <sup>155</sup> Stokowski R, Wang E, White K, Batey A, Jacobsson B et al. Clinical performance of non-invasive prenatal testing (NIPT) using targeted cell-free DNA analysis in maternal plasma with microarrays or next generation sequencing (NGS) is consistent across multiple controlled clinical studies. *Prenat Diagn* 2015;35(12):1243-6
- <sup>156</sup> Zimmermann B, Hill M, Gemelos G, Demko Z, Banjevic M et al. Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X and Y using targeted sequencing of polymorphic loci. *Prenat Diagn* 2012;32:1233-41
- <sup>157</sup> Nicolaides KH, Syngelaki A, Gil M, Atanasova V, Markova D. Validation study of maternal blood cell-free DNA testing by targeted sequencing of single-nucleotide polymorphisms at chromosomes 13, 18, 21, X and Y. *Prenat Diagn* 2013;33:575-9

- <sup>158</sup> Pergament E, Cucлке H, Zimmermann B, Banjevic M, Sigurjonsson S et al. Single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal screening in a high-risk and low-risk cohort. *Obstet Gynecol* 2014;124:210-8
- <sup>159</sup> Adinolfi M, Sherlock J. First trimester prenatal diagnosis using transcervical cells: an evaluation. *Hum Reprod Update* 1997;3(4):383-92. Fejgin MD, Diukman R, Cotton Y, et al. Fetal cells in the uterine cervix: a source for early non-invasive prenatal diagnosis. *Prenat Diagn* 2001;21(8):619-21
- <sup>160</sup> Bussani C, Cioni R, Scarselli B, et al. Strategies for the isolation and detection of fetal cells in transcervical samples. *Prenat Diagn* 2002;22(12):1098-101. Cioni R, Bussani C, Scarselli B, et al. Comparison of two techniques for transcervical cell sampling performed in the same study population. *Prenat Diagn* 2005;25(3):198-202
- <sup>161</sup> Yang L, Sun HY, Chen DZ, et al. Explore the dynamic alternation of gene PLAC4 mRNA expression levels in maternal plasma in second trimester for noninvasive detection of trisomy 21. *Obstet Gynecol Sci* 2015;58(4):261-7
- <sup>162</sup> Nygren AO, Dean J, Jensen TJ. et al. Quantification of fetal DNA by use of methylation-based DNA discrimination. *Clin Chem* 2010;56:1627
- <sup>163</sup> Ashoor G, Poon L, Syngelaki A, Mosimann B, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: Effect of maternal and fetal factors. *Fetal Diagn Ther* 2012;31:237-43
- <sup>164</sup> Revello R, Sarno L, Ispas A, Akolekar R, Nicolaides KH. Screening for trisomies by cell-free DNA testing of maternal blood: consequences of failed result. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;47:698-704
- <sup>165</sup> Zhou Y, Zhu Z, Gao Y, Yuan Y, Guo Y, Zhou L et al. Effects of maternal and fetal characteristics on cell-free fetal DNA fraction in maternal plasma. *Reprod Sci (Thousand Oaks CA)* 2015;22:1429-1435
- <sup>166</sup> Wang A, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn* 2013;33:662-666
- <sup>167</sup> Lo YMD, Chan KCA, Sun H, Chen EZ, Jiang P, Lun FMF et al. Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus. *Sci Transl Med* 2010;2:61-91
- <sup>168</sup> Nicolaides KH, Syngelaki A, Gil MM et al. Prenatal detection of fetal triploidy from cell-free DNA testing in maternal blood. *Fetal Diagn Ther* 2014;35:212
- <sup>169</sup> Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM et al. Circulating cell free DNA testing: are some test failures informative? *Prenat Diagn* 2015;35:289
- <sup>170</sup> Ontario Health Technology Assessment Series. Noninvasive Prenatal Testing for Trisomies 21,18 and 13, Sex Chromosome Aneuploidies and Microdeletions: A Health Technology Assessment. *Health Quality Ontario* 2019;19(4):1-166

- <sup>171</sup> Bevilacqua E, Gil MM, Nicolaidis KH, Ordóñez E, Cirigliano V et al. Performance of screening for aneuploidies by cell-free DNA analysis of maternal blood in twin pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45:61-6
- <sup>172</sup> Guía clínica: Isoinmunización. Unidad Clínica de Hematología Fetal, Area de Medicina Fetal, Servicio de Medicina Materno-Fetal. Institut Clínic de Ginecologia, Obstetrícia i Neonatologia, Hospital Clínic de Barcelona. Febrero 2014.
- <sup>173</sup> Banch Clausen F, Steffensen R, Christiansen M, Rudby M, Jakobsen MA, Jakobsen TR et al. Routine noninvasive prenatal screening for fetal RHD in plasma of RhD-negative pregnant women-2 years of screening experience from Denmark. *Prenat Diagn* 2014;34:1000-5
- <sup>174</sup> Scheffer PG, van der Shoot CE, Page-Christiaens GCML, de Haas M. Non-invasive fetal blood group genotyping of Rhesus D, c E and of K in alloimmunised pregnant women: evaluation of a 7-year clinical experience. *BJOG* 2011;118:1340-1348
- <sup>175</sup> Yenilmez ED, Kökbas U, Kartlasmis K, Kayrin L, Tuli A. A new biosensor for noninvasive determination of fetal FHD status in maternal blood of RhD negative pregnant women. *PLoS ONE* 13(6): e0197855.
- <sup>176</sup> Chitty LS, Finning K, Wade A, Soothill P, Martin B, Oxenford K et al. Diagnostic accuracy of routine antenatal determination of fetal RHD status across gestation: population based cohort study. *BMJ* 2014;349:g5243
- <sup>177</sup> Pietropolli A, Capogna MV, Cascella R, et al. Three-hour analysis of non-invasive foetal sex determination: application of Plexor chemistry. *Hum Genomics*. 2016;10:9.
- <sup>178</sup> Hill M, Finning K, Martin P, Hogg J, Meaney C, Norbury G et al. Non-invasive prenatal determination of fetal sex: translating research into clinical practice. *Clin Genet* 2011;80:68-75
- <sup>179</sup> Costa JM, Benachi A, Gautier E, Jouannic JM, Ernault P, Dumez Y. First-trimester fetal sex determination in maternal serum using real-time PCR. *Prenat Diagn* 2001;21:1070-4
- <sup>180</sup> Rijnders RJ, van der Schoot CE, Bossers B, de Vroede MA, Christiaens GC. Fetal sex determination from maternal plasma in pregnancies at risk for congenital adrenal hyperplasia. *Obstet Gynecol* 2001;98:374-8
- <sup>181</sup> Hyett JA, Gardener G, Stojilkovic-Mikic T, Finning KM, Martin PG, Rodeck CH et al. Reduction in diagnostic and therapeutic interventions by non-invasive determination of fetal sex in early pregnancy. *Prenat Diagn* 2005;25:1111-6
- <sup>182</sup> New MI, Abraham M, Yuen T, Lekarev O. An update on prenatal diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Semin Reprod Med* 2012;30:396-9
- <sup>183</sup> Chitty LS, Chatelain P, Wolffenbuttel KP, Aigrain Y. Prenatal management of disorders of sex development. *J pediatr Urol* 2012;8:576-84

- <sup>184</sup> Hill M, Taffinder S, Chitty LS, Morris S. Incremental cost of non-invasive prenatal diagnosis versus invasive prenatal diagnosis of fetal sex in England. *Prenat Diagn* 2011;31:267-273
- <sup>185</sup> Silver R, Clifton RG, Myatt L, Hauth JC, Leveno KJ et al. Cell-free total and fetal DNA in first trimester maternal serum and subsequent development of preeclampsia. *Am J Perinatol*. 2017; 34(2): 191–198.
- <sup>186</sup> Farina A, Sekizawa A, Iwasaki M, Matsuoka R, Ichizuka K, Okai T. Total cell-free DNA (betaglobin gene) distribution in maternal plasma at the second trimester: a new prospective for preeclampsia screening. *Prenat Diagn*. 2004; 24(9):722–6
- <sup>187</sup> McGinnis R; Steinhorsdottir V; Williams NO; Thorleifsson G et al. Variants in the fetal genome near FLT1 are associated with risk of preeclampsia. *Nat Genet*. 2017;49(8):1255-1260
- <sup>188</sup> Scotchman E, Chandler NJ, Mellis R, Chitty LS. Noninvasive Prenatal Diagnosis of Single-Gene Diseases: The Next Frontier. *Clin Chem*. 2019. pii: clinchem.2019.304238
- <sup>189</sup> Dello Russo C, Cesta A, Longo S, Barone MA, Cima A, Mesoraca A, Sparacino D, Viola A, Giorlandino C. Validation of extensive next-generation sequencing method for monogenic disorder analysis on cell-free fetal DNA: noninvasive prenatal diagnosis. *J Mol Diagn* 2019;21(4):572-9
- <sup>190</sup> Chitty LS, Griffin DR, Meaney C, Barret A, Khalil A, Pajkrt E et al. New aids for the non-invasive prenatal diagnosis of achondroplasia: dysmorphic features, charts of fetal size and molecular confirmation using cell-free fetal DNA in maternal plasma. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011;37:283-9
- <sup>191</sup> Bellus GA, Hefferon TW, Ortiz de Luna RI, Hecht JT, Horton WA, Machado M et al. Achondroplasia is defined by recurrent G380R mutations of FGFR3. *Am J Hum Genet* 1995;96:368-73
- <sup>192</sup> Chitty LS, Mason S, Barret AN, McKay F, Lench N, Daley R et al. Non-invasive prenatal diagnosis of achondroplasia and thanatophoric dysplasia: next-generation sequencing allows for a safer, more accurate and comprehensive approach. *Prenat Diagn* 2015;35:656-62
- <sup>193</sup> Brook JD, McCurrach ME, Harley HG, Buckler AJ, Church D, Aburatani H et al. Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell* 1992;69:385
- <sup>194</sup> González-González MC, Trujillo-Tiebas MJ, Rodríguez de Alba M, García-Hoyos M, Lorda-Sánchez I, Díaz Recasens J et al. Huntington disease-affected fetus diagnosed from maternal plasma using QF-PCR. *Prenat Diagn* 2003;23:232-4
- <sup>195</sup> González-González MC, García-Hoyos M, Trujillo-Tiebas MJ, Bustamante Aragonés A, Rodríguez de Alba M, Álvarez D et al. Improvement in strategies for the non-invasive prenatal diagnosis of Huntington disease. *J Assist Reprod Genet* 2008;25:477-81

- <sup>196</sup> Bustamante-Aragonés A, González-González C, Rodríguez de Alba, M, Ainse E, Ramos C. Noninvasive prenatal diagnosis using ccfDNA in maternal blood: state of the art. *Expert Rev Mol Diagn* 2010;10:197-205
- <sup>197</sup> van der Oever JME, Bijlsma EK, Feenstra I, Muntjewerff N, Mathijssen IB, Bakker E et al. Noninvasive prenatal diagnosis of Huntington disease: detection of the paternally inherited expanded CAG repeat in maternal plasma. *Prenat Diagn* 2015;35:945-9
- <sup>198</sup> Hill M, Twiss P, Verhoef TI, Drury S, McKay F, Mason S et al. Non-invasive prenatal diagnosis for cystic fibrosis: detection of paternal mutations, exploration of patient preferences and cost analysis. *Prenat Diagn* 2015;35:950-8
- <sup>199</sup> Lench N, Barrett A, Fielding S, McKay F, Hill M, Jenkins L et al. The clinical implementation of non-invasive prenatal diagnosis for single-gene disorders: challenges and progress made. *Prenat Diagn* 2013;33:555-62
- <sup>200</sup> Barret AN, McDonnell TCR, Chan KCA, Chitty LS. Digital PCR analysis of maternal plasma for noninvasive detection of sickle cell anemia. *Clin Chem* 2012;58:1026-32
- <sup>201</sup> Lun FMF, Tsui NBY, Chan KCA, Leung TY, Lau TK, Charoenkwan P et al. Noninvasive prenatal diagnosis of monogenic diseases by digital size selection and relative mutation dosage on DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:19920-5
- <sup>202</sup> Gil MM, Molina FS, Azumendi G. Test prenatal no invasivo de cromosomopatías. Implementación clínica. En: Bartha JL, Sainz JA. Ecografía del primer trimestre: cambio de visión. YOU & US, S.A. 2018, p111-115
- <sup>203</sup> Wong FCK and Lo YMD. Prenatal Diagnosis Innovation: Genome Sequencing of Maternal Plasma. *Annu Rev Med*.2016;67:419–32
- <sup>204</sup> Schmid M, Klaritsch P, Artz W, Burkhardt T, Duba HC eta al. Cell-free DNA Testing for Fetal Chromosomal Anomalies in clinical practice: Austrian-German-swiww Recommendation for non-invasive prenatal tests (NIPT) *Ultraschall Med* 2015;36:507-10
- <sup>205</sup> Dondorp W, de Wert G, Bombard Y, Bianchi DW, Bergmann C et al. European Society of Human Genetics; American Society of Human Genetics. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening. *Eur J Hum Genet* 2015;23:1438-50
- <sup>206</sup> Russell LM, Strike P, Browne CE, Jacobs PA. X chromosome loss and ageing. *Cytogenet Genome Res* 2007;166:181-5
- <sup>207</sup> Tartaglia NR, Howell S, Sutherland A, Wilson R, Wilson L. A review of trisomy X (47,XXX). *Orphanet J Rare Dis* 2010;5:8
- <sup>208</sup> Visootsak J, Graham JM Jr, Klinefelter síndrome and other sex chromosomal aneuploidies. *Orphanet J Rare Dis* 2006;1:42



- <sup>209</sup> Held KR, Kerber S, Kaminsky E, Singh S, Goetz P et al. Mosaicism in 45, X Turner syndrome: does survival in early pregnancy depend on the presence of two sex chromosomes? *Hum Genet* 1992;88:288-9
- <sup>210</sup> Papp C, Beke A, Mezei G, Szigeti Z, Bán Z, Papp Z. Prenatal diagnosis of Turner syndrome: report of 69 cases. *J Ultrasound Med* 2006;25:711-7
- <sup>211</sup> Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012;367:2175-84
- <sup>212</sup> Grati FR, Molina Gomes D, Ferreira JC, Dupont C, Alesi V et al. Prevalence of recurrent pathogenic microdeletions and microduplications in over 9500 pregnancies. *Prenat Diagn* 2015;35:801-9
- <sup>213</sup> Yaron Y, Jani J, Schmid M, Oepkes D. Current Status of Testing for Microdeletion Syndromes and Rare Autosomal Trisomies Using Cell-Free DNA Technology. *Obstet Gynecol*. 2015;126:1095-9
- <sup>214</sup> Yaron Y, Jani J, Schmid M, Oepkes D. Current Status of Testing for Microdeletion Syndromes and Rare Autosomal Trisomies Using Cell-Free DNA Technology. *Obstet Gynecol* 2015;126:1095-9
- <sup>215</sup> Samango-Sprouse C, Banjevic M, Ryan A, Sigurjonsson S, Zimmermann B, Hill M et al. SNP-based non-invasive prenatal testing detects sex chromosome aneuploidies with high accuracy. *Prenat Diagn* 2013;33:643-9
- <sup>216</sup> Rijhsinghani A, Yankowitz J, Strauss RA, Kuller JA, Patil S, Williamson RA. Risk of preeclampsia in second-trimester triploid pregnancies. *Obstet Gynecol* 2011;90:884-8
- <sup>217</sup> Seckl MJ, Sebire NJ, Berkowitz RS. Gestational trophoblastic disease. *Lancet* 2010;376:717-29
- <sup>218</sup> Committee on Genetics and the Society for Maternal-Fetal Medicine. Committee Opinion No.682: Microarrays and Next-Generation Sequencing Technology: The Use of Advanced Genetic Diagnostic Tools in Obstetrics and Gynecology. *Obstet Gynecol* 2016;128:262
- <sup>219</sup> Mackie FL, Hemming K, Allen S, et al. The accuracy of cell-free fetal DNA-based non-invasive prenatal testing in singleton pregnancies: a systematic review and bivariate meta-analysis. *BJOG* 2017;124:32
- <sup>220</sup> Geppert J, Stinton C, Johnson S, Clarke A, Grammatopoulos D, Taylor-Phillips S. Antenatal screening for fetal trisomies using microarray-based cell-free DNA testing: a systematic review and meta-analysis. *Prenat Diagn*. 2020;4:454-462
- <sup>221</sup> Snyder MW, Simmons LE, Kitzman JO, et al. Copy-number variation and false positive prenatal aneuploidy screening results. *N Engl J Med* 2015;372:1639
- <sup>222</sup> Zhou X, Sui L, Xu Y, et al. Contribution of maternal copy number variations to false-positive fetal trisomies detected by noninvasive prenatal testing. *Prenat Diagn* 2017; 37:318

- <sup>223</sup> Hartwig TS, Ambye L, Sorensen S, Jorgensen FS. Discordant non-invasive prenatal testing (NIPT)- a systematic review. *Prenat Diagn* 2017;37:527-39
- <sup>224</sup> Malvestiti F, Agrati C, Grimi B, et al. Interpreting mosaicism in chorionic villi: results of a monocentric series of 1001 mosaics in chorionic villi with follow-up amniocentesis. *Prenat Diagn* 2015;35:1117
- <sup>225</sup> Kalousek DK, Vekemans M. Confined placental mosaicism. *J Med Genet* 1996; 33:529
- <sup>226</sup> Schreck RR, Falik-Borenstein Z, Hirata G. Chromosomal mosaicism in chorionic villus sampling. *Clin Perinatol* 1990;17:867
- <sup>227</sup> Kalousek DK, Howard-Peebles PN, Olson SB, et al. Confirmation of CVS mosaicism in term placenta and high frequency of intrauterine growth retardation association with confined placental mosaicism. *Prenat Diagn* 1991; 11:743.
- <sup>228</sup> Grati FR, Bajaj K, Malvestiti F, et al. The type of feto-placental aneuploidy detected by cfDNA testing may influence the choice of confirmatory diagnostic procedure. *Prenat Diagn* 2015;35:994
- <sup>229</sup> Curnow KJ, Wilkins-Haug L, Ryan A, et al. Detection of triploid, molar, and vanishing twin pregnancies by a single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal test. *Am J Obstet Gynecol* 2015;212:79.e1
- <sup>230</sup> Wang Y, Chen Y, Tian F, et al. Maternal mosaicism is a significant contributor to discordant sex chromosomal aneuploidies associated with noninvasive prenatal testing. *Clin Chem* 2014; 60:251
- <sup>231</sup> Bianchi DW, Chudova D, Sehnert AJ, et al. Noninvasive Prenatal Testing and Incidental Detection of Occult Maternal Malignancies. *JAMA* 2015;314:162
- <sup>232</sup> Amant F, Verheecke M, Wlodarska I, et al. Presymptomatic Identification of Cancers in Pregnant Women During Noninvasive Prenatal Testing. *JAMA Oncol* 2015;1:814
- <sup>233</sup> Snyder HL, Curnow KJ, Bhatt S, Bianchi DW. Follow-up of multiple aneuploidies and single monosomies detected by noninvasive prenatal testing: implications for management and counseling. *Prenat Diagn* 2016;36:203
- <sup>234</sup> Dharajiya NG, Grosu DS, Farkas DH, et al. Incidental Detection of Maternal Neoplasia in Noninvasive Prenatal Testing. *Clin Chem* 2018;64:329
- <sup>235</sup> Bianchi DW, Parsa S, Bhatt S, et al. Fetal sex chromosome testing by maternal plasma DNA sequencing: clinical laboratory experience and biology. *Obstet Gynecol* 2015;125:375
- <sup>236</sup> Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL, et al. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med* 2016;18:1056
- <sup>237</sup> Hu H, Liu H, Peng C, et al. Clinical Experience of Non-Invasive Prenatal Chromosomal Aneuploidy Testing in 190,277 Patient Samples. *Curr Mol Med* 2016; 16:759.

- <sup>238</sup> Stone JF, Sandberg AA. Sex chromosome aneuploidy and aging. *Mutat Res* 1995; 338:107
- <sup>239</sup> van Opstal D, Srebniak MI. Cytogenetic confirmation of a positive NIPT result: evidence-based choice between chorionic villus sampling and amniocentesis depending on chromosome aberration. *Expert Rev Mol Diagn* 2016;16:513-20
- <sup>240</sup> Sarno L, Revello R, Hanson E, Akolekar R, Nicolaides KH. Prospective first-trimester screening for trisomies by cell-free DNA testing of maternal blood in twin pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;47:705-11
- <sup>241</sup> Canick JA, Kloza EM, Lambert-Mserrlian GM, Haddow JE, Ehrich M et al. DNA sequencing of maternal plasma to identify Down syndrome and other trisomies in multiple gestations. *Prenat Diagn* 2012;32:730-4
- <sup>242</sup> Gil MM, Quezada MS, Bregant B, Syngelaki A, Nicolaides KH. Cell-free DNA analysis for trisomy risk assessment in first-trimester twin pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 2014;35:204-11
- <sup>243</sup> Fosler L, Winters P, Jones KW, Curnow KJ, Sehnert AJ, Bhatt S, Platt LD. Aneuploidy screening using noninvasive prenatal testing in twin pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017;49:470-7
- <sup>244</sup> Gil MM, Galeva S, Jani J, Konstantinidou L, Akolekar R, Plana MN, Nicolaides KH. Screening for trisomies by cfDNA testing of maternal blood in twin pregnancy: update of the Fetal Medicine Foundation results and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2019;53:734-42
- <sup>245</sup> Salomon LJ, Alfirevic Z, Audibert F, Kagan KO, Paladini D, Yeo G, Raine-Fenning N, on behalf of the ISUOG Clinical Standards Committee. ISUOG Consensus Statement on the impact of non-invasive prenatal testing (NIPT) on prenatal ultrasound practice. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017;49:815-6
- <sup>246</sup> Benn P, Cuckle H, Pergament E. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy: current status and future prospects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;42:15-33
- <sup>247</sup> Benn P, Curnow KJ, Chapman S, Michalopoulos SN, Hornberger J, Rabinowitz M. An Economic Analysis of Cell-Free DNA Non-Invasive Prenatal Testing in the US General Pregnancy Population. *PLoS One*. 2015;10(7):e0132313
- <sup>248</sup> García-Pérez, L., Linertová, R., Álvarez-de-la-Rosa, M. et al. Cost-effectiveness of cell-free DNA in maternal blood testing for prenatal detection of trisomy 21, 18 and 13: a systematic review. *Eur J Health Econ* 2018;19,979–991
- <sup>249</sup> Zhang W, Mohammadi T, Sou J, Anis AH. Cost-effectiveness of prenatal screening and diagnostic strategies for Down syndrome: A microsimulation modeling analysis. *PLoS One*. 2019;14(12):e0225281
- <sup>250</sup> Maxwell S, O'Leary P, Dickinson JE, Suthers GK. Diagnostic performance and costs of contingent screening models for trisomy 21 incorporating non-invasive prenatal testing. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2017;57:432–439

- <sup>251</sup> Corrección de errores de la Orden de 8 de mayo de 2018, por la que se modifica la Orden de 14 de octubre de 2005, por la que se fijan los precios públicos de los servicios sanitarios prestados por centros dependientes del Sistema Sanitario Público de Andalucía. (BOJA núm. 92, de 15.5.2018). Disponible en: [https://www.juntadeandalucia.es/boja/2018/105/BOJA18-105-00001-9484-01\\_00136836.pdf](https://www.juntadeandalucia.es/boja/2018/105/BOJA18-105-00001-9484-01_00136836.pdf)
- <sup>252</sup> Gil MM, Quezada MS, Bregant B, Ferraro M, Nicolaides KH. Implementation of maternal blood cell-free DNA testing in early screening for aneuploidies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;42:34-40
- <sup>253</sup> Quezada MS, Gil MM, Francisco C, Oròsz G, Nicolaides KH. Screening for trisomies 21, 18 and 13 cell-free by DNA analysis of maternal blood at 10-11 weeks' gestation and the combined test at 11-13 weeks. *Ultrasound Obstet Gynec* 2015;45:36-41
- <sup>254</sup> Nicolaides KH. Turning the pyramid of prenatal care. *Fetal Diagn Ther* 2011;29:183-96
- <sup>255</sup> American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 545: Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2012;120:1532
- <sup>256</sup> Chitty LS, Wright D, Hill M, et al. Uptake, outcomes, and costs of implementing non-invasive prenatal testing for Down's syndrome into NHS maternity care: prospective cohort study in eight diverse maternity units. *BMJ* 2016; 354:3426
- <sup>257</sup> Swanson A, Sehnert AJ, Bhatt S. Non-invasive Prenatal Testing: Technologies, Clinical Assays and Implementation Strategies for Women's Healthcare Practitioners. *Curr Genet Med Rep.* 2013;1(2):113-121
- <sup>258</sup> Musci TJ, Fairbrother G, Batey A, Bruursema J, Struble C, Song K. Non invasive prenatal testing with cell-free DNA: US physician attitudes toward implementation in clinical practice. *Prenat Diagn.* 2013;33(5):424-8
- <sup>259</sup> Allyse M, Minear MA, Berson E, et al. Non-invasive prenatal testing: a review of international implementation and challenges. *Int J Womens Health.* 2015;7:113-126
- <sup>260</sup> Filoche S, Cram F, Lawton B, Beard A, Stone P. Implementing non-invasive prenatal testing into publicly funded antenatal screening services for Down syndrome and other conditions in Aotearoa New Zealand. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2017;17(1):344
- <sup>261</sup> Wald NJ, Bestwick JP. Prenatal reflex DNA screening for Down syndrome: enhancing the screening performance of the initial first trimester test. *Prenat Diagn* 2016;36:328
- <sup>262</sup> Sparks AB, Wang ET, Struble CA, et al. Selective analysis of cell-free DNA in maternal blood for evaluation of fetal trisomy. *Prenat Diagn* 2012;32(1):3-9
- <sup>263</sup> Programa Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas (PACAC). *Servicio Andaluz de Salud, 2009. ISBN: 978-84-692-8427-8. D.L.: SE 7104-2009*

- <sup>264</sup> The status of health in the European Union: congenital malformations. EUROCAT Central Registry, University of Ulster. Disponible en: <https://www.ulster.ac.uk/research/topic/nursing-and-health/maternal-fetal-and-infant-research/projects/eurocat>
- <sup>265</sup> Gonçalves LF, Jeanty P, Piper JM. The accuracy of prenatal ultrasonography in detecting congenital anomalies. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171(6): 1606-12
- <sup>266</sup> Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. Embarazo gemelar bicorial. *Prog Obstet Ginecol* 2016;59(1):43-57
- <sup>267</sup> Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. Alternativas terapéuticas para la tocólisis en el manejo de la amenaza de parto pretérmino. *Prog Obstet Ginecol*. 2016;59(2):112-118
- <sup>268</sup> American College of Obstetricians and Gynecologists. First-trimester screening for fetal aneuploidy: Opinion No. 296 *Obstet Gynecol* 2004;140:215-7
- <sup>269</sup> Gyselaers, W., Hulstaert, F., Neyt, M.: Contingent non-invasive prenatal testing: an opportunity to improve non-genetic aspects of fetal aneuploidy screening. *Prenat. Diagn.* 35, 1347–1352 (2015)
- <sup>270</sup> Morris, S., Karlsen, S., Chung, N., Hill, M., Chitty, L.S.: Modelbased analysis of costs and outcomes of non-invasive prenatal testing for Down's syndrome using cell free fetal DNA in the UK National Health Service. *PLoS One* 9, e93559 (2014)
- <sup>271</sup> Ken Song, Thomas J. Musci & Aaron B. Caughey (2013) Clinical utility and cost of non-invasive prenatal testing with cfDNA analysis in high-risk women based on a US population, *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2013;26(12):1180–1185
- <sup>272</sup> Walker BS, Nelson RE, Jackson BR, Grenache DG, Ashwood ER, Schmidt RL. A Cost-Effectiveness Analysis of First Trimester Non-Invasive Prenatal Screening for Fetal Trisomies in the United States. *PLOS ONE*. 2015; 10: e0131402
- <sup>273</sup> Okun N, Teitelbaum M, Huang T, Dewa CS, Hoch JS. The price of performance: a cost and performance analysis of the implementation of cell-free fetal DNA testing for Down syndrome in Ontario, Canada. *Prenat Diagn.* 2014; 34: 350–356
- <sup>274</sup> Nshimyumukiza L, Beaumont J-A, Duplantie J, Langlois S, Little J, Audibert F, et al. Cell-Free DNABased Non-invasive Prenatal Screening for Common Aneuploidies in a Canadian Province: A Cost-Effectiveness Analysis. *J Obstet Gynecol Can JOGC*. 2018; 40: 48–60
- <sup>275</sup> Ayres AC, Whitty JA, Ellwood DA. A cost-effectiveness analysis comparing different strategies to implement noninvasive prenatal testing into a Down syndrome screening program. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2014;54(5):412-417
- <sup>276</sup> Bayón JC, Orruño E, Portillo MI, Asua J. The consequences of implementing non-invasive prenatal testing with cell-free foetal DNA for the detection of Down syndrome in the Spanish National Health Service: a cost-effectiveness analysis. *Cost Eff Resour Alloc*. 2019;17:6

- <sup>277</sup> van der Meij KRM, Sistermans EA, Macville MVE et al. TRIDENT-2: National implementation of genome-wide non-invasive prenatal testing as a first-tier screening test in the Netherlands. *Am J Hum Genet* 2019; 105:1091-101
- <sup>278</sup> Cernat A, De Freitas C, Majid U, Trivedi F, Higgins C, Vanstone M. Facilitating informed choice about non-invasive prenatal testing (NIPT): a systematic review and qualitative meta-synthesis of women's experiences. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2019;19:27
- <sup>279</sup> John NM, Wright SJ, Gavan SP, Vass CM. The role of information provision in economic evaluations of non-invasive prenatal testing: a systematic review. *The European Journal of Health Economics* 2019;20:1123-31
- <sup>280</sup> Bunnik EM, Kater-Kuipers A, Galjaard RJH, de Beaufort I. Why NIPT should be publicly funded. *J Med Ethics* 2020
- <sup>281</sup> Wright D, Wright A, Nicolaides KH. A unified approach to risk assessment for fetal aneuploidies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 48-54
- <sup>282</sup> Nicolaides KH, Syngelaki A, Poon LC, Gil MM, Wright D. First-trimester contingent screening for trisomies 21, 18 and 13 by biomarkers and maternal blood cell-free DNA testing. *Fetal Diagn Ther.* 2014;35(3):185-192
- <sup>283</sup> Gadsbøll K, Petersen OB, Gatinois V, et al. Current use of noninvasive prenatal testing in Europe, Australia and the USA: A graphical presentation. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica.* 2020 Jun;99(6):722-730
- <sup>284</sup> van Schendel RV, Page-Christiaens GCML, Beulen L, et al. Women's Experience with Non-Invasive Prenatal Testing and Emotional Well-being and Satisfaction after Test-Results. *J Genet Couns.* 2017;26(6):1348-1356
- <sup>285</sup> Lewis C, Hill M, Chitty LS. Women's Experiences and Preferences for Service Delivery of Non-Invasive Prenatal Testing for Aneuploidy in a Public Health Setting: A Mixed Methods Study. *PLoS One.* 2016;11(4):e015314

