

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE MEDICINA

-DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA-



UTILIDAD DE LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ
EN LA APLICACIÓN DE CRIBADO DE
CROMOSOMOPATÍAS MEDIANTE DNA FETAL EN
SANGRE MATERNA

María José Bonomi Barby

Sevilla, abril 2019

Don JOSE 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 Dña. MARIA JOSE BONOMI BARBY, Licenciada en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo mi dirección y orientación, en la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla, el trabajo titulado “UTILIDAD DE LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ EN LA APLICACIÓN DE CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS MEDIANTE DNA FETAL EN SANGRE MATERNA”, que a mi juicio es apto para optar al grado de Doctor.

Sevilla, abril de 2019

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized 'S' followed by a horizontal line and a small flourish.

Fdo. JOSE ANTONIO SAINZ BUENO

AGRADECIMIENTOS:

Al Doctor José Antonio Sainz Bueno, por dirigir éste trabajo de forma impecable, por ser ejemplo diario a seguir como profesional y persona. Siempre contará con mi admiración y mi amistad. Gracias por creer en mi.

A las Dras. Laura Gutiérrez Palomino y María García Cabrera. Sin ellas, ésto no hubiera sido posible.

A todos mis amigos y compañeros del Servicio de Ginecología del Hospital de Valme, en especial a la Dra. Carlota Borrero González y al Dr. José Antonio García Mejido.

A mis padres, Enrique y Teresa, por enseñarme que con esfuerzo, todo se consigue.

A Ramón Martín Balbuena, por su apoyo incondicional y su complicidad fundamental.

A Ramón Martín Balbuena,

por su amor

y por tener razón en todo.

ÍNDICE

ÍNDICE.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRÁFICAS.....	Xiii
Índice de figuras.....	Xiii
Índice de tablas.....	Xiii
Índice de gráficas.....	Xiv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	Xvi
RESUMEN Y PALABRAS CLAVES.....	xviii

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.2. DEFECTOS CONGÉNITOS.....	5
1.2.1. CONCEPTOS GENERALES.....	5
1.2.2. CLASIFICACIÓN DE ALTERACIONES GENÉTICAS.....	5
1.2.2.1. Alteraciones monogénicas.....	5
1.2.2.2. Cromosomopatías.....	6
1.3. CRIBADO DE DEFECTOS CONGÉNITOS.....	11
1.3.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y RELEVANCIA CLÍNICA: JUSTIFICACIÓN DE LA NECESIDAD DE UN MÉTODO DE CRIBADO.....	11
1.3.2. CONTEXTO HISTÓRICO EN EL CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍA: DESDE LA EDAD MATERNA HASTA EL TEST COMBINADO.....	17
1.3.2.1. Cribado por edad.....	17
1.3.2.2. Cribado bioquímico de cromosomopatías del segundo trimestre.....	18
1.3.2.3. Cribado ecográfico de cromosomopatías del segundo trimestre: Sonograma genético.....	18
1.3.2.4. Cribado combinado del primer trimestre.....	21
1.3.2.4.1. SURUSS y FASTER.....	21
1.3.2.4.2. Componentes del test combinado.....	22
1.3.2.4.3. Aspectos prácticos del test combinado.....	26
1.3.2.5. Nuevos métodos de cribado.....	29
1.4. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO DE CROMOSOMOPATÍAS.....	31
1.4.1. INTRODUCCIÓN.....	31
1.4.2. TIPOS DE PRUEBAS GENÉTICAS.....	31
1.4.3. COMPLICACIONES ASOCIADAS A LAS TÉCNICAS INVASIVAS.....	32
1.5. TEST PRENATAL NO INVASIVO.....	34
1.5.1. CONCEPTOS GENERALES.....	34
1.5.1.1. DNA fetal libre circulante: Origen.....	34
1.5.1.2. Concepto de fracción fetal.....	36
1.5.2. APLICACIONES DE USO.....	38
1.5.2.1. Determinación prenatal del status Rh.....	39
1.5.2.2. Determinación prenatal del sexo fetal.....	40
1.5.2.3. Diagnóstico definitivo de enfermedades monogénicas.....	40
1.5.2.4. Screening de aneuploidías.....	43
1.5.3. TEST PRENATAL NO INVASIVO COMO MÉTODO DE CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS.....	43
1.5.3.1. Introducción.....	43
1.5.3.2. Aplicaciones.....	43
1.5.3.2.1. Aneuploidías autosómicas.....	43
1.5.3.2.2. Aneuploidías de cromosomas sexuales.....	46

1.5.3.2.3. Síndromes de microdelección y microduplicación.....	47
1.5.3.3. Desarrollo técnico.....	48
1.5.3.3.1. Conceptos generales: Introducción.....	48
1.5.3.3.2. Principales métodos.....	50
1.5.3.3.3. Métodos en investigación.....	54
1.5.3.3.4. Desarrollo de laboratorios.....	56
1.5.3.4. Formas de aplicación en el ámbito clínico.....	57
1.5.3.4.1. Cribado secundario.....	57
1.5.3.4.2. Cribado primario.....	58
1.5.3.5. Capacidad del test.....	59
1.5.3.5.1. Datos generales sobre la capacidad del test.....	59
1.5.3.5.2. Interpretación de informes fallidos o no concluyentes.....	60
1.5.3.5.3. Falsos positivos y falsos negativos.....	61
1.5.3.5.4. Interpretación del valor predictivo.....	63
1.5.3.6. Seguimiento clínico post-test.....	66
1.5.3.6.1. Cribado positivo.....	66
1.5.3.6.2. Cribado negativo.....	66
1.5.3.6.3. No resultado.....	66
1.6. ECOGRAFÍA EN EL PRIMER TRIMESTRE.....	68
1.6.1. INTRODUCCIÓN.....	68
1.6.2. CAPACIDAD DIAGNÓSTICA DE LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA.....	68
1.6.2.1. Generalidades sobre diagnóstico ecográfico de malformaciones estructurales congénitas.....	68
1.6.2.1.1. Sensibilidad de la ecografía morfológica: RADIUS, EUROFETUS y EUROSCAN.....	70
1.6.2.2. Capacidad diagnóstica de la ecografía morfológica en el primer trimestre.....	75
1.6.3. SONOEMBRIOLOGÍA EN EL PRIMER TRIMESTRE.....	84
1.6.4. ACTUALIZACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN EN LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ.....	85
1.7. INTEGRACIÓN DEL TPNI COMO MÉTODO DE CRIBADO CONTINGENTE DE CROMOSOMOPATÍAS EN EL CONTEXTO DE UN SISTEMA SANITARIO.....	88
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	95
2.1. HIPÓTESIS.....	96
2.2. OBJETIVOS	97
2.2.1. OBJETIVOS PRIMARIOS.....	97
2.2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	97
3. MATERIAL Y MÉTODO.....	99
3.1. MATERIAL.....	100
3.1.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO.....	100
3.1.1.1. Criterios de inclusión.....	100
3.1.1.2. Criterios de exclusión.....	100
3.2. MÉTODO.....	101
3.2.1. PROCEDIMIENTO.....	101
3.2.1.1. Recogida de datos e inclusión en el estudio.....	101
3.2.1.2. Valoración bioquímica del primer trimestre.....	101
3.2.1.3. Ecografía de primer trimestre no centralizada (parte del cribado combinado del primer trimestre).....	102
3.2.1.4. Cribado de segundo trimestre. Doble Test.....	102
3.2.1.5. Integración de datos.....	103
3.2.1.6. Técnica invasiva.....	103

3.2.1.7. Test prenatal no invasivo mediante DNA libre circulante en sangre materna.....	104
3.2.1.8. Ecografía morfológica precoz.....	104
3.2.1.9. Interpretación de resultados.....	106
3.2.2. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA.....	107
4. RESULTADOS.....	109
4.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS PERINATALES. PREVALENCIA DE DEFECTOS CONGÉNITOS. DETECCIÓN DE MALFORMACIONES ESTRUCTURALES.....	110
4.2. PREVALENCIA DE CROMOSOMOPATÍAS. TEST COMBINADO DEL PRIMER TRIMESTRE. DOBLE TEST.....	113
4.3. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS EN FORMA SECUENCIAL.....	122
4.4. ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y ECOGRÁFICOS.....	125
4.5. ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ. IDENTIFICACIÓN DE MALFORMACIONES FETALES PRECOCES. DESCRIPCIÓN.....	129
4.6. TÉCNICAS INVASIVAS EN EL CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS. EVOLUCIÓN HISTORICA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE VALME.....	137
4.7. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS EN FORMA CONTINGENTE. PRIMER PASO: TEST COMBINADO O DOBLE TEST. SEGUNDO PASO: ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA FETAL ASOCIADA A TEST PRENATAL NO INVASIVO. TC-SGP-TPN.....	138
5. DISCUSIÓN.....	141
5.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS PERINATALES, PREVALENCIA DE DEFECTOS CONGÉNITOS Y TASA DE DETECCIÓN DE MALFORMACIONES ESTRUCTURALES.....	142
5.2. PREVALENCIA DE CROMOSOMOPATÍAS. CRIBADO COMBINADO DEL PRIMER TRIMESTRE. DOBLE TEST.....	144
5.3. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS EN FORMA SECUENCIAL.....	146
5.4. ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y ECOGRÁFICOS.....	148
5.5. ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ. CAPACIDAD DE DETECCIÓN DE MALFORMACIONES ESTRUCTURALES.....	152
5.6. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS EN FORMA CONTINGENTE. PRIMER PASO: TEST COMBINADO O DOBLE TEST. SEGUNDO PASO: ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ ASOCIADA A TEST PRENATAL NO INVASIVO. EVOLUCIÓN DE LA TASA DE TÉCNICAS INVASIVAS.....	155
6. LIMITACIONES Y CONCLUSIONES.....	159
7. ANEXOS.....	163
8. BIBLIOGRAFÍA.....	177

ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRÁFICAS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Riesgo de anomalías cromosómicas en relación a la edad materna.

Figura 2. Detección de aneuploidías por sobrerepresentación de DNA fetal sobre el cromosoma de interés.

Figura 3. Protocolo SESEGO de estrategia inicial de implementación del DNA libre circulante como parte de una estrategia de cribado contingente de cromosopatías.

Figura 4. Distribución del cribado de cromosopatías en el grupo de estudio.

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1: Tasa de Cobertura del Cribado de Cromosopatías en %.

Gráfica 2. Media (MoM) de la TN durante el período de estudio.

Gráfica 3. Medias de la fracción β -hCG y de la PAPP-A corregidas a MoM.

Gráfica 4. Distribución por trimestres de los resultados positivos de la combinación de los datos ecográficos con los bioquímicos para la trisomía 21 (%).

Gráfica 5. Resumen de las tasas de diagnóstico de TC para trisomía 21 y cromosopatías en general.

Gráfica 6. Evolución de las medias anuales de Tasa de F+ del test combinado.

Gráfica 7. Evolución de la tasa (%) de FP del doble test por trimestres.

Gráfica 8. Población de estudio.

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1.** Ejemplos de enfermedades monogénicas, tipo de herencia y gen alterado.
- Tabla 2.** Clasificación de aberraciones cromosómicas.
- Tabla 3.** Prevalencia de defectos congénitos en España hasta 2011.
- Tabla 4.** (A) Casos y prevalencias de todos los defectos congénitos clasificados por grupo de todos los países miembros de EUROCAT (2011 – 2015). (Parte 1).
- Tabla 4.** (B) Casos y prevalencias de los defectos congénitos clasificados por grupos EUROCAT (2011 – 2015) (Parte 2)
- Tabla 5.** Marcadores ecográficos de aneuploidías fetales.
- Tabla 6.** Valores de razón de probabilidad (Likelihood ratio, LR) de los diferentes marcadores blandos asociados a la Trisomía 21.
- Tabla 7.** Resultados del SURUSS. Cálculos para una tasa de detección fija del 85%.
- Tabla 8.** Modelos propuestos para mejorar el cribado de Trisomía 21 y algunos de los autores que los han presentado.
- Tabla 9.** Sensibilidad del test prenatal no invasivo y semanas de gestación.
- Tabla 10:** Diagnóstico prenatal no invasivo de enfermedades monogénicas (Service Delivered by the North East Thames Regional Genetics Laboratory, Great Ormond Street Hospital).
- Tabla 11.** Número de casos estudiado, tasa de detección (TD) y tasa de falsos positivos (TFP) para cada tipo de cromosopatía.
- Tabla 12.** Estimación de la prevalencia estimada en la población de diferentes microdeleciones y sus correspondientes casos detectables.
- Tabla 13.** Métodos para diagnóstico prenatal de aneuploidías.
- Tabla 14.** Visión general de los test disponibles de DNA-libre circulante.
- Tabla 15.** Capacidad del test de screening mediante DNA fetal libre circulante para trisomías 21, 18, y 13.
- Tabla 16.** Resumen de la capacidad del test de screening mediante DNA fetal libre circulante para trisomías 21, 18 y 13.
- Tabla 17.** Resumen de la capacidad del test de screening mediante DNA fetal libre circulante para trisomías 21, 18 y 13.
- Tabla 18.** Valores predictivos positivos y negativos del test de DNA libre circulante y del cribado combinado del primer trimestre para poblaciones de alto y bajo riesgo.
- Tabla 19.** Resultados de mortalidad extraídos del meta-análisis de ensayos controlados y rdbomizados que comparan la ecografía sistemática versus ecografía selectiva.
- Tabla 20.** Análisis de los costes derivados del diagnóstico prenatal y del cuidado de recién nacido portador de defecto congénito en Italia.
- Tabla 21.** Impacto del cribado ecográfico prenatal para el diagnóstico de malformaciones mayores.
- Tabla 22.** Tabla de malformaciones (EUROFETUS).
- Tabla 23.** Comparación de estudios previos de la sensibilidad de la ecografía para la detección de anomalías congénitas.
- Tabla 24.** Sensibilidad de detección según la malformación.
- Tabla 25.** Comparativa sensibilidad ecografía para la detección de defectos congénitos en primer y segundo trimestre en gestaciones de alto riesgo, según edad gestacional.
- Tabla 26.** Evaluación comparativa de la sensibilidad ecografía para la detección de defectos congénitos en primer y segundo trimestre según orden cronológico.
- Tabla 27.** Sensibilidad diagnóstica de malformaciones mayores en primer trimestre: 11-14 semanas, excluyendo las anomalías cardíacas.
- Tabla 28.** Detección de malformaciones cardíacas fetales en población de bajo riesgo.
- Tabla 29.** Detección de malformaciones del sistema nervioso fetal 1T vs. 2T.
- Tabla 30.** Valoración anatómica fetal entre las 11 y 13+6 semanas de gestación.

Tabla 31. Porcentaje de población a la que se le ofrece test de DNA libre circulante, tasa de detección y de técnicas invasivas al realizar cribado contingente tras el cribado combinado, teniendo en cuenta las tasas de detección de ambos cribados y la tasa de fallo del DNA libre circulante.

Tabla 32. Proporción de las diferentes anomalías cromosómicas según los diferentes puntos de corte del cribado combinado para trisomías 21, 18 y 13.

Tabla 33. Estudio de costes simplificado de la implementación del test de DNA-1c de manera contingente (según diferentes puntos de corte).

Tabla 34. Resultados obstétricos en el Hospital Universitario de Valme entre Enero de 2013 a Diciembre de 2016.

Tabla 35. Sensibilidad, tasa de falsos negativos y tasa de falsos positivos de la ecografía para la detección de malformaciones estructurales.

Tabla 36. Distribución de las cromosomopatías en el periodo de estudio.

Tabla 37 (A). Casos de Trisomía 21. Resultado del Riesgo del Test Combinado y Doble Test (parte 1).

Tabla 37 (B). Casos de Trisomía 21. Resultado del Riesgo del Test Combinado y Doble Test (parte 2).

Tabla 38. Otros casos de cromosomopatías. Resultado del Riesgo del Test Combinado y Doble Test.

Tabla 39. Evaluación del sonograma genético modificado en la población de estudio.

Tabla 40. Casos diagnosticados y no diagnosticados de Trisomía 21 con el Sonograma Genético Modificado. Se incluyen los casos de gestantes con Trisomía 21 que revocaron el cribado de cromosomopatías.

Tabla 41. Casos diagnosticados con el sonograma genético modificado: otras cromosomopatías diferentes a trisomía 21.

Tabla 42. Casos positivos en el sonograma genético modificado. Indicaciones de Técnica invasiva por sonograma genético modificado.

Tabla 43. Ecografía morfológica precoz. Características de la población a estudio.

Tabla 44. Ecografía morfológica precoz. Características de la prueba ecográfica en la población a estudio.

Tabla 45. Datos técnicos de la exploración ecográfica morfológica precoz evaluados según si las gestaciones han sido desde el punto de vista ecográfico como concluyente o no. Índice de Masa Corporal, duración de la exploración ecográfica, condiciones técnicas, edad gestacional y peso fetal $P < 0.05$.

Tabla 46 . Distribución por semanas de gestación.

Tabla 47. Distribución de las Gestaciones no concluyentes por semanas de gestación de exploración y sistema orgánico fetal no concluyente. N Total 95. N entre 12+6-15 s.

Tabla 48. (A). Descripción de las malformaciones estructurales fetales identificadas por la ecografía morfológica fetal. (Parte 1)

Tabla 48. (B). Descripción de las malformaciones estructurales fetales identificadas por la ecografía morfológica fetal. (Parte 2)

Tabla 48. (C). Descripción de las malformaciones estructurales fetales identificadas por la ecografía morfológica fetal. (Parte 3)

Tabla 48. (D). Descripción de las malformaciones estructurales fetales identificadas por la ecografía morfológica fetal. (Parte 4)

Tabla 48. (E). Descripción de las malformaciones estructurales fetales identificadas por la ecografía morfológica fetal. (Parte 5)

Tabla 49. Descripción de las malformaciones estructurales fetales no identificadas por la ecografía morfológica fetal.

Tabla 50. Descripción casos de ecografía morfológica fetal falsamente positivas.

Tabla 51. Técnicas Invasivas y tasa de revocaciones realizadas desde el año 2008 hasta el 2016. Han disminuido en total un 52%.

Tabla 52. Casos de T-21 no diagnosticados con el modelo contingente TC-SGP-TPNI.

Tabla 53. Casos de T-21 diagnosticados con el modelo contingente TC-SGP-TPNI mediante T.Invasiva.

Tabla 54. Casos de T-21 diagnosticados con el modelo contingente TC-SGP-TPNI mediante TPNI.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ACOG: American College of Obstetricians and Gynaecologist
AFP: Alfa Feto Proteína
ALARA: as Low as Reasonable Achievable
ARSA: Aberrant Right Subclavian Artery (Arteria Subclavia Derecha Aberrante)
B-HCG: beta-fraction of human chorionic gonadotropin
BVC: Biopsia de Vellosidades Coriales
CCPT: Cribado Combinado del Primer Trimestre
CGH: Hibridación Genómica Comparativa
CIA: Comunicación Interauricular
CIAC- ECEMC : Centro de investigación sobre Anomalías Congénitas - Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas.
CIV: Comunicación Interventricular
CRL: Longitud Cráneo-Raquis Fetal
CSS: Chromosome Selective Sequence Analysis
DANSR: Digital Analysis of Selected Regions
DNA Ic: Deoxyribonucleic Acid libre circulante
DSVD: Doble Salida Ventriculo Derecho
DT+/-Truncus: Doble tracto de salida o truncus
DV: Ductus Venoso
ECEMC: Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas
EG: Edad Gestacional
EMP: Ecografía Morfológica Precoz
EUROCAT: European Surveillance of Congenital Anomalies
FD: Fetal Deaths/ Still Births from 20 weeks gestation
FISH: Análisis por Hibridación Fluorescente In Situ
FOCI: Foco Hiperecogénico Intracardiaco
FORTE: Fetal Fraction Optimized Risk of Trisomy Evaluation
HDFN: Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn
HN: Hueso Nasal
HTA: Health Technology Assessment
ICBDSR: International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research
IMC: Índice de Masa de Corporal
ISUOG: International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology
IVE: Interrupción Voluntarias del Embarazo
LB: Live Births
LR: Likelihood Ratio
MOM: Múltiplo de la Mediana
MPSS: Massively Paralel Shotgun Sequencing
NCV: Normalized Chromosome Value
NHS: National Health Service
NICE: National Institute for Health and Clinical Excellence
NICE: Non-Invasive Chromosomal Evaluation
NICHD: National Institute for Child Health and Human Development
NIFTY: NICHD Fetal Cell Isolation Study
OMS: Organización Mundial de la Salud
PAPP-A: Pregnancy Associated Plasma Protein A

QF-PCR: Quantitative Fluorescent PCR
RCOG: Royal College of Obstetricians and Gynaecologist
REDCB: Registro de Defectos Congénitos de la Ciudad de Barcelona
RNA m: Messenger Ribonucleic Acid
RNA: Ribonucleic Acid
RT: Regurgitación Tricuspídea
SB: Stillbirths
SEGO: Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia
SESEGO: Sección Ecografía Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia
SGM: Sonograma Genético Modificado
SNP: Single Nucleótid Polymorphism
STFF: Síndrome de Transfusión Feto-Fetal
T-13: Trisomía 13 (Síndrome de Patau)
T-18: Trisomía 18 (Síndrome de Edwards)
T-21: Trisomía 21 (Síndrome de Down)
TD: Tasa de Detección
TFP: Tasa de Falsos Positivos
TGV: Transposición de los grandes vasos
TN: Traslucencia Nucal
TOP: Number of terminations of pregnancy for birth defects
TOPFA: Termination of pregnancy for fetal anomaly following prenatal diagnosis
TPNI: Test Prenatal No Invasivo
TRA: Técnica de Reproducción Asistida
uE₃: Estriol Conjugado
VD: Ventriculo derecho
VI: Ventriculo izquierdo
VIH: Ventriculo izquierdo hipoplásico
VPN: Valor Predictivo Negativo
VPP: Valor Predictivo Positivo

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

OBJETIVOS:

Confirmar que la ecografía morfológica precoz tiene una capacidad diagnóstica para malformaciones estructurales fetales mayor del 80%, en el grupo de alto riesgo sometido a un test combinado como método de cribado de cromosopatías.

Reducir la realización de técnicas invasivas de un 5% al 3% manteniendo una tasa de detección de cromosomatías del 85%, al aplicar el test combinado asociado a un test prenatal no invasivo mediante DNA fetal en sangre materna.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio observacional prospectivo, realizado entre enero de 2013 y diciembre de 2016. Se aplicó una ecografía morfológica precoz asociada al test prenatal no invasivo, en aquellos casos de alto riesgo en el cribado combinado de cromosopatías del primer trimestre.

En primer lugar se realiza un cribado combinado de primer trimestre entre las 11-13+6 semanas de gestación como método de cribado de trisomía 21,18 y 13. Asociamos como método de rescate un doble test.

En casos de resultado mayor 1/270 se informa como riesgo bajo y continuamos el control de la gestación.

Si obtenemos un cribado combinado por encima de 1/270, se informa a la gestante de un riesgo alto de trisomía 21 y 18 y se oferta la realización de una técnica invasiva. A éstas gestantes como alternativa a la técnica invasiva se les ofrece un test prenatal no invasivo. Se informa a la gestante y se obtiene un consentimiento por escrito.

En pacientes con un cribado combinado mayor de 1/10, se indica directamente la realización una técnica invasiva, al tratarse de un grupo de muy alto riesgo.

Si el resultado es menor o igual a 1/270 la paciente es sometida a una ecografía morfológica precoz, lo que permite detectar malformaciones mayores o translucencia nugal por encima de 3,5 mm, siendo éstas pacientes clasificadas de nuevo como de muy alto riesgo, indicándose por tanto la técnica invasiva.

RESULTADOS:

Hemos analizado 12.650 gestaciones con una prevalencia de cromosomopatías del 0,5% (en total 64 casos, de los cuales, 49 casos corresponden a trisomía 21, es decir, un 76,5%). La cobertura del cribado de cromosomopatías es de un 98,5% (12.461 gestantes). El test combinado presenta una sensibilidad para trisomía 21 del 85,1 % (40/47 casos) y para todas las cromosomopatías del 85,2% (52/61). Con una tasa de falsos positivos del 4% (483/12.088). La ecografía morfológica precoz se ha realizado a 645 gestantes de las cuales el 85,2% (550) fueron concluyentes, presentando dificultad la evaluación del SNC y el corazón. La ecografía morfológica precoz ha presentado una sensibilidad para las malformaciones estructurales del 89,6% (52/58). El modelo de cribado basado en primer paso con test combinado o doble test y como segundo paso la ecografía morfológica precoz asociada al Test Prenatal No Invasivo o técnica invasiva, presenta una sensibilidad global de un 90,6% (57/64), para T21 de 91,8% (45/49), con una tasa de realización de técnica invasiva del 3,1% (382/12.282).

CONCLUSIONES:

La ecografía morfológica fetal precoz es útil en la aplicación de una metodología contingente del cribado de cromosomopatías basado en el test combinado y el test prenatal no invasivo.

PALABRAS CLAVES:

Ecografía morfológica precoz, test prenatal no invasivo, DNA fetal libre, malformaciones estructurales congénitas, cribado de cromosomopatías.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El examen ecográfico del primer trimestre ha ido aumentando su importancia en los últimos años. En la actualidad es considerado uno de los exámenes más importantes de la gestación.¹

Hoy en día es posible identificar el número de fetos, placentas y sacos gestacionales, determinar la edad gestacional y establecer el riesgo de aneuploidías, así como detectar gran parte de malformaciones estructurales congénitas. Además, en los últimos años se ha desarrollado un nuevo modelo de predicción de patología materno-fetal (new Pyramid of Prenatal Care): preeclampsia, parto pretérmino, diabetes gestacional, pérdidas gestacionales tardías, parto, retraso del crecimiento uterino o macrosomía, usando una combinación de marcadores clínicos y ecográficos.¹

No hay datos claros sobre la identificación de anomalías congénitas en la literatura, encontrando cifras dispares en cuanto a la tasa de detección de anomalías mayores. La International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology (ISUOG) publica en 2013 un protocolo de ecografía morfológica de primer trimestre con el objetivo de estandarizar y sistematizar la exploración de éste periodo de la gestación.²

A lo largo del último cuarto de siglo, los métodos de cribado de alteraciones cromosómicas han experimentado grandes avances. Durante los años 70 y primeros de los 80, el cribado se realiza atendiendo exclusivamente a la edad materna, practicándose amniocentesis a todas las mujeres con edad superior a los 35 años, con una tasa de detección para trisomía 21 en torno al 33%.³ Poco después comienzan a emplearse los marcadores bioquímicos del segundo trimestre. Mediante la introducción del doble, triple y cuádruple test mejora de manera significativa la sensibilidad del cribado.⁴ A principios de los años 90 aparece el sonograma genético.^{5,6} Al mismo tiempo, se desarrolla el cribado bioquímico del primer trimestre (mediante la determinación sérica de BHCG y PAPP-A), que al aplicarse de manera independiente no logran un gran aumento en la sensibilidad respecto a los modelos anteriores.^{7,8}

A finales de esta década, se introduce en la práctica clínica la medición de la translucencia nuchal, que años más tarde se asociará a los marcadores bioquímicos del primer trimestre, obteniendo el modelo actual de cribado: el test combinado del primer trimestre.³ Este test ha demostrado ser adecuado para su empleo como técnica de cribado, al lograr una sensibilidad del 80%. Sin embargo, la tasa de falsos positivos es mayor de la deseable, encontrándose entre 5-7%.^{7,8}

Puesto que actualmente ante un cribado positivo existe indicación de realización de una técnica de diagnóstico (amniocentesis o biopsia corial) una disminución en esta tasa de falsos positivos conllevaría una disminución en la realización de técnicas invasivas y así, de los riesgos asociados a ellas.⁹

Con el objetivo de reducir los falsos positivos diversas estrategias de cribado secuencial han sido propuestas a lo largo de los últimos años. La evaluación de marcadores ecográficos de cromosopatías en primer trimestre logra disminuir estas cifras.^{2,3} La realización de un sonograma genético en el segundo trimestre también logra una disminución del número falsos positivos, sin implicar una reducción en la tasa de detección.^{5,6}

La técnica de cribado no invasivo mediante detección de DNA fetal libre en sangre materna supone actualmente un gran avance en la metodología de cribado de cromosopatías. Desde la comercialización del primer test de DNA fetal en Hong Kong en 2011, su utilización se ha extendido rápidamente alrededor del mundo occidental.¹⁰

Sin embargo, el modelo de aplicación de esta técnica a la práctica clínica habitual dentro de los programas de salud constituye todavía un punto de controversia. El test prenatal no invasivo es un método de cribado de cromosopatías y no un método diagnóstico, debido a su sensibilidad del 99,5% y tasa de falsos positivos del 0,001 %.¹¹ En la actualidad se utiliza como alternativa a las técnicas invasivas prenatales, ya que no conlleva riesgo de pérdida gestacional. Sin embargo, las cromosopatías asocian con frecuencia malformaciones estructurales fetales, en un 75-80% de los casos.²

Por ello, previamente a la implantación de un método de cribado basado en el test prenatal no invasivo, es necesaria una evaluación morfológica adecuada.

Proponemos valorar la introducción de la ecografía morfológica precoz en la aplicación de un cribado de cromosopatías que combine, de forma contingente, el cribado combinado del primer trimestre y la aplicación del test prenatal no invasivo.

Se realizó una búsqueda bibliográfica, las características de dicha búsqueda se describen a continuación:

- Identificación del campo de estudio: publicaciones centradas principalmente en identificación de defectos congénitos mediante ecografía morfológica precoz, cribado de cromosopatías y técnicas basadas en DNA fetal libre circulante en sangre materna.
- Las palabras claves utilizadas fueron: ecografía morfológica precoz, cribado de cromosopatías, Test Prenatal no Invasivo, DNA fetal libre. Se utilizaron los siguientes términos MeSH: first trimester ultrasound, congenital abnormalities/ fetal aneuploidies screening/Non Invasive Prenatal Test/Cell-free DNA.

- Periodo a analizar: artículos publicados en los últimos 15 años, sin establecer periodo concreto debido a los avances que se producen de forma continua en éste ámbito, situando las publicaciones en periodos recientes.
- Selección de fuentes de información: las bases de datos que se han empleado para realizar la búsqueda bibliográfica han sido PubMed, Medline, Cochrane y SCiELO. La búsqueda se ha basado, fundamentalmente, en artículos de revistas científicas. Además hemos obtenido datos estadísticos de fuentes principales a nivel nacional e internacional: ICBDSR (International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research), EUROCAT (European Surveillance of Congenital Anomalies), y ECEMC (Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas). También hemos hecho uso de Tesis Doctorales para describir de forma detallada aspectos relativos al cribado de malformaciones congénitas y a la aplicación para ello de la ecografía morfológica precoz.

1.2. DEFECTOS CONGÉNITOS.

1.2.1. CONCEPTOS GENERALES.

La OMS define los defectos congénitos como: “toda anomalía del desarrollo morfológico, estructural, funcional o molecular, presente al nacer (aunque pueda manifestarse más tarde), externa o interna, familiar o esporádica, hereditaria o no, única o múltiple”.¹²

La *malformación* es una alteración intrínseca (del primordio del órgano) del tejido afectado. Aunque existen varios sistemas para clasificar las malformaciones congénitas, un método fácil y práctico es dividir las malformaciones graves o mayores y leves o menores. Una malformación grave o mayor es aquella que tiene importancia médica, quirúrgica o cosmética, con un impacto en la morbilidad y en la mortalidad. Una malformación leve o menor es aquella que no tiene un impacto médico, quirúrgico o cosmético significativo y que no afecta a la esperanza de vida o a la forma de vida normal.¹³

Las anomalías pueden estar producidas por una alteración en los cromosomas o bien pueden ocurrir alteraciones producidas en un solo gen (anomalías monogénicas). Éstas alteraciones pueden heredarse (herencia mendeliana o por mecanismos no tradicionales) o bien producirse de novo.¹²

Las anomalías congénitas cumplen todos los requisitos para ser patologías susceptibles de cribado: Causan morbilidad y/o mortalidad significativa.

- Es relativamente frecuente en la población.
- El método de cribado es válido, aceptable para la población, de fácil acceso, aplicación simple y coste proporcional al beneficio obtenido.
- El método de cribado es aceptable en términos de sensibilidad y especificidad.

Existen posibilidades diagnósticas y terapéuticas una vez que el cribado es positivo.¹⁴

1.2.2. CLASIFICACIÓN DE ALTERACIONES GENÉTICAS.

1.2.2.1. ALTERACIONES MONOGÉNICAS.

Son aquellas alteraciones producidas a nivel de un único gen. Se conocen más de 6.000 enfermedades hereditarias monogénicas, el 80-85% son hereditarias, el resto se producen por mutaciones de novo. Hay varias formas de transmisión a la descendencia (autosómica

dominante, autosómica recesiva y ligada al cromosoma x). Algunas de estas enfermedades están recogidas en la tabla 1. ^{12,13}

1.2.2.2. CROMOSOMOPATÍAS.

Se define como alteración cromosómica o cromosomopatía a alteraciones producidas en el número de cromosomas o en el material genético dentro de los mismos. Actualmente, sabemos que alrededor del 8% de los embarazos clínicamente evidentes y el 50% de los abortos espontáneos están asociados a alteraciones en los cromosomas. Los cromosomas constituyen dos grupos: autosómicos (numerados del 1 al 22) y los cromosomas sexuales (nombrados como X e Y). El genoma humano normal es diploide y está conformado por la fusión de las células haploides (contienen una sola copia del genoma) provenientes del padre y de la madre del individuo. ¹⁵

Los tipos cromosomopatías o aberraciones cromosómicas y su forma de clasificarse están recogidos en la tabla 2.

Las aneuploidías más frecuentes observadas en el recién nacido humano son la trisomía 21 o síndrome de Down, la trisomía 18 o síndrome de Edwards y la trisomía 13 o síndrome de Patau. ¹⁵

SINDROME DE DOWN:

La trisomía 21, causante del Síndrome de Down, es la anomalía cromosómica más común presente en los recién nacidos vivos y es además la causa más frecuente de retraso mental causada por una anomalía cromosómica. Se trata de una anomalía cromosómica que tiene una incidencia de 1 de cada 660 nacidos vivos, y que aumenta con la edad materna. Es la cromosomopatía más frecuente y mejor conocida. Fue descrita por primera vez en 1866 por Robert Langdon Down, pero su etiología se estableció por primera vez en 1959. ¹⁵

El síndrome de Down puede ser de cuatro tipos: ^{3,15}

- Trisomía 21 (47,+21). 47 cromosomas, es decir los 46 cromosomas de un cariotipo humano normal, más un cromosoma 21 extra. Supone el 95% de las anomalías genéticas causantes de síndrome de Down.
- Translocación Robertsoniana relativa al cromosoma 21. Es responsable del 3-4% de las alteraciones.
- Mosaicismo (47,+21/46. Cariotipo humano normal de 46 cromosomas/47 cromosomas + cromosoma 21 extra). 1-2%. En el 95% el error se produce en la disyunción meiótica.
- Duplicación. La duplicación en el brazo largo del cromosoma 21 [cup (21q)] es una rara forma de síndrome de Down, cuya incidencia se estima aproximadamente en un 1/45.000 nacidos vivos. Otros polimorfismos también han sido descritos como formas extremadamente infrecuentes de producir Síndrome de Down.

En cuanto al fenotipo han sido descritos más de 100 rasgos peculiares asociados al síndrome de Down. De hecho ninguno se considera constante o patognomónico aunque la evaluación conjunta de los que aparecen suele ser suficiente para el diagnóstico. La severidad y variabilidad de los distintos fenotipos en la población dependen en gran medida de la forma en la que los genes se expresan en cada individuo.¹³

Las características dismórficas más habituales son: epicantus, pliegue palpebral inclinado, macroglosia, puente nasal bajo, orejas de implantación baja, cuello corto, manos cortas y anchas, quinto dedo incurvado con falange media hipoplásica, pliegue palmar transversal o “pliegue simiesco”, espacio aumentado entre el primer y segundo dedo del pie (“sandal gap”) e hiperflexibilidad articular.¹⁶ La mayoría de los individuos presentan alteraciones cognitivas en rango variable, la mayoría tienen retraso mental que varía de moderado a severo.¹⁷ Entre un 40-50% de los afectados de Síndrome de Down presenta una cardiopatía congénita, siendo los defectos septales las más comunes.¹⁸ Las anomalías gastrointestinales están presentes en un 5% de los casos, incluidas la atresia y la estenosis duodenal, atresia esofágica con fístula traqueoesofágica, ano imperforado o la enfermedad de Hirschprung.¹⁹ Están presentes de forma habitual defectos de refracción, estrabismo, nistagmo, cataratas, queratocono.²⁰ También es frecuente una pérdida de audición, siendo habitual la otitis media de repetición. El bajo peso al nacer, y circunferencia cefálica disminuida son otros rasgos de aparición típica, los percentiles de crecimiento son más bajos, pero se incrementan de forma brusca a los tres o cuatro años hasta alcanzar el rango de obesidad infantil.¹⁹

Existen también algunos rasgos ecográficos característicos, aunque no patognomónicos del síndrome de Down. Alrededor del 75% de los fetos con trisomía 21 tienen aumentado el grosor de la translucencia nucal, entre el 60-70% carece de hueso nasal asociado o no a hipoplasia del maxilar inferior, un 80% de los casos afectados presenta anomalías en la onda de velocidad de flujo del ductus venoso y un 60% insuficiencia tricuspídea.²

La malformación cardíaca más frecuente es el defecto del conducto aurículo-ventricular, sobre todo de la almohadilla endocárdica seguidos de los defectos de comunicación del tabique auricular y ventricular: comunicación interauricular (CIA) y comunicación interventricular (CIV).²¹

Aparte de las malformaciones mayores que presentan, cardíacas y gastrointestinales principalmente, existen una serie de marcadores ecográficos que deben ponernos en alerta. Los marcadores ecográficos son aquellos hallazgos ecográficos sutiles, a veces transitorios, que aunque puedan ser el signo inicial de una anomalía evolutiva de un sistema determinado y estén presentes en fetos con cariotipo normal, se presentan en mayor porcentaje en fetos con anomalías cromosómicas. Estos en los fetos afectados de síndrome de Down son: braquicefalia, hipoplasia del hueso nasal, edema nucal, foco ecogénico cardíaco, intestino hiperecogénico, pielectasia leve, fémur/ húmero corto, el signo de la sandalia y clinodactilia. En los últimos

años se ha asociado la presencia de arteria subclavia derecha aberrante en un 19-36% a fetos con síndrome de Down.¹⁹

SINDROME DE EDWARDS:

El síndrome de Edwards es la segunda cromosomopatía más frecuente que afecta a los autosomas, aproximadamente a 1 de cada 3.000 nacidos vivos y es tres veces más frecuente en niñas que en niños. A partir de los 35 años la frecuencia aumenta progresivamente desde 1/2.500 nacidos vivos a los 36 años hasta 1/500 a los 43. Al igual que el síndrome de Down, también está relacionado con la edad materna, ya que también se explica bajo un mecanismo de no disyunción meiótica. Se afectan tres fetos de sexo femenino por cada uno masculino. Éste síndrome fue descrito por primera vez por Edwards en 1960.²²

Presenta múltiples malformaciones mayores y se asocia a una alta mortalidad intrauterina (89%), así como a un crecimiento intrauterino restringido grave y precoz. El 70% de los fetos con trisomía 18 presentan alteraciones estructurales múltiples visibles en ecografía. Las malformaciones estructurales que pueden estar presentes en fetos con síndrome de Edwards son: agenesia del cuerpo calloso, labio leporino, defectos cardíacos, hernia diafragmática, atresia esofágica, onfalocele, defectos renales, mielomeningocele, aplasia de radio, pies equinovaros. Los marcadores ecográficos presentes son: cráneo en fresa, quiste de plexo coroideo, megacisterna magna, micrognatia, edema nucal, arteria umbilical única, intestino hiperecogénico, femur corto, dedos sobrepuestos. Los recién nacidos normalmente fallecen en las primeras semanas de vida, tan sólo un 6% alcanza el primer año de vida.²³

Puede ser de tres tipos:^{3,23}

- Trisomía 18 (47,+18). 90%.
- Translocación cromosoma 18
- Mosaicismo (47,+18/46)

SINDROME DE PATAU:

La trisomía del cromosoma 13 o Síndrome de Patau tiene una prevalencia de aproximadamente 1:12.000 nacidos vivos. La tasa de abortos espontáneos es elevada y llega a representar el 1% del total de los abortos espontáneos reconocidos. Existe un ligero exceso de casos del sexo femenino respecto al masculino, aunque es más frecuente en abortos espontáneos y muertes intraútero. El síndrome de Patau es el síndrome cromosómico tercero en frecuencia, pero con tasas similares de mortalidad intrauterina al síndrome de Edwards. Fue descrito, en 1960, por Patau et al. El 28% de los recién nacidos fallecen en la primera semana, un 44% al mes, un 74% a los cuatro meses y un 86% al año. Presentan holoprosencefalia asociada o no a defectos faciales de la línea media. Otras malformaciones

estructurales presentes son: defectos cardíacos, renales y onfalocele. Los marcadores ecográficos descritos son microcefalia y polidactilia postaxial.^{3,24}

Puede ser de varios tipos:^{3,24}

- Trisomía 13 (47,+13)
- Translocación Robertsoniana. 98-99% mueren intraútero.
- Mosaicismo: (47,+13/46)

Tipo de herencia	Gen	Enfermedad
Autosómica dominante / de novo	FGFR3	Acondroplasia ²⁴
		Displasia tanatofórica ²⁵
	DMPK	Distrofia miotónica ²⁵
	HTT	Enfermedad de Huntinton ²⁶
Autosómicas recesivas	CFTR	Fibrosis quística ²⁷
	PKHD1	Poliquistosis renal ²⁸
	CYP21A2	Hiperplasia adrenal congénita ²⁹
	HBB	β -talasemia ³⁰
Autosómicas recesivas/ ligadas a X	F8, F9	Hemofilia. ³¹
	HBB	β -talasemia ³²
	HBB	Anemia falciforme ³³
	MUT	Acidemia por metilmalónico ³⁴
	ATP7B	Enfermedad de Wilson ³⁵
	CYP21A2	Hiperplasia adrenal congénita ³⁶
	DMD	Distrofia muscular de Duchenne ³⁸ Distrofia muscular de Becker ³⁷
	BCKDHA	Enfermedad de orina en jarabe de arce ³⁸
GJB2	Sordera congénita ³⁹ .	

Tabla 1. Ejemplos de enfermedades monogénicas, tipo de herencia y gen alterado.

Tipo de alteración cromosómica		Enfermedad	
Anomalías numéricas <i>(ganancia o pérdida de un cromosoma)</i>	Poliploidías <i>(grupo completo de cromosomas extra)</i>	Triploidías <i>(tres copias de cada cromosoma)</i> <i>69XXX o 69 XYY</i>	15% abortos <i>(del total de restos abortivos sometidos a test genético)</i>
		Tetraploidía <i>(el cariotipo contiene cuatro copias de cada cromosoma)</i> <i>92 XXXX o 92 XYYY</i>	
		Mosaico diploide/triploide	
	Aneuploidías	Trisomías <i>(un cromosoma extra en cada célula)</i>	Síndrome de Down (<i>trisomía 21</i>)
			Síndrome de Edwards (<i>trisomía 18</i>)
			Síndrome de Patau (<i>trisomía 13</i>)
	Monotonías <i>(falta un cromosoma en cada célula)</i>	Síndrome de Turner (<i>monosomía X</i>)	
Defectos estructurales <i>(cambios en el material genético dentro de un cromosoma, ya sea por reordenación, pérdida o ganancia)</i>	Delección <i>(pérdida de un fragmento de un cromosoma)</i>	Síndrome de Prader Willi (<i>delección parcial del brazo largo del cromosoma 15</i>)	
	Microdelección		
	Traslocación <i>(una porción de un cromosoma se transfiere a otro)</i>	Síndrome de Down (<i>translocación 21/21 o 14/21</i>) <4% de los casos	
	Duplicación <i>(copia extra de un segmento del cromosoma)</i>	Síndrome X frágil (<i>duplicación parcial del extremo del brazo largo del cromosoma X</i>)	
	Inversión <i>(se producen dos roturas en un mismo cromosoma y el material genético entre ambos gira 180°)</i>		
	Isocromosomas <i>(cuando los cromosomas se dividen de forma anormal durante la mitosis con ruptura a nivel del centrómero, se pierde un brazo y el otro se encuentra duplicado)</i>		
	Cromosoma en anillo <i>(ambos brazos de un cromosoma se fusionan formando un anillo)</i>	Síndrome de Turner (<i>anillo en el cromosoma X</i>)	

Tabla 2. Clasificación de aberraciones cromosómicas. ¹⁵

1.3. CRIBADO DE DEFECTOS CONGÉNITOS.

1.3.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y RELEVANCIA CLÍNICA: JUSTIFICACIÓN DE LA NECESIDAD DE UN MÉTODO DE CRIBADO.

Los defectos congénitos constituyen un importante problema de salud pública. Son la primera causa de mortalidad y morbilidad infantil en países desarrollados, constituyendo el 20% de las muertes que ocurren en el primer año tras el nacimiento. En conjunto, afectan a un número importante de recién nacidos, con una prevalencia entre el 2% y el 4%, porcentaje que asciende hasta el 7% al primer año de vida.⁴⁰

El sistema de registro de malformaciones congénitas, EUROCAT, aporta una prevalencia del 2,3% para malformaciones mayores y del 2,01% para malformaciones mayores excluyendo los síndromes cromosómicos. En España se ha reducido la tasa de defectos congénitos de un 2,2 % en la década de los 80 a un 1,1%, en la actualidad. Este descenso se debe al diagnóstico prenatal, en concreto, a la instauración de cribado prenatal de malformaciones (Ecografía de 20 semanas) y al cribado de cromosomopatías.⁴¹

A partir de la década de los 60, empiezan a crearse sistemas de registro para hacer una vigilancia epidemiológica de las diferentes anomalías congénitas. La creación de estos registros nos ayudan a comprender mejor los aspectos clínico-epidemiológicos de los recién nacidos afectados y a establecer pautas de prevención e investigación de estas patologías.⁴²

Existen varios registros, como el ICBDSR (International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research) con cobertura mundial, el EUROCAT (European Surveillance of Congenital Anomalies) para Europa; y el ECEMC (Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas).^{42,43,44}

El Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas (ECEMC) es un programa continuo de investigación clínica y epidemiológica sobre los niños que nacen con defectos congénitos, desde 1980 se recogen datos sobre el total de recién nacidos.⁴⁴

Dentro de España podemos definir otros registros que han ido apareciendo después, como son el REDCB (Registro de Defectos Congénitos de la Ciudad de Barcelona), el registro de Malformaciones Congénitas del País Vasco y el registro de Malformaciones Congénitas del Principado de Asturias.⁴

El ICBDSR es una Organización Internacional afiliada a la OMS, creada en 1974 en Helsinki y cuyo objetivo principal es la investigación y prevención de los defectos

congénitos. En su publicación en 2011 registra la prevalencia de cada uno de los diferentes defectos congénitos en cada uno de los 30 países que incluyen, entre ellos España, la cual le facilita dicha información a través del ECEMC. Registra los datos desde 1980 hasta 2011, como muestra la tabla 3.⁴⁴

EUROCAT, es el registro de los defectos congénitos a nivel europeo creado en 1979 y que abarca más de 1,5 millones de nacimientos anuales, lo que supone más de una cuarta parte de los nacimientos anuales en Europa.⁴⁵ Actualmente engloba un total de 43 miembros en 21 países europeos y se estima un total de 386.693 casos de anomalías congénitas desde 1980 (incluidos los casos de recién nacidos vivos, recién nacidos muertos e interrupciones voluntarias del embarazo tras el diagnóstico prenatal). Es centro colaborador de la OMS para la vigilancia epidemiológica de los defectos congénitos.^{42, 43, 44}

En cuanto a la prevalencia global de las anomalías congénitas, en la tabla 4 podemos ver de forma desglosada los 93 defectos que se incluyen en el último registro desde 2011 a 2015 en todos los países miembros. Los datos se dividen en grupos atendiendo a la presencia o no de afectación cromosómica y según el número de recién nacidos vivos, muertes fetales o interrupciones voluntarias del embarazo tras el diagnóstico prenatal. Cuenta con 43 puntos de registro en 23 países, recoge el 29% de los nacimientos de Europa. También se recoge la prevalencia de Síndrome de Down en Europa entre 2011 y 2015, que corresponde a 23,88 casos por 10.000 habitantes. Aquí incluimos los casos tanto de recién nacidos vivos, muertes fetales de 20 semanas en adelante como aquellas gestaciones finalizadas tras haber realizado un diagnóstico prenatal.^{42, 43, 44}

Existen variaciones en cuanto al diagnóstico según la zona geográfica en países como Suecia, la tasa por 10.000 habitantes es de 36,42 mientras que en otros como Polonia, disminuye hasta un 6,12. Estas diferencias están relacionadas con el desarrollo del diagnóstico prenatal de forma distinta según el país donde nos encontremos, más que con la edad materna, donde no hay tanta variación.^{42, 43, 44}

En cuanto al Síndrome de Patau (datos de Eurocat) se recogen 2,09 casos por 10.000 habitantes; y 5,67 casos por 10.000 habitantes tratándose del Síndrome de Edwards. El síndrome de Turner presenta una tasa de 2,55 casos por 10.000 habitantes; y 0,63 casos por 10.000 para el Síndrome de Klinefelter.^{42, 43, 44}

Según datos de la OMS:⁴⁶

- Cerca de un tercio de las muertes infantiles se deben a anomalías congénitas.
- Las anomalías congénitas afectan a uno de cada 33 lactantes y causan 3,2 millones de discapacidades al año.
- Cada año 270.000 recién nacidos fallecen durante los primeros 28 días de vida debido a anomalías congénitas.

- Las anomalías congénitas pueden ocasionar discapacidades crónicas con gran impacto en los afectados, sus familias, los sistemas de salud y la sociedad. Centro de investigación sobre Anomalías Congénitas (CIAC-ECEMC). Instituto de Salud Carlos III.
- Por tanto, no sólo son causa de mortalidad perinatal, sino que generan una morbilidad grave, ya que el retraso mental, la minusvalía física y la dependencia del sistema sanitario acompañan frecuentemente a los recién nacidos con malformaciones graves que sobreviven. Dicha morbilidad acompañante aumenta aún más el gasto sanitario.

Es importante contar programas de diagnóstico prenatal, dentro de los cuales se creen programas de cribado universales, que llevados a cabo en etapas tempranas de la gestación aumenten la calidad de la asistencia a las gestantes.

UTILIDAD DE LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ EN LA APLICACIÓN DE
CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS MEDIANTE DNA FETAL EN SANGRE MATERNA

<i>Anomalías congénitas</i>	1977-1981	1982-1986	1987-1991	1992-1996	1997-2001	2002-2006	2007-2011
Nacimientos Totales * 10.000	113.012	327.623	334.870	443.187	509.008	526.739	480.647
Anencefalia	5,31	4,03	1,94	0,77	0,37	0,15	0,29
Espina Bífida	3,89	4,88	4,42	2,84	1,91	1,08	0,67
Encefalocele	1,50	0,89	0,78	0,65	0,24	0,21	0,17
Microcefalia	2,12	2,23	2,09	2,14	1,55	1,06	0,87
Holoprosencefalia	0,35	0,43	0,63	0,52	0,43	0,25	0,37
Hydrocefalia	3,19	2,23	2,96	2,98	2,12	1,88	1,83
Anoftalmos	0,71	0,64	0,30	0,27	0,14	0,17	0,19
Microftalmos	1,50	2,11	1,76	1,62	1,20	0,95	1,06
Anoftalmos/Microftalmos	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,29
Anotia	0,00	0,03	0,03	0,23	0,10	0,09	0,06
Microtia	2,21	2,05	1,49	1,31	1,45	1,52	1,75
Anotia/Microtia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,27
Transposición de grandes vasos	0,62	0,67	1,25	1,49	1,24	1,22	0,67
Tetralogía de Fallot	0,18	0,24	0,66	1,13	1,12	0,93	0,67
Síndrome de Hipoplasia derecha	0,27	0,37	0,75	0,70	0,43	0,30	0,08
Coartación de aorta	0,71	0,24	0,69	0,79	0,88	0,74	0,67
Atresia de canal bilateral	0,00	0,15	0,51	0,18	0,18	0,17	0,21
Fisura Palatina aislada	4,96	4,91	5,05	4,31	3,79	4,10	3,08
Labio Leporino +/- Fisura palatina	5,93	5,68	5,76	5,26	3,75	3,85	3,06
Atresia esofágica	1,68	2,41	1,85	2,14	1,57	2,13	1,21
Atresia intestinal	0,53	0,52	0,57	0,52	0,33	0,63	0,52
Atresia anal	2,48	2,66	1,97	2,08	2,20	1,92	1,46
Criptorquidia	1,24	2,14	2,69	2,59	3,10	2,11	2,33
Hipospadias	2,65	2,66	2,21	1,69	1,93	1,97	1,64
Epispadias	0,44	0,15	0,30	0,05	0,12	0,06	0,10
Genitales ambiguos	0,53	1,16	1,08	0,65	0,67	0,44	0,44
Agenesia Renal	0,62	0,73	0,87	0,59	0,28	0,08	0,15
Poliquistosis Renal	1,50	1,13	1,70	1,67	1,69	1,50	1,48
Extrofia Vesical	0,27	0,27	0,27	0,25	0,31	0,15	0,12
Polidactilia	2,57	2,38	2,96	2,91	2,65	2,15	1,93
Total Limb reduction defects	7,52	6,84	7,23	6,54	5,21	4,46	3,95
Transverse	2,83	3,11	3,08	2,19	2,22	1,71	1,69
Preaxial	1,15	1,16	0,93	0,90	0,67	0,57	0,52
Postaxial	0,27	0,09	0,15	0,25	0,18	0,11	0,10
Intercalary	0,53	0,46	0,33	0,59	0,16	0,30	0,15
Mixed	1,50	0,92	1,28	1,08	1,04	0,85	0,75
Unspecified	1,24	1,10	1,46	1,53	0,90	0,49	0,71
Hernia diafragmatica	2,48	2,56	2,21	2,08	1,12	0,66	0,98
Onfalocele	2,12	1,50	1,49	1,02	0,61	0,55	0,56
Gastrosquisis	0,80	0,40	0,48	0,36	0,41	0,46	0,60
Onfalocele/Gastrosquisis inespecifico	0,27	0,37	0,33	0,09	0,06	0,02	0,02
Prune Belly	0,44	0,58	0,66	0,41	0,20	0,21	0,27
Trisomía 13	0,27	0,37	0,48	0,45	0,47	0,36	0,23
Trisomía 18	0,44	1,34	0,90	0,81	0,67	0,61	0,58
Síndrome de Downs	14,60	15,02	13,92	11,76	9,80	7,35	6,80
Edad materna <20	8,72	7,08	10,76	3,34	1,18	3,83	6,12
20-24	8,44	5,86	5,27	5,69	4,72	5,20	3,30
25-29	5,33	7,23	8,17	6,55	6,11	3,85	2,55
30-34	12,31	11,74	14,28	12,88	9,03	6,55	4,77
35-39	40,80	48,10	39,94	32,58	17,72	11,65	12,48
40-44	117,61	189,43	129,80	51,00	52,03	31,95	33,45
45+	163,27	246,91	137,93	265,49	2.666,67	42,55	112,57

Tabla 3. Prevalencia de defectos congénitos en España hasta 2011. ⁴⁷

Todos los países miembros de EUROCAT	Nacidos vivos	Muertes fetales	Gestaciones terminadas por anomalía fetal	Total	Total excluyendo anomalías genéticas
TODAS LAS ANOMALÍAS	59.179	1.433	14.619	75.231	60.392
Defectos de oreja, cara y cuello	420	21	84	525	409
Anotia	55	0	4	59	53
Defectos del sistema nervioso	3.402	270	4.040	7.712	6.558
Defectos del tubo neural	621	102	2.334	3.057	2.862
Anencefalia	67	58	1.074	1.199	1.155
Encefalocele	82	8	249	339	291
Espina Bífida	472	36	1.011	1.519	1.416
Hidrocefalia	815	66	711	1.592	1.327
Microcefalia	658	36	97	791	2.640
Anencefalia/Holoprosencefalia	67	17	364	448	271
Defectos oftalmológicos	1.036	15	99	1.150	935
Microftalmos	195	8	61	264	188
Anoftalmos	35	2	28	65	53
Catarata congénita	361	1	4	366	312
Glaucoma congénito	95	0	0	95	89
Defectos respiratorios	1.001	45	213	1.259	1.124
Atresia Goanal	271	4	13	288	243
Cistoadenopatis pulmonar	325	6	34	365	352
Malformaciones orofaciales	3.711	66	421	4.198	3.687
Labio leporino +/- Fisura Palatina	2.117	46	290	2.453	2.223
Fisura Palatina aislada	1.594	20	131	1.745	1.464
Malformaciones cardiacas	19.889	380	2.440	2.709	19.309
Enfermedades cardiacas severas	5.267	193	1.489	949	5.523
Truncus arterioso	141	9	60	210	151
Doble salida del ventriculo derecho	327	19	116	462	387
Transposición de grandes vasos	840	15	136	991	953
Ventriculo único	123	5	111	239	210
Defectos del septo interventricular	10.098	123	637	10.858	9.543
Defectos atrioventriculares	913	55	381	1.349	612
Tetralogía de Fallot	825	22	181	1.028	825
Estenosis/atresia válvula Tricuspide	133	10	70	213	198
Anomalía de Ebstein	108	9	14	131	124
Estenosis pulmonar	1.140	6	49	1.195	1.073
Atresia válvula pulmonar	218	1	73	292	266
Estenosis/Atresia válvula aórtica	364	7	66	437	393
Anomalías de la válvula Mitral	337	5	55	397	351
Ventriculo derecho hipoplásico	393	36	381	810	710
Ventriculo izquierdo hipoplásico	86	9	67	162	153
Coartación de Aorta	1.072	18	75	1.165	1.026
Atresia/Interrupción del Arco aórtico	116	4	31	151	108
Anomalías del retorno venoso pulmonar	194	1	10	205	196

Tabla 4. (A). Casos y prevalencias de los defectos congénitos clasificados por grupos EUROCAT (2011 – 2015) (Parte 1)⁴³

	Nacidos vivos	Muertes fetales	Gestaciones terminadas por anomalía fetal	Total	Total excluyendo anomalías genéticas
Malformaciones digestivas	4.255	149	750	5.154	4.454
Atresia Esofágica	662	28	52	742	659
Estenosis o atresia duodenal	360	26	38	424	277
Atresia intestinal	272	5	3	280	266
Atresia anal	716	17	216	949	841
Enfermedad de Hirschsprung	404	0	0	404	353
Atresia de los conductos biliares	116	0	0	116	111
Páncreas anular	32	0	3	35	28
Hernia diafragmática	581	32	207	820	733
Defectos de la pared abdominal	1.028	83	818	1.929	1.499
Gastrosquisis	641	29	118	788	765
Onfalocele	352	47	605	1.004	618
Defectos genitales	5.962	39	216	6.217	5.969
Hipospadias	5.056	9	35	5.100	4.984
Sexo indeterminado	134	10	52	196	157
Malformaciones urológicas	8.522	170	1.390	10.082	9.418
Síndrome de Potter	70	20	273	363	336
Displasia renal poliquística	984	22	228	1.234	1.161
Hidronefrosis congénita	3.365	28	134	3.527	3.396
Extrofia vesical +/- Epispadias	121	4	53	178	168
Prune Belly	231	7	67	305	297
Síndromes genéticos	1.450	35	326	1.811	0
Cromosomopatías	4.841	486	7.268	12.595	0
Síndrome de Down	2.906	165	4.020	7.091	0
Síndrome de Patau	90	37	493	620	0
Síndrome de Edward	202	145	1.337	1.684	0
Síndrome de Turner	183	54	519	756	0
Síndrome de Klinefelter	122	2	63	187	0
Malformaciones esqueléticas	11.110	199	1.508	12.817	11.597
Defectos de miembros reducidos	42	1.107	544	1.693	1.383
Pie equino	2.736	81	523	3.340	3.051
Displasia de cadera	3.358	2	6	3.366	3.310
Polidactilia	2.558	26	171	2.755	2.501
Sindactilia	1.069	20	113	1.202	1.022
Displasia osea	277	9	282	568	0
Craneosinostosis	784	19	35	838	7.36
Otros defectos					
Bandas amnióticas	77	17	82	176	168
Situs inversus	157	4	58	219	208
Siameses	4	5	44	53	51
Alteraciones congénitas de la piel	394	7	25	426	398
VATER/VACTERL	112	4	36	152	146
Anomalías vasculares	1.608	70	463	2.141	1.989
Síndromes teratogénicos	389	10	76	475	458
Síndrome alcohólico fetal	190	0	6	196	194
Síndrome del Valproato	9	0	3	12	12
Infecciones maternas	167	8	64	239	229

Tabla 4. (B). Casos y prevalencias de los defectos congénitos clasificados por grupos EUROCAT (2011 – 2015) (Parte 2)⁴³

Prevalencia total = número de casos (LB + FD + TOPFA) / número de recién nacidos (vivos + fallecidos) x 10.000,
Número de casos = Casos de anomalías congénitas en la población, *LB (live birth)* = recién nacidos vivos, *FD (fetal deaths)* = muertes fetales desde la semana 20, *TOPFA (termination of pregnancy for fetal anomaly after prenatal diagnosis, at any gestational age)* = interrupción del embarazo debida a anomalía fetal detectada mediante diagnóstico prenatal, *Nacimientos (vivos y fallecidos)* = todos los recién nacidos (vivos y fallecidos) declarados en registros oficiales.

1.3.2. CONTEXTO HISTÓRICO EN CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS: DESDE LA EDAD MATERNA HASTA EL TEST COMBINADO.

1.3.2.1. CRIBADO POR EDAD.

El primer método de cribado de T-21 que fue introducido y se basaba en el incremento de casos de T-21 asociado a la edad materna. El riesgo que presenta una gestante de 35 años de tener una cromosomopatía, a las 12 semanas de gestación, es de 1 en 250, 1 en 600 y 1 en 1.800 para T-21, T-18 y T-13 respectivamente. No se ha observado un incremento del riesgo de presentar una cromosomopatía con la edad para el síndrome de Turner y las Triploidías (Figura 1).⁴⁸

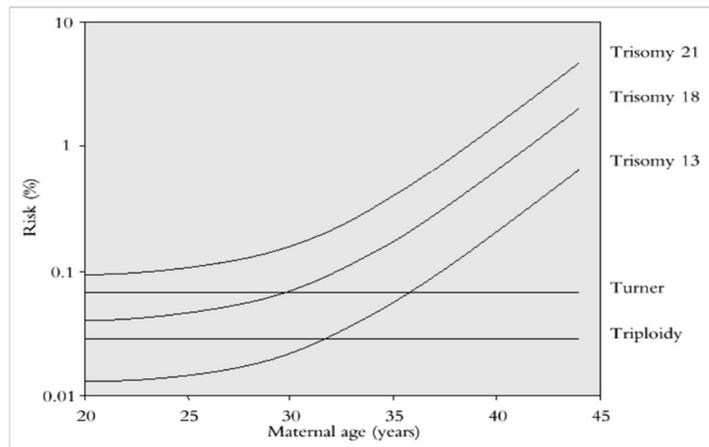


Figura 1. Riesgo de anomalías cromosómicas en relación a la edad materna.³

Cuando comenzaron los métodos de cribado de cromosomopatías en los años 70, el 5% de las gestantes eran mayores de 35 años. Esto se traduce en que el 30% del total de las trisomías 21 se encontraban en éste grupo. Por tanto, la tasa de falsos positivos de éste grupo representa un 5%, con una tasa de detección del 30%. Sin embargo, desde entonces hasta hoy, la edad de embarazo ha ido en aumento. Con lo cual, un 20% de las gestantes tiene una edad superior a 35 años. Como consecuencia, en éste grupo se encuentran el 50% de los fetos con trisomía 21.³

1.3.2.2. CRIBADO BIOQUÍMICO DE CROMOSOMOPATÍAS DEL SEGUNDO TRIMESTRE.

El cribado de segundo trimestre en la actualidad consta de cuatro marcadores serológicos. La alfa feto proteína (AFP) fue el primer marcador estudiado, observándose una disminución en su concentración materna si el feto está afecto de trisomía 21. Posteriormente aparecieron otros, como la hCG, elevada en éstos casos. Posteriormente tuvo lugar la aparición del estriol conjugado (uE_3), disminuido en madres de fetos con Síndrome de Down. Más recientemente, se propuso la adición de un cuarto marcador, la inhibina A, constituyendo lo que se ha denominado el “cuádruple test”, con una tasa de detección hasta un 75% para un 5% de falsos positivos.⁷

Esto motivó el desarrollo de un algoritmo de cálculo para asociar entre sí los resultados de los distintos marcadores y combinarlos con edad materna. Además fue necesario adoptar un “punto de corte” para seleccionar las gestantes de alto riesgo que necesitarían ser sometidas a técnicas invasivas. Como método de cálculo se desarrolló el modelo multivariable Gaussiano de los múltiplos de la mediana. El punto de corte se seleccionó en función del riesgo que correspondería a una mujer de 35 años en el segundo trimestre de la gestación, que se sitúa en 1/270-300.⁷

1.3.2.3. CRIBADO ECOGRÁFICO DE CROMOSOMOPATÍAS DEL SEGUNDO TRIMESTRE: SONOGRAMA GENÉTICO.

Se han identificado mediante ecografía una serie de “anomalías estructurales mayores” y “marcadores ecográficos blandos” asociados a la presencia de un feto afecto de una cromosomopatía (Tabla 5).⁴⁹ La evaluación del riesgo de cromosomopatía mediante la asociación de varios “marcadores blandos” y “anomalías mayores” mediante una evaluación ecográfica en 2º trimestre, se conoce como “sonograma genético”; término original de mediados los 90.^{4,50}

Los “marcadores blandos” son hallazgos ecográficos considerados variaciones de la normalidad y que por ellos mismos no confieren un significado clínico patológico. Sin embargo se sabe que estos rasgos tienen una asociación con las cromosomopatías; de manera que aunque la detección aislada de un marcador blando no sea diagnóstica, la detección de múltiples marcadores de este tipo, implican un aumento considerable del riesgo de cromosomopatía. Existen numerosos “marcadores blandos” descritos (Tabla 5).⁵ Las “anomalías mayores” incluyen: los defectos cardíacos (principalmente los defectos ventrículoseptales y comunicaciones atrioventriculares), la ventrículomegalia, la hipoplasia cerebelosa, la atresia duodenal, hidropesía, onfalocele y anomalías de las extremidades. Estas anomalías mayores aparecen en 1/3 de los fetos afectados de T-21.²

	Anomalías Estructurales	Marcadores Blandos
Trisomía 21	Anomalías cardíacas Atresia duodenal Braquicefalia Hidrocefalia Clinodactilia Higroma e Hidrops	Traslucencia nucal Ventriculomegalia Fémur, Húmero cortos Hipoplasia nasal Intestino hiperecogénico Pielectasia Pie en sandalia
Trisomía 18	Anomalías cardíacas Atresia esofágica Cráneo en fresa Hernia diafragmática Onfalocele Mielomeningocele Agenesia cuerpo calloso	Quiste plexo coroideo Cisterna magna aumentada Ventriculomegalia Fémur, Húmero cortos Hipoplasia nasal Intestino hiperecogénico Pielectasia
	Fisura facial Talipes Pies en mecedora Aplasia radial Superposición de dedos Arteria umbilical única Higroma e Hidrops	Arteria Umbilical Única
Trisomía 13	Anomalías cardíacas Hernia diafragmática Onfalocele Holoprosencefalia Fisura facial Ciclopía Agenesia cuerpo calloso Pies en mecedora Polidactilia Talipes Higroma e Hidrops	Foco ecogénico cardíaco Cisterna magna aumentada Ventriculomegalia Pielectasia Arteria Umbilical Única

Tabla 5. Marcadores ecográficos de aneuploidías fetales. ⁵¹

Se han presentado modelos para correlacionar el hallazgo de estos marcadores con el riesgo de cromosopatías. ⁴ Nicolaides propone su uso aplicando la razón de probabilidad positiva o negativa en función de la presencia o no de los distintos marcadores recalculando de esta manera el riesgo individual para cada paciente (Tabla 6).⁶

El sonograma genético ajusta el riesgo individual en función de los resultados en esta ecografía. Este método tiene una sensibilidad para la T-21 entre el 65 y 75% y una tasa de falsos positivos (TFP) del 4-21%, pero actualmente tras la introducción de métodos de

cribado para cromosomopatías con resultados excelentes, el sonograma genético ha caído en desuso y no parece que valga la pena aplicarlo tras la realización del test combinado. Distintos autores coinciden en que una ecografía morfológica normal reduce el riesgo de cromosomopatía hasta en un 60-80% y se proponen utilizar el sonograma genético con la finalidad de reducir el número de técnicas invasivas, ^{4,51}

	LR+	LR-	LR para marcador aislado
Malformación mayor	32,9	0,79	5,2
Edema nual	23,30	0,80	3,79
Intestino hiperecogénico	11,44	0,90	1,65
Húmero corto	4,81	0,74	0,78
Fémur corto	3,72	0,80	0,61
FOCI (foco hiperecogénico intracardiaco)	5,83	0,80	0,95
Pielectasia	7,63	0,92	1,08
Ventriculomegalia	27,52	0,94	3,81
Hueso nasal	23,27	0,46	6,58
ARSA (arteria subclavia derecha aberrante)	21,48	0,71	3,94

Tabla 6. Valores de razón de probabilidad (Likelihood ratio, LR) de los diferentes marcadores blandos asociados a la Trisomía 21. ⁶

Hueso nasal (HN). El hueso nasal se halla ausente en el 60-70% de los fetos con T,21 y en el 50% y 30% de los afectos de T,18 y T,13 respectivamente, frente a <1% de los fetos cromosómicamente normales de raza caucásica. Al igual que ocurre con los marcadores bioquímicos, este parámetro ecográfico varía con la raza, con la edad gestacional (y por tanto la CRL) pero es independiente de la edad materna. ^{4,51,53}

Ductus venoso (DV). El DV es un shunt que redirige el 80% de la sangre oxigenada procedente de la placenta directamente desde la vena umbilical hasta la circulación coronaria y aurícula izquierda a través del foramen oval, Cuando se produce la contracción atrial contra un ventrículo con alta presión, el flujo diastólico del DV se hace reverso, lo que ocurre en >80% de los fetos aneuploides y solo en el 5% de los euploides. Este marcador se asocia no solo con la existencia de cromosomopatías, sino que es también un marcador precoz de defectos cardiacos y de riesgo incrementado de muerte fetal. Sin embargo, en el 80% de los casos con una onda a reversa, el resultado de la gestación es un feto normal. La evaluación de la onda en el primer trimestre es cualitativa, considerándose normal si la onda a es positiva o ausente y patológica si es reversa. ^{4,51,53}

Regurgitación tricuspídea (RT). La RT está presente en más del 65% de los fetos aneuploides y en < 5% de los euploides. Al igual que lo que ocurre con el DV, la RT no solo está presente con mayor frecuencia en los fetos aneuploides sino que es un marcador precoz de defectos cardiacos. Se considerará que existe RT cuando esta esté presente durante al menos la mitad de la sístole con una velocidad > 60 cm/segundo (lo que permite diferenciarla de la contaminación causada por el flujo del tracto de salida de la arteria pulmonar). ^{4,51,53}

Otros marcadores. Diferentes estudios han evaluado otros marcadores ecográficos cuya frecuencia esta aumentada en fetos aneuploides. Sin embargo, su capacidad predictiva para cromosopatías es baja, y por lo tanto se ha descartado su inclusión como parámetros útiles para el cribado de aneuploidías.^{4,51,53}

1.3.2.4. CRIBADO COMBINADO DEL PRIMER TRIMESTRE.

En los años 90 hay un desplazamiento del cribado del síndrome de Down del segundo al primer trimestre de gestación. La demostración de que la medida de la translucencia nucal (TN) es independiente de la PAPP-A (proteína A plasmática asociada al embarazo) y de la B-HCG (fracción libre de la beta gonadotropina coriónica humana) tanto en fetos cromosómicamente normales como en fetos con alteraciones cromosómicas, hizo posible la combinación de estos marcadores bioquímicos con el marcador ecográfico de la medición de la translucencia nucal (TN) en un solo algoritmo de cálculo. Dos grandes estudios multicéntricos: SURUSS (Serum Urine and Ultrasound Screening Study) y FASTER (First and Second Trimestre Evaluation of Risk) demuestran que el test combinado es el “gold estándar” en el cribado de cromosopatías, pues además de presentar una alta sensibilidad (85% para una tasa de falsos positivos del 4,3%) es de aplicación sencilla y se realiza de manera temprana en la gestación.³

1.3.2.4.1. *SURUSS Y FASTER.*

El SURUSS es un estudio multicéntrico prospectivo, auspiciado por la agencia de evaluación de tecnología sanitaria británica (HTA, Health Technology Assessment). Se realizó sobre 47.053 gestantes con feto único reclutadas entre septiembre de 1996 y abril de 2000, ya atendidas en 25 maternidades (24 en Reino Unido y 1 en Austria). Su objetivo fue identificar un método de cribado prenatal de Síndrome de Down más eficiente, seguro y costo-efectivo usando marcadores ecográficos (TN), urinarios y serológicos, en el primer y segundo trimestre del embarazo. El método usado fue el de no-intervención, es decir, no se determinaron riesgos parciales tras las determinaciones del primer trimestre, para evitar fuentes de error causados por el diagnóstico y la interrupción del embarazo de algún feto afectado por Síndrome de Down, y la pérdida de algunas otras gestaciones entre el primer y segundo trimestre. En la tabla 7 se presentan los resultados originales de SURUSS. Un estudio publicado en 2003 llamó la atención sobre el hallazgo de que los valores medios de la TN en fetos afectados de Síndrome de Down no permanecen constantes entre la 10 y la 14 semanas, como asumió el SURUSS en sus cálculos, sino que, por el contrario, declinan linealmente al avanzar la gestación, Este hallazgo, confirmado posteriormente por los autores del SURUSS en su propia casuística, les obligó a revisar sus cálculos. Aunque las conclusiones finales no varían, los resultados revisados del SURUSS disminuyen las ventajas del test integrado respecto del test combinado, e incrementan las de éste con respecto a las del cuádruple test.⁸

Test (todos incluyen edad materna)	Medidas	Eficacia TFP(%)	Seguridad Pérdidas fetales por 100.000 cribados	Costo-eficiencia Costo por SD diagnosticado (euros)
TEST INTEGRADO	TN y PAPP-A a las 10 sem, AFP, Estriol no conjugado, fβ-hCG o hCG e inhibina A las 14-20 sem completas	0,9	6	17.355,5
TEST INTEGRADO SEROLÓGICO	PAPP-A a las 10-13 sem completas, AFP, Estriol no conjugado, fβ-hCG e Inhibina A las 14-20 sem completas	3,9	28	19.220,8
TEST COMBINADO	TN, fβ-hCG y PAPP-A a las 10-13 sem completas	4,3	35	18.754,9
CUÁDRUPLE TEST	AFP, Estriol no conjugado, fβ-hCG e Inhibina A las 14-20 sem completas	6,2	45	16.800
TRIPLE TEST	AFP, Estriol no conjugado, fβ-hCG a las 14-20 sem completas	9,3		
DOBLE TEST	AFP y fβ-hCG a las 14-20 sem completas	13,1		
MEDIDA TN	TN a las 12 sem completas	15,2		

Tabla 7. Resultados del SURUSS,. Cálculos para una tasa de detección fija del 85%.⁸

El estudio FASTER (First and Second Trimestre Evaluation of Risk) es un estudio observacional prospectivo llevado a cabo en 15 centros de EEUU desde Octubre de 1999 a Diciembre de 2002. Se incluyen mujeres con edad igual o superior a los 16 años, con gestación evolutiva intrauterina simple, de longitud cráneo-caudal comprendida entre los 36 y 79 mm (10 semanas más 3 días - 13 semanas más 6 días).⁷ Sus resultados son superponibles a los presentados por el estudio SURUSS,⁸

Tras los resultados de los grandes estudios multicéntricos, las diferentes guías clínicas y sociedades científicas (National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), National Health Service (NHS), Royal College of Obstetricians and Gynaecologist (RCOG), American College of Obstetricians and gynaecologist (ACOG) y la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO), recomiendan como gold estándar en el cribado de aneuploidías el test combinado, que además de presentar buenos resultados en términos de sensibilidad y tasa de falsos positivos, se puede aplicar de forma temprana en el control gestacional.^{52, 53, 54, 55}

1.3.2.4.2. COMPONENTES DEL TEST COMBINADO.

Edad Materna:

El riesgo de muchas aneuploidías como la trisomía 21, 18 y 13 aumenta al hacerlo la edad materna. De este modo, el riesgo estimado para una mujer de 20 años para la trisomía 21 a las 12 semanas es de 1 en 1.000, incrementando a 1 en 250 para una mujer de 35 años. De manera similar ocurre con las trisomías 18 y 13, incrementándose el riesgo a las 12 semanas

de 1 en 2.500 y 1 en 8.000 para una mujer de 20 años a 1 en 600 y 1 en 1.800 para una de 35.
⁴ Sin embargo, otras cromosomopatías no se relacionan con la edad materna, tales como son las asociadas a los cromosomas sexuales (síndrome de Turner, 47 XXX, 47 XXY y 47XYY) o las triploidías.³

Marcadores bioquímicos:

Las gestaciones afectas por aneuploidías se asocian con niveles alterados de diversos marcadores bioquímicos maternos, tales como son la PAPP-A y la B-HCG.³

Con el objetivo de incrementar la tasa de detección (TD) del cribado basado en la edad materna, a finales de los años 80 se introdujeron programas basados en el “screening bioquímico”, los cuales, junto con una serie de marcadores ecográficos aplicados en el segundo trimestre, lograron aumentar la TD a un 60%. Al realizar el cálculo de riesgo hay que tener en cuenta que las características de la paciente (etnia y hábito tabáquico) y de la gestación (edad gestacional, gestación única o múltiple y método de concepción) modifican los niveles séricos de estos marcadores, así como el equipamiento y los reactivos usados para el análisis. Para la inclusión de los marcadores bioquímicos en el cribado de aneuploidías, la concentración de cada marcador tiene que ser convertida en un múltiplo de la mediana (MoM) específico para una gestación euploide de las misma edad gestacional y características (peso materno, antecedentes de tabaquismo, etnia, número de fetos y método de concepción). Se asume una distribución normal tanto para fetos euploides como aneuploides. En los casos de trisomía 21, la concentración de fβ-hCG es aproximadamente el doble (2,0 MoM) del valor que hallamos en las gestaciones euploides (1,0 MoM), mientras que la PAPP-A se encuentra reducida a la mitad (0,5 MoM). En las trisomías 18 y 13, ambos marcadores se encuentran muy disminuidos (0,2 y 0,3 MoM para ambos marcadores respectivamente). En las cromosomopatías asociadas a los cromosomas sexuales tales como el síndrome de Turner, el valor de la fβ-hCG se encuentra muy cercano a la normalidad (1,2 MoM) con una PAPP-A disminuida (0,5 MoM). En las triploidías diándricas encontramos una fβ-hCG muy aumentada (9,0 MoM) con una PAPP-A discretamente disminuida (0,7 MoM), mientras que en las digínicas ambos valores hormonales están disminuidos (0,2 y 0,1 MoM respectivamente).³

Proteína Plasmática A asociada al Embarazo (PAPP-A): la PAPP-A es una glicoproteína de alto peso molecular (70.000 Daltons) sintetizada por el trofoblasto, Es secretada en forma de un precursor tetramérico constituido por dos cadenas de PAPP-A y dos cadenas de Pro – MBP, Su vida media es de unas 53 horas. Sus niveles en sangre materna van aumentando a lo largo de toda la gestación. Distintas circunstancias modifican los niveles normales, en gestantes con peso elevado, hábito tabáquico o gestaciones obtenidas por Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) la concentración de PAPP-A es inferior a la normal. Por el contrario en gestantes de bajo peso materno, en ciertas etnias (negras, asiáticas, magrebíes) o en gestaciones múltiples los niveles suelen estar aumentados.^{3,56} Por otro lado,

la concentración de PAPP-A está relacionada con el volumen placentario, por lo que su alteración puede estar relacionada con resultados perinatales adversos.^{3,58}

Fracción libre de la cadena beta de la Gonadotropina Coriónica Humana (B-HCG): la β -hCG es una hormona glicoproteica constituida por una subunidad α y otra subunidad β , con pesos moleculares respectivos de 15.000 y 23.000 Daltons. Es sintetizada inicialmente por el sincitiotrofoblasto y posteriormente por la placenta. Su vida media es de 0,6 horas. Durante el primer trimestre es necesaria para la producción de progesterona por las células del cuerpo lúteo hasta la semana 6 de embarazo. Además juega un papel importante en el mantenimiento de la angiogénesis de las arterias espirales y la fusión de las células vellosas del citotrofoblasto al sincitiotrofoblasto, Su concentración en sangre materna aumenta de forma progresiva durante las primeras semanas de gestación, alcanzando su máximo en las semanas 8 – 9. Sus niveles van decreciendo a lo largo del segundo trimestre de gestación. Al igual que sucede con la PAPP-A existen distintos factores que favorecen niveles más bajos de esta hormona (peso materno alto, paridad, diabetes, tabaquismo) y por el contrario, otros como el peso materno bajo, gemelaridad o TRA que se acompañan de niveles maternos por encima de lo normal. Además de las alteraciones asociadas a las aneuploidias, los valores de esta hormona se encuentran reducidos en los casos de aborto espontáneo y embarazo ectópico, y muy incrementados en la enfermedad trofoblástica.⁵⁹

La determinación de B-HCG y PAPP-A séricas se puede realizar entre la semana 9+0 y la 13+6. La diferencia en los valores de PAPP-A entre los fetos aneuploides y los euploides es mayor a las 11 semanas, mientras que la diferencia en los niveles de B-HCG libre es mayor a las 13 semanas de gestación. Dado que la diferencia en los niveles de PAPP-A es mayor que la diferencia en los niveles de B-HCG libre, el rendimiento general del cribado bioquímico es mayor cuando se realiza entre las 9 y las 11 semanas de gestación.⁵⁷

Marcador ecográfico. Translucencia Nucal:

La translucencia nucal (TN) se define como una colección líquida situada entre la piel y el tejido blando subcutáneo a nivel cervical. Es identificada por ecografía como un espacio econegativo, siendo el marcador ecográfico más sensible y específico de cromosomopatías.⁵⁸

A finales de los años 90, el cribado de aneuploidías termina de desplazarse al primer trimestre con la incorporación de la medida de la TN al cribado bioquímico y edad materna.⁶⁰

Consideraciones generales sobre la TN aumentada:

Se considera que una TN esta aumentada cuando esta se encuentra por encima del percentil 95 para la longitud cráneo-raquis fetal (CRL) en el momento en el que se toma la medida, ya que en fetos euploides la TN aumenta al hacerlo el CRL. La definición de “TN aumentada” no tiene en consideración otras características de la colección de fluido, tales como si ésta presenta septos o no, o de si el incremento de fluido se encuentra limitado al cuello o bien envuelve por completo al feto.⁶⁰

Fisiopatología de la TN aumentada:

El mecanismo fisiopatológico que da lugar al incremento de la TN no está bien determinado, desconociéndose tanto su origen como la causa de su desaparición a partir de la semana 14. El hecho de que una TN aumentada se relacione con un grupo tan heterogéneo de patologías sugiere un mecanismo específico para cada situación: ⁵⁹

- En **fetos euploides**, el crecimiento de la placenta y del volumen circulatorio fetal produce un estado de hiperperfusión y edema transitorio, Este fenómeno, asociado a la osificación incompleta, la laxitud de la piel del cuello, la posición fetal y el limitado desarrollo del sistema linfático, provoca un aumento de la TN como mecanismo de descompresión para proteger el encéfalo.
- En **fetos aneuploides**, parece que alteraciones de la matriz extracelular de la piel de la nuca presente en estos fetos favorece que se produzca una mayor acumulación de líquido extracelular en esta zona, Esto parece estar debido a que muchas de las proteínas que componen la matriz extracelular están codificadas en los cromosomas 21, 18 y 13. El 75-80% de los fetos con trisomía 21 presentan una TN por encima del percentil 95. Por otro lado, anomalías genéticas asociadas a alteraciones del colágeno (androgénesis tipo II), alteraciones de los receptores de factores de crecimiento de fibroblastos (acondroplasia o displasia tanatofórica) o del metabolismo del colágeno (síndrome de Zellweger) podrían ser la justificación de una TN aumentada.

Otros mecanismos fisiopatológicos que podrían explicar el incremento de la TN son: ⁶¹

- **Anomalías del sistema linfático.** Se postula que la colección del líquido extracelular puede ser debida a un retraso global en el desarrollo del sistema linfático. En determinadas condiciones, como el síndrome de Turner o el de Noonan, técnicas de inmunohistoquímica han demostrado una hipoplasia/aplasia de los capilares linfáticos de la epidermis.
- **Situaciones de congestión venosa a nivel del cuello y/o cabeza fetal** por constricción en el síndrome de brida amniótica, o compresión mediastínica o torácica en los casos de hernia diafragmática y displasias esqueléticas.
- **Anemia fetal.** Casos de anemia fetal de origen genético tales como la alfa-talasemia, anemia de Blackfan-Diamond, porfiria eritropoyética congénita, anemia diseritropoyética congénita o la anemia de Fanconi) así como las anemias asociadas a infección fetal (parvovirus B-19).
- **Hipoproteinemia fetal**, en fetos con síndrome nefrótico congénito que dé lugar a proteinuria.

En la mayoría de los casos se produce una resolución espontánea de la TN a partir de la semana 14, siendo poco frecuentes los casos en los que esta evoluciona hacia edema nuczal o higroma quístico, con o sin hidrops. Parece que la desaparición de la TN puede deberse a la recuperación del desarrollo del sistema linfático, a cambios en el flujo placentario o a la disminución de las resistencias periféricas fetales.⁶¹

TN aumentada en fetos con cariotipo normal:

Hasta un 4,4% de fetos euploides presentan una TN aumentada. Estos fetos tienen un riesgo aumentado de:⁶⁰

- *Muerte fetal*: la prevalencia de la muerte fetal en fetos cromosómicamente normales aumenta exponencialmente con el grosor de la TN.
- *Malformaciones estructurales mayores*: Se ha descrito que un 15% de fetos con TN aumentada tendrían algún tipo de malformación asociada, siendo la cardíaca la más frecuente. De hecho, una TN superior al percentil 99 tiene una sensibilidad del 31% y una especificidad del 98,7% para la detección de malformaciones cardíacas, siendo una de las indicaciones más efectivas para la ecocardiografía fetal. Además de las malformaciones cardíacas se debe descartar otras alteraciones estructurales como body stalk anomaly, displasias esqueléticas con tórax reducido, hernia diafragmática, onfalocele y mega vejiga.
- *Retraso en el desarrollo psicomotor*: Aunque la relación no ha podido ser explicada, existen diversos estudios publicados que han analizado la asociación de TN aumentada y retraso en el desarrollo psicomotor.⁶¹
- *Enfermedades genéticas* (neuromusculares, artrogriposis, osteogénesis, acondrogénesis).
- *Síndrome de transfusión feto-fetal*: En gestaciones monocoriales, una TN aumentada puede ser un marcador precoz de STFF.

1.3.2.4.3. *ASPECTOS PRÁCTICOS DEL TEST COMBINADO.*

Tras la evaluación del rendimiento de los diferentes métodos de cribado, los estudios FASTER y SURUSS ponen de manifiesto la elevada sensibilidad y baja tasa de falsos positivos del cribado combinado del primer trimestre. En base a estos resultados, las principales guías clínicas y sociedades científicas (NICE, NHS, RCOG, ACOG y la SEGO) recomiendan el test combinado del primer trimestre como gold estándar para el cribado de aneuploidias,^{7, 8, 54,55, 56, 64, 229}

El cribado combinado del primer trimestre (CCPT) puede realizarse en uno o dos tiempos:

Cribado combinado en un tiempo (Método OSCAR): el cribado combinado del primer trimestre (CCPT) en un tiempo consiste en la realización de la ecografía y análisis de marcadores bioquímicos en una única visita llevada a cabo en la semana 12 de gestación. Éste

es el método propuesto por la Fetal Medicine Foundation (FMF) y tiene como principal ventaja el poder realizar el cribado, informar del resultado y asesorar a la gestante en la misma visita.⁶²

Cribado combinado en dos tiempos: el CCPT en dos tiempos consiste en realizar la extracción de marcadores bioquímicos entre las 8-13 semanas y la evaluación de la TN entre las 11-13+6 semanas. Esta segunda estrategia presenta un mayor rendimiento que la anterior, al mantener una adecuada sensibilidad aumentando la cobertura a cifras superiores al 90%.⁶³

Sin embargo, una buena técnica de cribado poblacional no solo debe presentar un alto rendimiento (elevada sensibilidad y baja tasa de falsos positivos) si no que debe lograr aplicarse al menos al 80% de la población diana. La importancia de la cobertura recae en la repercusión que esto va a tener sobre la tasa diagnóstica, ya que si se cuenta con un método de cribado muy sensible pero que solo logra aplicarse a un porcentaje bajo de la población, el número real de casos patológicos identificados será bajo.⁵⁵

Existen estudios que reflejan la dificultad de llegar a una cobertura mayor del 70-80% con el CCPT, Es por esto que se recomienda la implementación del test en dos tiempos frente al método OSCAR. Además, con el objetivo de mantener una alta cobertura, en la actualidad se propone el cribado del segundo trimestre (test cuádruple) como técnica de rescate, al lograr este una cobertura por encima del 75%.⁵⁵

El objetivo de la realización del CCPT es el cálculo de un riesgo paciente-específico para cada gestante. Esto se logra combinando el riesgo previo (riesgo a priori) de cada gestante con la razón de probabilidad (Likelihood ratio) de los diferentes marcadores incluidos en el cribado: riesgo individual = riesgo a priori x LR marcador aplicado. El modelo matemático está basado en el teorema de Bayes y para el cálculo del riesgo individual requiere conocer la prevalencia de la enfermedad en la población a la que pertenece la paciente.⁵⁵

Antes de ser utilizadas, las mediciones de los marcadores deben:⁵⁵

- Ser estandarizadas o convertidas a MoM (medida obtenida/mediana de los valores) de manera que los valores obtenidos a partir de diferentes técnicas puedan ser comparados. En este momento es en el que se deben aplicar factores de corrección que puedan influir en los valores de cada marcador (peso materno, etnia, hábito tabáquico, DM insulino dependiente, método de concepción y número de fetos).
- Ser convertidas en logaritmo base 10, para lograr una distribución gaussiana.
- Deben ser truncadas o delimitados los valores extremos.

Existen diferentes modelos de software (FMF, Cuckle, Wald SURUSS, Fetaltest) que emplean algoritmos matemáticos para el cálculo del riesgo del síndrome de Down.³

Teniendo implementado de forma adecuada un test combinado como método de cribado de cromosopatías, nuestro objetivo debe ser mejorar sus resultados. Esto se puede

lograr de dos formas: incrementando su tasa de detección, mejorando su sensibilidad; o disminuyendo la tasa de falsos positivos, y así someter a menos gestantes a una técnica invasiva. Existen diferentes fórmulas propuestas y diferentes autores que las promocionan (Tabla 8).^{67, 68, 69,70,71,72,73,74}

- *Modelo integrado.* La idea de combinar marcadores usados en el primer y segundo trimestre se propuso en 1999 bajo el nombre de “test integrado” e incluye la edad materna junto con la medición de la TN y determinación de PAPP-A, del primer trimestre, y las determinaciones serológicas de AFP, hCG, estriol no conjugado e inhibina A del segundo. Una de las principales críticas a este modelo de cribado es que el resultado sólo se obtiene al finalizar la integración del test y por tanto se informa a la gestante del riesgo de aneuploidía en el segundo trimestre; lo que produce mucha ansiedad materna.
- *Modelo secuencial.* En esta modalidad de cribado, se realiza de forma universal un test determinado (test combinado), y a todos los casos que resulten negativos, se les aplica un segundo test. Al aplicar este modelo, se debe tener en cuenta que tras la realización del test combinado en primer trimestre se habrán identificado más del 80% de las T-21, y por tanto el test que se aplique al pool restante debe ir dirigido a la identificación del 20% de los casos de cromosomopatía.
- *Modelo contingente.* La metodología contingente consiste en la clasificación tras un primer test (test combinado) en tres grupos de riesgo, y ofrecer un segundo test al grupo de riesgo intermedio. Son muchos los autores que presentan estudios con la aplicación de diferentes marcadores basándose en la metodología contingente.

TEST	DESCRIPCION	AUTORES	SENSIBILIDAD T-21
INTEGRADO	Asociación de marcadores del 1^{er} y 2^o trimestre, Se le realiza a todas las gestantes y no se les da el resultado hasta finalizar la integración de los datos,		
Test Integrado	EM, PAPP-A, TN (1T) y cuádruple test	Wald 1999	90-94% (TFP 5%)
Test Integrado serológico	EM, PAPP-A (1T) y cuádruple test	Palomaki 2006	85-90% (TFP 5%)
Test Combinado Ampliado	TC + marcadores ecográficos del 1T (HN,DV,RT) + Frecuencia Cardíaca	Santorium 2017	90% (TFP 4%)
SECUENCIAL	Se aplica un primer test (Test Combinado) y sobre el total de los casos negativos, se les aplica un segundo método de cribado,	Rozeberg 2006 Warsz 2007 Benn 2002, 2008 Krantz 2007 Aagaard-Tillery 2009 Benacerraf 2010 Sainz 2012	93-97% (TFP 5%)
CONTINGENTE	Se realiza un primer test (Test Combinado, TC), identificación de un grupo de riesgo intermedio al que se aplica un segundo método de cribado,		
	TC+ marcadores ecográficos del 1T (HN, DV, RT)	Nicolaides 2005 Kagan 2009 Sahota 2010 Borell 2011	91,7-94, 2% (TFP 2,7%) 96% (TFP 3%) 84, 4-87, 5% (TFP 5%) 75-79% (TFP 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 + cf-DNA (1/2500)	Gil 2016	97,5% (TFP 3,3%)
	TC + marcadores ecográficos del 1T (HN,DV,RT) + cf-DNA	Neocleous 2017	94,2 (TFP 1,2%)

Tabla 8. Modelos propuestos para mejorar el cribado de Trisomía 21 y algunos de los autores que los han presentado, ^{3, 64, 65, 66, 67}

.68 .69.70, 71

1.3.2.5. NUEVOS METODOS DE CRIBADO.

La secuenciación completa del genoma humano en 2001 y el gran avance técnico de los últimos años ha supuesto una revolución en este ámbito. Uno de los mayores avances en este campo es el test basado en DNA libre circulante materno (DNA-1c) para el cribado de aneuploidías, también conocido como test prenatal no invasivo (TPNI). Está disponible en el mercado desde 2011, lo describiremos detalladamente a lo largo del siguiente capítulo.¹⁰

El análisis de DNA-libre circulante tiene sensibilidad muy alta (99%) y una tasa de falsos positivos muy baja (0,1%) para el cribado de la trisomía 21 (síndrome de Down, T21). Para conseguir esto, hemos centrado los esfuerzos del cribado combinado del primer trimestre.¹¹

Una limitación del TPNI como ocurre con cualquier método de cribado, es la posibilidad de que éste no sea capaz de proporcionar un resultado (tasa de no resultados). Las razones para que esto ocurra son fundamentalmente tres: problemas en la toma de la muestra, su transporte al laboratorio, baja fracción fetal o error en el procesamiento o el análisis en el laboratorio a cualquier nivel (extracción de DNA de la muestra, amplificación, secuenciación y análisis del mismo). En un 1-5% de las gestaciones únicas, TPNI no da ningún resultado después del análisis de una primera muestra. Tras repetir la toma, se obtienen resultados en alrededor de un 50% de los casos si la razón por la que la primera muestra falló fue por baja fracción fetal, en un 75% si lo que ocurrió fue un fallo en el ensayo o en el 100% de los casos si fue debido a un problema con la toma o el transporte de la muestra.^{72, 73, 74}

Si bien en los primeros años el análisis de DNA libre circulante estaba limitado a algunos laboratorios en EEUU y China, las nuevas plataformas para el análisis, más sencillas y coste efectivas han permitido no solo la expansión regional de los laboratorios sino del test en sí mismo, siendo cada vez mayor el número de gestantes que optan por él.^{75, 76, 77}

En la actualidad el test prenatal no invasivo (TPNI) presenta los mejores resultados como método de cribado de T-21 (sensibilidad >99%, TFP <0,1%). Sin embargo, la sustitución del cribado combinado de primer trimestre por este método no está justificado por costos y por otros beneficios que presenta el hecho de realizar una ecografía de forma precoz (detección precoz de malformaciones fetales, diagnóstico de gestación gemelar y corionicidad y predicción precoz de complicaciones gestacionales y posible prevención). Por todo esto se comienza a introducir el TPNI como método de cribado de forma contingente.^{75, 76, 77}

1.4. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO DE CROMOSOMOPATÍAS.

1.4.1. INTRODUCCION.

La confirmación o exclusión con certeza de una anomalía cromosómica, pasa ineludiblemente por una técnica invasiva que permita la obtención de material biológico sobre el que realizar el estudio genético.⁷⁵

En cuanto a la amniocentesis, la precisión diagnóstica está por encima del 99%. Son raros los fracasos de cultivo (<1%). Proporciona cariotipos de más fácil interpretación y la tasa de mosaicismos es menor que para la biopsia de vellosidades coriales (BVC). Además es útil para el diagnóstico de un espectro más amplio de enfermedades fetales.⁸²

La biopsia corial sería el método de elección tras un cribado de alto riesgo en el primer trimestre. Permite estudios citogenéticos, moleculares y bioquímicos y es superior a la amniocentesis para el análisis de DNA y estudios bioquímicos; proporciona un resultado válido en el 99% de los casos aunque en un 1% es preciso recurrir a la realización de otra técnica invasiva (amniocentesis) debido a contaminación materna, fracaso del cultivo o por tener resultados citogenéticos ambiguos debido a la existencia de un mosaicismo confinado a la placenta. En cualquier caso, cuando se diagnostique un mosaicismo debe ofrecerse una amniocentesis.^{76,77,78}

1.4.2. TIPOS DE PRUEBAS GENÉTICAS.

El cariotipo puede ser analizado mediante un cultivo de las células obtenidas, Si se extraen del líquido amniótico o de las células del mesénquima placentario en metafase mediante biopsia de vellosidades coriales o amniocentesis, el resultado está disponible en dos semanas. Sin embargo, si se analizan linfocitos fetales por cordocentesis, obtenemos resultados en 2-5 días. El análisis directo del citotrofoblasto puede realizarse mediante BVC, estando disponible el resultado de 5-17 días.⁷⁹

Las pruebas rápidas son la QF-PCR, FISH y microarrays. Pueden obtenerse mediante BVC o amniocentesis, para analizar cromosomas específicos como el 21, 13, 18, X, Y. Los resultados están disponibles en 1-2 días. Suelen hacerse ante una prueba de cribado positiva o con hallazgos en ecografía.⁸⁶

En algunos centros, el uso de QF-PCR ha reemplazado el cariotipo completo. Sin embargo, ha sido descrito algún caso de falso positivo/falso negativo en las pruebas rápidas. Para el diagnóstico molecular de desbalances cromosómicos, las técnicas de microarrays

(como el array de hibridación genómica comparativa o a CGH) permiten detectar deleciones submicroscópicas.⁸⁶

Los microarrays pueden detectar aberraciones clínicas relevantes en 6% de los fetos con cariotipo normal y defectos estructurales y en 1,7% de aquellos con un cribado combinado de primer trimestre positivo.⁸⁰ En fetos con TN aumentada o con anomalías cardíacas detectadas ecográficamente, hay estudios que revelan un rendimiento diagnóstico entre el 5 y el 7% mediante a CGH.⁸¹

Los procedimientos invasivos pueden ser usados para el diagnóstico de enfermedades monogénicas cuyo defecto molecular sea bien conocido o haya sido caracterizado previamente.⁸⁴

1.4.3. COMPLICACIONES ASOCIADAS A LAS TÉCNICAS INVASIVAS.

El principal riesgo es la pérdida gestacional. En cuanto a la amniocentesis, una revisión que incluye 147.987 procedimientos invasivos, reveló una tasa de pérdida gestacional de 0,56% a los 28 días.⁸²

Relativo a la biopsia de vellosidades coriales, no hay ensayos clínicos aleatorizados que nos aporten tasas de pérdidas fetales después de la realización de la misma comparado con la no realización, pero ensayos observacionales indican que puede ser baja, en un rango entre 0,2 a 2%.⁷⁸

Sin embargo, de acuerdo a un metanálisis reciente la tasa de pérdida fetal posterior a la biopsia de vellosidades coriales no parece incrementarse significativamente en comparación con la población no expuesta (riesgo agrupado < 24 semanas (0,22%).⁸⁹

En segundo lugar hay que tener en cuenta la morbilidad propia de estos procedimientos, como son: el escape de líquido amniótico en la amniocentesis, que varía entre el 1 y el 2% según la serie consultada, y la corioamnionitis, con un riesgo menor del 0,1 también en amniocentesis.⁸² Los daños por aguja son raros, pero han sido descritos traumatismos oculares, daños en la piel y tendones e incluso daños en sistema nervioso central (porencefalia).⁸³ También ha sido descrito el sangrado vaginal después de la realización de la biopsia corial transcervical.^{84,85}

En tercer lugar, éstas maniobras invasivas están asociadas a cierto grado de dolor durante el procedimiento. Un metanálisis de Cochrane agrupó los resultados de cinco ensayos clínicos aleatorizados evaluando diferentes métodos de analgesia para amniocentesis, y por tanto, evaluando indirectamente el dolor asociado a la prueba. Este concluyó que, en general, solo hay un dolor mínimo durante la amniocentesis, por lo tanto no hay evidencia para utilizar

analgésicos. Hasta la fecha, no han sido publicados ensayos aleatorizados que describan los métodos analgésicos y el dolor asociado a la biopsia de vellosidades coriales.⁸⁶

En cuarto lugar, hemos de tener presente la ansiedad materna asociada a técnicas invasivas, al asumir la posibilidad de todo lo referido anteriormente. Por ello, la disminución de la tasa de técnicas invasivas reduce en nuestra población el riesgo de pérdidas gestacionales y de las complicaciones asociadas.

1.5. TEST PRENATAL NO INVASIVO.

1.5.1. CONCEPTOS GENERALES.

Desde hace más de medio siglo, disponemos de métodos para diagnosticar de forma prenatal cromosomopatías y enfermedades mendelianas. Sin embargo, la única manera de obtener células fetales era a través de métodos invasivos.⁸⁷ La aplicación de estos procedimientos implica riesgo de aborto, son caros y requieren personal entrenado, por todo ello no pueden ser ofertados al 100% de la población. Los métodos de detección de aneuploidías y otras anomalías genéticas han avanzado significativamente en las últimas décadas.⁸⁸

El reto es encontrar células fetales que permitan el análisis de las patologías de la forma menos complicada posible con resultados óptimos. La obtención de DNA fetal libre circulante en sangre materna también recibe el nombre de “Test prenatal no invasivo” o sus siglas en inglés NIPT (non invasive prenatal test). Sin embargo, ésta terminología es confusa, puesto que el test convencional en suero materno que forma parte del cribado combinado del primer trimestre es también una prueba no invasiva.^{89,90}

El grupo de Lo publica en 1997 el hallazgo de DNA libre de procedente del feto circulando en la sangre de gestantes. Se trata de cadenas de DNA no contenidas en el núcleo celular, si no que se hallaban “libres” en el torrente circulatorio, Anteriormente a éste hallazgo, disponíamos de datos que sugerían la presencia de éstas células de origen fetal circulando en la sangre de la madre, pero los estudios estaban muy limitados debido a que las cantidades eran muy pequeñas.¹⁰

1.5.1.1. DNA FETAL LIBRE CIRCULANTE: ORIGEN.

Aunque nos referimos a él como DNA fetal libre circulante, el origen de éste, se encuentra en la placenta, concretamente en el sincitiotrofoblasto. En la mayoría de los casos, el feto y la placenta tienen la misma genética, pero entre el 1-2% hallamos mosaicismos confinados a la placenta, normalmente triploidías.⁹¹

Inicialmente, se pensó que el origen de este DNA fetal eran las células hematopoyéticas fetales, sin embargo, éste origen se consideró poco probable tras un trabajo publicado por el grupo de Zhong, donde se observó que en pacientes donde los niveles de DNA fetal eran altos, no se relacionaban con un incremento en el número de hematíes. Esto fue confirmado por el grupo de Angert, demostrando que tras la realización de una flebotomía no aumentaba la cantidad de DNA fetal libre circulante.⁹²

La evidencia actual nos confirma el origen placentario del DNA fetal libre circulante.⁹³ El tejido placentario presenta un patrón de metilación diferente al de las células sanguíneas

maternas.⁹⁴ Se observó en un estudio que los niveles de DNA fetal libre circulante eran similares en gestaciones anembrionadas y en gestaciones normales, apoyando la hipótesis de que el trofoblasto es la principal fuente de producción.⁹⁵

Otros estudios han demostrado la relación entre el nivel de DNA y la edad gestacional, apoyando así nuevamente la hipótesis del trofoblasto como origen.^{96, 97}

Por otra parte, los niveles de DNA fetal libre circulante en sangre materna son indetectables 24 horas tras el parto, aunque las células fetales pueden persistir más tiempo.^{98, 99}

Otro posible origen del DNA fetal es la apoptosis de los eritroblastos fetales, que pueden cruzar la placenta y entrar en el torrente sanguíneo materno, aunque se presenta en cantidades mucho menores.

Dado que el feto y la placenta se originan de un único cigoto o célula huevo producto de la unión del óvulo con el espermatozoide, tienen una carga genética idéntica en la mayoría de los casos. Sin embargo, las discordancias genéticas entre la placenta y el feto son una fuente importante de fallo en los resultados de los test no invasivos basados en DNA fetal libre circulante, como veremos más adelante.¹⁰⁰

1.5.1.2. CONCEPTO DE FRACCIÓN FETAL.

La fracción fetal refleja el porcentaje de DNA libre circulante que es de origen fetal sobre el total que existe en la muestra materna. La concentración relativa de DNA se incrementa 0,1 % por semana de gestación (semanas de 10 a 20) y a partir de la semana 20 se incrementa rápidamente (alrededor de un 1% por semana) hasta llegar a término. Puesto que las condiciones que estamos estudiando son fetales y no maternas, cuanto mayor sea este porcentaje, más precisos serán los resultados y cuando éste caiga por debajo de cierto nivel (habitualmente cuando es menor del 3-4%) las diferencias serán tan sutiles que resulte imposible emitir un resultado fiable.¹⁰¹

En éste estudio de 1998, la fracción de DNA fetal libre circulante estaba entre el 3 y el 6%, en función de la edad gestacional.¹⁰² Estudios recientes muestran aún más variabilidad en función de la edad gestacional y además una fracción aislada en general más alta. El grupo de Dar informó de una fracción fetal de un 10,2%, que variaba en un rango del 0,6% al 50% en una serie que recogía un amplio número de pacientes.¹⁰³

Hay dos maneras principales de distinguir el DNA fetal libre circulante “fetal” (cuyo origen es el sincitiotrofoblasto) y aquellas moléculas de DNA libre circulante que procedan de la madre. Hasta ahora hemos podido diferenciarlos por el tamaño y por sus diferentes patrones de metilación.

Tamaño. El DNA libre circulante de origen fetal es de menor tamaño que el procedente de la madre (unas 300 pares de bases, mientras que el materno está formado por unos 500 pares de bases). Ésta diferencia ha sido atribuída a los diferentes mecanismos de apoptosis entre el sincitiotrofoblasto y las células maternas. Hay otro aspecto importante a la hora de distinguirlo del DNA libre circulante de origen materno, y es la forma en la que el DNA se pliega alrededor de las proteínas llamadas histonas, para formar los nucleosomas (patrones de metilación). Éstos patrones son diferentes entre el DNA que procede de la madre y aquel que procede del feto. Algunos laboratorios sugieren que enriquecer los fragmentos de DNA usando gel (gel-size fractionation) o llevar a cabo una amplificación del genoma completo (whole-genome amplification) para los fragmentos de menor tamaño. Una estrategia alternativa, desarrollada por el laboratorio de Denis Lo en Hong Kong fue usar espectrometría de masas mediante ionización láser (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry) para detectar las mutaciones fetales puntuales. Otra estrategia fue decrecer la fracción materna añadiendo formaldehído que estabilizase las células maternas impidiendo el lanzamiento de este material genético al torrente sanguíneo.¹⁰²

Diferentes patrones de metilación. El grupo de Papagergiou intentó usar diferentes técnicas de inmunoprecipitación sobre el DNA fetal hipermetilado.¹⁰⁴ El grupo de Chim investigó marcadores en el cromosoma 21 que podría marcar diferencias, encontrando 19 marcadores con diferencias en cuanto a patrones de metilación entre el DNA fetal y el materno. Comparar la relativa representación de los haplotipos fetales y maternos puede

usarse para calcular la fracción fetal. Los diferentes patrones de metilación se usan únicamente en el ámbito de la investigación, siendo la separación por tamaño, el método utilizado de forma habitual.^{105, 106, 107}

Es necesario tener una adecuada representación fracción fetal para obtener un resultado fiable. Varios factores se asocian a un informe de “no resultado” o bien a falsos negativos. Una fracción fetal baja puede estar causada por:

Edad gestacional. Éste es el factor más significativo. Con 9 semanas la fracción fetal varía de un 8 a un 10%, habiendo un modesto incremento del 0,6% por semana desde la semana 21. Por ello, la mayoría de los laboratorios requieren edades gestacionales con encima de 10 semanas para asegurarnos un resultado adecuado. El DNA fetal libre circulante supone al menos un 13% del total del DNA libre que halamos en sangre materna (durante el segundo trimestre y finales del primero).^{108,109} A término, este porcentaje llega hasta un 50% del total del DNA libre circulante.¹¹⁰

Dilución del DNA aislado en la muestra. Puede ocurrir debido a que los glóbulos blancos maternos degradados diluyan el DNA aislado en la muestra. Como solución, la muestra se procesa en un tubo standard morado, se centrifuga durante 6 horas manteniéndose a -80° centígrados. Otra opción es la utilización de tubos especiales para muestras de DNA, ya que permiten mantener las muestras estables por cinco días a temperatura ambiente, con lo cual no necesitan ser refrigerados. Por otra parte, es lógico afirmar que si la muestra en sangre es escasa (por ejemplo tubos llenos hacia la mitad), la muestra ha de ser devuelta para ser repetida, ya que puede influir en los resultados.¹⁰⁵

Peso materno. Hay una correlación inversa entre el peso materno y la fracción fetal, de manera que por cada 4,5 kg de peso hace que la fracción fetal disminuya un 0,5% (en rangos de peso materno entre 36,5 y 91 kg). Si el peso materno supera los 91 kg, la fracción fetal desciende un 0,3% or cada 4,5 kg. Esto se explicaría debido al efecto dilucional causado por el volumen de sangre, o bien porque los adipocitos maternos liberan DNA libre circulante (materno, pero aumenta la fracción de DNA libre) mediante mecanismos apoptóticos. Debido a ello, las mujeres con más de 81 kg de peso deben ser informadas de que la posibilidad de un resultado no adecuado o fallido aumenta cuatro veces en relación a una gestante con un peso menor. Los diferentes laboratorios no ofrecen la fracción fetal ajustada al peso materno, a diferencia del cribado bioquímico en sangre.¹¹¹

Raza. Se encontraron fracciones fetales aún menores en mujeres de origen Afro-Caribeño.¹¹⁷

Cariotipo fetal. La fracción fetal (semanas 10-20) es más baja en fetos con trisomía 18 (fracción fetal de un 9%) que en fetos euploides (fracción fetal de un 13%). En fetos con trisomía 21, la fracción fetal es en cambio más alta (15%). Éste hecho no explica por qué las

tasas de detección son más altas en la trisomía 21 que en la 18. No hay suficientes datos de otras cromosomopatías, pero hay indicios de que en las trisomía 13 y en la monosomía X también hallamos fracciones fetales bajas. En otros estudios, se ha observado un descenso de la misma en caso de trisomía 13 (0,741 MoM), y para trisomía 18 (0,919 MoM). En caso de monosomía X, desciende (0,84 MoM).¹¹² Sin embargo, en caso de trisomía 21 la fracción fetal experimenta un aumento, concretamente de (1,045 MoM). El grupo de Palomaki observó indicios similares para trisomía 21 y 18. La fracción fetal media en el síndrome de Down es como media, un 17% más alta que en gestaciones euploides y la media en trisomías 18 es un 29% más baja.¹¹³ Después del parto, la mitad el DNA libre desaparece del torrente circulatorio en una hora, para eliminarse por completo entre 24 y 48 horas.^{114, 115} En base a la evidencia científica actual, no es posible ofrecer una explicación a la alta variabilidad entre estudios en relación a la tasa de fallo ni se puede establecer una relación entre una mayor o menor tasa de fallo y el método de análisis empleado. Aunque oscila entre el 0% y el 12%, podemos concluir que el porcentaje de muestras sin resultado tras repetir una vez el test es globalmente del 1-2%.¹¹ Por otro lado, los estudios que reportan la tasa de no resultado independiente para las trisomías 21,18 y 13 de las aneuploidías de los cromosomas sexuales sugieren que el porcentaje de test sin resultado es significativamente mayor cuando se analizan las últimas que cuando se analizan las primeras. Por todos estos motivos, no solo es recomendable la medición sistemática de la fracción fetal en todas las muestras, sino que ésta sea tenida en cuenta a la hora de emitir un resultado y que sea reportada en el informe para su correcta interpretación por el clínico.¹¹⁶

1.5.2. APLICACIONES DE USO.

El DNA fetal libre circulante en sangre materna como test prenatal es una prueba segura y rápida, dónde únicamente se necesita una muestra de sangre de la madre, con lo cual su característica principal es que se trata de un test prenatal no invasivo.¹¹⁷ No sólo se reveló como un método útil para el diagnóstico de aneuploidías, sino que además también permitía la identificación del sexo, el grupo sanguíneo, y la detección de desórdenes monogénicos.²⁴ Los métodos tradicionales de test prenatales para alteraciones monogénicas usan métodos invasivos, por lo tanto siempre hay un riesgo de producirse aborto. Es éste riesgo lo que hace que muchas parejas se decanten por un método de diagnóstico no invasivo, cobrando el asesoramiento genético prenatal más importancia que nunca.¹¹⁸

El propósito es confirmar la presencia o ausencia de una región genómica específica en el feto que sea útil para el diagnóstico de enfermedades o de condiciones clínicas con un fin determinado.¹¹⁹

- En madres RH negativas, identificar aquellos fetos con riesgo de presentar enfermedades derivadas de fenómenos de hemólisis en el feto, detectando la presencia de anticuerpos anti D (RH) en el plasma materno.

- Detectar fetos con riesgo de presentar alguna anomalía ligada al sexo, usando marcadores para el cromosoma Y.
- Gestaciones con riesgo de presentar alteraciones “de novo”, dominantes o recesivas (debido a antecedentes familiares o a hallazgos en la exploración ecográfica).

1.5.2.1. DETERMINACIÓN PRENATAL DEL ESTATUS RH.

La enfermedad de Rhesus o la anemia hemolítica del recién nacido (hemolytic disease of the fetus and newborn) o HDFN ocurre cuando los anticuerpos maternos contra los glóbulos rojos fetales cruzan la placenta causando la destrucción inmunológica de los glóbulos rojos fetales o las células precursoras eritroides. El antígeno RHd es el que está presente en la mayoría de los casos y en el que más fácilmente podemos prevenir la inmunización, siendo hoy en día una práctica rutinaria administrar inmunoglobulina antiD a aquellas madres que presentan RHd negativo tanto de forma antenatal como después del parto. Sin embargo, sólo un 60% de estas mujeres presentan un recién nacido con RHd positivo, el otro 40% restante no poseen riesgo de inmunización, ya que el recién nacido es RHd negativo. Esto implica que muchas mujeres son expuestas a inmunoglobulinas innecesariamente, el estatus RHd en fetos de madres RHd negativas puede ser determinado mediante q-PCR para detectar la presencia o ausencia de RHd en DNA fetal libre circulante en plasma materno. Inicialmente, ésta tecnología fue aplicada en mujeres con riesgo de HDFN donde la identificación temprana del estatus RHd del feto permitió a éstas mujeres evitar en muchos casos la exposición innecesaria a inmunoglobulinas, derivados sanguíneos, ansiedad y eliminando además las exploraciones minuciosas y repetidas destinadas a explorar signos de anemia fetal. Sin embargo, actualmente sólo se está usando para estratificar el riesgo a la hora de administrar la inmunoglobulina a las gestantes, implementándose en la semana 28, donde la administración de inmunoglobulina anti-D se reserva únicamente para gestantes RHd negativas.^{120, 121} Un estudio de Reino Unido ha demostrado que los resultados del test están muy asociados con las semanas de gestación, siendo la sensibilidad diferente en función de cada edad gestacional (tabla 9):¹³⁰

96,9%	<11 semanas
99,8%	11-13 semanas
99,7%	14-17 semanas
99,8%	18-23 semanas
100%	>23 semanas

Tabla 9. Sensibilidad del test prenatal no invasivo y semanas de gestación.¹²²

La introducción de los test de rutina antes de la semana 28 puede ser beneficiosa para el tratamiento de inmunoglobulina antiD desde la semana 12 hasta la aparición de algún fenómeno potencialmente sensibilizante.¹²⁹

1.5.2.2. DETERMINACIÓN PRENATAL DEL SEXO FETAL.

Está indicada la determinación prenatal del sexo en pacientes con riesgo de enfermedades que afecten a los cromosomas sexuales, puede eliminarnos la necesidad de pruebas invasivas. También resulta de utilidad en gestaciones con riesgo de hiperplasia adrenal, para administrar dexametasona a las gestantes reduciendo el riesgo de virilización de los genitales externos en fetos femeninos.^{123,124,125} Los ultrasonidos han sido el método clásico para la determinación del sexo fetal, con visualización de genitales normales en el 99% de los casos.¹²⁶ La ecografía realizada entre las 12 y las 14 semanas es un método desarrollado pero normalmente ha de realizarse en centros especializados.^{127,128}

Con lo cual, el beneficio de un test no invasivo para la determinación del sexo fetal comparado con la ecografía tradicional es la disponibilidad de resultados sobre la semana 7 de gestación, con una tasa del 99% de diagnóstico correcto si es realizado después de la semana 7. También es útil en aquellos casos con hiperplasia adrenal donde los genitales externos sean anómalos, no siendo por tanto la ecografía la técnica correcta para su identificación.^{129,130,131 132}

El test prenatal no invasivo ha supuesto beneficioso económicamente en Reino Unido cuando se dirigen a determinadas enfermedades como la distrofia muscular de Duchenne o bien otras distrofias musculares donde una técnica invasiva era requerida, Sin embargo, éste balance coste- beneficios puede no ser extrapolable a otros países-sociedades.¹³³

1.5.2.3. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO DE ENFERMEDADES MONOGÉNICAS.

En la actualidad ya existen casos en los que se ha diagnosticado con éxito enfermedades monogénicas (por ejemplo fibrosis quística, acondroplasia o displasia tanatofórica) mediante el análisis de DNA-libre circulante en sangre materna. En la Tabla 10 se recogen algunas de las enfermedades monogénicas susceptibles de diagnóstico prenatal no invasivo.¹³⁴

La técnica depende de las particularidades en el modo de transmisión de los genes para cada enfermedad, estructura de dichos genes, y en el caso de enfermedades recesivas, que los padres sean portadores de la misma mutación. En el caso de enfermedades de novo o herencia autosómica dominante, el test prenatal no invasivo es relativamente fácil, sin embargo es necesario determinar primero la presencia de mutación en el plasma materno.¹⁴¹

La primera enfermedad para la que fue aplicado fue la *acondroplasia*, lo más frecuente es que sea una mutación de novo y que se de en el tercer trimestre, cuando la longitud femoral cae por debajo del percentil normal.²⁴ Ésta enfermedad “de novo” está causada por la mutación en FGFR3 (c.1138G>A.p.Gly380Arg) en el 98% de los casos. Los primeros test fueron realizados mediante PCR-RED (polymerase chain reaction-restriction enzyme digest).

Sin embargo, se obtuvo una baja sensibilidad por la interpretación subjetiva de la imagen de la PCR. El desarrollo posterior de la tecnología nos permitió mejorar la sensibilidad.¹³⁵

La *displasia tanatofórica* está causada también por mutaciones en el gen FGFR3. Es una displasia esquelética mortal causada por al menos 13 mutaciones diferentes. Para el diagnóstico genético, es requerido un examen genético de la mutación específica. La PCR-RED y la d PCR tienen usos limitados. La PCR-RED está limitada en función de la disponibilidad de enzimas que reconocen la mutación y las dos requieren análisis individuales para cada una de ellas. El grupo de Chitty ha descrito el uso de NGS para 29 mutaciones en FGFR3 que causan acondroplasia y displasia tanatofórica. Gracias a ello, se realizaron las primeras “dianas” para mutaciones de FGFR3 amplificando las regiones de interés.¹⁵⁶

Gracias a éstas descripciones pueden ser identificadas más mutaciones de forma sencilla, como por ejemplo, los casos de sospecha ecográfica de *Síndrome de Apert*, causado por mutaciones en FGFR2. Éste matiz es importante, ya que la simplificación de la técnica nos da un diagnóstico más rápido, baza importante en diagnóstico prenatal. Sin embargo, no puede ser utilizado si la madre está afectada o es portadora de una mutación, debido a que el DNA fetal ha de poderse distinguir del DNA materno.¹⁵⁶

El test prenatal no invasivo para enfermedades dominantes causadas por repeticiones también ha sido descrito en algunos estudios.

La *distrofia miotónica* está causada por expansión del triplete CTG (50-4.000 repeticiones) en tres regiones de DMPK en el cromosoma 19.²⁴ En 2000, el grupo de Amicucci demostró que la detección en la expansión en ésta región de forma no invasiva en un feto varón que había heredado la mutación del padre. En el progenitor, se encontraron 70 repeticiones de CTG y después se confirmó con DNA fetal usando marcadores en el cromosoma Y. 150 repeticiones fueron detectadas en el plasma materno, confirmando la utilidad de éste método.²⁵

La *enfermedad de Huntintong* está causada por la repetición del triplete CAG en el exón 1 del gen HTT. Alelos de menos de 27 repeticiones de CAG se consideran normales, entre 27 y 35 repeticiones, de riesgo intermedio y más de 35 se consideran causa de enfermedad de Huntintong. Las repeticiones de rango intermedio son inestables y pueden repetirse generación tras generación. Principalmente se deben a transmisión paterna. El test prenatal no invasivo para enfermedad de Huntintong ha sido utilizado con un método semi-cuantitativo de PCR con fluorescencia en al menos 7 casos recogidos en la literatura, con diagnóstico correcto confirmado en 5 de ellos.²⁶

En un estudio más reciente, se recogieron parejas con expansiones en rango intermedio y fueron sometidos a pruebas invasivas de diagnóstico prenatal. Primero, se tomó una muestra de sangre antes del aplicar dicho test y se analizó usando PCR. Demostraron que se podían distinguir de la normalidad, individuos de rango intermedio e individuos afectados de la

enfermedad de Huntintong. Sin embargo, la utilización de éste test estaba restringido para parejas donde las diferencias de tamaño entre la expresión materna y paterna fuera suficiente. Es de ayuda tener perfiles de repetición de los padres como referencia, pero no siempre es posible.²⁶

Se puede obtener una secuencia diana para ser aplicada en gestaciones con riesgo de enfermedades autosómicas recesivas, donde se sabe que los padres son portadores de una enfermedad recesiva pero portan diferentes mutaciones. La exclusión del alelo mutante de los progenitores puede ser ampliado independientemente de que se trate de mutaciones de novo o transmitidas por herencia. Se ha descrito recientemente la introducción de pruebas no invasivas para el diagnóstico de la fibrosis quística. En concreto, 10 mutaciones de la misma en CFTR, con buena acogida por parte de los interesados en la práctica clínica, pues normalmente rechazaban el uso de pruebas invasivas. Éste test puede ser usado también en padres portadores de diferentes mutaciones en otras enfermedades con distintos rangos de expresión, como por ejemplo la poliquistosis renal.¹⁴⁰

Enfermedad	Gen	Número de casos
<i>Acondroplasia</i>	FGFR3	115
<i>Displasia tanatofórica</i>	FGFR3	71
<i>Síndrome de Alpert</i>	FGFR2	13
<i>Síndrome de Crouzon</i>	TRPV4	6
<i>Osteogenesis imperfecta</i>	COL1A1	3
	COL1A2	2
<i>Síndrome de Fraser</i>	FGFR3	2
<i>Fibrosis quística</i>	CFTR	7
<i>Esclerosis tuberosa</i>	TSC1	1
	TSC2	1
<i>Neurofibromatosis</i>	NF1	2

Tabla 10: Diagnóstico prenatal no invasivo de enfermedades monogénicas (Service Delivered by the North East Thames Regional Genetics Laboratory, Great Ormond Street Hospital).²⁸

Para enfermedades recesivas, donde los padres son portadores de la misma mutación, enfermedades ligadas a X o enfermedades dominantes cuyo progenitor portador o enfermo sea la madre, el diagnóstico es complicado porque necesitaríamos detectar el modo de transmisión del alelo materno, pues tendremos presente una gran cantidad de DNA libre circulante de origen materno. Un ejemplo sería la existencia de diferentes formas de test prenatal no invasivo, tanto técnicas como analíticas, para detectar mutaciones en el gen HBB, responsable de anemia falciforme y beta-talasemia. Éstas son condiciones recesivas, dos copias de mutaciones son requeridas para causar la enfermedad, una de cada progenitor. Cuando los padres portan la misma mutación, es necesario un planteamiento distinto, para ver si el feto es portador de la mutación materna, como el RMD o Relative Mutation Dosage. Aquí, la mutación de interés es detectada mediante dPCR, usando métodos de fluorescencia

para distinguir moléculas de DNA fetal libre circulante y diagnosticar la mutación en concreto.^{143,136,137}

No debemos olvidar que, además de caro, el análisis completo del genoma fetal en sangre materna no solo es extremadamente complejo desde un punto de vista técnico y únicamente se ha conseguido en algún caso aislado, sino que plantea muchas cuestiones éticas que están fuera del alcance de este capítulo.

1.5.2.4. SCREENING DE ANEUPLOIDIAS.

El uso del test prenatal no invasivo como método de screening de aneuploidías será desarrollado ampliamente a lo largo del siguiente capítulo.

1.5.3. TEST PRENATAL NO INVASIVO COMO MÉTODO DE CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS.

1.5.3.1. INTRODUCCIÓN.

El test prenatal no invasivo para el diagnóstico de aneuploidías mediante DNA fetal libre circulante en sangre materna está disponible a nivel comercial desde el año 2011. Tras la realización de numerosos estudios de validación a gran escala, ha incrementado su aplicación clínica de forma rápida.

1.5.3.2. APLICACIONES.

1.5.3.2.1. *ANEUPLOIDIAS AUTOSÓMICAS.*

Un gran número de estudios, analizando múltiples casos, ha demostrado que el análisis de DNA-libre circulante permite una estimación precisa del riesgo de que el feto esté afecto por una de las “trisomías clásicas” (trisomías 21, 18 y 13). Tabla 11.

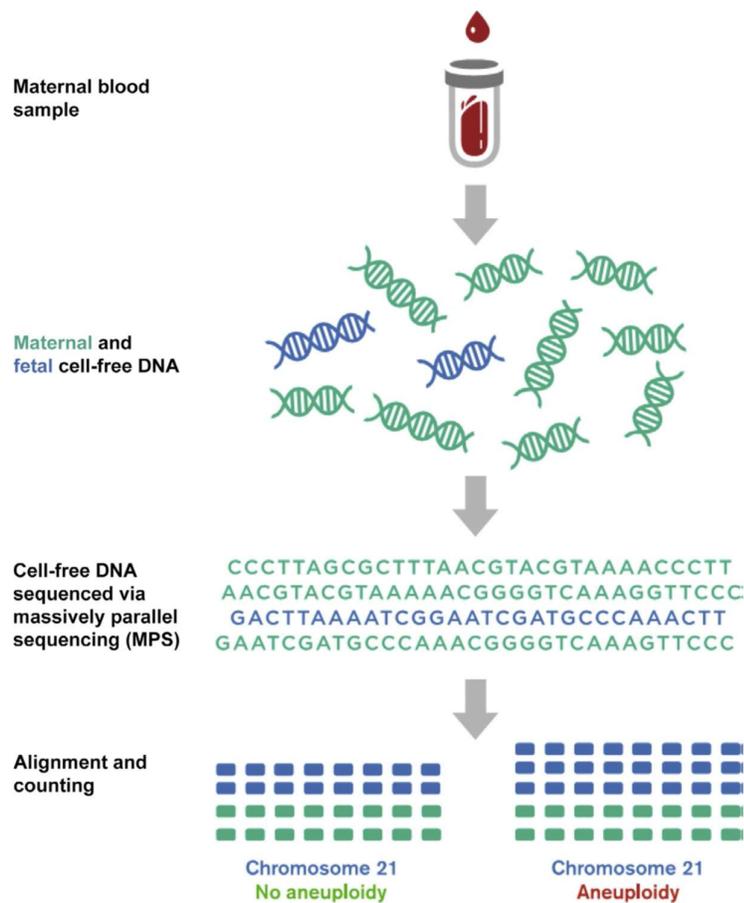
Condición	Casos (n)	TD (%)	TFP (%)
Trisomía 21	1.963	99,7	0,04
Trisomía 18	563	97,9	0,04
Trisomía 13	119	99,0	0,04
Monosomía X	36	95,8	0,14

Tabla 11. Número de casos estudiado, tasa de detección (TD) y tasa de falsos positivos (TFP) para cada tipo de cromosomopatía.¹¹

Por tanto está aceptado que estas condiciones se incluyan de rutina en el análisis. Sin embargo, la evidencia científica es mucho más limitada cuando se habla de otras condiciones como las aneuploidías de los cromosomas sexuales o los síndromes de microdelección.^{110, 138, 139}

Al igual que en otras situaciones, el diagnóstico de aneuploidías mediante DNA fetal libre circulante supone un reto en cuanto a la disponibilidad de DNA fetal libre circulante en el plasma materno. La detección de aneuploidías recae en la habilidad del sistema para detectar una sobrerrepresentación, relativamente pequeña, del cromosoma en cuestión (Figura 2).¹⁴⁷

Figura 2. Detección de aneuploidías por sobrerrepresentación de DNA fetal sobre el cromosoma de interés.¹⁴⁰



Ésta técnica se ha ido desarrollando rápidamente, con lo cual el test prenatal no invasivo está disponible de forma comercial en más de 60 países. A finales de 2014, el test fue aplicado en 800.000 gestantes, extendiéndose a las trisomías 18, 13 y aneuploidías de los cromosomas sexuales (al principio únicamente para trisomía 21). La tasa de detección del test para la trisomía 21 es del 99% y algo menos para 18 y 13, 96% y 92% respectivamente. El test prenatal no invasivo para detección de aneuploidías ha demostrado tener una alta sensibilidad tanto el pacientes de alto como de bajo riesgo.¹⁴¹

Las tasas de detección son altas. Los metanálisis han demostrado que para T21 la sensibilidad fue del 99,0% y la especificidad del 99,9% (1.051 afectadas y 21.608 no afectadas del total de los embarazos).¹⁴²

Para trisomía 18 la sensibilidad fue del 96,8% y la especificidad del 99,9% (389 afectados y 21.306 no afectadas del total de las gestaciones). Para trisomía 13 la sensibilidad fue de 92,1% y la especificidad fue del 99,8 % (139 afectadas y 18.059 no afectadas del total de las gestaciones). Los estudios iniciales de validación fueron realizados en gestaciones de alto riesgo (resultados de riesgo en cribado combinado de primer trimestre, hallazgos en ecografía o edad materna). Más recientemente se ha extendido su uso a la población general.^{143,144}

El test prenatal no invasivo requiere análisis de DNA fetal libre circulante procedente de la sangre materna, la fracción fetal como se ha desarrollado anteriormente, procede de la placenta. Aunque que la concordancia entre el test prenatal no invasivo y la prueba invasiva tradicional es alta, existen casos de falsos positivos o casos discordantes.^{147, 145, 146, 147, 148}

Estos casos corresponden a mosaicismos confinados a la placenta, esto cobra especial relevancia en T18 y T13, donde hay una línea sustancialmente euploide en el trofoblasto.¹⁴⁹ Esto puede derivar en resultados falsos positivos (células anormales de la placenta con feto normal) o falsos negativos (células anormales en el feto pero no en la placenta).^{115,150}

El hecho es que la mayoría del DNA fetal libre circulante es de origen materno, lo cual es otra causa de discordancia en los resultados, Otra consideración a tener en cuenta son los casos maternos de cáncer, La presencia de tumores (malignos o benignos) ha sido descrita como una rara etiología de discordancia de resultados, ya que aporta una línea de células anormales a la circulación materna.^{151,152,153}

El grupo de Osborne publicó un caso de doble aneuploidía en cromosomas 13 y 18, siendo la gestante portadora de un tumor maligno, posteriormente han sido descritas hasta ahora 40 mujeres con resultados sospechosos de malignidad, con 26 de ellos confirmados posteriormente al continuar las pruebas diagnósticas.^{151,154} En una serie de 125.426 muestras de gestantes, fueron hallazgos anormales (aneuploidías de los cromosomas 21, 13,18 y sexuales). En otra serie, fueron hallados 3.757 casos de resultados anómalos (un 3%). De éstos 3.757 casos, se identificaron 10 casos de cáncer materno.¹⁵⁵ Era más común el hallazgo

de cáncer en aquellos resultados de doble aneuploidía (7 casos en 39 de aneuploidía múltiple).

Cómo debemos manejar a éstas mujeres supone todo un reto. Probablemente haya más causas maternas de resultados discordantes, como la presencia de mosaicismos en las madres, particularmente en casos de cribados de aneuploidías sexuales.^{156,157,158}

Los falsos negativos tienen lugar cuando nos enfrentamos a una fracción fetal muy baja. Esto normalmente está asociado a obesidad o bien a la realización del test con una edad gestacional muy temprana.¹⁵⁹

Los resultados no concluyentes o fallidos suelen ocurrir en un 5%.¹⁵⁰ En la mayoría de los casos, son el resultado de una fracción fetal muy baja, sin embargo un estudio reciente muestra que la fracción fetal baja no es siempre la causa de falsos negativos.¹⁴⁷ Otras causas pueden ser errores técnicos en la determinación de resultados (sample collection, low library concentrations, and assay failures).¹⁵⁹

Hay una asociación entre fallos en el test prenatal no invasivo, la fracción fetal y la aparición de aneuploidías. En una cohorte 2.157 gestaciones, el grupo de Palomaki encontró 13 casos con una fracción fetal menor del 3%, lo que correspondería a resultado indeterminado.^{143,113,160} De esos 13 casos, hubo tres casos confirmados de trisomía 18 y tres triploidías fetales. Esto también está en la línea de la afirmación de que la fracción fetal es significativamente más alta en los casos de trisomía 21. Además, el grupo de Pergament aporta una tasa de 8,1% en una serie de 1.064 muestras de sangre de gestante, encontrando resultados fallidos y un número desproporcionado de casos de aneuploidías,¹⁶¹ El American College of Obstetricians and Gynecologists establece en su guía de práctica clínica que es necesaria la aplicación de un examen ecográfico y una prueba invasiva cuando nos hallamos ante resultados fallidos o inconclusos.¹⁶²

1.5.3.2.2. ANEUPLOIDIAS DE CROMOSOMAS SEXUALES.

Aunque varios estudios han reportado que es posible el estudio del DNA fetal-libre circulante materno para el diagnóstico de las aneuploidías de cromosomas sexuales, el número de casos estudiado fuera de los estudios de desarrollo de la técnica y los primeros estudios de casos y controles, es muy escaso. (Tabla 11) Sin embargo, el rendimiento del test es menor que para las aneuploidías de cromosomas sexuales que para las trisomías 21, 18 y 13 y segundo, que la tasa de “no resultado” del test es mayor.¹⁷⁰

Este rendimiento más pobre del cribado para el cromosoma X puede explicarse por diferentes razones:¹⁶³

- *Problemas técnicos.* En el cromosoma X existe una cantidad menor de guanina-citosina (GC) que puede suponer una amplificación muy variable de este cromosoma.
- *Alta incidencia de mosaicismos maternos y fetales.* En el caso de mosaicismo materno, puede ser simplemente debido a la pérdida fisiológica con la edad de un cromosoma X

en los glóbulos blancos de mujeres hasta entonces euploides, ²¹⁸ o un mosaico congénito habitualmente no conocido; ambos derivando en un resultado falso positivo. Además, no solo los mosaicos, sino que un cariotipo 47XXX materno no conocido, puede también producir un resultado falso positivo ya que hasta el 90% de estas mujeres desconocen su condición.

Por otro lado, un tercio de los casos de aneuploidías de cromosomas sexuales detectadas en el feto tras amniocentesis son en mosaico y, hasta el 50% de los casos si tenemos en cuenta aquellos mosaicos confinados a la placenta. ^{164,165} Por último, el cribado de aneuploidías sexuales puede presentar problemas en el asesoramiento a los padres, ya que su fenotipo y expresión pueden ser muy variables. Muchas de estas condiciones, especialmente aquellas que presentan un examen ecográfico rigurosamente normal, cursan sin ninguna alteración en el desarrollo físico ni intelectual y parte importante de las que sí lo presentan, lo hacen de manera muy leve. Por todos estos motivos, la mayoría de las sociedades científicas europeas no recomiendan el cribado de rutina de las aneuploidías de cromosomas sexuales mediante DNA-libre circulante en el momento actual. ^{166, 167}

1.5.3.2.3. SÍNDROMES DE MICRODELECCIÓN O MICRODUPLICACIÓN.

Las microdeleciones y microduplicaciones clínicamente relevantes ocurren en alrededor del 1-1,7% de todos los embarazos donde el feto aparece estructuralmente normal.

La incidencia de estos defectos cromosómicos no se relaciona con la edad materna. El panel expandido del test de DNA libre circulante habitualmente incluye el cribado de la delección 22q11,2 (síndrome de Di George), la delección del 1p36 y 15q11,2-q13 (asociadas con los síndromes de Prader-Willi y Angelmann), la delección del 5p (síndrome del Cri-du-Chat) y la delección del 4p (síndrome de Wolf- Hirschhorn). Sólo podemos detectar aquellos casos donde existen más de 3 Mb de pérdida de genoma (aproximadamente el 15% de los síndromes de microdelección 22q11,2, sirva como ejemplo, corresponden a < 3 Mb de pérdida).⁸¹.

Síndrome	Localización cromosómica	Prevalencia estimada	Tamaño delección (Mb)	Porcentaje con delección \geq 3 Mb
Di George o velocardiofacial	22q11,2	1:2.000 1:4.000	3 (delección común)	85 %
Monosomy 1p36	1p36	1:5.000 1:10.000	1,5 - 10,5	85 %
Angelman o Prader-Willi	15q11,2-q13	1:20.000	5 y 6 (delecciones comunes)	70 %
Cri-du-Chat	5p15	1:50.000	10-30	99 %

Tabla 12. Estimación de la prevalencia estimada en la población de diferentes microdeleciones y sus correspondientes casos detectables, ^{81,175}

Por tanto, del total de microdeleciones y microduplicaciones clínicamente relevantes detectables mediante tecnología array en tejido fetal, el test de DNA-libre circulante es potencialmente capaz de detectar solamente un 10%. Además, el número de casos estudiado es todavía muy pequeño, muchos de ellos de síntesis *in vitro*, y no permite evaluar con precisión el rendimiento del test para estas condiciones. Las tasas de detección oscilan entre el 60-99% con una TFP global de alrededor del 1% pero, dada su baja prevalencia el valor predictivo positivo del test para estas condiciones es muy bajo (alrededor del 5%).¹⁸⁰ De entre todas estas condiciones, sólo la microdelección 22q11 podría cumplir criterios para cribado prenatal, pues se trata de una condición relativamente común, con una incidencia más alta de lo que se creía previamente (hasta de 1 en 1.000 embarazos según las series) y su diagnóstico temprano podría mejorar el pronóstico. Tabla 12. Sin embargo, el rendimiento del test de DNA-libre circulante como método de cribado poblacional en gestaciones de bajo riesgo es actualmente desconocido y, ante hallazgos ecográficos sugestivos, la técnica de elección sigue siendo el estudio de tejido fetal obtenido tras procedimiento invasivo.¹⁸⁰

En resumen, con la evidencia científica disponible, no se puede recomendar el cribado de rutina de microdeleciones y microduplicaciones mediante análisis de DNA-libre circulante en el momento actual.

1.5.3.3. DESARROLLO TÉCNICO.

1.5.3.3.1. *CONCEPTOS GENERALES: INTRODUCCIÓN.*

Hasta el momento, en los principales estudios clínicos se han usado tres métodos para analizar el DNA fetal-libre circulante en sangre materna: la secuenciación masiva en paralelo (massively paralelo shogun sequencing o MPSS), la secuenciación cromosoma-específica (chromosome-selective sequence analysis o CSS) y el análisis basado en polimorfismos de un único nucleótido (single nucleótido polymorphism o SNP). La primera realiza un análisis de todo el genoma mientras que en las dos últimas éste es dirigido y limitado solo a los cromosomas de interés, como se refleja en las Tablas 13 y 14.^{215, 116, 174-177}

Test bioquímico en sangre materna (triple y cuádruple test)	
Bioquímica combinada y translucencia nucal	
DNA fetal libre circulante	SNP (polimorfismos de un solo nucleótido)
	MPSS (secuenciación masiva en paralelo)
	t-MPS (secuenciación masiva en paralelo dirigida a región cromosómica específica)
Métodos en investigación	Células del trofoblasto endocervical
	RNA fetal libre
	Diferenciación por patrones de metilación
	Células fetales en plasma materno

Tabla 13. Métodos para diagnóstico prenatal de aneuploidías. ^{168,169}

Método	Secuenciación U,G,	Microarray	qPCR	PCR
Test, compañía	Panorama (SNP), Natera, MaterniT21 (s), Sequenom, Verify (s), Verinata/Illumina, Veracity (d), NIPD, IONA (s), Premaitha, Tranquility (s), Genoma (CH), Trisonim (s), BGI, Neobona (b) (Synlab/Illumina),	Harmony, 2ª Generación, Ariosa/Roche	PraenaTest, 2ª Generación, LifeCodexx	Vanadis, Perkin, Elmer
Principio del test	MPS (shotgun o bidireccional) CSS (dirigido) SNP (dirigido)	Recuento DNA por microarray	Metilación-PCR	Rolling-cycle-PCR
Tiempo a resultados	4-10 días (s y d) 3-5 días (b)	4-6 días	2-3 días	3-4 días
Condiciones	T21, T18, T13 (todos) Microdeleciones si>3-7 Mb (s y t)	T21, T18, T13	T21 actualmente	T21 actualmente

Tabla 14. Visión general de los test disponibles de DNA-libre circulante. ¹⁸⁰

1.5.3.3.2. *PRINCIPALES MÉTODOS:*

Secuenciación Masiva en Paralelo (MPSS) y Secuenciación Cromosoma Específica (CSS).

Con las técnicas de MPSS y CSS se analizan varios millones de fragmentos de DNA libre circulante del plasma materno, tanto de origen materno, como fetal. A continuación, se establece el origen de cada fragmento y se cuantifica la cantidad de fragmentos de DNA que deriva de cada uno de los cromosomas. En las gestaciones con feto trisómico, el número de moléculas derivadas del cromosoma extra en proporción al resto de las moléculas secuenciadas (en general se usa el cromosoma 3 como referencia), es mayor que en gestaciones diploides. Se requiere un gran número de secuencias (profundidad de secuenciación o “cobertura”) y un gran esfuerzo bioinformático para examinar estos cambios numéricos que, en ocasiones, son ínfimos.

Secuenciación masiva en paralelo (MPSS) o Massive Parallel Shotgun Sequencing.

Con la MPSS se examinan las moléculas de todos los cromosomas, por lo que es potencialmente capaz de identificar todas las aneuploidías. Sin embargo, puesto que el cromosoma 21 representa únicamente el 1-2% del genoma humano, se necesita secuenciar muchos millones de moléculas del todo el genoma para asegurar un mínimo de cuentas de cromosoma 21 que permita diferenciar entre gestaciones con T21 y euploides. Este método tiene un alto rendimiento en el cribado de las trisomías 21, 18 y 13 y las aneuploidías de los cromosomas sexuales, con una tasa de fallo baja (<2%) pues no todos los laboratorios determinan sistemáticamente la fracción fetal.

Se amplifica y secuencia todo el DNA-libre circulante (fetal y materno) que ha sido aislado del plasma. El número de copias de cromosomas de origen fetal es determinada comparando el número de lecturas obtenidas de los cromosomas de interés (por ejemplo, cromosoma 21), con el número de lecturas obtenidas del cromosoma de referencia.^{110, 158, 170}
¹⁵⁴ Estas lecturas son procesadas para así excluir los datos de peor calidad y después etiquetar los cromosomas de origen de acuerdo con el genoma humano como referencia. La fracción de lecturas es proporcional al tamaño del cromosoma. Así, normalmente el 8,5% de todas las lecturas provienen del cromosoma 1, mientras que el 1,2% vienen del cromosoma 22.¹⁸⁸ La fracción de lecturas es también proporcional a las secuencias repetidas y al número de pares de bases tipo guanina y citosina (GC) presentes en cada cromosoma.¹⁸⁷

Cuanto más alta es la concentración de CG, mayor es la secuencia etiquetada, Como resultado, los conteos en los cromosomas de interés deben ser comparados con los cromosomas de referencia (disómicos).^{188, 111}

La ratio del número de lecturas que pertenecen al cromosoma 21 es calculada para cada muestra y comparada con el cromosoma de referencia, calculando su desviación standard. La fracción estandarizada de la representación genómica es expresada mediante Z-score, que representa el grado de normalización de los conteos del cromosoma de interés y cómo se

diferencian de los esperados si fuesen euploides. En presencia de trisomía, el riesgo se calcula basándose en el Z- score y en el riesgo a priori del paciente, sin embargo, la mayoría de los test comercializados proporcionan los resultados sólo basándose en términos de positivo o negativo, basándose en Z-scores que se diferencian o no de un límite predefinido.¹⁵⁸

El grupo de Benn demostró en otro estudio que los conteos esperados en fetos con trisomía 21 dependían de la fracción fetal y que la diferencia entre un feto trisómico y uno diploide era escasa. Por ejemplo, en un feto con una fracción fetal del 20%, este relativo exceso de fragmentos de DNA del cromosoma 21 se observaría de la siguiente forma: para trisomía 21 $(0,8 \times 2) + (0,2 \times 3) = 2,2$, comparándose con una situación de feto euploide: $(0,8 \times 2) + (0,2 \times 2) = 2$, se trata de un aumento de recuentos del cromosoma 21 de sólo un 10%, con lo cual son necesarias un número mayor de lecturas para detectar la trisomía. Si la ratio de lecturas originadas de los cromosomas de referencia como el 1 (disómicos) es mayor o menor que los predeterminados, se deduce la presencia de una trisomía o monosomía respectivamente.¹⁴⁹

A pesar de que los métodos de cribado de trisomía 21 y 18 mediante DNA fetal libre circulante aportan una sensibilidad mayor que el cribado mediante ecografía y cribado combinado tradicional, la sensibilidad para trisomía 13 y para aneuploidías del cromosoma X se ve reducida en comparación con lo anteriormente nombrado ya que varía el método de amplificación. El cromosoma 13 tiene una carga menor de GC que el cromosoma 21. Como resultado, la medida de la representación genómica del cromosoma 13 es menos precisa que para el cromosoma 21. La detección de trisomía 13 necesita una corrección cuantitativa del contenido de G, lo cual explica el escaso desarrollo del método para trisomía 13.²⁴⁰

Algunos algoritmos adicionales han sido propuestos para detectar el exceso de conteos de cada lectura. El grupo de Sehnert sugiere que el método NCV (valor normalizado de los cromosomas o normalized chromosome value).¹⁷¹ El grupo de Yeang ha desarrollado otro algoritmo usando conteos de lectura de los 22 cromosomas. Los diferentes algoritmos (Z-score, NCV y el de los conteos de los 22 cromosomas) muestran una eficiencia similar.¹⁷²

El desarrollo del DNA fetal libre circulante como método de screening usando secuenciación masiva en paralelo ha sido evaluado en múltiples estudios.^{173, 174, 175} A pesar de que la información obtenida fue, en algunos casos, incompleta, y los resultados en cuanto a los falsos negativos fueron aportados voluntariamente por los proveedores comerciales, la tasa de detección confirmada fue de una 96,2% para trisomía 21 (en el mejor escenario posible, asumiendo todos los resultados de abortos y casos no confirmados, un 98,5%) y pudimos corroborar un 94% como tasa de detección combinada para trisomía 21, 18, 13 y monosomía X.

La principal ventaja del MPSS es que no necesita separar el DNA fetal del materno, únicamente enriquecer la fracción fetal. El método identifica correctamente el status de los cromosomas con un valor predictivo positivo excelente, especialmente para trisomía 21,

Algunas limitaciones son el elevado coste y la necesidad de comparar las lecturas con un cromosoma de referencia.¹⁴⁶

Secuenciación masiva en paralelo dirigida a región cromosómica específica o t-MPS (The Targeted Massively Parallel Sequencing).

Debido a la complejidad del análisis de datos necesaria para el MPSS, el grupo de Spark¹⁷⁶ desarrolló, el t MPS (la t proviene del vocablo inglés targetted, que significa dirigido). Consiste en secuenciar y contar sólo regiones escogidas, Usando un método selectivo, llamado análisis digital de regiones seleccionadas, o DANSR (digital analysis of selected regions) sólo fueron necesarias 420.000 lecturas por muestra. En comparación, 10,8 millones de lecturas de secuenciaciones fueron necesarias, de media en MPSS. Además, el método DANSR tuvo una eficiencia estimada superior al 96%, donde el MPSS aportada más o menos un 50%, demostrando la alta especificidad de las regiones seleccionadas, Se añadió un nuevo algoritmo de cálculo de riesgo, el FORTE (Fetal Fraction Optimized Risk of Trisomy Evaluation) que tiene en cuenta además la edad materna y la fracción fetal, y ha sido variado en numerosos ensayos clínicos, incluyendo el estadio multicéntrico NICE (Non-invasive Chromosomal Evaluation).¹⁷³ Usando los métodos DANSR/FORTE y una plataforma de validación basada en microarrays, obtenemos similar desarrollo a la secuenciación de nueva generación original.¹⁷⁷ Con la CSS, el ensayo selectivo se dirige contra regiones específicas de los cromosomas 21, 18 13, X e Y antes de la secuenciación. La CSS evalúa SNPs en otros cromosomas para estimar la fracción fetal. Las ventajas de esta técnica son, en primer lugar, la teórica reducción en el coste, ya que el número de regiones que necesitan ser secuenciadas es sustancialmente menor que con la secuenciación del genoma completo y, en segundo lugar, el cálculo simultáneo de la fracción fetal en el mismo ensayo. La desventaja es que la tasa de fallo en proporcionar resultados puede ser algo mayor (2-4%) que con la MPSS, aunque no significativamente. Recientemente se ha desarrollado una nueva técnica que está sustituyendo la CSS en la que en lugar de usar secuenciación de última generación como método de recuento, se usa un análisis de recuento de DNA-libre circulante basado en tecnología microarray.¹⁷⁸

Este método ha demostrado resultados comparables con los obtenidos mediante secuenciación de última generación, pero con un tiempo menor en obtener resultados y de manera más coste-efectiva.²⁵⁴

Análisis basado en polimorfismo de un solo nucleótido o SNPs (Single Nucleotide Polimorfism).

Los SNPs son variaciones del DNA que ayudan a distinguir a diferentes individuos. Un SNP representa una diferencia en un único nucleótido (una base) dentro de una determinada secuencia de DNA, que por todo lo demás es idéntica entre individuos. El método basado en SNPs para analizar el DNA fetal se basa en el principio de que el feto tiene diferentes SNPs que la madre. Se analiza tanto el plasma materno, que contiene una mezcla de DNA-libre circulante materno y fetal, como el DNA de la capa leucoplaceta o

buffy-coat, que es sólo de origen materno. Usando una variante de la PCR (*polimerase chain reaction*) convencional, la PCR multiplex, se cuantifican simultáneamente más de 13.000 loci polimórficos en los cromosomas 21,18, 13, X e Y. Como la madre y el feto tienen patrones específicos de SNP diferentes, se pueden usar esas pequeñas diferencias a lo largo del genoma para estimar si la distribución de los fetales respecto a los maternos es consistente con monosomía, disomía o trisomía.^{179,180}

Los polimorfismos de un solo nucleótido nos sirven por lo tanto como huella genética. Conforman el 1,6% del genoma humano. Por ejemplo, un polimorfismo de un solo nucleótido puede consistir en el reemplazamiento del nucleótido citosina (C) por el nucleótido timina (T) es decir, se reemplaza AAGCCTA por AAGCTTA.^{179,180}

El grupo de Zimmermann ha desarrollado un nuevo método llamado soporte parental, el cual abandona la necesidad de un cromosoma de referencia. Se trata de una amplificación múltiple de 1100 polimorfismos de un solo nucleótido, secuenciados en una sola reacción en cadena de la polimerasa (PCR), desarrollado en el DNA del plasma después de secuenciarse. Cada producto es evaluado basándonos en la hipótesis de que el feto es monofónico, desmico o trisómico.¹⁶¹ Después de considerar la posición de los polimorfismos de un solo nucleótido en los cromosomas y la posibilidad de que sean recombinados, una máxima razón de probabilidad es calculada si el feto es normal, aneuploide (cromosomas 21, 18 o 13 o sexuales) o triploide, o si la disomía parental está presente. Si los datos de éstas medidas nos sugieren más de una hipótesis (por ejemplo a la vez triploide y euploide), se informa como “sin resultado”. Antes, añadimos un riesgo asociado a la edad. Sin embargo, en la mayoría de los casos, el padre no está disponible para el test y el algoritmo usa los polimorfismos de un solo nucleótido del genoma humano como si fuese una representación paterna.¹⁷⁹

Claramente, la secuenciación mediante polimorfismos de un solo nucleótido requiere un sofisticado sistema bioinformático. La principal desventaja es la imposibilidad de proporcionar una lectura adecuada cuando hay una elevada homología genética entre los padres (consanguinidad), además tampoco es útil en gestaciones de donación de ovocitos o tras un trasplante de médula ósea. Tiene una teórica ventaja a la hora de identificar los gemelos dicigóticos, mosaicismos maternos (cáncer materno), y el origen parental de los cromosomas.¹⁸⁰

El test prenatal no invasivo mediante polimorfismos de un solo nucleótido ha sido validado, demostrando, para edad gestacional comprendida entre las 11 y 13 semanas, un 100% de sensibilidad para detección de trisomías 21, trisomías 13 y 18, Síndrome de Turner y otras triploidías. En éste estudio se han empleado 31.000 gestantes, usando 20.000 secuencias de polimorfismos, aportado evidencia suficiente para la validación del test para uso clínico.¹⁸⁰

Usando sólo casos confirmados mediante el análisis cromosómico al nacimiento, podemos afirmar que el valor predictivo positivo, mezclando casos de bajo y alto riesgo, es de un 90,9% para trisomía 21. Sin embargo, el análisis completo o la confirmación clínica no fueron posibles en todos los casos. Como método en sí mismo, se esperaría que esta

tecnología fuera la más precisa, incluso ante fracciones fetales más bajas. En resumen, el rendimiento reportado para la detección de trisomías 21,18 y 13 es similar que con MPSS o t-MPSS, aunque con una tasa de fallo algo mayor (3-5%).²³²

1.5.3.3.3. MÉTODOS EN INVESTIGACIÓN:

Células del trofoblasto fetal endocervical.

No sólo hay fuentes de células fetales en la sangre materna, se investigan otras posibles fuentes de DNA. Una alternativa atractiva es aislarlas del trofoblasto transcervical. A diferencia de la sangre materna, donde las células fetales están rodeadas de múltiples tipos celulares en circulación por el torrente sanguíneo, aquí las células fetales en el cérvix halladas son todas de origen trofoblasto. Algunos estudios apoyan el potencial de éste enfoque.¹⁸¹ Algunos métodos incluyen el lavado, cepillado y aspiración de los especímenes. Así mismo el método más óptimo de obtención de resultados, ha de ser aún validado, hay una variación de obtención de células fetales que varía entre un 60 y un 80%.¹⁸² Millones de mujeres embarazadas se someten a toma de muestra de células cervicales sin que haya un aumento de efectos adversos en el embarazo en relación con la obtención de dichas muestras. Las células fetales son obtenidas con enfoques basados en técnicas inmunohistoquímica y moleculares ya aplicadas para la obtención de DNA fetal libre circulante, con lo cual esto promete un campo de investigación prometedor. Hay muchos aspectos que deben ser evaluados para establecer cuál es el rol apropiado de toda ésta nueva tecnología. En resumen, se trata del mejor método de cribado posible para el S. de Down, pero los costes deben reducirse. Desde una perspectiva de salud pública, el grupo de Cuckle y el Evans, nos muestran que el coste de los casos adicionales no detectados mediante el cribado combinado de primer trimestre en mujeres de bajo riesgo es de unos 3 millones de dólares. Los desarrollos en CGH (array comparative genomic hybridation) prometen un vasto incremento en la detección de enfermedades directamente del tejido fetal (amniocentesis y biopsia de vellosidades coriales) de manera que nuestros objetivos cambian en éste sentido: el DNA libre circulante no puede ser considerado un método de reemplazo diagnóstico para estos procedimientos, al menos hasta que se hayan producido más avances en éste campo.^{183, 184}

ARN fetal libre circulante en plasma materno.

El RNA fetal está presente en el plasma materno y es relativamente estable. Éste RNA tiene como origen tanto el RNA mensajero como el ribosomal, así como moléculas a otros niveles. Los niveles de expresión en el plasma se correlacionan directamente como los niveles expresados en la placenta. El uso de RNA mensajero placentario y micro RNA del plasma materno mediante procedimientos no invasivos para la detección de aneuploidías lleva investigándose muchos años. Se calcula mediante SNPs a partir de un ratio esperado entre ARN fetal y materno, mediante espectrometría de masas, permitiendo la detección de aquellos afectos de trisomía 21, dirigiendo el gen PLAC4 en RNA mensajero, que ha sido transcrito del cromosoma 21. Una mayor limitación supone que sólo es útil si el feto es heterocigoto para el SNPs estudiado. El grupo de Tsui optimizó éste método en fetos

homocigotos para PLAC4 SNPs. Mostraron que el RNA m podía cuantificarse mediante una PCR de conteo digital de los alelos correctamente detectados en el plasma, había una correlación, de manera que éste ARN aumentaba en gestaciones con trisomía 21. Aunque los resultados en los primeros estudios fueron prometedores, los datos en los sucesivos estudios fueron desalentadores.¹⁸⁵

El mayor problema fue el procesamiento celular debe comenzar 12 horas tras la extracción como máximo, de tal manera que esto es poco factible para el trabajo rutinario de un laboratorio, con lo cual su uso comercial está potencialmente limitado.

Metilación de DNA.

El genoma fetal se diferencia del materno principalmente debido a sus áreas de hipermetilación e hipometilación. Se demostró en primer lugar, la detección de la trisomía 18 calculado el ratio de DNA materno metilado y el DNA fetal no metilado del alelo SERPINB5 localizado en el cromosoma 18. Investigar alelos específicos o lociis únicos obliga al uso de enzimas de restricción específicas y marcadores del número de lociis susceptibles de ser detectados. El grupo de Papageorgiou presentó una estrategia de inmunoprecipitación en DNA fetal hipermetilado combinado con una transcripción inversa mediante PCR para la fracción fetal enriquecida. Analizaron las diferencias específicas entre las regiones metiladas del cromosoma 21 y calcularon el ratio de regiones metiladas del cromosoma 21 en relación con las gestaciones normales. Éste método permitió identificar 34 de las 34 trisomías 21 y 46 de las 46 gestaciones euploides. No hay aún ensayos clínicos para detección de DNA basada en patrones de metilación del DNA que permitan detectar aneuploidías en plasma materno. Sin embargo, éste campo se está desarrollando ampliamente y podría llegar a ser más barato que en los métodos basados en la secuenciación.¹⁰⁸

Células fetales en plasma materno.

La presencia de células fetales en la circulación materna fue descrita hace más de un siglo, pero los intentos de usar éstas células fetales como método diagnóstico o de screening hasta la fecha han sido infructuosos. El número de células fetales presentes en el plasma materno es muy bajo, aproximadamente 1 parte por 10 millones.¹⁸⁶ En 20 ml de sangre materna no hay más de 20 células fetales, después de aislarlas y purificarlas necesitamos células en condiciones óptimas para el análisis. Tenemos además una alta tasa de falsos positivos. Existe una considerable dificultad en separar las células de interés del “ruido” de las células maternas, esto va en función de numerosos factores, realmente ignoramos el total de células y el tipo de células fetales presentes, el tiempo de aparición, las posibilidades de detección en todos los embarazos y el mejor enfoque para proceder al análisis.¹⁸⁷ Por ejemplo en 2002, el NICHD (National Institute for Child Health and Human Development)-patrocinado por el NIFTY (NICHD Fetal cell isolation study) realizó un ensayo, donde sólo se pudieron detectar de forma correcta el género y la presencia de aneuploidías en menos del 50% de los casos. Muchas lecciones fueron aprendidas sirvieron para entender algunos de los conceptos básicos necesarios para el desarrollo de éste método, pero la conclusión del

ensayo fue que ésta tecnología no está aún lo suficientemente desarrollada como para ser aplicada en el ámbito clínico. Hay muchas variables que necesitan ser estandarizadas. Además, las técnicas de inmunofluorescencia e hibridación in situ no pueden ser realizadas por la imposibilidad de penetrar con facilidad en las células fetales que han sido aisladas. Numerosas compañías privadas han comenzado a probar métodos de desarrollo. Hay muchas publicaciones recientes de diferentes grupos, enfocadas en diferentes áreas. El microscopio automático de fluorescencia ha podido detectar las células fetales basándose tanto en procesos inmunohistoquímicos como moleculares. También se ha usado una microfiltración de un microfluido para separar los eritrocitos de otras células nucleadas. El siguiente paso necesario sería optimizar, nombrar e identificar definitivamente las diferentes células fetales. Han sido sugeridos algunos métodos como métodos de microdissección y captura celular mediante láser, pero aún disponemos de pocos datos como para establecer conclusiones. Recientemente el uso de marcadores como CD 105 y CD 141 han sido usados para el enriquecimiento de células fetales, identificándolas en un 90% de los casos.¹⁸⁸

1.5.3.3.4. *DESARROLLO DE LABORATORIOS.*

Poco tiempo después de la implementación clínica del test de DNA-libre circulante, comenzaron a establecerse laboratorios fuera de los EEUU y China, en su mayoría por transferencia de la tecnología desde los proveedores originales.

Los kits comerciales se ofrecieron por primera vez a estos laboratorios en 2015, permitiendo la implementación del test a gran escala en los laboratorios Europeos. Esta regionalización asegura que cada vez más mujeres tengan acceso al test; sin embargo, también conlleva riesgos en cuanto a la calidad del mismo. Algunos laboratorios con escasa experiencia en análisis de DNA han comenzado a ofrecer su propio test sin llevar a cabo un correcto proceso de validación de la técnica, lo que puede afectar significativamente el rendimiento del mismo.

Por tanto, la pregunta de si el análisis de DNA-libre circulante está siendo llevado a cabo de manera correcta es en muchas ocasiones difícil de contestar. Para ello, el laboratorio debería poner a disposición de los clínicos toda la información relativa a su equipamiento y experiencia técnica, la metodología usada y sus datos de validación, preferiblemente en forma de publicaciones en revistas científicas e incluyendo una población representativa.

Desde que el test está disponible y accesible en gran cantidad de laboratorios, tanto públicos como privados, se han llevado a cabo estrategias de marketing y precios competitivos. Los pacientes de forma individual, los clínicos y supervisores han sido dianas de estrategias comerciales agresivas para obtener beneficios mercantiles.

Una revisión sistemática concluye que algunas de las compañías que ofertan el test a través plataformas online no proporcionan la suficiente información o no la proporcionan de manera adecuada, especialmente la concerniente a la necesidad de realizar una prueba invasiva para confirmar un diagnóstico de sospecha. No hay diferencias en cuanto a tasas de

detección, tasas de resultados fallidos o no resultados entre test del mismo tipo, con lo cual la decisión por parte del especialista en diagnóstico prenatal ha de basarse en los servicios que cada empresa sea capaz de proporcionar.^{189,190}

1.5.3.4. FORMAS DE APLICACIÓN EN EL ÁMBITO CLÍNICO.

1.5.3.4.1. *CRIBADO SECUNDARIO.*

Modelo contingente.

A todas las mujeres se les aplica una primera prueba de cribado mediante la cual son clasificados en un grupo de riesgo, en función de esto, serán o no sometidas a una segunda prueba de cribado o bien a una prueba que confirme definitivamente el diagnóstico. Es la forma más habitual en la que suele integrarse el TPNI. Suele cribarse la trisomía 21 y además la 13 y la 18.¹⁹⁰

En éste modelo propuesto por el grupo de Chitty los puntos de corte se establecieron así:¹⁹¹

- Alto Riesgo (1:150). Se recomienda directamente la prueba invasiva o una segunda prueba mediante DNA fetal libre circulante en sangre materna. Un 3-5% de las mujeres sometidas a cribado combinado de primer trimestre fueron clasificadas como de alto riesgo.
- Bajo riesgo (1:1.000). No eran sometidas a ninguna otra prueba. Entre el 80-85% de las mujeres sometidas a cribado combinado de primer trimestre pertenecían a éste grupo.
- Grupo de riesgo intermedio (>1:151-<1:1.000). Abarcaban entre el 10-15% de las gestantes sometidas a cribado combinado del primer trimestre. Tras ser informadas, se les oferta el TPNI. Si ésta prueba se nos informa como positiva, se procederá a una prueba invasiva. Una característica importante de los exámenes contingentes es que las mujeres que reciben un informe de riesgo intermedio deben regresar para recibir dicha información que permita un asesoramiento prenatal y ofrecer, en consenso, más pruebas (la recomendada en éste caso, el TPNI). Este cribado contingente tiene el potencial de aumentar las tasas de detección porque se está ofreciendo una evaluación secundaria al 10 o 15 %de la población. Sin embargo, el uso del TPNI como la prueba secundaria da como resultado muy pocos hallazgos "falsos positivos" (0,1 a 0,2 por ciento) que resultan en una prueba invasiva innecesaria. La detección real y las tasas de falsos positivos para un modelo contingente dependen de la proporción de mujeres (y sus riesgos) en el grupo intermedio que acepta realizar más pruebas. También requiere recursos adicionales para reunirse con estas mujeres y asesorarlas mientras se obtiene la muestra para la segunda prueba.

Modelo reflexivo.

Éste modelo utiliza los mismos niveles de corte de riesgo descritos anteriormente para el cribado contingente, pero recoge una muestra de sangre adecuada para la prueba mediante TPNI en el momento en que se recoge el suero necesario para aplicar el cribado combinado del primer trimestre. A las mujeres de "alto riesgo" se les ofrece el TPNI o pruebas invasivas y las mujeres de bajo riesgo reciben atención de rutina. La diferencia principal con el modelo contingente es que a las mujeres de riesgo intermedio se les hace directamente la prueba mediante DNA fetal libre circulante de la muestra obtenida en sangre y se les informa del resultado, anulando la necesidad de una sesión de asesoramiento. Esto ahorra tiempo y recursos. Sin embargo, hay un gasto adicional debido a la recolección inicial de muestras de plasma en el 100% de las gestantes cuando solo del 10 al 12 % tendrán que someterse a ella. En general, la detección y las tasas de falsos positivos son más predecibles y son equivalentes al rendimiento de un modelo contingente con un 100% de aceptación entre las mujeres de riesgo intermedio. En el modelo reflexivo, es importante que las mujeres comprendan y acepten la posibilidad de las dos pruebas.¹⁹²

1.5.3.4.2. CRIBADO PRIMARIO.

Se utiliza únicamente una prueba de cribado. Aunque el cribado mediante TPNI tiene (para síndrome de Down, trisomía 18 y trisomía 13) una tasa de detección más alta y una tasa de falsos positivos más baja que el cribado combinado del primer trimestre, algunas organizaciones profesionales son cautelosas al ofrecerla a la población general como prueba de cribado primaria.

Existen varias razones para la falta de respaldo universal para el cribado primario en mujeres de bajo riesgo: coste más alto de la prueba en comparación con los test bioquímicos del cribado combinado del primer trimestre, las preocupaciones sobre la disponibilidad de asesoramiento prenatal adecuado antes de la prueba y las preocupaciones de algunas mujeres después de una revisión positiva sin pruebas diagnósticas, aunque el valor predictivo positivo (VPP) de la prueba es menor en las mujeres más jóvenes (por ejemplo, trisomía 21 del VPP a los 32 años = 68 por ciento versus 51 por ciento a los 24 años). Además, hay una falta de consenso con respecto a los procedimientos de seguimiento apropiados para las mujeres en la población general que tienen una falla en la prueba de DNA libre circulante (hasta un 5 %).

Es importante destacar que no hay suficiente experiencia y recursos disponibles en los Estados Unidos para proporcionar asesoramiento genético formal a todas las mujeres de bajo riesgo. Un estudio en los Estados Unidos informó que la educación del paciente sobre el cribado mediante TPNI puede realizarse con éxito a través de obstetras generales.

La ventaja de un screening secundario radica en la capacidad de aumentar la sensibilidad y la especificidad. La alta especificidad permite una gran reducción en el número de procedimientos de diagnóstico invasivos innecesarios en mujeres que probablemente no tengan un feto afectado por una de las afecciones cribadas, aunque las herramientas de

detección menos sensibles y específicas las colocaron en mayor riesgo de este resultado que la población general.

La alta sensibilidad del TPNI ayuda a garantizar que pocas mujeres con un embarazo afectado se reclasifiquen incorrectamente como de bajo riesgo. Dado que la mayoría de las mujeres que se someten a cribado TPNI recibirán un resultado de bajo riesgo y podrían evitar un procedimiento invasivo, el alto costo de ésta prueba (USD \$ 800 a \$ 3.000) puede justificarse con ahorros evitados pruebas de diagnóstico (amniocentesis y cariotipo).

Los objetivos son aumentar la detección, reducir las tasas de falsos positivos y mantener los costos relativamente constantes.¹⁹³

1.5.3.5. CAPACIDAD DEL TEST.

1.5.3.5.1. *DATOS GENERALES SOBRE LA CAPACIDAD DEL TEST.*

El rendimiento del test se describe mediante la tasa de detección y la tasa de falsos positivos. Es importante tener en cuenta que del 1 al 5 % de las pruebas de cribado mediante DNA fetal libre circulante son descritas como “no concluyentes”, es decir, no es posible proporcionar un resultado.¹⁹⁴

En un metanálisis de 2017, las tasas de detección para trisomías 21, 18 y 13 fueron de un 98,5%, con una tasa de falsos positivos de un 0,3%. Por lo tanto TPNI es la opción de detección más sensible para estas aneuploidías, El rendimiento del test varía según la trisomía (tabla 15 y tabla 16) y según la metodología.^{195, 196}

Aneuploidía	Estudios	Casos	Tasa de detección	Tasa de falsos negativos	Controles	Tasa de falsos positivos
Trisomy 21	31	1.587	99,4	0,6	146.757	0,1
Trisomy 18	24	444	97,7	2,3	146.496	0,1
Trisomy 13	16	85	90,6	9,4	134.606	0,1
Todas*			98,5*	1,5		0,3

Tabla 15. Capacidad del test de screening mediante TPNI para trisomías 21, 18, y 13.¹⁹⁶

* La estimación se basa en la prevalencia del trastorno al final del primer trimestre del embarazo (aproximadamente 10:2:1)

Aneuploidía	Tasa de detección	Tasa de falsos positivos	Tasa de falsos negativos
Trisomía 21	99,4	0,1	0,6
Trisomía 18	97,7	0,1	2,3
Trisomía 13	90,6	0,1	9,4

Tabla 16. Resumen de la capacidad del test de screening mediante TPNI para trisomías 21, 18, y 13.¹⁹⁶

Estos datos no tienen en cuenta los resultados fallidos o no concluyentes, tanto en muestras aneuploides como normales, y muchos de los estudios incluidos en el metanálisis no tuvieron un seguimiento completo de todos los embarazos. Por lo tanto, es posible que la tasa de detección esté sobreestimada. Las tasas de fallo de la prueba son importantes para informar del rendimiento de la prueba y la capacidad del test ya que tasas de fallo altas disminuyen las tasas de detección reales, aumentando los falsos positivos y disminuyendo el valor predictivo positivo.¹⁹⁷

Para aneuploidías de cromosomas sexuales las tasas de detección son más bajas y los falsos positivos más altos, así como la tasa de fallos del test, en comparación con las aneuploidías comunes. En un metanálisis de 2015, las tasas de las tasas de detección y los falsos positivos para las cuatro aneuploidías cromosómicas sexuales más comunes están recogidas en la tabla 17.

Sin embargo, las tasas de fallos del test no se tuvieron en cuenta en el análisis.

Aneuploidía	Tasa de detección	Falsos positivos
45X0	90,3	0,23
47XXY, 47XYY, 47XXX	93,0	0,14

Tabla 17. Resumen de la capacidad del test de screening mediante DNA fetal libre circulante para otras aneuploidías.¹⁹⁷

1.5.3.5.2. INTERPRETACIÓN DE INFORMES FALLIDOS O NO CONCLUYENTES

Las tasas de fallo y no resultado para trisomías 21, 13 y 18 varían entre el 1 y el 5% dependiendo del laboratorio y de la metodología utilizada. Para cromosomas sexuales es más alta, varía entre el 5,9, el 7 y el 4% en las tres series consultadas.^{203, 204}

La baja fracción fetal puede ser responsable de hasta el 50 por ciento de todos los resultados fallidos, según la metodología. Otra razón para que ésta prueba falle, según el método de laboratorio utilizado, son los tramos largos de homocigosidad, como en el caso de la disomía uniparental o la consanguinidad parental. Incluso si se cumplen todos los parámetros de control de calidad, algunos laboratorios identifican los resultados como "límitofes". En tales casos, una prueba "límite" debe considerarse como positivo y no como un resultado fallido.²⁰³

Los requisitos del laboratorio para el rendimiento de la prueba también afectan su tasa de fallos y difieren entre los laboratorios.

1.5.3.5.3. FALSOS POSITIVOS Y FALSOS NEGATIVOS.

Hay multitud de razones por las cuales el diagnóstico obtenido mediante prueba invasiva no concuerda con el obtenido mediante TPNI. Es importante reconocer aquellos casos en los que la muestra de DNA es analíticamente correcta (concuerda con el genotipo placentario) pero es clínicamente incorrecta (los resultados no concuerdan con el fenotipo fetal). La sensibilidad y la especificidad clínica son más importantes que la sensibilidad y la especificidad a nivel analítico.¹⁹³

Interpretación de falsos positivos: se definen como test informado con presencia de anomalías en fetos sin afectación.

- Mosaicismos confinados a la placenta: Dado que la fuente principal de DNA libre en la circulación materna son las células placentarias (sincitiotrofoblasto), la prueba mediante TPNI proporcionará resultados relativos a la placenta, que pueden ser discordantes con el tejido fetal. En estos casos, la prueba de DNA es analíticamente correcta pero clínicamente incorrecta. La experiencia adquirida mediante biopsia de vellosidades coriales indica que esto puede ocurrir en 1-2 % de los embarazos.¹⁹⁸
- Mosaicismo materno: la mayoría de los test basados en DNA libre circulante asumen que la madre presenta un cariotipo normal, pero esto no siempre ocurre. Por ejemplo, a medida que las mujeres envejecen, una proporción cada vez mayor presenta un pequeño porcentaje de células que han perdido un cromosoma X, lo cual puede derivar en un resultado del TPNI falso positivo, En éstas fenotípicamente normales, la pérdida de una porción de la señal del cromosoma X se atribuiría al feto siendo informadas como síndrome de Turner fetal. Aunque es poco frecuente, algunas mujeres pueden tener una anomalía de los cromosomas sexuales no mosaico (por ejemplo 47XXX) y tener un fenotipo normal. El mosaicismo materno puede ser diagnosticado mediante cariotipo de linfocitos de sangre periférica. El asesoramiento deben incluir la posibilidad de identificar una anomalía cromosómica en la madre.¹⁹⁹
- Cáncer materno: la aparición de más de una aneuploidía al mismo tiempo (por ejemplo, exceso de fragmentos del cromosoma 21 y reducción de fragmentos del cromosoma 18) es poco frecuente. Puede sugerir una neoplasia maligna oculta en la que el DNA tumoral se disemina hacia la circulación materna. En una serie que incluyó a más de 125.000 mujeres embarazadas que se sometieron a pruebas mediante TPNI, se detectó más de una aneuploidía en 39 (0,03 por ciento de las pruebas). Se documentó la discrepancia entre los resultados de las pruebas DNA y las pruebas diagnósticas fetales invasivas de seguimiento en 16 (41 por ciento) de estos casos. El cáncer maternal fue diagnosticado posteriormente durante o después del embarazo en 7 de las 39 mujeres (18 por ciento) por una tasa mínima de aproximadamente 1 en 18.000 (el seguimiento

no estuvo disponible de las 39 mujeres). Los tipos de cáncer incluyen estirpes tipo neuroendocrino, leucemia, linfoma, colorrectal y anal. Sin embargo, las pruebas mediante TPNI no deben considerarse una prueba de detección de malignidad materna, dada la escasez de datos sobre esta asociación, el potencial de resultados falsos positivos y el impacto emocional y médico de dichos resultados en el bienestar del paciente. La evaluación clínica apropiada de tales pacientes no está clara en este momento. Las neoplasias malignas más comunes en edad reproductiva son mama, cérvix, ovario, colorrectal, leucemia, linfoma (Hodgkin y no Hodgkin), y melanoma.^{200,}

²⁰¹

- Variantes del número de copias materna: la metodología para el análisis de DNA libre circulante supone que cada mujer porta la misma proporción de material genético en un cromosoma en concreto, pero los cromosomas varían ligeramente entre individuos debido a variantes de número de copias (heredadas o de novo). En estos individuos, la secuenciación de DNA libre circulante podría arrojar un resultado positivo cuando el tamaño de la duplicación materna es relativamente grande y ocurre en un cromosoma de interés (por ejemplo, el cromosoma 21). En dos estudios, las duplicaciones de la madre en el cromosoma 18 fueron la causa probable de los resultados falsos positivos de la trisomía 18 en seis de los siete casos examinados.^{202 203}
- Probabilidad. Los resultados falsos positivos también pueden ser fruto de la probabilidad estadística, ya que el límite para una prueba positiva a menudo se establece en +3 desviaciones estándar. Por lo tanto, 1 o 2 por cada 1.000 fetos euploides podrían tener un resultado falso positivo solo por casualidad, y si se realizaran 100.000 pruebas, se esperarían unos 100 resultados falsos positivos.²⁰⁴
- Aspectos técnicos. Al igual que con todas las pruebas de laboratorio, las mezclas de muestras u otros errores técnicos pueden dar lugar a resultados falsos positivos (o falsos negativos). Sin embargo, es probable que estos se identifiquen como parte de las pruebas de seguimiento posteriores.²⁰⁷
- Gestante trasplantada. Si la madre es receptora de trasplante (de médula ósea o de cualquier órgano) obtenido de un donante masculino, la prueba de DNA libre circulante puede identificar incorrectamente a un feto femenino como masculino, debido a la liberación de DNA masculino desde el órgano donante a la circulación materna.¹⁹⁸
- Transfusión sanguínea reciente: si la gestante ha recibido una transfusión de un donante masculino antes de 4 semanas desde la obtención de la muestra de sangre, podemos identificar incorrectamente un feto femenino como masculino.¹⁹⁸

Interpretación de falsos negativos: un falso negativo se define como un feto afecto peor con un resultado que indica que no existe ninguna anomalía cromosómica.

Las causas definidas de falsos negativos en el test de DNA libre circulante son:

- Mosaicismo confinado a la placenta. Como ha expuesto anteriormente, la fuente principal de DNA libre en la circulación materna son las células placentarias

(sincitiotrofoblasto), que pueden ser discordantes con el tejido fetal, con lo cual es posible que un feto sea aneuploide aunque el cariotipo de la placenta no refleje ese hallazgo. En estos casos, el TPNI es analíticamente correcto (es decir, detecta las células placentarias del mosaicismo que son euploides) pero clínicamente incorrecto (es decir, el feto en sí mismo es aneuploide).²⁰⁵

- Fracción fetal límite. Una fracción fetal baja pero adecuada (por ejemplo, entre 3 y 5 %) da como resultado una diferencia muy pequeña en el porcentaje esperado (referencia normal) versus el porcentaje observado de fragmentos de cromosomas (por ejemplo, fragmentos del cromosoma 21). Si no se secuencian una cantidad suficiente de fragmentos, esta diferencia no se identificará y los resultados se informarán incorrectamente como negativos.²⁰⁶
- Variantes del número de copia materna: como se ha descrito anteriormente, las duplicaciones presentes en la madre pueden causar un resultado falso positivo.^{215,216}
- Aspectos técnicos: el bajo contenido de guanina-citosina del cromosoma 13 hace que los pasos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y los recuentos de secuenciación posteriores sean menos fiables. Esto da como resultado tasas de detección menores que para otras aneuploidías. Los laboratorios intentan corregir esto en el análisis bioinformático, pero no siempre con éxito. También hay en ocasiones mezclas de muestras u otros problemas relacionados con el laboratorio que podrían causar un resultado de prueba falso negativo.²⁰⁶

1.5.3.5.4. INTERPRETACIÓN DEL VALOR PREDICTIVO.

Es poco probable que la tasa de detección y el valor predictivo positivo para pruebas de cribado de aneuploidías mediante TPNI difieran en situaciones de bajo riesgo (población general) o de alto riesgo. Sin embargo, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) dependerán de la prevalencia de cada aneuploidía específica en la población.

¹⁹⁵

La tabla 18 muestra tanto el VPP como el VPN en un contexto de población general (bajo riesgo) y un entorno de alto riesgo (por ejemplo, mujeres ≥ 35 años de edad). Algunas pruebas pueden tener valores predictivos más o menos altos debido a pequeñas diferencias en las estimaciones de las tasas de detección y de los falsos positivos, y esta tabla está diseñada solo para demostrar las diferencias promedio esperadas. Todos los VPN son bastante altos: $\geq 99,9$ por ciento. Esto se debe principalmente a la baja prevalencia a priori de estos trastornos. Las dos primeras filas muestran la diferencia entre la detección del cribado combinado del primer trimestre y las demás basadas en el TPNI.²⁰⁹

El valor predictivo positivo es más alto para TPNI en comparación con las pruebas combinadas, y también es más alto en la configuración de mayor riesgo. La tasa de detección, los falsos positivos y el valor predictivo positivo son estadísticas de población y son más útiles para el personal sanitario y para los pacientes a la hora de decidir si realizar la prueba o

qué prueba elegir. Una vez completada, la práctica óptima por parte de los laboratorios sería informar en base al riesgo específico del paciente previo de la prueba (por ejemplo, edad, ecografía anormal, antecedentes previos, prueba sérica positiva en la prueba) además del de la prueba de DNA libre circulante. Sin embargo, la mayoría de los laboratorios eligen informar el riesgo promedio en mujeres con detección positiva (valor predictivo positivo), después de considerar solo la edad de la mujer.²⁰⁹

Debido a que la trisomía 18 es menos común (incluso en poblaciones de alto riesgo), el valor predictivo positivo es más bajo, pero aún es mucho más alto que el del síndrome de Down con la prueba combinada. Por último, el síndrome de Turner (45X) no se asocia con la edad materna y, por lo tanto, se espera que el valor predictivo positivo sean los mismos tanto en la población general de gestación como en las mujeres de 35 años o más en el momento del parto. Sin embargo, los hallazgos ecográficos específicos, como el aumento de la medición de la translucencia nuchal, están asociados con un riesgo mucho mayor de síndrome de Turner. Un factor de confusión es la creciente prevalencia de células 45X en mujeres a medida que envejecen.¹⁹⁵

Todos los valores predictivos positivos observados son considerablemente más bajos que los riesgos individuales informados por algunos laboratorios (por ejemplo, > 99: 1 o 99 por ciento), a pesar de que este alto riesgo individual se informa para casi todos los resultados positivos. Esta discrepancia entre los riesgos individuales informados y los valores predictivos positivos razonables puede ser la razón de la "sorpresa" inicial ante la presencia de resultados falsos positivos, especialmente entre los resultados positivos de la trisomía 18. La comercialización de los TPNI para aneuploidías no ha enfatizado la diferencia entre sensibilidad y valor predictivo positivo. Los pacientes deben entender que si reciben un resultado positivo para el síndrome de Down, la probabilidad de que el feto realmente tenga síndrome de Down es menos del 99 por ciento (es decir, el valor predictivo positivo es menor que la sensibilidad). Del mismo modo, las mujeres que reciben un resultado negativo deben comprender que la probabilidad de que el feto no tenga síndrome de Down (valor predictivo negativo) es alta, pero también depende de múltiples factores.^{195, 209}

Anomalía cromosómica	Test	Parámetros del test			
		Población general		Población de alto riesgo (mujeres mayores de 35 años)	
		VPP	VPN	VPP	VPN
Trisomía 21 (Se considera que la prevalencia en el primer trimestre en las poblaciones generales y de alto riesgo es de 1 en 400 y 1 en 150, respectivamente)	Cribado combinado del primer trimestre (incluye mediciones de translucencia nucal junto con varios marcadores séricos, las tasas de detección y falsos positivos son 85% y 5%, respectivamente)	5% (1:19)	99,9% (2.500:1)	12% (1:9)	99,9% (943:1)
Trisomía 21	TPNI	71% (2:1)	99,9% (>50.000:1)	87% (7:1)	99,9% (25.000:1)
Trisomía 18 (Se considera que la prevalencia en el primer trimestre en las poblaciones generales y de alto riesgo es 1 en 1.800 y 1 en 600, respectivamente)	TPNI	36% (1:2)	99,9% (>50.000:1)	63% (1:1)	99,9% (26.000:1)
Monosomía X (Se considera que la prevalencia en el primer trimestre en las dos poblaciones es de 1 en 250)	TPNI	12% (1:8)	99,9% (2.400:1)	12% (1:8)	99,9% (2.400:1)

Tabla 18. Valores predictivos positivos y negativos del test de DNA libre circulante y del cribado combinado del primer trimestre para poblaciones de alto y bajo riesgo. ^{195, 207, 209}

VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo, TPNI: Test prenatal no invasivo.

1.5.3.6. SEGUIMIENTO CLÍNICO POST-TEST.

1.5.3.6.1. *CRIBADO POSITIVO.*

A pesar del alto rendimiento de la prueba de detección de DNA libre circulante, se deben ofrecer pruebas de diagnóstico invasivas para confirmar los resultados de la prueba informada como cribado positivo. Existe cierta controversia sobre si ante una prueba de cribado positiva de DNA libre circulante debe someterse a confirmación mediante biopsia corial o posponerse hasta ≥ 15 semanas cuando se puede realizar la amniocentesis, ya que el análisis de células del amnios es más definitivo ya que es representativo del genotipo fetal en lugar del análisis de células placentarias. Para los trastornos donde el diagnóstico definitivo no afectará la continuación del embarazo o el control del embarazo (por ejemplo, aneuploidía de los cromosomas sexuales), la elección de los padres para retrasar las pruebas de diagnóstico hasta después del parto, o incluso más tarde, también es razonable.¹⁵¹

1.5.3.6.2. *CRIBADO NEGATIVO.*

Un resultado negativo significa que el feto tiene un riesgo muy reducido de tener una de las aneuploidías cribadas, pero no elimina la posibilidad de un feto afectado. A las gestantes con resultados negativos en el cribado no se les suele ofrecer una segunda prueba invasiva. Sin embargo, a las mujeres con diagnóstico negativo que desarrollan una indicación para pruebas diagnósticas invasivas, como una anomalía anatómica fetal en el examen de ultrasonido, se les debe ofrecer esta prueba. Esta recomendación no se aplica al feto que se encuentra con un marcador suave o “soft markers” aislado en la ecografía.¹⁴⁹

1.5.3.6.3. *NO RESULTADO.*

Está presente entre un 1-5% de las mujeres, como se ha expuesto anteriormente, en mujeres obesas el riesgo de no resultado o test fallido se incrementa^{149, 208}

En estos casos, el paciente tiene dos opciones:¹⁴⁹

- Repetir el TPNI en el laboratorio, si es posible (los no resultado causados por largas regiones de homocigosidad o gemelos dicigóticos repetir el test no es posible). La repetición del test, debida a que la causa del no resultado sea otra, nos da un resultado entre el 50 y el 80% de los casos, según la serie consultada.
- Realizar un procedimiento invasivo (amniocentesis, biopsia de vellosidades coriales) para realizar un test diagnóstico definitivo (cariotipo o microarray).

Algunos estudios sugieren que puede haber una tasa de aneuploidía más alta de lo esperado en mujeres con no resultados en el TPNI (por ejemplo, trisomía 18, monosomía X.¹⁵¹ Es apropiado ofrecer en estos casos pruebas de diagnóstico invasivas, especialmente si en estos embarazos con una prueba fallida ya había un alto riesgo de aneuploidía previo a las

pruebas mediante TPNI (por ejemplo, edad materna avanzada, ecografía anormal). Sin embargo, un estudio encontró que el riesgo de aneuploidía sólo se observó en el grupo con fracciones fetales muy bajas. Al revisar la literatura, es importante asegurarse de que la prueba sea equivalente a la que aplicamos en la práctica clínica. Por ejemplo, la proporción de embarazos aneuploides entre los fallos iniciales de la prueba puede no ser representativa de la encontrada después de que sea aplicado el protocolo de repetición de la prueba, como suele ser la práctica.²⁰⁸

1.6. ECOGRAFÍA EN EL PRIMER TRIMESTRE.

1.6.1. INTRODUCCIÓN.

El primer trimestre es uno de los momentos de mayor importancia en el control de la gestación, como así se proclama en el nuevo modelo de control gestacional “Pirámide invertida”. Gracias a los avances tecnológicos, la ecografía en primer trimestre no sólo evalúa la edad gestacional, detección de corionicidad en gestaciones gemelares, localización placentaria, medida del líquido amniótico y evaluación del crecimiento fetal, sino que nos permite la detección precoz de malformaciones estructurales fetales y cromosomopatías para así poder adoptar estrategias preventivas y terapéuticas de forma precoz que mejoren la calidad de nuestra asistencia en diagnóstico prenatal. Además en los últimos años surge como una subespecialización y aporta el diagnóstico más precoz no sólo de malformaciones congénitas sino también de crecimiento fetal y preeclampsia. Es un campo en actual y constante crecimiento. ¹

1.6.2. CAPACIDAD DIAGNÓSTICA DE LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA.

1.6.2.1. GENERALIDADES SOBRE DIAGNÓSTICO ECOGRÁFICO DE MALFORMACIONES ESTRUCTURALES CONGÉNITAS.

Está documentado desde principios de los años 90 el uso de la ecografía morfológica para detectar malformaciones estructurales, tanto en poblaciones de alto y bajo riesgo. Sin embargo, dada la enorme heterogeneidad presente en ambos grupos (diversidad de edades gestacionales, equipos ecográficos y exploradores), las cifras varían ampliamente según la serie consultada. Sin embargo, la mayoría de las malformaciones aparecen en poblaciones de bajo riesgo (75%), con lo cual parece lógico pensar que ha de ser una prueba que se realice en la población general, es decir, a todas las gestantes, no sólo a las de bajo riesgo.²¹¹

En 1993, Butcher publica un metanálisis en 1993, donde cuatro estudios rdbdomizados evalúan la efectividad de la ecografía rutinaria para evitar la morbimortalidad perinatal. Tabla 19. ²⁰⁹

	MORTALIDAD PERINATAL/1000 PARTOS		
	CASOS	CONTROLES	ODDS RATIO (95%)
Helsinki	4,6	9	0,51 (0,29-0,87)
Trondheim	10	10,5	0,95 (0,27-3,31)
Estocolmo	4,9	4,9	1,00 (0,99-1,02)
Missouri	5,3	10,2	0,52 p=0,36
Estimación			0,64 (0,43-0,97)

Tabla 19. Resultados de mortalidad extraídos del meta-análisis de ensayos controlados y rdbomizados que comparan la ecografía sistemática versus ecografía selectiva. ²⁰⁹

Dicho grupo declara que la ecografía sistemática en la población es económica y ética, pero son necesarios calidad en los profesionales (adecuada formación y entrenamiento) y en los equipos técnicos. ^{210, 219, 223}

El estudio RADIUS afirma que sólo es necesaria una ecografía en pacientes de alto riesgo no encontrando diferencias entre el equipo de ecografía selectiva y el de ecografías rutinarias, en cuanto a morbimortalidad perinatal. ²¹¹

En el estudio de Helsinki se llegaron a detectar hasta un 50% de malformaciones mayores en la ecografía de rutina. ²¹² Leivo manifiesta que se trata de una prueba costo-efectiva al mejorar los resultados perinatales como podemos ver en la tabla 20. ²¹³

COSTES (euros)			
ESTIMACION	BÁSICA	BAJA	ALTA
Cribado ecográfico	30,99	30,99	41,32
Diagnóstico ecográfico	41,32	42,32	55,09
Ecocardiografía	41,32	41,32	55,09
Amniocentesis	69,73	69,73	92,97
Cuidado de recién nacido con defecto congénito	62.168	25%	25%
Finalización de la gestación		1.100,05	
Muerte fetal		1.100,05	

Tabla 20. Análisis de los costes derivados del diagnóstico prenatal y del cuidado de recién nacido portador de defecto congénito en Italia. ^{226, 214}

Debido a la alta prevalencia de anomalías congénitas en población no seleccionada, para realizar un adecuado método de cribado ecográfico debe realizarse a toda la población gestante. ^{215, 216}

En la revisión del HTA-NHS que valora la efectividad y eficiencia de la ecografía, se recomienda el empleo de un régimen secuencial (12 y 20 semanas) sólo cuando se incluye como parte de la detección de alteraciones cromosómicas. ²¹⁷

La Canadian Task Force, considera que existe una evidencia moderada para incluir a la ecografía efectuada en el segundo trimestre en el examen prenatal (Recomendación B).²¹⁸

Se han publicado dos revisiones sistemáticas de la Colaboración Cochrane. La primera (gestaciones de menos de 24 semanas) concluye que la ecografía sistemática permite la detección precoz de embarazos múltiples, recién nacidos de alto peso, reducción de la inducción de partos y aumento de la frecuencia de abortos por anomalías fetales pero no tiene impacto en la morbilidad (scores de Apgar <7) o mortalidad perinatal.²¹⁹ En la segunda revisión (gestaciones mayores de 24 semanas), se concluye que no se hallaron efectos estadísticamente significativos sobre la mortalidad, morbilidad o inducción del parto.²²⁰

El grupo de Lausman estableció que en mujeres sin factores de riesgo para restricción del crecimiento intrauterino, la realización en el tercer trimestre de ultrasonido integral con Doppler de la arteria umbilical está recomendado (II-2D). Una vez diagnosticado una restricción del crecimiento intrauterino, el control del Doppler de arteria umbilical después de 24 semanas reduce la morbilidad y mortalidad perinatal (I-A).²²¹

Como conclusión, podemos afirmar que hay suficiente evidencia científica para afirmar que la ecografía de rutina, comparada con la selectiva, no mejora la mortalidad perinatal ni la morbilidad (evaluada como cambios en el score de Apgar por encima de 7 puntos) pero sí mejora la determinación de la edad gestacional, recién nacidos de alto peso y también detecta más precozmente el embarazo múltiple y las malformaciones congénitas.^{221,222}

Esto resultaría en una menor frecuencia de inducción del parto (presumiblemente por mejor estimación de la edad gestacional). Se puede ver que, a diferencia de la ecografía de primer trimestre y de la ecografía morfológica en segundo trimestre, la ecografía sistemática en tercer trimestre es controvertida. La mayoría de autores aclaran que no hay diferencias sobre los resultados adversos perinatales en gestaciones de bajo riesgo. Podemos diferenciar por tanto en la realización de la ecografía sistemática en tercer trimestre, por criterios de costo-efectividad o por criterios exclusivamente clínicos, siendo clínicamente relevante pero poco costo-efectiva. A diferencia de la ecografía en primer y segundo trimestre que si son costo-efectivas y clínicamente útil.²²²

1.6.2.1.1. *SENSIBILIDAD DE LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA: RADIUS, EUROFETUS Y EUROSCAN.*

En los 80 y 90 se realizaron estudios donde se medía la sensibilidad de la ecografía morfológica, con datos del 27,5%.²²⁵ En 1996 se publicaron dos estudios poblacionales que revelaron sensibilidades bajas (26,7% y 28,5%), pues aún no disponíamos de ecografistas formados ni equipos de adecuada tecnología. Además tampoco se había desarrollado la sistematización de las exploraciones.²²³ Esta gran heterogenicidad en los datos, no sólo por la diferencia en los equipos y exploradores, sino por la diversidad en edades gestacionales y grupos de riesgo, hace que haya una gran controversia en cuanto a la sensibilidad. De la bibliografía podemos extraer tasas que oscilan entre el 13% y el 82%.²²³

El estudio RADIUS se realizó en Estados Unidos para comprobar si la ecografía rutinaria realizada durante la gestación aportaba algún beneficio en poblaciones de bajo riesgo. Los resultados de dicho estudio se publicaron en tres artículos independientes.^{224, 225, 226}

Se asignaron las pacientes de forma aleatoria a dos grupos: grupo de cribado (dos ecografías rutinarias) y grupo control (sólo se realizaban la ecografía ante indicaciones médicas). Los resultados del primer artículo demostraron que no existían diferencias significativas en cuanto al manejo de las pacientes.²²⁴

En la segunda publicación de los resultados, los autores encontraron que no existía una disminución de la morbimortalidad perinatal en gestaciones de bajo riesgo y que la detección ecográfica de malformaciones mayores no alteraba el pronóstico.²²⁵

En la tercera publicación el cribado ecográfico incrementa la tasa de detección de malformaciones mayores antes del nacimiento en el grupo cribado. La tasa de detección de anomalías congénitas en el grupo cribado es del 35%, mientras que en el grupo control es del 11%.²²⁵

El estudio RADIUS confirma que las malformaciones se detectan con mayor frecuencia en las pacientes cribadas (tabla 21). Pero esto no supone una mejoría en el pronóstico o en el manejo de las gestaciones complicadas con anomalías congénitas. Tampoco existe un incremento significativo de la supervivencia neonatal. La sensibilidad de la ecografía en este estudio es relativamente baja (35% en la población cribada, de las que sólo el 17% se detectan antes de las 24 semanas).²¹¹

Protocolo ecográfico		Cribadas (n 7.685) 7.575	No cribadas (n 7.596) 2.337
	N	187	163
Anomalías fetales	Antes del nacimiento	65 (35%)	18 (11%)
	Antes de la semana 24	31 (17%)	8 (5%)
	N	232	198
Malformaciones mayores	Antes del nacimiento	71 (31%)	24 (12%)
	Antes de la semana 24	35 (15%)	10 (5%)
	N	148	113
Malformaciones detectables ecográficamente	Antes del nacimiento	70 (47%)	22 (19%)
	Antes de la semana 24	35 (24%)	9 (8%)

Tabla 21. Impacto del cribado ecográfico prenatal para el diagnóstico de malformaciones mayores.²¹¹

El estudio EUROFETUS se diseñó para evaluar la sensibilidad del cribado de malformaciones congénitas en una población no seleccionada. Es el más amplio en cuanto a población, incluyendo cerca de 200.000 mujeres embarazadas. El estudio EUROFETUS, a diferencia de estudios anteriores, arrojó una sensibilidad del 61,4%. Se realiza una ecografía sistemática entre las semanas 18 y 20 de gestación. Después, los casos detectados deben ser confirmados al nacimiento o tras estudio anatomopatológico de restos fetales tras aborto. Las ecografías son practicadas por personal cualificado y equipos de alta calidad. Pero la principal diferencia con el estudio RADIUS radica en que en el estudio Eurofetus realizaron una definición de los casos, con codificación están basadas en la Clasificación Internacional de Enfermedades, (ICD-9), como podemos ver en la tabla 22.²²⁷

Se detectaron 4.615 malformaciones en 3.686 fetos (78,9% tenían una única malformación). La sensibilidad global del cribado ecográfico por feto malformado es del 61,4% y la sensibilidad global por malformación es de 56,2%. El 55% de las anomalías mayores se diagnosticaron antes de la semana 24 de gestación.²²⁷

Las más frecuentemente detectadas son las pertenecientes al sistema nervioso central (88,3%) y al tracto urinario (84,8%). Este porcentaje disminuye hasta el 38,8% si nos referimos al área cardíaca y grandes vasos. En cuanto a las anomalías menores, las más frecuentemente encontradas son las del tracto urinario (89,1%), pero de nuevo son las que afectan al corazón y grandes vasos las menos detectadas (20,8%) junto con las del sistema musculoesquelético (18%). En cuanto a la tasa de falsos positivos, ésta fue del 9,9%. Por tanto, se deduce que el cribado ecográfico sistemático durante el embarazo detecta una gran proporción de anomalías fetales, aunque algunas no se lleguen a diagnosticar prenatalmente.²²⁷

Hubo otros estudios que presentaron mejores tasas de detección que el estudio RADIUS, como queda recogido en la tabla 23.

Anomalías del sistema nervioso central	Anencefalia. Espina bífida con hidrocefalia. Espina bífida sin hidrocefalia. Encefalocele. Microcefalia, Deformidades cerebrales. Hidrocefalia. Anomalías inespecíficas del sistema nervioso central.
Corazón y grandes vasos:	Anomalías mayores: Truncus común. Transposición de grandes vasos. Tetralogía de Fallot. Ventriculo único. Anomalías de la válvula pulmonar. Atresia y estenosis tricuspídea. Anomalia de Ebstein. Estenosis aórtica. Síndrome de corazón izquierdo hipoplásico. Coartación de aorta. Otras anomalías de la aorta. Otras anomalías severas cardíacas.
	Anomalías menores: Comunicación interventricular. Comunicación interauricular. Defectos inespecíficos del cierre septal. Estenosis mitral. Insuficiencia mitral. Otras anomalías menores. Anomalías inespecíficas del corazón. Anomalías de la arteria pulmonar. Anomalías de las grandes venas. Otras anomalías específicas del sistema circulatorio. Situs inversus
Anomalías del sistema digestivo:	Anomalías linguales. Atresia y estenosis esofágica. Otras anomalías específicas del estómago. Divertículo de Meckel. Atresia de intestino delgado. Atresia de ano y recto. Distensión congénita del colon. Anomalia de la fijación intestinal. Otras anomalías intestinales. Anomalías de la vesícula biliar, conductos biliares e hígado.
Anomalías del tracto urinario:	Anomalías mayores: Extrofia vesical. Atresia y estenosis de la uretra. Agenesia renal bilateral. Riñones poliústicos.
	Anomalías menores: Agenesia renal unilateral. Quiste/s renales unilaterales. Hidronefrosis. Otras anomalías renales. Otras anomalías específicas del uréter. Otras anomalías específicas de la vejiga y uretra. Anomalías inespecíficas del sistema urinario.
Anomalías musculoesqueléticas:	Anomalías mayores: Distrofia muscular congénita. Miotonía. Artrogriposis. Condrosplasia. Osteodistrofia. Anomalías diafragmáticas (hernia). Defectos congénitos de la pared abdominal. Anomalías mayores de la piel.
	Anomalías menores: Deformidades del pie. Deformidades torácicas y miembros superiores. Polidactilia. Sindactilia. Reducción de miembros superiores. Reducción de miembros inferiores. Otras anomalías de miembros superiores. Otras anomalías de miembros inferiores. Otras anomalías inespecíficas de los miembros. Anomalías costales y del esternón. Otras anomalías musculoesqueléticas.
Miscelánea:	Fisura palatina. Labio leporino. Fisura palatina con paladar hendido.
Anomalías del sistema respiratorio:	Anomalías mayores: Anomalías de la laringe, tráquea y bronquios. Pulmón quístico congénito.
	Anomalías menores: Anomalías de la nariz. Hipoplasia o displasia pulmonar. Otras anomalías pulmonares.
Otras anomalías de cara y cuello:	Micrognatia. Retrognatia. Otras anomalías de cara y cuello. Anomalías congénitas de oído y ojo. Anoftalmos. Microftalmos. Anomalías palpebrales, sistema lacrimal y órbita. Otras anomalías específicas del ojo. Anomalías inespecíficas del ojo. Anomalías del oído causantes de sordera. Otras anomalías específicas del oído. Anomalías inespecíficas del oído. Hemangioma, Linfangioma,
Miscelánea de neoplasias benignas	Quiste de ovario

Tabla 22. Tabla de malformaciones (EUROFETUS).²²⁷

RADIUS(159)	Levi et al,(164)		Chitty et al,(165)	Shirley et al,(166)
Periodo de estudio	1987-1991	1984-1989	1989-1990	1989-1990
Nº fetos y RN	7.685	16.353	8.432	6.183
ANOMALIAS FETALES				
Incidencia	2,40%	2,30%	1,50%	1,40%
Detección antes del nacimiento	35%	40%	71%	67%
Detección antes de la sem, 24	17%	21%	71%	61%
Detección de defectos letales o severos	74%	-	83%	73%
IVEs	0,10%	0,20%	0,60%	0,50%
Tasa de falsos positivos	6%	8%	2%	1%

Tabla 23. Comparación de estudios previos de la sensibilidad de la ecografía para la detección de anomalías congénitas.²⁴³

Los factores a tener en cuenta en los diversos estudios por la diversidad de la sensibilidad son la heterogenicidad de la población (distintas áreas geográficas, diferentes tipos de hospital), gestantes de alto y bajo riesgo mezcladas en muchas ocasiones, diversidad en la edad gestacional, no distinción entre malformaciones mayores y menores, no posibilidad de estudio anatomopatológico en todos los casos, ausencia de seguimiento postnatal en muchos casos, variaciones en el número de ecografías realizadas y avances tecnológicos que difieren en la escala temporal de los diversos estudios. La inclusión de malformaciones del estudio RADIUS era más amplia con un mayor número de malformaciones; de tal forma que la tasa de detección tendía a ser menor. Las pacientes incluidas en el estudio RADIUS eran en su totalidad de bajo riesgo; sin embargo, las incluidas en el estudio Eurofetus eran de bajo y de alto riesgo.^{228, 229, 230}

Del estudio EUROFETUS extraemos tasas de detección que van desde el 14,3% de algunas anomalías de la cabeza y cuello (ejemplo, micrognatia o retrognatia) al 88,5% de las anomalías del tracto urinario. Los resultados resumidos se presentan en la tabla 24.²⁵⁴

Anomalía	No	Verdadero positivo	Sensibilidad (%)
Anencefalia	157	156	99,4
Espina bífida con hidrocefalia	92	87	94,6
Anomalías tracto urinario	954	844	88,5
Anomalías SNC	738	652	88,3
Anomalías aparato respiratorio	30	21	70,0
Espina bífida sin hidrocefalia	89	59	66,3
Anomalías aparato digestivo	229	123	53,7
Anomalías cardíacas mayores	366	142	38,8
Anomalías musculoesqueléticas	1.043	382	36,6
Anomalías cardíacas y grandes vasos	953	264	27,7
Anomalías cardíacasmenores	587	122	20,8
Anomalías labio y paladar	316	57	18,0
Otras anomalías cabeza y cuello	42	6	14,3
TOTAL	4.615	2.593	56,2

Tabla 24. Sensibilidad de detección según la malformación.²⁵⁴

Para determinar las diferencias derivadas de la diversidad geográfica en la realización del cribado surge el grupo de estudio EUROSCAN, que individualiza las tasas de detección según la anomalía congénita y el país europeo o área de cribado. Actualmente, la mayoría de países europeos disponen de un programa de cribado de malformaciones congénitas, pero no en todos ellos se obtienen los mismos resultados. Se registraron 8.126 casos de defectos congénitos, con una sensibilidad diagnóstica del 44,3%. Se evaluaron 20 registros de malformaciones congénitas en 12 países europeos. En el 21,8% de los casos se finalizó la gestación, Dinamarca y los Países Bajos son los países que ofrecen menores tasas de detección, Francia, Alemania, Italia, España y Reino Unido aportaron las mayores tasas de detección prenatal de defectos congénitos. La interrupción de la gestación por presencia de un

defecto congénito es independiente de la sensibilidad; varía según el panorama legal de cada país así como factores socio-culturales.²³¹ Destacamos de todas las malformaciones analizadas en el estudio EUROSCAN, las malformaciones cardíacas. En la valoración realizada sobre 20 registros europeos se obtienen los siguientes datos: la prevalencia global de defectos cardíacos al nacimiento es de 3,5 casos por cada 1.000 recién nacidos (2.454 casos), La tasa de detección prenatal global por ecografía es del 25%.²³²

1.6.2.2. CAPACIDAD DIAGNÓSTICA DE LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA EN EL PRIMER TRIMESTRE.

La ecografía realizada en primer trimestre no sólo es de utilidad para confirmar la viabilidad, cálculo de la edad gestacional, placentación o diagnóstico corionicidad en gemelares; sino que incluye la realización de la translucencia nucal; así como la visualización otros marcadores de cromosomopatías con el fin de completar el cribado combinado de primer trimestre. La tendencia actual es la de trasladar en su totalidad el diagnóstico prenatal al primer trimestre de la gestación. Este fenómeno es denominado como pirámide invertida por el profesor Nicolaides.¹

El seguimiento prenatal según la pirámide invertida incluye una valoración en primer trimestre, donde se establece el riesgo de la gestación. Según el riesgo de presentar determinada patología se tomarán las actuaciones clínicas posibles y un seguimiento ajustado de la gestación. En la siguiente visita, en segundo trimestre, donde se realiza el cribado de malformaciones estructurales, se reajustaría de nuevo el riesgo. Las gestantes de bajo riesgo realizarían una nueva visita a las 37 semanas y si persiste el riesgo bajo una última visita en semana 41.¹

En cada visita se ajustará de nuevo el riesgo pudiendo pasar a alto riesgo, modificando el seguimiento. Realizando una correcta anamnesis de la gestante, valorando sus características personales y combinándolos con los test bioquímicos y la valoración ecográfica podemos clasificar a aquellas gestantes con mayor riesgo de desarrollar determinadas patologías como pérdidas gestacionales, parto pretérmino, preeclampsia, diabetes gestacional, retraso del crecimiento intrauterino o macrosomía.¹

Debemos conocer la visualización y desarrollo normal del feto en el primer trimestre para el correcto diagnóstico de las malformaciones estructurales fetales. Whitlowand y Economides nos informan que conociendo el normal desarrollo de un feto, podemos detectar malformaciones estructurales en primer trimestre. El estudio de la sonoembriología nos ayudará a entender cómo y cuándo se pueden detectar las anomalías estructurales durante la gestación, teniendo en cuenta que, alrededor del 80% están ya presentes en esta etapa gestacional.^{233, 234}

La visualización de las estructuras fetales en primer trimestre aumenta conforme aumenta la edad gestacional; así, a las 10, 11, 12, 13 y 14 semanas, la capacidad de visualización sería 6%, 75%, 96%, 98% y 98% con sonda transvaginal y 0%, 58%, 81%, 87% y 91% vía abdominal. La facilidad de medida de la translucencia nugal es similar entre las 12 y las 14 semanas (98% y 90%, respectivamente con sonda transvaginal y 81%, 89%, respectivamente con vía abdominal). La mayor eficacia de la realización de la ecografía morfológica en primer trimestre la obtendremos, por tanto, a las 13 semanas de gestación. Según estos datos se concluye que a menor edad gestacional se precisará en mayor proporción el uso conjunto de la sonda transvaginal y transabdominal para un mayor rendimiento.²³⁴

Se debe tener en cuenta en la detección de malformaciones congénitas en primer trimestre la existencia de marcadores ecográficos que nos deben hacer sospechar determinadas malformaciones; por ejemplo: la translucencia nugal aumentada en determinadas displasias esqueléticas letales, la presencia de hernia diafragmática y aumento de la translucencia nugal; alteración del ductus venoso y flujo de la tricúspide asociado a malformaciones cardíacas, La traslucencia nugal por encima del percentil 99 presenta un alto valor predictivo positivo (VPP), aunque baja sensibilidad.²³⁵

Sabemos que cada anomalía cromosómica tiene su propio patrón sindrómico de anomalías detectables:²³⁶

- La *trisomía 21* se asocia con aumento de la translucencia nugal, la mediana de la TN está alrededor de 2,5 mm por encima para la longitud cráneo-caudal, La ausencia de hueso nasal, se encuentra en el 60-70% de los síndromes de Down. Un 25% presenta un hueso maxilar pequeño. El 80% muestra ondas anormales en el Doppler del ductus venoso: onda a invertida Se asocia a malformaciones cardíacas, aproximadamente un 40% presenta atresia duodenal e intestino hiperecogénico, hidronefrosis leve, signo de la sandalia, clinodactilia.
- La *trisomía 18* presenta asociada un aumento de la translucencia nugal; retraso de la curva de crecimiento fetal de aparición precoz y onfaloccele. El 55% no presenta hueso nasal. Un 75% de los casos se asocia a arteria umbilical única. La megavejiga asociada al aumento de la TN, se encuentra en el 75% de los fetos con trisomía 18 o 13. Se asocia a malformaciones como el cráneo en forma de fresa, agenesia del cuerpo caloso (aún no formado en primer trimestre), aumento de la cisterna magna asociado no a malformación de Dandy-Walker, hendidura facial, micrognatia, edema nugal, anomalías cardíacas, hernia diafragmática, un 20% atresia esofágica (en el 90% de los casos existe una fístula traqueoesofágica asociada), anomalías renales, intestino hiperecogénico, mielomeningocele, aplasia radial, dedos superpuestos y talipes o pie en mecedora.
- La *trisomía 13* se asocia a aumento de la translucencia nugal y retraso del crecimiento fetal de aparición precoz. El 40% presentan megavejiga, holoprosencefalia u onfaloccele. Además presentan microcefalia, anomalías faciales como hendidura facial, anomalías cardíacas, riñones grandes e hiperecogénicos y polidactilia post axial.

- El *síndrome de Turner* se asocia a aumento de la translucencia nucal y retraso del crecimiento fetal de aparición precoz. Se asocia a higroma quístico nucal, edema generalizado, derrame pleural leve y ascitis. Presentan malformaciones cardíacas y riñón en herradura.

Son varios los autores que han evaluado la capacidad en la identificación de las estructuras fetales de la ecografía en el primer trimestre de gestación.

Autor	Población Riesgo	TAS y/o TVS	Edad gest,	N	malformaciones mayores	S 1er trimestre	S 2º trimestre	Año	País
Becker y Wagner	Medio	Ambas	11-13	3.094	86(2,8)	84	91	2006	Alemania
Den Hollander et al	Alto	Ambas	11-14	101	11(11)	82	100	2002	Holanda
Chen et al	Alto	Ambas	13-14	1.609	26(1,6)	54	77	2004	China
Yagel et al	Alto	TVS	13-16	536	50 (9,3)	84	89	1995	Israel
Limb et al	Alto	Ambas	12-17	97	83,3	NR	NR	2013	Canadá

Tabla 25. Comparativa sensibilidad ecografía para la detección de defectos congénitos en primer y segundo trimestre en gestaciones de alto riesgo, según edad gestacional. ²⁴³

La capacidad diagnóstica de la ecografía morfológica precoz se sitúa 40-60%.²³⁷ Otros autores afirman que en centros especializados dicha tasa debe ser de un 60-80%.¹⁴ La sensibilidad de la ecografía sobre población de alto riesgo varía entre un 82-84% en primer trimestre versus 89-100% en segundo trimestre, como vemos en las tabla 25, 26, 27, 28 y 29.²⁵⁹

No existe consenso sobre qué marcadores debemos utilizar.^{238,239} El grupo de Sainz propone el uso de un sonograma genético modificado.²⁴⁰

Rozemberg presenta un modelo secuencial que integra el test combinado con sonograma genético modificado para una población de bajo riesgo realizando un sonograma genético modificado como segundo paso del modelo secuencial.²⁴¹ Se describió una sensibilidad para la T-21 de 89,7% y una TFP de 4,2% incrementando la sensibilidad de un 12% respecto al test combinado y un aumento de un 1% de la TFP. Aagaard-Tillery aporta resultados similares al asociar el sonograma genético modificado al test combinado, con un aumento de 9% de la sensibilidad para una TFP del 5%.²⁴²

Autor	Año	Ciudad	Población Riesgo	TAS y/o TVS	Edad gestacional	N	Nº malformaciones mayores	S 1er trimestre	S 2º trimestre
Achiron	1991	Israel	Bajo	Ambas	9-13	800	15 (1,9)	57	93
Yagel et al	1995	Israel	Alto	TVS	13-16	536	50 (9,3)	84	89
Hernandi y Töröcsik	1997	Hungría	Bajo	Ambas	11-14	3.997	64(1,6)	55	69
Economides y Braithwaite	1998	Inglaterra	Bajo	Ambas	12-13	1.632	17(1,0)	65	82
D'Ottavio	1997	Italia	Bajo	TVS	14	4.078	88(2,2)	61	89
Withlow	1999	Inglaterra	Bajo	Ambas	11-14	6.634	92(1,4)	59	81
Guariglia y Rosati	2000	Italia	Bajo	TVS	10-16	3.478	64(1,8)	52	84
Drysdale	2002	Inglaterra	Bajo	NR	12-13	984	31(3,1)	16	NR
Den Hollander et al	2002	Holanda	Alto	Ambas	11-14	101	11(11)	82	100
Carvalho	2002	Brasil	Bajo	Ambas	13-14	2.853	66(2,3)	38	79
Taipale	2003	Finlandia	Bajo	Ambas	13-14	20.465	307(1,5)	52	NR
Chen et al	2004	China	Alto	Ambas	13-14	1.609	26(1,6)	54	77
Taipale	2004	Finlandia	Bajo	TVS	13-14	4.855	33(0,7)	18	48
McCauliffe	2005	Canadá	Bajo	Ambas	11-13	325	6(1,8)	17	83
Becker y Wagner	2006	Alemania	Medio	Ambas	11-13	3.094	86(2,8)	84	91
Souka et al	2006	Grecia	Bajo	Ambas	11-14	1.148	14(1,2)	50	93
Saltvedt	2006	Suecia	Bajo	TAS	11-14	3.9572	1.252(3,5)	38	47
Cedergren	2006	Suecia	Bajo	Ambas	11-14	2.708	32(1,2)	40	NR
Weiner	2007	Israel	Bajo	Ambas	10-13	1.723	22(1,3)	41	100
Dane et al	2007	Turquía	Bajo	Ambas	11-14	1.290	24(1,9)	71	95
Chen et a	2008	China	Bajo	Ambas	10-14	4.282	63(1,5)	48	66
Oztekin	2009			TAS	11-14	1.805	21(1,2)	66,7	NR
Ebrashy	2010	Egipto	Bajo	Ambas	13-14	2.876	31 (1,1)	67,7	NR
Syngelaki et al	2011	Reino Unido	Bajo	Ambas	11-13	45.191	488 (1,1)	43,6	60
Grande	2012	España	Bajo	Ambas	11-14	13.723	439 (3,2)	49%	30
Limb et al	2013	Canadá	Alto	Ambas	12-17	97		83,3	NR

Tabla 26. Evaluación comparativa de la sensibilidad ecografía para la detección de defectos congénitos en primer y segundo trimestre según orden cronológico.²⁴³

	Syngelaki et al, 2011		Ebrashy et al, 2010		Chen et al, 2008		Dane et al, 2007		Weiner et al, 2007		Salvedt et al, 2006		Taipale et al, 2004		Carvahlo et al, 2002	
Total	488/ 44.859	1%	31/ 2.876	1%	63/ 3.949	1%	4/ 1.290	1,9%	22/ 1.723	1,3%	371 /18.053	2%	33/ 4.855	0,7%	130/ 2.853	4,6%
Total en 1T	213/ 448	43%	20/ 30	6%	24/56	42%	16/20	80%	9/22	40%	66/176	38%	0/1	0	29/130	22%
Anencefalia	29/29	100%	3/3	100%	3/3	100%	4/4	100%	1/1	100%	8/10	80%	0/1	0	4/4	100%
Encefalocele	0/0	0					1/1	100%								
Espina Bífida	3/21	14%			1/1	100%	2/3	66%			1/11	9%	0/2	0	1/4	25%
Teratoma sacrocóxigeo													0/1	0		
Microcefalia	0/1	0														
Craneosinostosis	0/1	0														
Agnesia cuerpo calloso	1/10	10%														
Ventriculomegalia	1/11	9%	0/2	0	0/1	0%	1/3	33%	2/4	50%	0/10	0	0/3	0	1/10	10%
Holoprosencefalia	2/3	66%	1/1	100%	1/1	100%	2/2	100%	1/1	100%	3/4	75%			2/2	100%
Hipoplasia cerebello	0/3	0														
Agnesia vermis	0/4	0					1/1	100%								
Fisura facial	1/20	5%			1/2	50%			2/2	100%	0/34	0			1/3	33%
Hernia diafragmática	4/8	0							0/1	0						
Quiste congénito	0/4	0			0/1	0										
Malformación adenomatoidea																
Secuestro lobar	0/2	0														
Gastrosquisis	19/19	0	2/2	100%					2/2	100%	4/5	80%	0/1	0		
Onfalocele	60/60	0	1/1	100%	1/1	100%					3/5	60%	1/2	50%		
Atresia duodenal	0/2	0											0/1	0		
Megavejiga	29/29	100%	2/2	100%	1/1	100%			1/2	50%	5/5	100%	1/1	100%	3/3	100%
Agnesia renal	1/7	14%			2/2	100%					0/2	0	0/2	0		
Hidronefrosis	1/11	9%											1/5	20%	1/6	16%
Displasia multiquística	1/17	5%			0/1	0	1/1	100%	0/2	0	1/7	14%	0/1	0		

Tabla 27. Sensibilidad diagnóstica de malformaciones mayores en primer trimestre: 11-14 semanas, excluyendo las anomalías cardíacas.²⁶²

El grupo de Salvedt realizó un estudio multicéntrico randomizado sobre 39.572 gestantes comparando la sensibilidad diagnóstica de malformaciones estructurales en primer trimestre vs, segundo trimestre. Valorando la anatomía fetal mediante check-list, obtienen una sensibilidad del 38 vs, 47%, respectivamente. De 1.252 malformaciones detectadas, 16 casos en primer trimestre y 18 en segundo trimestre se clasificaron como letales: 160 casos de 139 corresponden a malformaciones severas, 195 casos de 229 corresponden a la detección de malformaciones fetales moderadas, y se detectaron 272 casos en primer trimestre de 278 malformaciones menores. La tasa de falsos positivos fue del 0,4%, para una prevalencia de malformaciones tanto en primer trimestre como en segundo trimestre del 2,1%.²⁴⁴

En la revisión sistemática realizada por Rossi y Perfumo para una prevalencia de defectos congénitos de 1,2%, refieren una sensibilidad media de la ecografía morfológica

precoz de 51% versus una sensibilidad media de la ecografía estandarizada de segundo trimestre de 77,8%. Sobre la población de alto riesgo refieren una sensibilidad de la ecografía morfológica precoz de 65%.²⁴⁵

Algunos estudios aporta una sensibilidad del 43,6% vs, 60% (primer trimestre vs segundo trimestre).³ El grupo de Becker, exploró a 3.094 fetos de 11+0-13+6 semanas obtuvieron resultados excelentes. Hubo 86 anomalías mayores, la tasa de detección precoz fue del 83,7% (72 casos de 86). Al comparar la tasa de detección en función del grosor de la TN obtuvieron una tasa de detección del 98,3% (58/59) para $TN \geq 2,5$ mm y de 51,9% (14 casos de 27) entre aquellos fetos con $TN < 2,5$ mm.²⁴⁶

Factores que influyen en la capacidad diagnóstica:^{3,247}

- La **edad gestacional** es determinante. El momento óptimo serían las 13 y 14 semanas de gestación. Para obtener una sensibilidad similar a las obtenidas en segundo trimestre, la edad gestacional a realizarla serían a partir de las 13+3 semanas.²⁴⁸
- **Equipo ecográfico**, Se precisan equipos de alta resolución. El uso conjunto de la ecografía transvaginal y abdominal aumenta la sensibilidad diagnóstica.²⁴⁹
- **Ecografistas**. Se precisa la realización por ecografistas experimentados. Tras una curva de aprendizaje de 6 años, la sensibilidad diagnóstica aumentó del 22% al 79%.²⁴⁸
- El **tiempo** descrito para la valoración morfológica difiere según los estudios. Entre 10 y 30 minutos.^{250, 251, 252}
- **Protocolo** de exploración. Aumenta la sensibilidad cuando se aplica una sistemática de exploración.²⁵³

Ebrashy et al, y Taipale et al, refieren una capacidad de identificación de la ecografía transabdominal del corazón fetal y riñones del 61 y 63%, respectivamente, en comparación con la correcta identificación del resto de estructuras fetales en un 85% de los casos.^{254, 255} Timor-Tritsch et al señala que los órganos menos reproducibles en su visualización durante la exploración fetal en primer trimestre son: fosa posterior, cerebelo, corazón, genitales y porción sacra de la columna vertebral.²⁷⁸

La presencia de marcadores ecográficos, durante el primer trimestre, nos debe hacer sospechar determinadas malformaciones.^{255, 256}

Cardiopatías congénitas fetales.

Las cardiopatías congénitas son muy frecuentes en la población, con una prevalencia que oscila del 5-8/1.000. En el primer trimestre donde existe gran variabilidad en las cifras de sensibilidad (tabla 28).

	Detección de malformaciones cardíacas en población de bajo riesgo			
	Syngelaki et al, 2011 ²⁶⁶		Estudios previos	
	N	%	N	%
Coartación de aorta	4/15	26,7	2/21	9,5
Tetralogía de Fallot	3/10	30	1/21	4,8
Hipoplasia de ventrículo izquierdo	4/10	40	4/19	21,1
Doble salida de ventrículo derecho	5/7	71,4	0/2	0
Defectos del septo AV	3/9	33,3	0/12	0
Anomalia de Ebstein	1/5	20	0/3	0
Transposición de grandes vasos	2/5	20	0/18	0
Atresia pulmonar	2/3	66,6	0/1	0
Estenosis pulmonar	1/5	20	0/18	0
Atresia tricúspide	0/1	0	0/3	0
Displasia tricúspide	1/1	100		
Anomalías complejas cardíacas	2/8	25	0/1	0
Estenosis aórtica	0/1	0	1/5	20
Isomerismo atrial izquierdo	1/1	100		
CIV	0/16	0	2/32	6,3
Total	29/97	29	10/147	6,8

Tabla 28. Detección de malformaciones cardíacas fetales en población de bajo riesgo. ²⁴³

Los resultados obtenidos también difieren según estudios realizados sobre población de bajo o alto riesgo, y si son realizadas por personal específicamente entrenado en ecocardiografía precoz.

Whitlowand et al, aporta una sensibilidad diagnóstica de defectos congénitos cardíacos en primer trimestre del 40% en población de bajo riesgo. ²⁴⁹ Yagel et al aporta tasas de un 64% y Bronshtein et al del 77%. ^{257, 258, 259} Autores como Persico, han mostrado la posibilidad de aumentar la sensibilidad diagnóstica en ecocardiografía fetal precoz gracias ecografistas experimentados, visualizando con éxito >95% de los casos y detectaron >90% de los defectos cardíacos mayores. ²⁶⁰

Se detectaron el 93,1% de las malformaciones cardíacas en primer trimestre; el resto se diagnosticaron en la valoración morfológica en segundo trimestre. El momento óptimo serían las 13 y 14 semanas de gestación. ²⁶¹

Han sido descritos diferentes protocolos de ecocardiografía fetal precoz. ²⁶²

Malformaciones estructurales del Sistema Nervioso fetal.

El diagnóstico de malformaciones del sistema nervioso central en población de bajo riesgo son descritas es de un 45% (50% por vía vaginal) en contraste con el 11% de cardiovasculares, el 15% de las esqueléticas y el 35% de las gastrointestinales. Clásicamente diagnosticables en estadios tempranos han sido: feto acráneo, encefalocele y feto anencefalo, pero esto se ha ido incrementando a lo largo de los años. La tabla 29 muestra la detección de malformaciones del sistema nervioso central en diversos estudios en primer trimestre, comparado con el segundo trimestre. ²⁴³

Autor	Año	N	Semanas	Prevalencia 2° T, N (%)	Criterios inclusión: Población	Detección 1 T, n/N (%)	Detección SNC 2° T, n/N (%)	Detección SNC 1 T, n/N (%)
<i>D'Ottavio et al</i>	1997	3.514	13-15	52 (1,5)	Bajo riesgo	21/52 (40,4)	6/52 (11,5)	4/6 (66,7)
<i>Souka et al</i>	1998	4.116	10-14	188 (4,6)	Alto riesgo	-	22/188 (11,7)	-
<i>Withlow et al</i>	1999	6.443	11-14	63(1,0)	Bajo riesgo	37/63 (58,7)	19/63 (30,0)	16/19 (84,2)
<i>Souka et al</i>	2011	1.320	10-14	200 (15,2)	Alto riesgo	-	18/200 (9,0)	-
<i>Carvalho et al</i>	2002	2.853	11-14	130 (4,6)	Alto	29/130 (22,3)	28/130 (21,5)	9/28 (32,1)
<i>Taipale et al</i>	2003	20.465	10-16	307 (1,5)	Bajo riesgo	35/307 (11,4)	24/307 (7,8)	9/24 (37,5)
<i>Saltvedt et al</i>	2006	18.053	12-14	371 (2,1)	Alto riesgo	74/371 (19,9)	39/371 (8,1)	13/39 (77,8)
<i>Chen et al</i>	2008	7.642	10-14	127 (1,7)	Bajo riesgo	51/127 (40,2)	9/127 (7,1)	7/9 (77,8)
<i>Total</i>		65.879		1.455 (2,2)		253/1.067 (23,7)	169/1.455 (11,6)	62/129 (48,1)

Tabla 29. Detección de malformaciones del sistema nervioso fetal primer trimestre vs segundo trimestre. ²⁴³

La agenesia del cuerpo calloso y la lisencefalia se desarrollan en el segundo trimestre. La hidrocefalia se visualiza gracias la pérdida de la imagen en alas de mariposa. Sólo uno de cada tres defectos del tubo neural es diagnosticado de forma precoz. ²⁶³ El signo de la banana por la herniación del cerebelo aparece a partir de la semana 13-14 y el signo del limón no es claramente visible en primer trimestre. Mangione et al, establece que la ausencia de visualización de la cisterna magna, la ausencia de visualización de la translucencia intracraneal y desplazamiento posterior del tronco cerebral al hueso occipital aplicados conjuntamente, presentan una sensibilidad para el diagnóstico precoz de espina bífida que varía entre el 50-90%. ²⁶⁴ Las tasas de detección de mielomeningocele y espina bífida son aún bajas siendo necesaria la exploración en segundo trimestre. ^{265, 266} La holoprosencefalia presenta tasas diagnósticas cercanas al 100%, al visualizarse pérdida de la línea media y desaparición por tanto de la característica imagen en primer trimestre en alas de mariposa. ²⁴⁸ El síndrome de Dandy-Walker (IV ventrículo quístico, aumento de fosa posterior y aplasia o hipoplasia de vermis cerebeloso), es de difícil diagnóstico en primer trimestre, ya que el vermis comienza su desarrollo en la semana 12 de amenorrea; con lo cual, sólo se establecerá un diagnóstico de sospecha. ²⁴⁸

Es imprescindible por tanto el conocer que en el sistema nervioso central tiene una alta velocidad de desarrollo en el primer trimestre, si la comparamos con el resto de estructuras fetales.

Malformaciones estructurales renales.

La producción urinaria comenzará a partir de la semana 10-11 y la vejiga se hace visible en el 50% de las exploraciones. Sube a un 95% cuando la exploración se realiza en la semana trece de amenorrea. ²⁷¹ Se considera megavejiga cuando el diámetro longitudinal es mayor de 7 mm. La megavejiga se resuelve espontáneamente en alrededor del 90% de los

casos, en el grupo cromosómicamente normal. Por el contrario, en la megavejiga con un diámetro mayor de 15 mm, se asocia con uropatía obstructiva progresiva.²⁶⁷

La sensibilidad diagnóstica de agenesia renal en primer trimestre es baja, del 30% antes de la semana 14 de gestación. El oligoamnios por malformación renal también es infrecuente. Se debe tener en cuenta la confusión durante la exploración de los riñones en primer trimestre con las glándulas suprarrenales. Dado el desarrollo prenatal de cada patología, los riñones poliquísticos, multiquísticos y la uropatía obstructiva alta, no son diagnosticables en primer trimestre.²⁶⁸

Malformaciones estructurales pulmonares fetales

Igual ocurre con la valoración morfológica pulmonar. La malformación adenomatoidea quística y el secuestro pulmonar en caso de patología pulmonar no son diagnosticables en primer trimestre.²⁴⁸ La malformación adenomatoidea quística y el secuestro pulmonar son malformaciones de desarrollo tardío en la gestación, debido al acúmulo de líquido tras ocurrir la fase canalicular del desarrollo pulmonar. Según los estudios revisados, el diagnóstico más precoz publicado es en semana 16 de gestación.²⁶⁹

Anomalías abdominales congénitas fetales.

Según Donnelly²³³ et al, la sensibilidad es baja para hernia diafragmática.²⁴⁸ La herniación de asas es un proceso fisiológico visible en semana 11. Pero existen una serie de signos ecográficos que nos marcan una exploración patológica en primer trimestre, independientemente de la edad gestacional, para fetos con longitud craneocaudal > 45 mm o fetos mayores de 12 semanas de gestación. Presencia de hígado o estómago en el contenido herniado, o cuando el diámetro supera los 7 mm. El onfalocele está muy asociado con y otras malformaciones. La sensibilidad diagnóstica es del 85% y la de la gastrosquisis del 100%.²⁷³

Malformaciones estructurales esqueléticas fetales.

En primer trimestre, es difícil visualizar los defectos labiopalatinos. La nariz y los labios finalizan su desarrollo a las 11 semanas de gestación y el paladar se forma entre las 7 y 12 semanas de gestación. Para facilitar el diagnóstico, Sepulveda et al proponen la visualización del reborde alveolar mediante triángulo retronasal en el plano coronal de la cara fetal: se deben identificar 3 líneas ecogénicas que corresponden al hueso maxilar derecho e izquierdo y al paladar primario.^{264, 270, 271}

1.6.3. SONOEMBRIOLOGÍA EN EL PRIMER TRIMESTRE.

La sonoembriología en primer trimestre describe los cambios del desarrollo embriológico observados en la ecografía del primer trimestre. Entender y conocer el normal desarrollo embriológico y fetal, así como describir la anatomía fetal normal son aspectos esenciales para la valoración de anomalías estructurales congénitas en primer trimestre. La presencia, ausencia o apariencia de determinadas estructuras corresponderán a la normalidad o no según el momento del desarrollo en el que se encuentre el feto.²⁷⁹

En el embrión el cerebro es el primer órgano que se desarrolla, y por tanto, el primer órgano que puede ser evaluado en la ecografía del primer trimestre. Los ventrículos laterales ocupan los hemisferios cerebrales, son alargados e incluyen casi en su totalidad a los plexos coroideos, ecogénicos, originando la característica imagen del SNC en alas de mariposa. El diámetro transversal de los plexos coroideos aumenta de 2 mm en la décima semana de gestación a 5 mm en la semana 13. A partir de la semana 11 se visualizan los hemisferios cerebelosos y el polígono de Willis. El diámetro transversal del cerebelo aumenta conforme aumenta la edad gestacional, de 6 mm a las 10 semanas de gestación a 12 mm a las 14 semanas.²⁷²

El cuerpo calloso comienza su desarrollo a partir de la semana 12 de gestación. La cavidad de tercer ventrículo se hace imperceptible a la vista. El grosor de la corteza cerebral es de 1-2 mm. La ínsula se visualiza como una ligera depresión lateral.²⁷²

El corazón fetal ha finalizado su desarrollo estructural. A partir de las 11 semanas late a 165 latidos por minuto. Los ventrículos, aurículas, tabique interventricular, venas y tractos de salida son identificables. El diámetro de los ventrículos es similar y crece linealmente conforme avanza la gestación (1,5 mm, 11 semanas y 3 mm en semana 14). El corazón ocupa la mitad de la caja torácica, mientras que en el segundo y tercer trimestres ocupa dos tercios de ésta.^{272,273}

La pared abdominal, a excepción de la hernia umbilical fisiológica, finaliza su formación alrededor de las 4-5 semanas de amenorrea. Entre las 7-11 semanas de amenorrea la hernia umbilical regresa a la cavidad abdominal. Se identifican movimientos de deglución. Se puede visualizar el esófago como una doble línea hiperrefringente detrás de la aorta. Puede diferenciarse el diafragma como una línea hipocogénica que separa el tórax de la cavidad abdominal. El tamaño del estómago aumenta hasta unos 2 mm en la semana 12. El diámetro abdominal se correlaciona con la edad gestacional.²⁷²

El árbol bronquial durante la séptima semana de amenorrea está formado, Si bien, la maduración pulmonar se efectúa en fases sucesivas, y no se completa hasta bien avanzada la infancia del sujeto.²⁷³ El riñón fetal, en el primer trimestre es hiperecogénico, durante el segundo y tercer trimestre se visualizan hipocogénicos. El cáliz renal fetal, anecoico con respecto al parénquima; tiene un diámetro máximo de 3 mm en la semana 14. Los riñones no

deben ser confundidos ecográficamente con las glándulas suprarrenales en primer trimestre, más ecogénicas con respecto al riñón.^{274,275}

La vejiga se visualiza ecográficamente a partir de la décima semana de gestación. El riñón fetal inicia su función excretora a partir de la semana novena de amenorrea. Sin embargo, no se refleja la función excretora en el índice de líquido amniótico hasta las doce-trece semanas de gestación.²⁷⁶

La osificación craneofacial ocurre durante el primer trimestre. Se aproximan los puntos de osificación nasal y maxilar localizados lateralmente en la línea media. Los huesos craneales están completamente formados en la undécima semana de gestación. En la semana doce se visualiza sin dificultad la osificación craneal, suturas y fontanelas. Sin embargo el paladar inicia su formación ósea a partir de la séptima semana de gestación y finaliza la osificación completa a finales de semana trece de gestación.²⁷⁶

La nariz y los labios finalizan su desarrollo a las 11 semanas de gestación.²⁷⁸ La osificación de los huesos largos comienza alrededor de la sexta semana de amenorrea pero se hace visible ecográficamente a partir de la novena semana. El mayor cambio ecográfico en el esqueleto óseo fetal ocurre a finales de la décima, principio de la undécima semana, en la que los miembros, manos y pies pueden visualizarse y medirse. Ya en la duodécima semana de gestación se identifican claramente e hiperrefringentes los huesos largos y también se hace visibles las falanges de manos y pies. Los movimientos fetales comienzan en la novena semana de gestación. Al final del primer trimestre comienza la osificación de la caja torácica y las costillas.²⁷⁷

1.6.4. ACTUALIZACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN EN LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ.

El tiempo descrito para la valoración morfológica en primer trimestre varía según los estudios, entre 10 y 30 minutos. Ya en 1998, Withlowand y Economides indican un tiempo necesario de 30 minutos, aunque reconocen haber finalizado gran parte de las exploraciones en 10 minutos.²³⁴ La sensibilidad obtenida en el estudio Eurofetus puede servir de referencia para mejorar la efectividad del cribado ecográfico en otras instituciones sanitarias. Varios son los autores que ha expuesto una metodología de exploración en primer trimestre. La metodología de valoración ecográfica de la anatomía fetal en primer trimestre fue descrita en 2008, establece:²⁶³

- En el *polo cefálico*: la integridad de la osificación de la calota, la presencia de la línea media ecogénica, los ventrículos laterales con los plexos coroideos en su interior con la característica forma en alas de mariposa, la presencia de tálamos, cerebelo y la normalidad de la fosa posterior.

- En la *región cervical*: la medición de la translucencia nucal.
- En la *cara*: la presencia o ausencia de los huesos nasales, la posición correcta de las órbitas y del maxilar y mandíbula con un perfil normal.
- En el *tórax*: la presencia de pulmones e integridad del diafragma. Debe verificarse la frecuencia cardíaca fetal, la posición del corazón fetal a la izquierda y demostrarse la normalidad del corte de cuatro cámaras.
- En el *abdomen*: la presencia del estómago como una estructura anecoica en el cuadrante superior izquierdo, la presencia de ambos riñones como estructuras ecogénicas a ambos lados de la columna y la de la vejiga fetal en la línea media anterior e inferior de la pelvis.
- En la *pared abdominal*: debe verificarse su integridad así como la inserción normal del cordón umbilical
- En la *columna vertebral*: debe comprobarse su integridad en cortes axiales y longitudinales como dos líneas paralelas de focos ecogénicos correctamente alineadas que convergen hacia la región lumbosacra, así como la de la piel del dorso fetal claramente independiente de la pared uterina.
- En las *extremidades*: la presencia de cuatro miembros con sus tres segmentos y la correcta posición de manos y pies.
- En las *gestaciones gemelares*: además debe identificarse la corionicidad y amnionicidad.

Ya en 2012, Santacruz Martín et al ²⁷⁸ publicaron un protocolo de valoración de la anatomía fetal normal en primer trimestre.

El estándar de la ecografía morfológica precoz fue definido por la ISUOG en 2013. Publica un protocolo de valoración anatómica fetal entre las 11-13+6 semanas (tabla 30) recomendando como buena práctica el explicar a la pareja los beneficios y las limitaciones de su realización. Los ecografistas deben participar en actividades de formación continuada, poseer habilidades adquiridas en la detección de malformaciones congénitas y participar en controles de calidad. ²

Área anatómica	Presente y/o normal
Cabeza	Cráneo Línea media Plexos coroideos y ventrículo laterales
Translucencia nucal	Apariencia normal
Cara	Ojos y cristalinos Hueso nasal Perfil y mandíbula Labios
Espina	Columna vertebral (longitudinal y axial) Piel recubriéndola
Pulmones	Áreas simétricas Ausencia de masas y derrame
Corazón	Actividad cardíaca Corte de cuatro cámaras
Abdomen	Estómago en cuadrante izquierdo Vejiga
Pared abdominal	Inserción de cordón umbilical Ausencia de defectos umbilicales
Extremidades	Cuatro miembros con 3 segmentos
Placenta	Apariencia y tamaño
Cordón	Tres vasos

Tabla 30. Valoración anatómica fetal entre las 11 y 13+6 semanas de gestación. ²

La SEGO con respecto a la ecografía morfológica fetal precoz manifiesta una guía de asistencia práctica, donde se define su realización entre las 11-13+6 semanas, el uso de la vía abdominal y vaginal, necesidad de un equipo ecográfico adecuado con Doppler y un tiempo de exploración de 25 minutos. ²²⁹

Ambas guías refieren se debe entregar a la paciente un informe de la ecografía de primer trimestre, adjuntando imágenes que acrediten la exploración y tras un consentimiento, la SEGO refiere pudiera ser genérico de las ecografías a realizar durante la gestación, donde informe de las limitaciones. Ambas reflejan que deben minimizarse los tiempos de exposición, utilizando el principio ALARA (As low as reasonable achievable = tan bajo como sea posible). ²²⁹

1.7. INTEGRACIÓN DEL TPNI COMO MÉTODO DE CRIBADO CONTINGENTE DE CROMOSOMOPATÍAS EN EL CONTEXTO DE UN SISTEMA SANITARIO.

La aparición de técnicas efectivas basadas en DNA fetal libre circulante para detectar trisomía 21 y otras aneuploidías ha ampliado enormemente la gama de pruebas prenatales disponibles los últimos años. Estos test prenatales no invasivos se están incorporando rápidamente en el ámbito del diagnóstico prenatal. Sin embargo, aunque las técnicas no invasivas son altamente eficientes, su rol y desempeño deben ser combinado con otros exámenes.

Las guías clínicas, recomendaciones y consensos de las sociedades científicas de diversos países varían en cuanto a las estrategias de aplicación. En Bélgica proponen aplicación de forma universal, mientras que en Reino Unido se aplica en gestantes con un riesgo mayor de 1:150, como prueba de segundo nivel, o bien de forma alternativa a la técnica invasiva en casos de alto riesgo por diferentes motivos (test de cribado, sospecha ecográfica de aneuploidía, edad materna, embarazo previo), como recomienda la ACOG.^{279, 280, 168}

El papel de la ecografía necesita ser reevaluado a medida que las técnicas prenatales no invasivas van ampliándose. Es importante enfatizar que el objetivo principal es proporcionar información precisa que facilitará el manejo de la gestación, con el mejor resultado posible tanto para la madre como para el feto.

Los padres han de ser informados sobre el rendimiento del cribado, permitiéndoles tomar una decisión informada. La Sociedad Internacional de Ultrasonido en Obstetricia y Ginecología (ISUOG) ha establecido un consenso con respecto a esto.

A todas las pacientes primero se les debe ofrecer una ecografía de primer trimestre de acuerdo con las directrices ISUOG, independientemente de su intención de someterse al TPNI:²

- El asesoramiento previo a la prueba es esencial. Las diversas opciones deben ser explicadas claramente a los pacientes, discutiendo los pros y contras de cada uno, incluyendo el rendimiento esperado de la prueba y posibles efectos adversos.

- Se realizará una exploración temprana, y si ésta es normal (según lo definido por las pautas de la ISUOG), deben considerarse tres opciones para evaluar el riesgo de T21 y en menor medida, T13 y T18:

Opción 1: Estrategias de cribado basadas en el riesgo individual calculado mediante: edad materna, translucencia nucal, marcadores séricos maternos, otros marcadores ecográficos de primer trimestre (para longitud cráneo-caudal que varíe de 45 a 84 mm). Por el momento, la ISUOG respalda esta estrategia. Después de ésta valoración, según el riesgo individual, tendremos la opción de no someternos a más pruebas, realizar un TPNI o bien una prueba invasiva. Los puntos de corte han de definirse tanto a nivel local como a nivel nacional. Dependerán de los recursos disponibles y de las prioridades en lo que a salud pública se refieren.

Opción 2: Pruebas invasivas basadas en riesgos generales, no en riesgo individual (edad materna, historia personal o familiar de aneuploidías).

Opción 3: Test prenatal no invasivo como estrategia de primera línea.

La mayoría de las guías actuales avalan el TPNI solo para poblaciones de alto riesgo. Sin embargo, el TPNI en riesgo intermedio o bajo podría ser aceptado cuando logremos mayor disponibilidad mejorando los datos referidos a la coste-efectividad. ²

- El TPNI no es una prueba diagnóstica ni confirmatoria. Se requiere una prueba confirmatoria en presencia de cualquier resultado anómalo.
- El TPNI no ha sido evaluado extensamente en poblaciones de bajo riesgo, en las que su valor predictivo positivo es más bajo que en las poblaciones de alto riesgo.
- Estimaciones de riesgo del primer trimestre para trisomía 21, 18 y 13 basado en mediciones de translucencia nucal y bioquímica materna no debe ser realizada en una paciente con un TPNI normal.
- El TPNI puede ser discutido como una alternativa a las pruebas invasivas: después de un resultado anómalo en el cribado combinado del primer trimestre, o bien resultados poco tranquilizadores de cribado intermedio.
- El papel del TPNI como alternativa al estándar invasivo: pruebas en pacientes consideradas de alto riesgo después del cribado combinado, pero sin anomalías ecográficas deben ser evaluadas prospectivamente. La opinión de los expertos actualmente sugiere que un TPNI no debe reemplazar las pruebas invasivas en este grupo. Esto se basa en el hecho de que solo el 70% de las anomalías cromosómicas de éste grupo son trisomías 21, 13 o 18. Además, las técnicas de microarrays emergentes pueden proporcionar información adicional clínicamente relevante en algunos casos.
- En presencia de una anomalía estructural fetal, las indicaciones para el cariotipo fetal y / o pruebas de microarrays no debe ser modificado por un resultado normal de un TPNI obtenido previamente.
- Se debe investigar la precisión del TPNI en embarazos gemelares.

- Variaciones en el desempeño del TPNI por diferentes proveedores debe ser investigado más a fondo.
- El llamado ‘sonograma genético’, que incluye buscar marcadores blandos de trisomía 21, no debe realizarse en mujeres con un resultado TPNI normal debido a su alta tasa de falsos positivos y VPP bajo.
- Es técnicamente factible realizar pruebas no invasivas, no solo para trisomías sino también para otros síndromes genéticos. Tanto los proveedores de salud como las pacientes deberían ser claramente conscientes de las pruebas que se realizan y de sus aplicaciones, ya que tener múltiples pruebas puede incrementar la tasa de falsos positivos.
- Es necesario realizar estudios prospectivos financiados con fondos públicos, que evalúen la eficacia en función de los costes, de diversas estrategias de detección.

Existen diversas publicaciones en las que el cribado con DNA libre circulante, en el marco de un cribado contingente, son costo-efectivos (eficientes) en comparación con la estrategia actual de cribado combinado de primer trimestre \geq de 1 en 25.^{11, 69, 281, 282}

En la tabla 31, podemos observar los diferentes puntos de corte que condicionan las tasas de detección y el número de pruebas invasivas a realizar.

Punto de corte (1 en x)	Cribado mediante TN, FCF, PAPP-A y β -hCG			
	DNA-ic	TD T21	TD T18/13	TI
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%

Tabla 31. Porcentaje de población a la que se le ofrece test de DNA libre circulante, tasa de detección y de técnicas invasivas al realizar cribado contingente tras el cribado combinado, teniendo en cuenta las tasas de detección de ambos cribados y la tasa de fallo del DNA libre circulante.¹⁶⁶

En la tabla 32, se refleja la proporción presente, para las diferentes anomalías cromosómicas según los diferentes puntos de corte del cribado combinado (para trisomías 21, 18 y 13).

Punto de corte	Normal	T21	T18/13	Monosomía X	Otras ACS	Triploidía	Otras con riesgo de resultado adverso
Riesgo ≥ 1 en 10	0,5%	75,2%	75,8%	74,0%	3,4%	28,6%	6,8%
Riesgo ≥ 1 en 20	1,1%	81,5%	85,0%	80,0%	4,7%	35,7%	8,0%
Riesgo ≥ 1 en 30	1,6%	83,8%	86,9%	82,0%	5,4%	42,9%	11,1%
Riesgo ≥ 1 en 40	2,1%	85,1%	88,9%	84,0%	6,7%	53,6%	12,3%
Riesgo ≥ 1 en 50	2,6%	86,5%	89,5%	84,0%	7,4%	64,3%	12,3%
Riesgo ≥ 1 en 100	4,6%	90,8%	94,1%	86,0%	8,1%	89,3%	13,0%

Tabla 32. Proporción de las diferentes anomalías cromosómicas según los diferentes puntos de corte del cribado combinado para trisomías 21, 18 y 13.¹⁶⁶

Muy recientemente (2018) se ha elaborado entre un grupo de expertos de la Sección de Ecografía de la SEGO (SESEGO), una estrategia inicial de implementación del DNA libre circulante con la introducción de la técnica de array en nuestro esquema diagnóstico. Una primera opción es ofertarlo a aquellas pacientes cribadas como alto riesgo en la mayoría de los centros españoles (en riesgos ≥ 1 en 250) en un intento de reducir la tasa de técnicas invasivas (más del 70% en nuestro medio) pero sin aumentar la tasa diagnóstica del cribado combinado que tenemos actualmente.¹⁶⁶

Las gestantes con riesgo muy alto (1 en 10), con malformaciones ecográficas ó TN aumentada serían subsidiarias de TI directa por la gran proporción de trisomías encontradas en este grupo (más del 75% de las T21, T18 y T13 presentan un riesgo ≥ 1 en 10) y por la mayor prevalencia de otras anomalías no detectadas mediante análisis de DNA libre circulante. Dentro de este grupo, cuando la QF-PCR sea normal para T21, 18 y 13, aplicar las técnicas de array para así aumentar su rendimiento diagnóstico y que el impacto global de su precio en el coste total del programa de cribado se minimice, convirtiéndola en una técnica muy eficiente.¹⁶⁶

En los grupos de riesgo intermedio (definidos como riesgos entre 1 en 251 a 1 en 1.000) existirían dos posibilidades:¹⁶⁶

- Finalizar el cribado
- Valorar la introducción de marcadores de 2º nivel y ajustar de nuevo el riesgo en función de la razón de probabilidad de cada uno de ellos. Pero para realizar correctamente los marcadores de segundo orden se precisan ecógrafos de alta resolución y ecografistas más expertos en todos los centros. Una de las bases de cualquier cribado poblacional debe ser la equidad entre los centros en los que se realiza y si no es factible hacerlo probablemente no debería formar parte del mismo; aunque este es un punto en discusión.

Realizando un estudio de costes, y valorando la realización del test de DNA libre circulante en 200 euros (por debajo del precio actual de mercado) no parece prudente, en términos económicos, ofrecerlo en riesgos por encima de 1 en 1.000 pues la detección de un caso más de T21 supondría un enorme coste marginal. Para lograr aumentar la TD (una de las principales ventajas del DNA-libre circulante) sería razonable aumentar el punto de corte hasta 1 en 500-1 en 1.000. Pero estos límites son variables en función del precio de los test, de los recursos con los que se cuente (a nivel nacional, de comunidades autónomas o de centro) y de las recomendaciones científicas. Tabla 33.¹⁶⁶

Punto de corte (1 en x)	TFP (%)	TD (%)	n=100,000	T21 n=200		
			€200/test	Detección	€/caso	€/caso extra
100	2,1	85,2	420,000	170	2.470	
500	7,2	92,9	1.440,000	186	7.742	6.3750
1.000	11,9	95,3	2.380,000	190	12,526	235.000
1.500	15,7	96,4	3.140,000	192	16.354	380.000
2.000	19,0	97,1	3.800,000	194	19.588	330.000
3.000	24,3	97,9	4.860,000	196	24.796	530.000
5.000	32,4	98,6	6.480,000	197	32.894	1.620.000
7.000	38,4	99,0	7.680,000	198	38.788	1.200.000
Todos	100	100	20.000,000	200	100.000	6.160.000

Tabla 33. Estudio de costes simplificado de la implementación del test de DNA-1c de manera contingente (según diferentes puntos de corte) en una población de 100.000 gestantes con 200 casos de T21 (prevalencia 1 en 500) y con un precio estimado de 200 euros/test.¹⁶⁶

En primer lugar se aplicará a toda la población diana (todas las gestaciones únicas) un cribado combinado de primer trimestre para seleccionar 4 grupos de riesgo:

- **Muy alto riesgo:** ≥ 1 en 10, malformación ecográfica o $TN \geq 3,5$, Realización de técnica invasiva (biopsia corial de elección). Realizar QF- PCR para T 21, 18 y 13, En caso de T 21 ó 13, realizar cariotipo posterior. En caso de normalidad de QF-PCR con presencia de malformación ecográfica o $TN \geq 3,5$ realizar estudio genético mediante técnica de array. En los casos con riesgo $\geq 1/10$ aislados (no malformación, no T 12,13 ó 18, y no $TN \geq 3,5$) el rendimiento de la técnica de array será mucho menor, por lo que en un entorno de cribado de T 21 sería ineficiente.
- **Alto riesgo:** 1 en 11 -1 en 250. Realizar un segundo test de cribado mediante DNA libre circulante. Si positivo: pasar a grupo de muy alto riesgo. Si negativo: no hacemos nada más.
- **Riesgo intermedio:** > 1 en 250- 1 en 1.000. En ausencia de una política sanitaria común, en este grupo de riesgo intermedio tenemos que valorar nuestros propios recursos (el coste del DNA libre circulante en nuestro centro, la posibilidad de realizar marcadores del segundo trimestre de calidad, el presupuesto o el plan estratégico de nuestra comunidad autónoma para el cribado) y el coste oportunidad, para decidir si parar el cribado o aumentar nuestra tasa diagnóstica.
- **Bajo riesgo:** > 1 en 1.000. Informar del resultado y finalizar estrategia de cribado.

En la figura 3 se resume el protocolo SESEGO de estrategia inicial de implementación del DNA libre circulante como parte de una estrategia de cribado contingente de cromosomopatías.

En cuanto al asesoramiento y consejo prenatal, hemos de tener claro que la información es un derecho fundamental de la persona y jurídicamente exigible, siendo parte de un proceso que promueve los valores fundamentales en las relaciones clínicas.

Toda gestante debe ser informada de la posibilidad de ser incluida en el programa de cribado de cromosomopatías que se desarrolle en el centro. En la información que se le dé durante las diferentes fases del cribado debe constar:

- La fiabilidad e interpretación de resultados del mismo, posibles alternativas y procedimientos que pudieran derivarse del resultado, las técnicas diagnósticas y las posibilidades tras el diagnóstico.
- La información se ha de facilitar en un ambiente adecuado preservando la intimidad y abarcando los contenidos necesarios, comprobando su comprensión, para que tome la decisión.
- La información precibado debe darse antes de las semanas 10-12^a, El asesoramiento puede realizarlo personal sanitario que atienda a la gestante con formación suficiente sobre el método (matrona, médico de atención primaria, obstetra...). Aunque sólo se precisa legalmente consentimiento verbal, éste debe ser registrado en la historia clínica.

Es aconsejable disponer de documentos informativos escritos sobre todas las fases del cribado y que la paciente pueda firmar tanto la entrega de la información como si no desea ser informada de alguno de los resultados del cribado o no desea que se le realice. Si la gestante rechaza el cribado en alguno de sus puntos debe igualmente constar en la historia clínica.

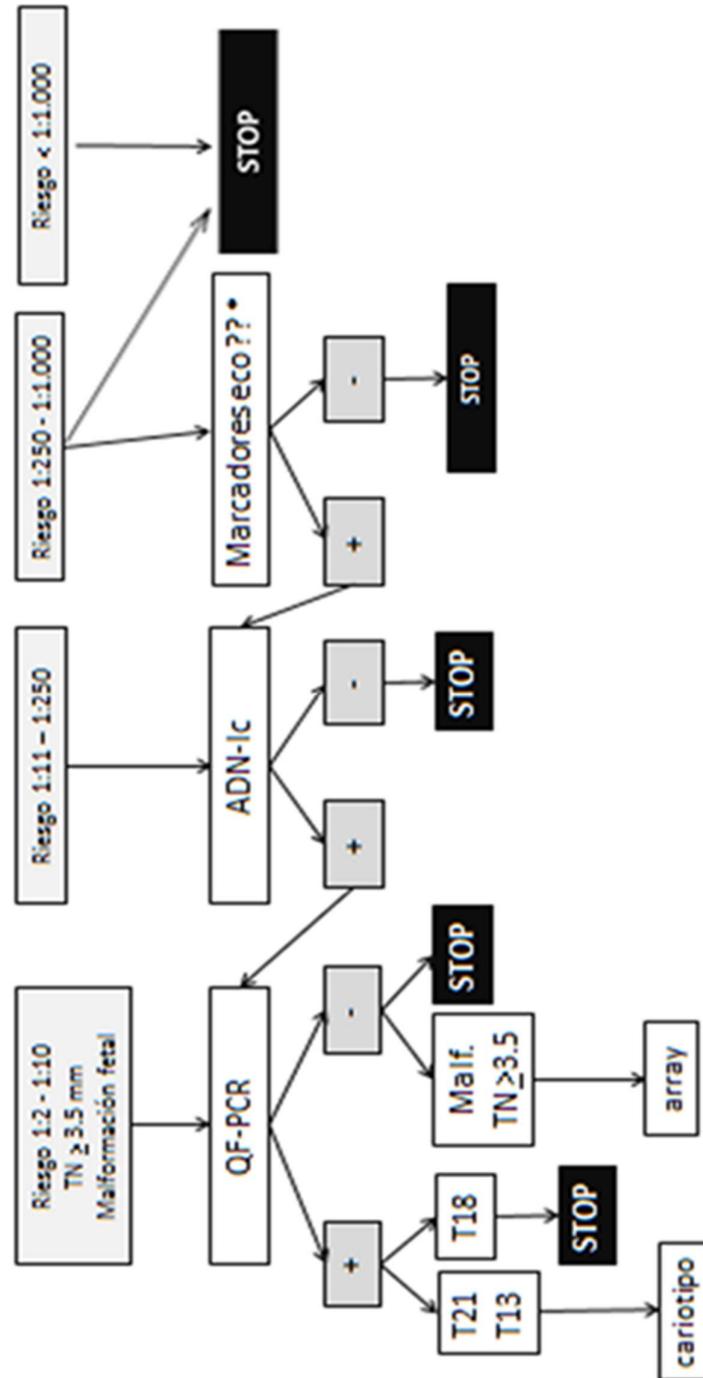
La recomendación del grupo de expertos de la SESEGO es que la información tanto pre como postcribado se proporcione de forma presencial por las implicaciones o dudas que pueda generar y, de forma indispensable, en los casos en los que se deban ofertar pruebas de segunda línea o diagnósticas.

El responsable del asesoramiento postcribado debe tener un buen conocimiento de los métodos de cribado y diagnóstico prenatal, ser capaz de interpretar de forma correcta los informes y poseer las habilidades comunicativas necesarias para tal fin.

Tras el diagnóstico se le deben explicar todas las posibilidades que les ofrece el servicio sanitario en relación con la continuidad del embarazo, incluyendo facilitar contacto con asociaciones específicas; así como la interrupción de la gestación de acuerdo con los

supuestos previstos por la ley. Una vez tomada la decisión en firme, debe proporcionarse toda ayuda necesaria, médica, psicológica y/o asistencia social.

Figura 3. Protocolo SESEGO de estrategia inicial de implementación del DNA libre circulante como parte de una estrategia de cribado contingente de cromosomopatías.¹⁶⁶



2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. HIPÓTESIS.

La ecografía morfológica precoz es útil para obtener unos adecuados resultados en un cribado de cromosomopatías basado en un Test Combinado asociado a la realización de una técnica invasiva o un Test Prenatal No Invasivo como método de comprobación de la existencia de una cromosomopatía.

2.2. OBJETIVOS.

2.2.1. OBJETIVOS PRIMARIOS:

1. Acreditar la capacidad diagnóstica de la ecografía morfológica fetal precoz (12-14 semanas) de las malformaciones estructurales fetales (>80%) en el grupo de alto riesgo de un test combinado como método de cribado de cromosomopatías.
2. Al aplicar un método de cribado de cromosomopatías basado en un test combinado asociado una técnica invasiva o un Test Prenatal No Invasivo como método de confirmación conseguimos :
 - a) Reducir la tasa de realización de técnicas invasivas de un 5% a un 3%
 - b) Mantenemos la tasa de detección de cromosomopatías en un 85%

2.2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS:

1. Constatar que se consigue una instauración universal del test combinado como método de cribado de cromosomopatías manteniendo una sensibilidad mayor del 80% de este método de cribado.
2. Demostrar:
 - a. Que este cribado de cromosomopatías se podría integrar en el control gestacional con un cribado de malformaciones estructurales de garantías con sensibilidad mayor del 80%, como métodos de detección de anomalías congénitas.
 - b. 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.
 - c. Que la tasa de falsos positivos total de cribado de cromosomopatías no supera un 5% de la población cribada.
3. Confirmar que una metodología secuencial, test combinado asociado al sonograma genético modificado presenta una tasa de detección de cromosomopatías mayor del 90%.
4. Evaluar la capacidad identificativa de las estructuras fetales estandarizada en la ecografía morfológica fetal precoz (12-14 semanas), así como valorar los factores que influyen en la capacidad identificativa de las estructuras fetales de dicha ecografía.

3. MATERIAL Y MÉTODO

3.1. MATERIAL.

Se incluyeron 12.650 gestantes con embarazos controlados en el Área Sur de Sevilla pertenecientes a la Unidad de Gestión Clínica del Hospital Universitario de Valme, Realizaron los controles relativos a la gestación entre enero del año 2013 y Diciembre del año 2016.

3.1.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO.

Conjunto de gestantes del Área Sur de Sevilla a las cuales les fue aplicado de forma universal el cribado combinado de primer trimestre incluído en cartera de servicios como parte del protocolo de embarazo parto y puerperio de la Junta de Andalucía. En función del resultado de la misma se realizará una ecografía entre las 12 y las 13+6 semanas, destinada a diagnosticar alteraciones morfológicas.

3.1.1.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Cribado combinado de primer trimestre realizado, con resultado situado en el grupo de alto riesgo (1/270) para trisomía 21 y 1/100 para trisomía 18).
- Gestaciones comprendidas entre las 12+6 - 14+6 semanas de amenorrea.
- Que firmen el consentimiento informado para la realización de Ecografía Morfológica Precoz y/o Test Prenatal No Invasivo (si procediera) tras ser informadas.

3.1.1.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Gestantes que revoquen el consentimiento informado de cribado combinado de primer trimestre.
- Aquellas gestantes a las que se les realice el cribado del segundo trimestre.
- Edad gestacional no comprendida entre las 12+6 y las 14+6 semanas de amenorrea.
- Gestantes que desestimen la realización de Ecografía Morfológica Precoz y/o TPNI (si procediera) tras ser informadas.

3.2. MÉTODO.

En la Unidad de Diagnóstico Prenatal de la Unidad de Gestión Clínica de Obstetricia y Ginecología del H.U. de Valme se aplica como método de cribado de cromosomopatías el cribado combinado de primer trimestre.

3.2.1. PROCEDIMIENTO.

El procedimiento se realizó en los siguientes pasos:

3.2.1.1. RECOGIDA DE DATOS E INCLUSIÓN EN EL ESTUDIO:

Siguiendo el Proceso Integrado de Embarazo, Parto y Puerperio de la Junta de Andalucía, en la primera visita (entre las semanas 9 y 10 semanas de gestación en la consulta de Área de los Centros Periféricos del Área Sur de Sevilla) se procede a informar a la paciente sobre el procedimiento de cribado de cromosomopatías. Para dar constancia de ello, debe quedar por escrito en el consentimiento informado (Anexo 1).

Éstos datos (datos de filiación y características generales) quedan recogidos en tres lugares: programa informático SPACAC, historia clínica de la Paciente (programa informático Estación Clínica) y hoja de cálculo como base de datos del estudio.

3.2.1.2. VALORACIÓN BIOQUÍMICA DEL PRIMER TRIMESTRE:

Toma de muestra de sangre de la gestante, en ella se determinarán dos hormonas: la PAPP-A y la fracción B-HCG.

El plazo de extracción está comprendido entre la 8+0 y la 12+6 semanas, aunque el periodo más adecuado para llevar a cabo la extracción es entre la semana 9 y la 10.

Todas las muestras de sangre extraídas en los puntos de Atención Especializada del Área Sur de Sevilla son enviadas al Servicio de Bioquímica del Hospital de Valme, garantizándose que el transporte se produjo cumpliendo la normativa vigente del transporte de productos sanitarios en carretera, además de en un plazo máximo de 3 horas, con controles óptimos de temperatura.

Se transportó suero a 4°C hasta su procesamiento (realizado entre 24 horas y 72 horas). Se empleó el analizador Immulite 2000 (Siemens Healthcare Diagnostic Germany) y sus correspondientes reactivos (PAPP-A INMULITE 2000, Beta-hCG INMULITE 2000).

El método utilizado para el análisis fue en todos los casos un enzimoimmunoanálisis quimioluminiscente en fase sólida.

3.2.1.3. ECOGRAFÍA DE PRIMER TRIMESTRE NO CENTRALIZADA (PARTE DEL CRIBADO COMBINADO DE PRIMER TRIMESTRE).

Según la técnica recomendada por la Fetal Medicine Foundation, recogida sistemáticamente en la última Guía de Práctica Clínica publicada por la ISUOG relativa a la ecografía de primer trimestre, el objeto de ésta ecografía además de confirmar viabilidad fetal, establecer el número de embriones y la localización de la gestación, medimos la longitud cráneo caudal (CRL) y la translucencia nucal.

Se realiza entre las semanas 11+0 y 13+6 (cuando la medida del CRL se sitúa entre 38 y 84 mm). Es llevada a cabo por obstetras con competencias ecográficas adquiridas en la Unidad de Diagnóstico Prenatal del Hospital de Valme para la realización óptima de ésta técnica.

Para ello, se utilizan los siguientes equipos ecográficos, que se sitúan en Consultas Periféricas del Área Sur de Sevilla (Dos Hermanas, Morón de la Frontera, Lebrija, Alcalá, Los Palacios). Sonda vía abdominal (5 MHz) o por vía vaginal (8 MHz).

- **Toshiba Famio** (Toshiba, Tokio, Japan)
- **Toshiba Nemio** (Toshiba, Tokio, Japan)
- **Toshiba Xario 200** (Toshiba, Tokio, Japan)
- **Sonoline G-40** (Siemens Medical Solutions, Erlangen, Germany)

3.2.1.4. CRIBADO DE SEGUNDO TRIMESTRE. DOBLE TEST.

Para aquellas gestantes que no han podido ser incluidas en el cribado de primer trimestre, por hallarse por encima de 14+0 semanas, se realiza un cribado del segundo trimestre, la extracción se realiza entre las 14+0 y la 20+0.

Se extrae AFP y BHCG, las muestras de sangre extraídas en los puntos de Atención Especializada del Área Sur de Sevilla son enviadas al Servicio de Bioquímica del Hospital de

Valme, cumpliendo la normativa vigente del transporte de productos sanitarios en carretera, en un plazo máximo de 3 horas, con controles óptimos de temperatura.

Se transportó suero a 4°C hasta su procesamiento (realizado entre 24 horas y 72 horas). Se empleó el analizador Immulite 2000 (Siemens Healthcare Diagnostic Germany) y sus correspondientes reactivos (Beta-hCG INMULITE 2000, AFP INMULITE 2000).

El método utilizado para el análisis fue en todos los casos un enzimoanálisis quimioluminiscente en fase sólida

3.2.1.5. INTEGRACIÓN DE DATOS.

Se efectúa en el servicio de bioquímica del hospital a través del software sPACAC versión 2,0 (Sevilla, España), El riesgo individual de una embarazada se estima multiplicando el riesgo a priori debido a la edad materna, por la razón de verosimilitud del perfil de los marcadores empleados (PAPP-A, B-HCG, TN en el test combinado del primer trimestre y AFP, B-HCG en el doble test).

La razón de verosimilitud se expresa como el cociente entre la altura relativa de la curva de la frecuencia de distribución de los afectos de Síndrome de Down y la altura de la curva de los no afectos a nivel del valor discriminante del marcador considerado expresado en forma de MoM.

Los múltiplos de mediana se obtuvieron como el cociente entre el valor medido y la mediana para cada semana de gestación. Los MoM han sido corregidos en función de factores maternos como el peso, tabaquismo, diabetes, gemelaridad, FIV y origen étnico.

Las medianas empleadas se han obtenido de nuestra población de gestantes, ajustándose dichas medianas cada 4-6 meses.

Esto es aplicable a los MoM de PAPP-A, B-HCG y AFP, no así a los de TN ya que estos, en el programa empleado son fijos para cada semana de gestación.

3.2.1.6. TÉCNICA INVASIVA.

En aquellos casos informados como positivos en cribado combinado de primer trimestre, presencia de una alteración morfológica mayor o translucencia nucal aumentada, se le oferta técnica invasiva previo consentimiento informado. (Anexo 2). Se realizará una QF-PCR para T 21, 18 y 13. En caso de T 21 ó 13, realizar cariotipo posteriormente. En caso de normalidad de QF-PCR con presencia de malformación ecográfica o $TN \geq 3,5$ mm realizar

estudio genético mediante técnica de array. El cariotipo fetal se obtiene mediante técnicas de cultivo celular.

3.2.1.7. TEST PRENATAL NO INVASIVO MEDIANTE DNA LIBRE CIRCULANTE EN SANGRE MATERNA.

La muestra de sangre materna para el estudio de DNA libre se realiza entre las 12-15 semanas de gestación y es enviado sin ningún procesamiento adicional a través de mensajería a Madrid para su análisis (Harmony TM Prenatal Test. Ariosa Diagnostics. Inc. San Jose. CA.USA.^{176, 177}

Se realizó un análisis de DNA selectivo de cromosomas utilizando DANSR™ (análisis digital de regiones seleccionadas) e incluyó un ensayo simultáneo basado en microarrays de no polimórficos (cromosomas 13, 18, 21) y loci polimórficos para estimar la proporción de cromosomas y la fracción fetal.

Se utilizó el algoritmo de fracción optimizada de riesgo de evaluación de trisomía FORTE™ (Fetal Fraction Optimized Risk of Trisomy Evaluation) para proporcionar evaluaciones de riesgo específicas para el paciente para las trisomía. Las puntuaciones de riesgo para la trisomía 21, 18 y 13 se representaron en porcentaje y se consideraron de alto riesgo en mayores de 1%.

Desde enero de 2013 a diciembre de 2015 la indicación de la realización de esta prueba prenatal es ofertado por el responsable de la unidad de medicina fetal pero el coste económico es soportado por la gestante; a partir de enero de 2016 la indicación y los gastos económicos se incluyen en el programa de cribado y el TPNI es pagado por este.

En el anexo 4 se adjunta el consentimiento informado.

3.2.1.8. ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ.

Es indicada su realización en caso de un test combinado de alto riesgo (>1/270), en caso de sospecha de malformación estructural en la ecografía del Primer Trimestre, en caso de antecedente de defecto congénito en gestación previa o en caso de padres portadores de defecto congénito.

La evaluación ecográfica es llevada a cabo con el ecógrafo Toshiba Applio 500 con sonda abdominal convexa de 9,2 Mhz, realizada en la Unidad de Diagnóstico Prenatal. El equipo utilizado reunía los estándares recomendados en la Guía de Práctica Clínica publicada en 2013 por la ISUOG sobre evaluación ecográfica en el primer trimestre:

- Tiempo real
- Ecala de grises
- Ultrasonidos en dos dimensiones
- Transductor tanto vaginal como abdominal
- Zoom potente
- Calipers electrónicos
- Capacidad de almacenar e imprimir imágenes
- Realización de servicios de mantenimiento de forma regular

Es realizada por dos ecografistas: uno de ellos con experiencia amplia en evaluación morfológica fetal (más de 5 años) y por otro miembro del personal con experiencia limitada (1 año de experiencia en evaluación morfológica fetal) pero con formación normalizada en evaluación morfológica fetal (nivel 3). Se ajustan las citas a un tiempo medio por ecografía de 20 minutos.

Metodología aplicada en la realización de la Ecografía Morfológica Precoz:

Se lleva a cabo una evaluación ecográfica de la gestación a las 12+6 - 14+6 semanas, La realización de dicha ecografía se somete a los principios de seguridad establecidos por el Safety Statment de la ISUOG siguiendo el principio ALARA (As Low As Reasonably Achivable).

Se evalúan una serie de aspectos generales:

- Confirmar la viabilidad
- Evaluar el número de fetos y en el caso de gestación múltiple la paciente sería exluída del estudio.
- Evaluación de las biometrías fetales (DBP, CC, CA, LF).
- Evaluación de la placentación y líquido amniótico.
- Evaluación de translucencia nual.
- Evaluación morfológica fetal. Para asegurarnos completar todos los ítems utilizamos el método de check-list (Anexo 3), según la Guía de Práctica Clínica publicada por la ISUOG en 2013 así como los estándares de exploración ecográfica en el primer trimestre establecidos en la RCOG, SEGO y PACAC.

3.2.1.9. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

Se establecen puntos de corte para definir los casos:

BAJO RIESGO > 1/270.

Si el resultado es negativo, se deriva al centro de área correspondiente y la paciente es informada a través de la matrona o tocólogo en la semana 16 siguiendo la recomendación del Proceso Asistencial Integrado de Embarazo, Parto y Puerperio. Completamos el cribado de defectos congénitos con la realización de una ecografía morfológica fetal a las 18-22 semanas de gestación. Se realizará, siguiendo el protocolo de control gestacional del RCOG, SEGO y PACAC, una ecografía morfológica fetal a las 18-22 semanas siguiendo las recomendaciones de estas sociedades científicas en cuanto a estructuras que se deben explorar, características técnicas y del personal que debe realizar la ecografía. Se recogerá la información en modelo check-list, previamente a ser informada la gestante y solicitarse consentimiento informado. En caso de ser esta positiva (presencia de malformación mayor) se oferta la realización de una técnica invasiva.

ALTO RIESGO: < 1/ 270.

Si el resultado es positivo, se derivará a la Unidad de Medicina Fetal y Diagnóstico Prenatal realizándose una evaluación ecográfica del riesgo de malformación estructural asociada (ecografía morfológica precoz).

- En caso de ecografía morfológica precoz (EMP) con presencia de alteraciones morfológicas se reclasifica ésta paciente al grupo de muy alto riesgo, como propone la realización de técnica invasiva.

En caso de EMP normal: se propone la realización de una segunda prueba de cribado: evaluación de DNA fetal en sangre materna (Test Prenatal No Invasivo), revocando la realización de técnica invasiva, Para ello, debe firmar la revocación informada. (Anexo 2). Desde enero de 2013 a diciembre de 2015 el coste económico del TPNI lo soporta la gestante, A partir del 1 de enero de 2016 el coste económico se incluyen en el programa de cribado.

- En caso de TPNI con alto riesgo de T21, T13 o T18: reclasificar a ésta paciente al grupo de muy alto riesgo.
- En caso de TPNI con bajo riesgo de T21, T13 o T18, detener aquí el proceso (realizando posteriormente una ecografía morfológica fetal a las 18-22 semanas de gestación, siguiendo el protocolo de control gestacional del RCOG, SEGO y PACAC).

MUY ALTO RIESGO: TPNI de alto riesgo, presencia de malformación estructural o $TN \geq 3,5$ mm.

En estos casos se indica la realización de una técnica invasiva. En caso de aceptar la realización de esta se programa su realización en la Unidad de Medicina Fetal y Diagnóstico Prenatal, y se firmará un consentimiento informado. (Anexo 2)

Se solicita estudio QF-PCR para trisomías 21, 18 y 13. En caso positiva para T-21 ó T-13 se realiza cariotipo. En caso de presencia de malformación estructural o $TN \geq 3,5$ mm se realiza técnica de arrays.

3.2.2. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA.

TIPO DE ESTUDIO.

Realizamos un estudio analítico observacional.

TAMAÑO MUESTRAL.

Para contrastar una disminución de la tasa de falsos positivos del 2% entre el test combinado y la nueva metodología de cribado, en una población de 12.500 son necesarios 821 embarazos sin patologías, asumiendo un error α del 5%, una potencia de la prueba $1-\beta$ del 80% y un porcentaje de pérdida del 10%, Este tamaño muestral sería suficiente para la estimación por intervalos de confianza al 95% de la diferencia de tasas de falsos positivos entre las pruebas diagnósticas, con un valor esperado de la diferencia de tasas del 2% y una precisión del 1%.

De forma análoga, para el análisis de mantener la sensibilidad del método de cribado en un 85% entre el test combinado y la nueva metodología de cribado serían necesarios 21 embarazos con patologías, asumiendo valores de α del 5%, una potencia de la prueba $1-\beta$ del 80% y un porcentaje de pérdida del 10%, Este tamaño muestral sería suficiente para la estimación por intervalos de confianza al 95% de la diferencia de sensibilidades entre las pruebas diagnósticas, con un valor esperado de la diferencia de sensibilidades del 20% y una precisión del 10%.

El tamaño muestral fue determinado con el programa nQuery Advisor 7.0.

ANÁLISIS DESCRIPTIVO.

Las variables cuantitativas se resumieron con medias y desviaciones típicas o, si las distribuciones presentaban una acentuada asimetría, con medianas y percentiles (P25 y P75), mientras que las variables cualitativas se describieron con frecuencias y porcentajes.

ANÁLISIS INFERENCIAL.

Para la evaluación de los test de cribado (test combinado y modelos contingentes) determinamos estimaciones puntuales y por intervalos de confianza al 95% de la sensibilidad, especificidad, proporción de falsos positivos, proporción de falsos negativos, así como los valores predictivos positivos y negativos y razones de verosimilitud para resultados positivos y negativos.

Para la comparación de la tasa de falsos positivos y la sensibilidad entre los test, se utilizó el test de McNemar para la comparación de dos proporciones en muestras apareadas. Este resultado se complementó 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 crecimiento de los valores de la sensibilidad.

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

4. RESULTADOS

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

El Área Sur de Sevilla comprende los municipios de: Alcalá de Guadaíra, Dos Hermanas, El Arahál, Lebrija, Los Palacios y Villafranca, Morón de la Frontera, El Viso del Alcor y Mairena del Alcor, Se compone de un total de 385.382 habitantes (datos del censo municipal del año 2011), con un número de ingresos hospitalarios en embarazo, parto y puerperio superior a 5.000 pacientes y una media de 3.115 partos anuales.

Hemos analizado los datos perinatales correspondientes a las gestantes de nuestro área sanitaria durante el periodo de tiempo comprendido entre Enero del año 2013 y Diciembre del año 2016, Durante este tiempo ha habido un total de 12.650 gestaciones con 12.948 neonatos, En la tabla 34 se exponen los datos globales referentes a las gestaciones acontecidas en este periodo de tiempo en nuestro centro hospitalario.

Número de Gestaciones	12.650
Número de Gestaciones Gemelares	298 (2,36%)
Edad Media de las Gestantes	30,03 +/- 5,3(14-47)
Edad Gestacional Media al Parto	39,17 +/-1,6 (25-45)
Tasa de Parto Prematuro:	
<37 semanas	7,1%
<32 semanas)	1,2%
Tasa de Cesárea	22,3%
Tasa de recién nacidos con peso \leq 2,500g	4,31%
Tasa de recién nacidos con peso \leq 1,000g	0,30%
Número de recién nacidos vivos	12.803
Número de recién nacidos muertos	40
Número de interrupción voluntaria del embarazo	105

Tabla 34. Resultados obstétricos en el Hospital Universitario de Valme entre Enero del 2013 a Diciembre de 2016.

De las 12.650 gestaciones ocurridas, 12.352 (97,64%) han sido gestaciones únicas y 298 (2,36%) han sido gestaciones múltiples. En cuanto a la vía de finalización del parto, el 55,6% se realizó de forma eutócica, el 22,1% fue vaginal operatorio y el porcentaje de cesáreas fue de 22,3 %.

La edad media de las gestantes ha sido de 30 años. Se ha observado un 16,8% de mujeres con edad igual o mayor de 35 años, un 5,4% mayor o igual a 38 años y un 1,8% de mujeres mayores de 40 años.

La edad gestacional media al parto es de 39,1 semanas. El 92,9% de las gestaciones finalizan entre las 37 y 42 semanas, y el 7,1% antes de las 37 semanas (pretérmino). La estratificación de recién nacidos según la edad gestacional al parto es la siguiente:

- Finalización <28 semanas: 0,2%,
- Finalización entre 28 y 31+6 semanas: 0,4%,
- Finalización entre 32 y 33+6 semanas: 0,6%,
- Finalización entre 34 y 36+6 semanas: 5,9%,
- Finalización a partir de semana 37: 92,9%,

De los datos de los recién nacidos destacamos los siguientes: el 95,7% de los neonatos tenían un peso superior a los 2.500 gr y el 4,3% tenían un peso inferior o igual a dicha cifra. El 0,30% eran recién nacidos con muy bajo peso, es decir, por debajo de los 1.000 grs.

Del total de 12.650 gestaciones, 298 (2,36%) presentaban algún tipo de defecto congénito (malformación estructural y/o cromosomopatía). Si tenemos en cuenta el número total de fetos (n= 12.948), la prevalencia es de 2,31% para el mismo número de casos. Hubo 105 casos de interrupciones voluntarias del embarazo (IVE) (45 por malformación estructural y 61 por cromosomopatías).

El total de recién nacidos vivos fue de 12.803 y la prevalencia de defectos congénitos en este grupo es del 1,51% (194 casos).

Se han contabilizado 64 casos de cromosomopatías, lo que supone el 21,47% de los defectos congénitos y su prevalencia es de 0,50%.

La prevalencia de malformación estructural es de 1,85% (234 casos). Como ya hemos comentado, del número total de IVE durante este período (105 casos), 45 han sido por malformación estructural, lo que supone un 42,8% de las mismas. La prevalencia de las malformaciones estructurales en el total de recién nacidos es de 1,50% (189 casos). Si tenemos en cuenta el número total de fetos (n: 12.948), la prevalencia es del 1,45% para el mismo número de casos.

Durante este periodo, del total de 12.461 gestaciones, en el 0,27% de los casos no ha sido posible la realización de la ecografía morfológica; y en el 3,3% de las gestantes ha sido necesaria la repetición de la ecografía con posterioridad por no haber sido efectuado el estudio morfológico completo en la semana 20.

El número de malformaciones estructurales que hemos diagnosticado prenatalmente, es decir, la sensibilidad de la ecografía para la detección de defectos congénitos es de 79,77%. En la tabla 35 vemos reflejada la tasa de diagnóstico o de casos verdaderos positivos (sensibilidad), la tasa de falsos negativos (aquellos fetos portadores de alguna malformación y que no hemos diagnosticado por ecografía en periodo prenatal) y la tasa de falsos positivos (entendida estadísticamente como aquellos fetos sanos que detectamos como enfermos, del total de la población sana).

Nº total Malformaciones Estructurales	TASA V+ (total fetos afectados)	TASA F- (total fetos afectados)	FALSOS+ (total población sana)
234	187 (79,92%)	47 (20,08%)	4 (0,31%)

Tabla 35. Sensibilidad, tasa de falsos negativos y tasa de falsos positivos de la ecografía para la detección de malformaciones estructurales.

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

Durante el periodo de estudio, la prevalencia de cromosomopatías en nuestra población de gestantes es de 0,50% (64 casos en total). Si tenemos en cuenta que el 95% de estos casos son gestaciones interrumpidas, la prevalencia de cromosomopatías en recién nacidos es de un 0,031%. La cromosomopatía más frecuente es el Síndrome de Down (T-21), que supone un 76,5% del total de las mismas (49 casos). En la tabla 36 se recoge la distribución de las cromosomopatías en el periodo de estudio. Del total de cromosomopatías 63 casos aparecieron en gestaciones simples y hubo un solo caso de trisomía 18 en una gestación gemelar.

Tipo de cromosomopatía	Número/Total (%)
T-21	76 (%)
T-18	10 (%)
T-13	6 (%)
45X0	4 (%)
Otros	1 (%)
Total	100 (%)

Tabla 36. Distribución de las cromosomopatías en el periodo de estudio.

En el periodo de estudio, se ha ofertado el cribado de cromosomopatías a 12.461 gestantes, es decir, el 98,50% de la población; y no ha sido ofrecido al 1,50% restante. Del total de la población cribada 12.282, se ha realizado un TC en el 98,42% de los casos (12.088 pacientes) y un doble test (DT) en el 1,38% (194 casos). El 1,43% de las gestantes (179 casos) han revocado el consentimiento informado para la realización del cribado de cromosomopatías (gráfica 1).

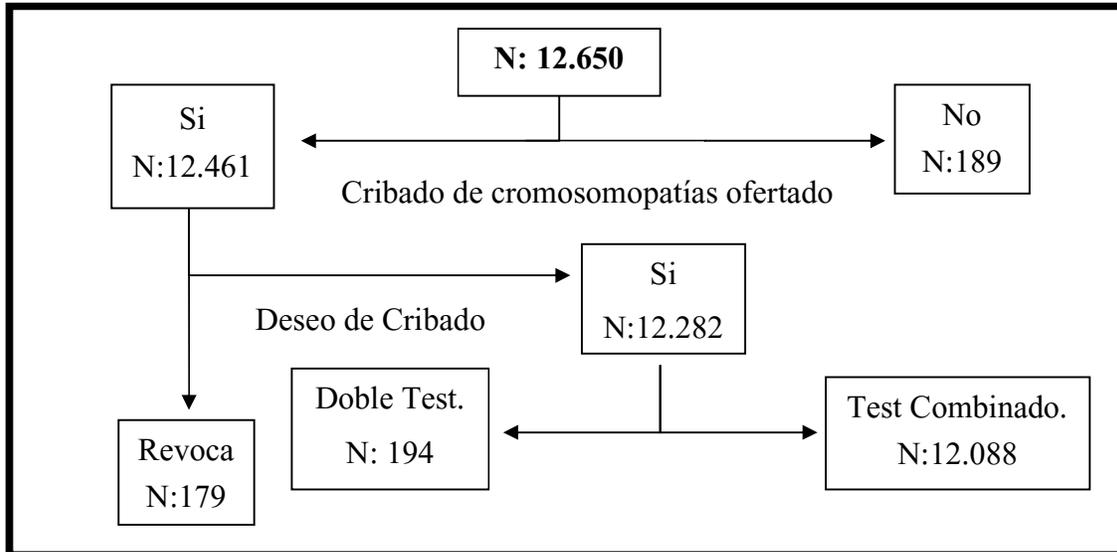
De las 64 cromosomopatías, 1 casos de T-21 y 1 de T-18 se incluyen en el grupo de gestantes que revocaron el cribado de cromosomopatías, 1 casos de T-21 se incluyen en el grupo de cribado bioquímico del segundo trimestre. En el grupo de TC se incluyen 47 casos de T-21, 6 casos de trisomía 18 (T-18) (1 caso en una gestación gemelar), 4 casos de T-13, 3 casos de síndrome de Turner y 1 casos de trisomía 16. En la figura 4 se realiza una descripción de la distribución de gestantes según el cribado de cromosomopatías ofertado.

El TC 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 ha sido 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 Prisca-s PACAC (gráfica 2).

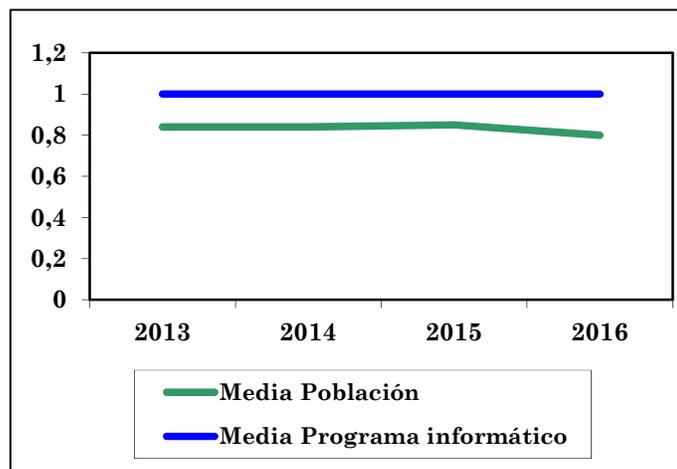
Gráfica 1. Tasa de Cobertura del Cribado de Cromosomopatías en %.



Figura 4. Distribución del cribado de cromosopatías en el grupo de estudio, (N:12.650).

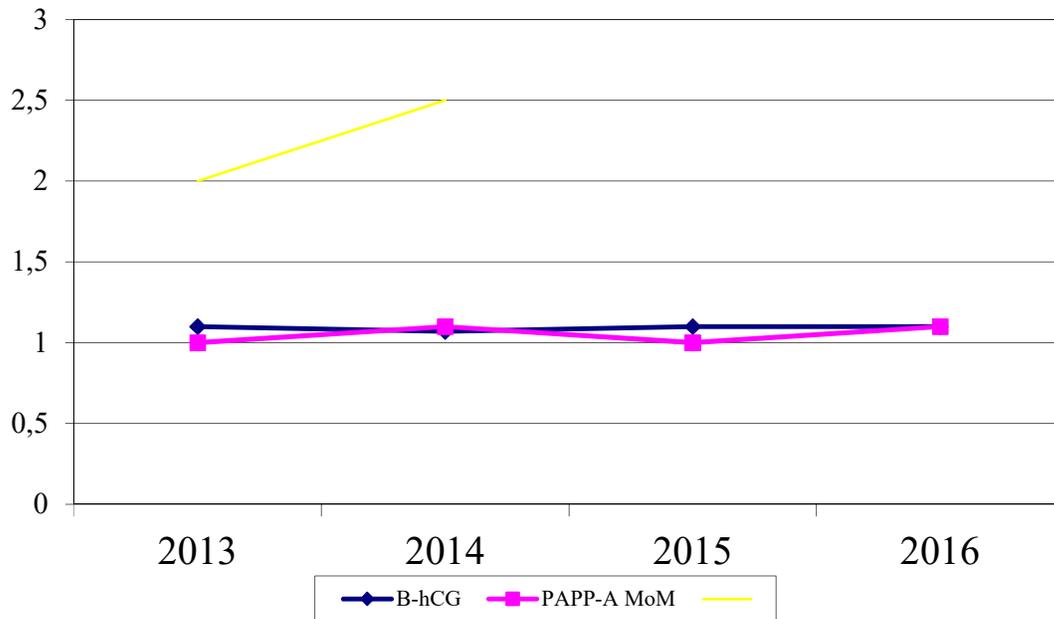


Gráfica 2. Media (MoM) de la TN durante el período de estudio.

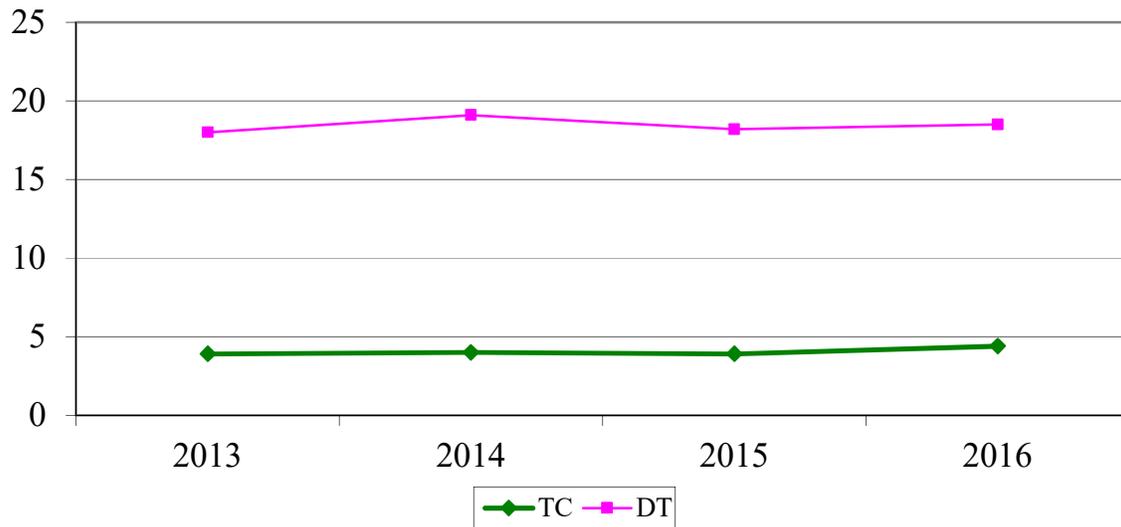


En cuanto a los valores de los marcadores bioquímicos, en las siguientes gráficas se ven reflejadas las medias de la B-HCG y las de la PAPP-A corregidas a sus MoM (gráfica 3), las medias sin corregir (gráfica 4) en los distintos años del periodo de estudio.

Gráfica 3. Medias de la fracción B-HCG y de la PAPP-A corregidas a MoM.



Gráfica 4. Distribución por trimestres de los resultados positivos de la combinación de los datos ecográficos con los bioquímicos para la trisomía 21 (%).



Durante el periodo de estudio se han observado 64 cromosomopatías de las cuales han aceptado un cribado de cromosomopatías 62. El test combinado o con el doble test ha identificado prenatalmente 53 casos de las cromosomopatías (82,8% del total de cromosomopatías y un 85,4% del total de cromosomopatías cribadas). De los 49 casos de trisomía 21 se diagnosticaron con el test combinado o con el doble test 41 casos (83,6% del total de cromosomopatías y un 85,4% del total de cromosomopatías cribadas).

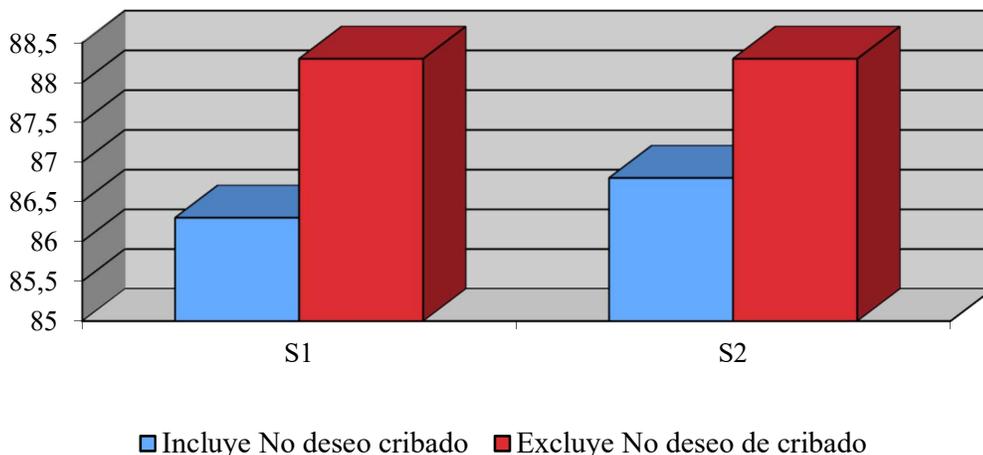
En la tabla 37 se expone los datos del cribado de los casos de trisomía 21. En la tabla 38 los datos del cribado de las cromosomopatías diferentes a la trisomía 21.

El test combinado para trisomía 21, ha obtenido una sensibilidad del 85,1% (40/47) para la trisomía 21 y del 85,2% (52/61) para todas las cromosomopatías. En la gráfica 5 se resumen las tasas de diagnóstico del test combinado, para trisomía 21 y cromosomopatías en general.

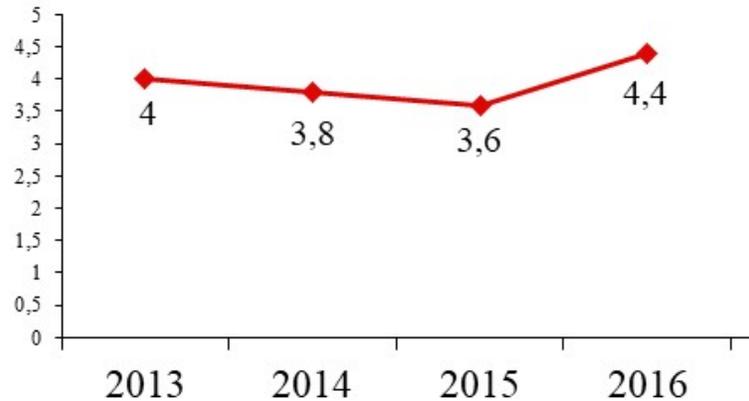
La tasa media de falsos positivos del test combinado en el periodo de estudio es de un 4,0% (483/12.088). En la gráfica 6 presentamos la tasa de falsos positivos distribuida por años de estudio.

Gráfica 5. Resumen de las tasas de diagnóstico de TC para trisomía 21 y cromosomopatías en general.

S1: Sensibilidad del TC para T-21, S2: Sensibilidad del TC para todas las cromosomopatías.



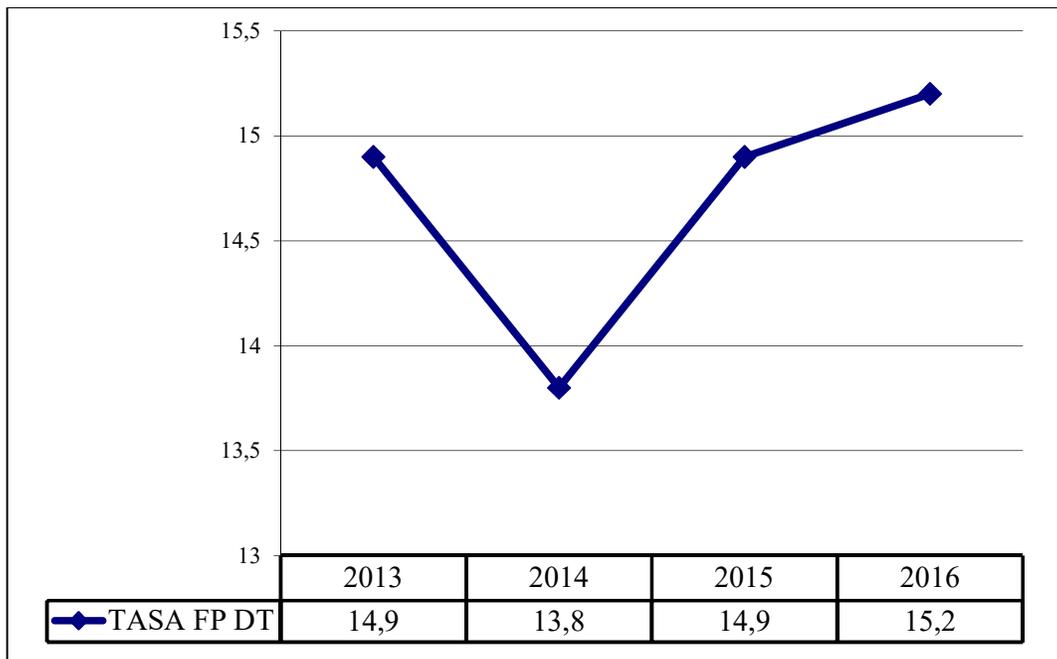
Gráfica 6. Evolución de las medias anuales de tasa de falsos positivos del test combinado.



En cuanto al doble test, durante el período de estudio la media de los cribados de este tipo realizados es de 1,57% (194 casos). En aquellas gestantes en las que se ha aplicado el doble test, se han observado 1 casos de trisomía 21 que fue diagnosticado con el doble test.

La tasa de falsos positivos para el doble test ha sido del 14,1% (27) y ha seguido la evolución que se muestra en la gráfica 7.

Gráfica 7. Evolución de la tasa (%) de FP del doble test por trimestres.



RESULTADOS

ID	Edad (años)	Riesgo Edad	β -CG (MoM)	PAPP-A (MoM)	Riesgo Bioquímico	CRL (mm)	TN (mm)	Riesgo Test Combinado	Cariotipo	Evolución	Observación	EG*, Diagnóstico ecográfico
1	39	96	0,14	1,74	3	50	2,4	2	47,XY,+21	IVE	Higroma Quístico	14+3
2	43	39	0,64	0,40	889	65	1,9	1.538	47,XX,+21	IVE	Canal AV	13+5
3	43	41	2,25	1,88	125	72	4,5	20	47,XY,+21	IVE	Hidrops	13+0
4	34	301	0,2	0,85	31	45	1,7	31	47,XY,+21	IVE		
5	38	113	0,53	0,46	145	67	3,1	148	47,XY,+21	IVE	Dandy Walker + CIV	13+6
6	32	496	0,32	1,18	149	59	1,1	855	47,XX,+21	IVE	Dandy Walker	20+1
7	37	137	0,63	2,32	37	69	7		47,XX,+21	IVE	Hidrops	13+2
8	39	76	0,54	2,72	11	59	1,6	32	47,XY,+21	IVE		
9	40	65	0,66	0,95	346	60	1,7	346	47,XY,+21	IVE	T,Fallot, Derrame Pericárdico	14+3
10	38	99	2,8	1,45	12	73	3,3	3	47,XY,+21	IVE		
11	24	1.331	0,27	0,61	1.851	53	1,1	8.952	47,XY,+21	IVE	Pies Zambos Bilateral	19+6
12	38	95	0,87	1,89	11	57	5,4	2	47,XX,+21	IVE	Edema Nucal	13+6
13	31	636	0,24	2,14	20	65	0,9	124	47,XX,+21	IVE		
14	39	93	0,23	1,51	8	45	3,2	2	47,XX,+21	IVE	Malformación MMII	13+1
15	35	269	0,3	3,57	3	60	3,6	2	47,XX,+21	IVE		
16	44	36	0,33	3,08	2	76	3,5	55	47,XX,+21	IVE		
17	41	55	0,2	0,75	20	61	1,8	50	47,XY,+21	IVE	Co Aorta	13+5
18	29	975	1,08	0,39	30.471	55	1,3	80.437	47,XY,+21	IVE	DSVD	20+1
19	37	90	0,53	4,11	6	51	2,1	4	47,XX,+21	-		Confirmación RN
20	39	93	0,24	1,27	8	45	3,0	2	47,XX,+21	IVE		
21	36	187	0,65	1,33	211	68	2,6	147	47,XX,+21	IVE		
22	36	168	0,26	4,04	2	52	1,6	5	47,XY,+21	IVE	D, Walker	15+3
23	25	1266	0,26	1,69	83	63	1,3	467	47,XY,+21	IVE	HipoVízq	14+4
24	39	78	0,2	0,92	19	81	1,5	78	47,XX,+21	IVE	CIV	14+3
25	38	169	0,2	3,31	2	63	1,2	7	47,XX,+21	IVE	Canal AV	13+6
26	36	167	1,04	5,0	29	64	2,3	26	47,XY,+21	IVE	CIV	14+0
27	38	109	0,2	2,48	3	77	4,0	6	47,XY,+21	IVE	Ausencia de H,Nasal	14+5

Tabla 37 (A), Casos de Trisomía 21, Resultado del Riesgo del Test Combinado y Doble Test (parte 1).

UTILIDAD DE LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ EN LA APLICACIÓN DE
CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS MEDIANTE DNA FETAL EN SANGRE MATERNA

ID	Edad (años)	Riesgo Edad	β -CG (MoM)	PAPP-A (MoM)	Riesgo Bioquímico	CRL (mm)	TN (mm)	Riesgo Test Combinado	Cariotipo	Evolución	Observación	EG*, Diagnóstico ecográfico
28	41	54	0,33	1,72	7	58	4,2	2	47,XX,+21	IVE	Canal AV	13+0
29	37	152	0,46	1,44	81	46	4,5	2	47,XX,+21	IVE	CIV	14+0
30	36	220	0,72	3,04	38	64	3,9	2	47,XX,+21	IVE		
31	42	44	0,74	1,43	55	71	2,8	31	47,XY,+21	IVE	Ausencia de H,Nasal	14+5
32	23	1.389	0,46	0,9	2.327	60	1,3	9.143	47,XY,+21			
33	36	224	0,21	0,63	164	61	2,2	207	47,XY,+21	IVE		
34	37	143	0,4	1,54	36	65	1,7	108	47,XY,+21	IVE		
35	41	58	0,31	0,9	65	58	2,0	79	47,XY,+21	IVE	Ventriculomegalia	14+1
36	33	422	1,39	1,17	3.699	67	4,7	77	47,XY,+21	IVE	Micrognatie, Ausencia de H, Nasal	14+0
37	34	318	0,66	1,52	236	45	0,9	1521	47,XX,+21			
38	36	207	0,26	2,01	9	57	1,3	49	47,XX,+21	Aborto Diferido		Restos abortivos
39	44	34	0,16	3,75	2	65	1,6	2	47,XX,+21	IVE	CIV + Displasia Tricuspídea	13+5
40	39	79	0,35	2,18	7	46	3,2	2	47,XY,+21	IVE	Higroma Quístico+ Canal AV	13+2
41	34	355	0,16	1,74	7	52	2,1	6	47,XX,+21	IVE		
42	37	137	0,21	2,24	4	69	3,1	2	47,XX,+21	IVE		
43	36	224	0,2					207	47,XX,+21	IVE		
44	37	143	0,33	1,34	36	65	1,7	108	47,XY,+21	IVE	CC, Displasia Tricuspídea	14+1
45	39	82	0,33	5,0	2	61	4,7	2	47,XX,+21	IVE	Hidrocefalia	14+4
46	41	58	0,51	2,0	65	64	1,27	79	47,XY,+21	IVE	Polimalformado	13+3
47	44	34	0,2	3,7	2	65	1,6	2	47,XX,+21	IVE	Hipoplasia Vlzqu	14+6
48	34	355	0,2	1,89	7	2	2,1	6	47,XX,+21	IVE	Onfalocele + Hidrops	14+3
49	46	31					2,2		47,XX,+21	IVE	CC,Derrame P+ Ausencia H,Nasal	13+5

Tabla 37 (B). Casos de Trisomía 21, Resultado del Riesgo del Test Combinado y Doble Test (parte 2).

RESULTADOS

NºID	Edad (años)	Riesgo Edad	B-HCG' (MoM)	PAPP-A (MoM)	Riesgo Bioquímico	RL (mm)	N (mm)	Riesgo Test Combinado	Riesgo Test Combinado 13-18	Cariotipo	Evolución	Observación	Diagnóstico ecográfico
1	36	265	1,28	0,41	118	45	5,3	2	2	45,XO	IVE	Higroma Quístico	14+1
2	30	821	0,47	0,27	571	55	4,0	37	2	45, XO	IVE		
3	35	244	0,51	0,44	100	49	5,0	2	2	47,XX,+13	IVE	Hidrops Fetal	13+5
4	29	1.066	2,8	0,69	171	77	6,0	32	3	45,XO	IVE		
5	36	219	0,75	0,18	23	53	1,8	223	100	47,XX,+16	IVE	Retromicrognatic	14+2
6	35	333								47,XX,+18	IVE	Polimalformado	19+3
7	36	231	1,5	0,8	13.625	68	1,5	77.399	191.147	47,XY,+13	IVE	Polimalformado	16+0
8	37	162	0,55	0,69	805	58	1,6	12.445	13.052	47,XY,+18	IVE	Hidrops Fetal, Malposición MMII	20+1
9	38	110	0,54	0,4	97	49/52	5,0/1,2	2	2	47,XX,+18	IVE Selectivo		
10	42	54	0,3	0,4	11	48	1,1	148	175	47,XY,+18	IVE	Onfalocle	14+2
11	27	182	0,31	0,22	12	68	1,7	153	100	47,XX,+13	IVE	Polimalformado	13+2
12	38	125	0,3	0,2	2	47	1,0	16	24	47,XY,+18	IVE	D,Walker	13+2
13	43	3	0,64	0,2	3	57	7,0	2	2	47,XX,+18	IVE	Hidrops+ Hipoplasia VI	14+6
14	37	65	1,55	1,3	7.171	47	7,0	2	2	47,XY,+13	Aborto Diferido		
15	38	100	0,3	0,4	20	63	3,5	2	2	47,XY,+18	IVE	Polimalformado	13+0

Tabla 38. Otros casos de Trisomía 21, Resultado del Riesgo del Test Combinado y Doble Test.

4.3. CRIBADO DE CROMOSOMOPATIAS EN FORMA SECUENCIAL.

En la tabla 39 se exponen el número de gestantes y casos de cromosomopatías a las que se les realiza como segundo paso del cribado de cromosomopatías un sonograma genético modificado (precoz y a las 20 semanas)

	No deseo de cribado de cromosomopatías	Doble Test	Test combinado	Cribado de cromosomopatías no ofertado
Nº de casos a los que se le realiza SGM	907	191	12.007	181
Nº de Casos Perdidos	3	2	41	8
Nº de Cromosomopatías	2	0	11	0
Nº de Casos de SGM positivo	8	4	69	3
Nº de cromosomopatías con SGM positivo	2	0	9	0

Tabla 39. Evaluación del sonograma genético modificado en la población de estudio.

En las tabla 40 y 41 presentamos los resultados del sonograma genético modificado en el grupo de T-21 y otras cromosomopatías que no han sido diagnosticadas con el test combinado y con el doble test.

ID	Edad (años)	Riesgo Edad	β -hCG* (MoM)	PAPP-A (MoM)	Riesgo Bioquímico	CRL (mm)	TN (mm)	Riesgo Test Combinado	Cariotipo	Evolución	Observación	Diagnóstico ecográfico
6	32	496	0,32	1,18	149	59	1,1	855	47,XX,+21	IVE	Dandy Walker	20+1
9	40	65	0,66	0,95	346	60	1,7	346	47,XY,+21	IVE	T,Fallor, Derrame Pericárdico	14+3
11	24	1.331	0,27	0,61	1.851	53	1,1	8.952	47,XY,+21	IVE	Pies Zambos Bilateral	19+6
18	29	975	1,08	0,39	30.471	55	1,3	80.437	47,XY,+21	IVE	DSVD	20+1
23	25	1.266	0,26	1,69	83	63	1,3	467	47,XY,+21	IVE	HipoVizq	14+4
32	23	1.389	0,46	0,9	2.327	60	1,3	9.143	XY,+21			
37	34	318	0,66	1,52	236	45	0,9	1.521	47,XX,+21			
49	46	31					2,2		47,XX,+21	IVE	CC,Derrame P+ Ausencia H,Nasal	13+5

Tabla 40. Casos diagnosticados y no diagnosticados de Trisomía 21 con el Sonograma Genético Modificado. Se incluyen los casos de gestantes con Trisomía 21 que revocaron el cribado de cromosopatías.

ID	Edad (años)	Riesgo Edad	B-HCG* (MoM)	PAPP-A (MoM)	Riesgo Bioquímico	CRL (mm)	TN (mm)	Riesgo Test Combinado	Riesgo Test Combinado 13-1	Cariotipo	Evolución	Observación	Diagnóstico ecográfico
6	35	333								47,XX,+18	IVE	Polimalformado	19+3
7	36	231	1,5	0,8	13.625	68	1,5	77.399	191.147	47,XY,+13	IVE	Polimalformado	16+0
8	37	162	0,55	0,69	805	58	1,6	12.445	13.052	47,XY,+18	IVE	Hidrops Fetal, Malposición MMII	20+1

Tabla 41. Casos diagnosticados con el sonograma genético modificado de otras cromosopatía diferente a la trisomía 21.

El cribado secuencial para trisomía 21, ha obtenido una sensibilidad del 95,8% (46/48) para la trisomía 21 y del 96,7% (60/62), para todas las cromosopatías. Si se incluyen 2 casos de cromosopatías (1 de T-21 y otro de T-18) que se presentaron en gestantes que no desearon cribado, la tasa de diagnóstico para T-21 es del 95,9% (47/49) y para todas las cromosopatías del 96,8% (62/64).

La tasa de falsos positivos del modelo secuencial es de un 4,7% (594/12650).

En la tabla 42 se exponen los motivos del Sonograma Genético Modificado indicativo de la realización de una técnica invasiva (caso positivo).

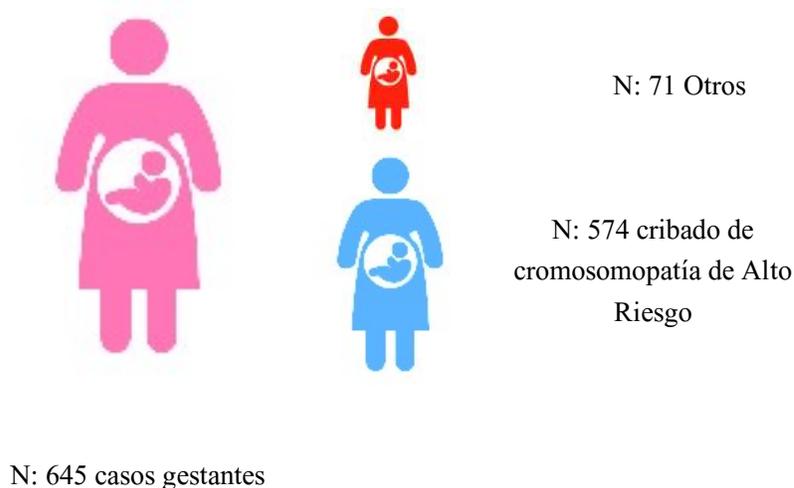
Sistema Malformativo	Número
Sistema Nervioso Central	10
Cara-Cuello	2
Sistema Cardiovascular	30
Hernia Diafragmática	2
Pared Abdominal Anterior	4
Tracto Gastrointestinal	2
Renal	4
Malformaciones multiples malformations, hidrops	13
Edema Nucal/T.Nucal	2/15

Tabla 42. Casos positivos en el sonograma genético modificado, Indicaciones de Técnica invasiva por sonograma genético modificado (N, 84 casos).

4.4. ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ, DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y ECOGRÁFICOS.

Se ha realizado una ecografía morfológica precoz a 645 gestantes pertenecientes al área sur de Sevilla. De los 645 casos, 574 han sido por presentar un cribado de cromosopatías de Alto Riesgo (5 casos perdidos), 33 casos se han realizado por sospecha ecográfica de malformación estructural fetal en la ecografía del primer trimestre, 30 han sido por antecedente de defecto congénito en gestación previo y 4 casos de defecto congénito en los progenitores (gráfica 8).

Gráfica 8. Población de estudio.



De las 574 gestaciones con cribado de cromosopatías de Alto Riesgo es con un Test Combinado de Alto Riesgo en un 95,2% (546 casos) y un Doble Test en un 4,8% (28 casos), En 12 casos los cribados de cromosopatías de Alto Riesgo ha sido en una gestación gemelar.

En la tabla 43 y tabla 44 se describen los datos gestacionales y datos ecográficos de la población general estudiada y clasificada según riesgo de defecto congénito.

		Población General N: 645	Cribado Cromosomopatía AR N: 574	Otros N: 71	P
Paridad	Primípara	406 (62,9%)	367 (63,9%)	44 (61,9%)	NS
	Múltipara	239 (37,1%)	207 (36,1%)	27 (38,1%)	NS
Edad media (años)		32,23 (DS=5,58)	34,01 (DS=4,49)	31,30 (DS=5,48)	NS
Edad min-max (años)		15-47	15-47	25-42	NS
Peso medio (kg)		66,55 DS=12,23)	64,97 (DS=11,05)	65,34 (DS=12,40)	NS
Peso min-max (kg)		43-120	45-91	43-120	NS
Talla media (cm)		162,84 (DS=6,36)	162,85 (DS=10,25)	163,15 (DS=5,48)	NS
Talla min-max (cm)		110-185	110-185	148-183	NS
IMC medio		25,17 (DS=5,05)	25,35 (DS=8,01)	25,23 (DS=4,41)	NS
IMC min-max		16,01-46,87	16,71-45,92	15,89-46,77	NS

Tabla 43. Ecografía morfológica precoz. Características de la población de estudio.

		Población General N: 645	Cribado Cromosomopatía AR N: 574	Otros N: 71	P
Duración eco (minutos)		18,23 (DS=6,21)	17,92 (DS=5,21)	18,65 (DS=6,20)	NS
Duración eco Max-min (min.)		4-40	8-30	4-40	
Condiciones técnicas de la ecografía	Buena	522 (80,9%)	461 (80,3%)	61 (85,9%)	NS
	Intermedia	12 (1,9%)	8 (1,3%)	4 (5,6%)	
	Mala	111 (17,2%)	105 (18,2%)	6 (8,5%)	
Placenta localización 1	Anterior	374 (58%)	331 (57,9%)	43 (60,5%)	NS
	Posterior	232 (36%)	213 (36,9%)	19 (26,7%)	
	Lateral	22 (3,4%)	15 (2,8%)	7 (9,9%)	
	Fondo	17 (2,6%)	15 (2,4%)	2 (2,9%)	
Placenta localización 2	Normoinserta	541 (83,8%)	475 (82,7%)	66 (93,9%)	NS
	Marginal	45 (7,1%)	43 (7,4%)	2 (2%)	
	Oclusiva	59 (9,1%)	56 (9,7%)	3 (4%)	
Líquido amniótico	Normal	641 (99,5%)	571 (99,4%)	70 (99,9%)	NS
	Oligoamnios	4 (0,5%)	3 (0,6%)	1 (0,1%)	
Peso fetal estimado (gramos)		91,23 (DS=15,20)	92,14 (DS=16,51)	90,71 (DS=15,04)	NS

Tabla 44. Ecografía morfológica precoz. Características de la prueba ecográfica en la población a estudio.

	CONCLUYENTES (N 550)	NO CONCLUYENTES (N 95)	p
PRIMIPARA	412(74,9%)	70(73,6%)	NS
EDAD MATERNA	29,4±4,9	31,4±5,5	NS
IMC	23,0±6,0	38,9±5,9	p<0,05
DURACIÓN ECO (minutos)	18,2±5,2	20,2±5,5	p<0,05
PESO FETAL ESTIMADO (gramos)	92,1±14,9	83,7±5,9	p<0,05

Tabla 45. Datos técnicos de la exploración ecográfica morfológica precoz evaluados según si las gestaciones han sido desde el punto de vista ecográfico como concluyente o no, Índice de Masa Corporal, duración de la exploración ecográfica, condiciones técnicas, edad gestacional y peso fetal P<0,05.

De las 645 gestaciones exploradas, 550 fueron concluyentes, el 85,2%; y 95 fueron no concluyentes, el 14,8% del total de exploraciones (Tabla 45).

GESTACIONES	12+6-13+2 (111)	13+3-13+6s (484)	14-14+6s (204)
GESTACIONES CONCLUYENTE N=550	66(12%)	341(62%)	143(26,0%)
GESTANTES NO CONCLUYENTES N=95	26(27,1%)	48(50,8%)	21(22,1%)

Tabla 46. Distribución por semanas de gestación.

Del total de gestaciones concluyentes (550), 66 de ellas (el 12%) se realizaron entre la 12+6 y la 13+2, 341 de ellas (62%), entre la 13+3 y la 13+6. 143 gestaciones concluyentes (26%) entre la 14+0 y la 14+6 (Tabla 46).

SISTEMAS NO CONCLUYENTES	12+6-13+2s(N 26)	13+3-13+6s(N 48)	14-14+6s(N 21)
CABEZA/SNC	5(19,2%)	12(25,0%)	4(19,0%)
COLUMNA VERTEBRAL/DORSO	2(7,6%)	2(4,1%)	0
CARA	5(19,2%)	7(14,5%)	5(23%)
EXTREMIDADES	0	0	0
ABDOMEN/ PARED ANTERIOR	6(23,0%)	15(31%)	1(4,7%)
CORAZON/ GRANDES VASOS	20(76,9%)	33(68,7%)	14(66,6%)
TORAX/PULMONES/ DIAFRAGMA	3(11,5%)	12(25%)	2(9,5%)

Tabla 47. Distribución de las Gestaciones no concluyentes por semanas de gestación de exploración y sistema orgánico fetal no concluyente, N Total 95, N entre 12+6-15 s.

En la tabla 47 se resumen las gestaciones no concluyentes. Del total de gestaciones no concluyentes distribuidas por semanas de gestación, encontramos: en el grupo de las 26 gestaciones de 12+6 y 13+2 sa, un 76% (3 casos) corresponde al corazón/grandes vasos, un 23% (6 casos) en abdomen y pared anterior, un 19.2% a cabeza y SNC (5 casos), un 19,2% también en la cara, para tórax y diafragma encontramos un 11,5% (3 casos), columna vertebral y dorso un 7,6% (2 casos).

En el grupo de 13+3 y 13+6, el 68,7% (33 casos) corresponde al grupo de corazón y grandes vasos, un 31% (15 casos), abdomen y pared, el 25% (12 casos), SNC y cabeza. Para tórax, pulmone sy diagrafma, un 25% (12 casos). Para la cara, encontramos 7 casos (14,5%), y para la columna vertebral/dorso, tenemos 2 casos (4,1%).

En el grupo de 14+0 y 14+6 semanas de gestación, el 66,6% (14 casos), corresponde al grupo de corazoón y grandes vasos. El 23% (5 casos) corresponde a la cara. En cabeza y SNC encontramos 4 casos (19%). En tórax, pulmones y diafragma encontramos un 9,5& (2 casos) y 1 caso (4,7%) para abdomen y pared anterior.

4.5. ECOGRAFIA MORFOLÓGICA PRECOZ, IDENTIFICACIÓN DE MALFORMACIONES FETALES PRECOCES. DESCRIPCIÓN.

En el grupo de estudio de ecografía morfológica precoz, 645 casos, ha habido una tasa de malformaciones estructurales del 8,9% (58 casos). En el grupo de cribado de cromosomopatías de alto riesgo hay un total de 39 casos de malformaciones estructurales fetales, prevalencia de 6,7% (37 de 574 casos). En el otro grupo de estudio hay un total de 19 casos de malformación estructural fetal.

La evaluación morfológica precoz ha identificado 52 de las 58 malformaciones estructurales (89,6%) en este grupo de estudio. Tabla 48.

No se ha identificado 6 casos de malformaciones estructurales fetales con la ecografía morfológica precoz. En el grupo de alto riesgo de cromosomopatía no se ha identificado un caso de malformación pulmonar fetal, un caso de displasia renal, un caso de labio leporino y un caso de comunicación interventricular. En el otro grupo de estudio no se ha identificado con la ecografía morfológica precoz un caso de ventriculomegalia cerebral fetal. Tabla 49.

La ecografía morfológica fetal precoz en este grupo de estudio ha presentado 3 casos de falsos positivos, siendo 2 casos de sospecha comunicación interventricular y 1 caso de sospecha de labio leporino. Tabla 50.

UTILIDAD DE LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ EN LA APLICACIÓN DE
CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS MEDIANTE DNA FETAL EN SANGRE MATERNA

CASOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Edad (años)	39	43	36	38	37	35	40	38	39	36
Paridad	3	2	1	1	1	2	3	1	1	2
Cribado	AR	BR	AR	AR	AR	AR	BR	AR	AR	AR
IMC	19	29	24	24	20	18	29	18	21	30
Tiempo Eco (min)	20	12	18	20	20	15	12	21	10	18
C Técnicas	BUENA	MALA	BUENA	MALA	BUENA	BUENA	BUENA	BUENA	MALA	MALA
Edad ecográfica media (semanas)	14+3	13+5	14+1	13+6	13+2	13+5	14+3	13+6	13+1	14+2
Peso fetal			115	102	98	90	96	89	81	108
Sistema	PIEL	CARDÍACO	PIEL	SNC (DTN) CARDIO	PIEL/OTROS	PIEL/OTROS	CARDIACO	PIEL	MIEMBROS	PIEL/OTROS
Eurocat	Otras malf, Cong, de la piel	Otros Defectos Congénitos Cardíacos	Otras malf, Cong, de la piel	SNC (DTN) Defectos congénitos cardíacos	Otras malf, Cong, de la piel	Otras malf, Cong, de la piel	Defectos congénitos cardíacos	Otras malf, Cong, de la piel	Otras malformaciones congénitas de las extremidades	Otras malf, Cong, de la piel
Malformación	Higroma Quístico	Canal AV	Higroma Quístico	Anomalia Dandy-Walker CIV	Hidrops	Hidrops	T, Fallot Derrame Pericárdico	Edema Nucal	Manos en Garra Talipes Equinovaros	Micrognatie Ausencia de Hueso Nasal
Exploración concluyente	Si	Si	Si	No concluye cara	Si	SI	Si	Si	Si	Si
Patológica 1T	Si	Si	Si	Si	Si	SI	Si	Si	Si	Si
Eco 20	-	-	-	-	-	-	Si: confirma,	Si: confirma,	-	-
Evolución	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE
Cariotipo	T-21	T-21	S,Turner	T-21	T-21	T-13	T-21	T-21	T-21	T-16
Anatomía patológica	Confirma malformación	No AP	No AP	Confirma malformación	Confirma malf,parcial	Confirma malf,parcial	Confirma malform,		Confirma malformación	Confirma malformación
RN	-	-		-	-	-	-	-	-	-

Tabla 48.(A). Descripción de las malformaciones estructurales fetales identificadas por la ecografía morfológica fetal. (Parte 1).

CASOS	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Edad (años)	41	41	35	25	34	29	39	38	36	42
Paridad	3	1	2	1	3	1	1	1	2	1
Cribado	AR	AR	BR	BR	BR	BR	AR	AR	AR	AR
IMC	25	26	20	24	18	20	22	20	27	29
Tiempo Eco (min)	15	22	18	15	25	15	15	14	20	23
C Tecnicas	MALA	BUENA	BUENA	BUENA	MALA	BUENA	BUENA	BUENA	BUENA	MALA
Edad ecográfica media (semanas)	13+5	14+1	13+5	14+4	15+1	13+3	14+3	13+6	14	14+2
Peso fetal	91	97	93	95	110	89	103	90	94	102
Sistema	CARDIACO	SNC (DTN)	EXTEMIDADES	CARDIACO	URINARIO	CARDIACO EXTEMIDADES	CARDIACO	CARDIACO	CARDIACO	PARED ABDOMINAL
Eurocat	Defectos congénitos cardíacos	SNC (DTN)	Otras malformaciones congénitas de las extremidades	Defectos congénitos cardíacos	Sistema Urinario	Defectos congénitos cardíacos Otras malformaciones congénitas de las extremidades	Defectos congénitos cardíacos	Defectos congénitos cardíacos	Defectos congénitos cardíacos	Pared Abdominal
Malformacion	Coartación Aorta	Ventriculomegalia	Ausencia/Hipoplasia de Cúbito-Radio	Ventrículo Izquierdo Hipoplásico	Agenesia Renal Bilateral	Hipoplasia de V Derecho Malposición de Manos y Pies	CIV	Canal AV	CIV	Onfalocelo
Exploración concluyente	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí
Patológica 1T	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Eco 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Evolución	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE
Cariotipo	T-21	T-21	Normal	T-21	Normal	Normal	T-21	T-21	T-21	T-18
Anatomía patológica	No AP	Confirma malf, parcial	Confirma malf,	Confirma malform,	Confirma malf,	Confirma malf,	Confirma malform,	Confirma malform,	Confirma malf,parcial	Confirma malform,
RN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 48. (B). Descripción de las malformaciones estructurales fetales identificadas por la ecografía morfológica fetal. (Parte 2).

UTILIDAD DE LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ EN LA APLICACIÓN DE
CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS MEDIANTE DNA FETAL EN SANGRE MATERNA

CASOS	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
Edad (años)	39	32	38	41	36	37	37	42	44	38	36
Paridad	1	2	2	3	1	1	3	2	1	2	2
Cribado	AR	BR	AR	AR	BR	AR	BR	AR	AR	AR	BR
IMC	20	16	28	22	18	29	22	20	23	30	24
Tiempo Eco (min)	20	22	20	21	15	25	15	20	15	20	18
C Técnicas	BUENA	BUENA	BUENA	BUENA	BUENA	MALA	BUENA	BUENA	BUENA	MALA	BUENA
Edad ecográfica media (semanas)	13+2	14+1	14+5	13+0	14+3	14+0	15+1	14+5	14+6	13+2	16+0
Peso fetal	98	103	110	82	110	92	116	110	125	92	192
Sistema	CARDIACO EXTEMIDADES	PIEL/OTROS	PIEL/OTROS	CARDIACO	SNC (DTN)	CARDIACO	EXTEMIDADES	PIEL/OTROS	CARDIACO	SNC (DTN)	CARDIACO SNC (DTN)
Eurocat	Defectos congénitos cardíacos Otras malformaciones congénitas de las extremidades	Otras malf, Cong, de la piel	Otras malf, Cong, de la piel	Defectos congénitos cardíacos	SNC (DTN)	Defectos congénitos cardíacos	Otras malformaciones congénitas de las extremidades	Otras malf, Cong, de la piel	Defectos congénitos cardíacos	SNC (DTN)	Defectos congénitos cardíacos SNC (DTN)
Malf,	Truncus CIV Talipes Equinovaros	Hidrops	Ausencia de Hueso Nasal	Canal AV	Holoprosencefalia	CIV	Artrogriposis	Ausencia de Hueso Nasal	H,V,Izquierdo	Anomalia Dandy-Walker	Hipoplasia Vderecho Holoprosencefalia
Exploración concluyente	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Patológica IT	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Eco 20	-		Sí: confirma	-	-	Sí: confirma	-	-	-	-	-
Evolución	IVE	Aborto	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE
Cariotipo	T13	Normal	T-21	T-21	Normal	T-21	Normal	T-21	T-21	T-18	T13
Anatomía patológica	Confirma malf,parcial	-	-	Confirma malform,	-	-	Confirma malform	-	Confirma malform,		Confirma malf
RN	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-

Tabla 48. (C). Descripción de las malformaciones estructurales fetales identificadas por la ecografía morfológica fetal. (Parte 3).

CASOS	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
Edad (años)	33	44	33	36	39	30	37	39	41	43
Paridad	2	3	1	2	1	1	1	2	2	3
Cribado	AR	AR	BR	BR	AR	BR	AR	AR	AR	AR
IMC	28	28	20	18	23	24	25	22	27	23
Tiempo Eco (min)	10	15	10	20	33	20	20	20	15	18
C Tecnicas	MALA	BUENA	BUENA	BUENA	MALA	MALA	BUENA	BUENA	MALA	BUENA
Edad ecográfica media (semanas)	14+0	13+5	15+1	-	13+2	12+6	14+1	14+4	13+3	14+6
Peso fetal	84	82	120	-	80	70	92	108	82	121
Sistema	PIEL/OTROS	CARDIACO	SNC (DTN)	SNC (DTN) CARDIACO	CARDIACO PIEL/OTROS	EXTREMIDADES	CARDIACO	SNC (DTN)	SNC (DTN) CARDIO	CARDIACA PIEL
Eurocat	Otras malf. Cong. de la piel	Defectos congénitos cardíacos	SNC (DTN)	SNC (DTN) Otras malf. Cong. de la piel	Otras malf. Cong. de la piel Defectos congénitos cardíacos	Otras malformaciones congénitas de las extremidades	Defectos congénitos cardíacos	SNC (DTN)	SNC (DTN) Defectos congénitos cardíacos	Defectos congénitos cardíacos congenitas de la piel
Malformacion	Micrognatie Ausencia de Hueso Nasal	CIV Displasia Tricuspídea	Hidrocefalia	Anomalia Dandy-Walker Labio Leporino	Canal AV Higroma Quístico	Manos en Garra Talipes Equinovaros	Displasia Tricuspídea	Hidrocefalia	Anomalia Dandy-Walker CIV Polimalformado	Hipoplasia Vlzquierdo Hidrops
Exploración concluyente	Si	Si	Si	Si	No: SNC, Urinario	No	Si	Si	Si	Si
Patológica IT	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Eco 20 s	-	-	-	-	Si: patológica	-	Si: patológica	-	-	-
Evolucion	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	-	IVE
Cariotipo	T-21	T-21	Normal	Normal	T-21	Normal	T-21	T-21	T-21	T-18
Anatomía Patológica	-	Confirma malformación	Confirma malformación	Confirma malformación	Confirma malformación	Confirma malformación	-	-	Confirma malformación	Confirma malformación
RN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 48. (D). Descripción de las malformaciones estructurales fetales identificadas por la ecografía morfológica fetal. (Parte 4).

UTILIDAD DE LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ EN LA APLICACIÓN DE
CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS MEDIANTE DNA FETAL EN SANGRE MATERNA

CASOS	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
Edad (años)	36	35	34	32	38	21	46	30	34	43	27
Paridad	2	1	1	2	3	1	2	1	2	3	1
Cribad	BR	BR	AR	BR	AR	BR	AR	AR	AR	AR	BR
IMC	24	20	18	28	20	18	22	21	25	23	
Tiempo Eco (min)	25	20	20	25	13	21	12	10	20	15	18
C Técnicas	BUENA	BUENA	BUENA	MALA	BUENA	BUENA	MALA	MALA	BUENA	MALA	BUENA
Edad ecográfica media (semanas)	14+5	13+5	14+3	15+0	13+4	13+6	13+5	12+1	15+3	13+0	14+3
Peso fetal	118	92		125	90	89		61	155	82	102
Sistema	CARDIACO	SNC (DTN)	Piel Defecto de pared abdominal	URINAR.	SNC (DTN) CARDIACO	CARDIACO	CARDÍACO	SNC (DTN) CARDIACO	SNC (DTN)	PIEL/OTROS	CARDIACO
Eurocat	Defectos congénitos cardíacos	SNC (DTN)	PIEL DEFECTO DE PARED ABDOMINAL	Sistema Urinario	SNC (DTN) Defectos congénitos cardíacos	Defectos congénitos cardíacos	Otros Defectos Congénitos Cardíacos	SNC (DTN) Defectos congénitos cardíacos	SNC (DTN)	Otras malf, Cong, de la piel	Defectos congénitos cardíacos
Malformación	Canal AV	Espina Bífida	Hidrops Onfalocele	Megavejiga	Espina Bífida Coartación Aorta CIV	Estenosis Pulmonar CIV	Derrame Pericardico H,V,Izq	Espina Bífida Coartación Aorta CIV	D, Walker	Hidrops	Asimetría cardoaca CIV Amplia
Exploración concluyente	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Patológica IT	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Eco 20 semanas	Sí: patológica	Sí: patológica	-	-	-	Sí:confirma,	-	-	-	-	Sí: T,Fallot,
Evolución	IVE	IVE	IVE	IVE	IVE	-	IVE	IVE	IVE	IVE	-
Cariotipo	Normal	Normal	T-21	Normal	T-18	Normal	T-21	Normal	T-21	T-21	Normal
Anatomía patológica	Confirma malformación	Confirma malformación	Confirma malformación	Confirma malf,	Confirma malformación	Confirma malformación	No AP	Confirma malformación	Confirma malformación	No AP	Confirma malformación
RN	-		-	-	-	Patología cardíaca	-	-	-	-	Patología cardíaca

Tabla 48. (E) .Descripción de las malformaciones estructurales fetales identificadas por la ecografía morfológica fetal. (Parte 5).

CASOS	1	2	3	4	5	6
Edad (años)	32	41	36	38	32	25
Paridad	2	2	1	1	1	1
Cribado	AR	AR	AR	AR	AR	BR
IMC	19	28	24	24	20	18
Tiempo Eco (min)	20	15	18	20	20	15
C Técnicas	BUENA	MALA	BUENA	MALA	BUENA	BUENA
Edad ecográfica media (semanas)	14+4	13+4	14+1	13+1	13+2	13+5
Peso fetal	118	98	115	91	94	98
Sistema	PULMON	CARDÍACO	SNC (DTN)	CARDIO	URINARIO	SNC (DTN)
Eurocat	Otras malf, Cong, Del pulmón	Otros Defectos Congénitos Cardíacos	SNC (DTN)	Defectos congénitos cardíacos	Sistema Urinario	SNC (DTN)
Malformación	Malformación Quística Pulmonar	CIV	Anomalia Dandy-Walker	T.Fallot	Displasia Renal	Ventriculomegalia
Exploración concluyente	Sí	Sí	No	No concluye cara	Sí	SI
Patológica IT	No	No	No	No	No	No
Eco 20 semanas	Sí, Se identifica	Sí, Se identifica	Sí, Se identifica	Sí, Se identifica	Sí, Se identifica	Sí, Se identifica
Evolución	-	-	IVE	-	-	IVE
Cariotipo	Normal	Normal	-	Normal	Normal	-
Anatomía patológica	No AP	No AP	No AP	Confirma malformación	Confirma malf,parcial	Confirma malf,parcial
RN	Patología Pulmonar	Patología Cardiaca		Patología Cardiaca	Patología Renal	-

Tabla 49. Descripción de las malformaciones estructurales fetales no identificadas por la ecografía morfológica fetal.

UTILIDAD DE LA ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ EN LA APLICACIÓN DE
CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS MEDIANTE DNA FETAL EN SANGRE MATERNA

CASOS	1	2	3
Edad (años)	27	33	37
Paridad	2	2	1
Cribado	AR	AR	AR
IMC	19	22	28
Tiempo Eco (min)	20	25	20
C Técnicas	BUENA	BUENA	BUENA
Edad ecográfica media (semanas)	14+4	13+4	14+1
Peso fetal	118	98	115
Sistema	CARDÍACO	CARDÍACO	PIEL/OTROS
Eurocat	Otros Defectos Congénitos Cardíacos	Otros Defectos Congénitos Cardíacos	Otras malf, Cong, de la piel
Malformación	CIV	CIV	-Labio Leporino
Exploración concluyente	Sí	Sí	Sí
Patológica 1T	Sí	Sí	Sí
Eco 20	No, Se identifica	No, Se identifica	Sí, Se identifica
Evolución	-	-	.
Cariotipo	Normal	Normal	Normal
Anatomía patológica	No AP	No AP	No AP
RN	-	-	

Tabla 50. Descripción casos de ecografía morfológica fetal falsamente positivas.

4.6. TÉCNICAS INVASIVAS EN EL CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS. EVOLUCION HISTORICA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE VALME.

En la tabla 51 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 2008 hasta el 2016.

En el periodo de estudio de enero del 2013 a diciembre de 2016 hay que añadir un total de 84 técnicas invasivas debido a la sospecha ecográfica de una malformación en la ecografía morfología fetal (precoz y de 20 semanas).

Desde el año 2013 se informa de la posibilidad de realización de TPNI en caso de evaluación morfológica fetal precoz normal y desde el 2016 se oferta de la posibilidad de realización de TPNI en caso de evaluación morfológica fetal precoz normal.

En la tabla 51 se expresan las Técnicas Invasivas y tasa de revocaciones realizadas desde el año 2008 hasta el 2016. Han disminuido en total un 52%.

	CRIBADO POSITIVO	TÉCNICA INVASIVA (%)	REVOCACIÓN TÉCNICA INVASIVA		
			Número (%)	Motivo	
				No deseo	DNA Fetal
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	128	35(22,5%)	8	27
2014	159	128	31(19,4%)	5	26
2015	129	103	26(20%)	4	22
2016	136	75	61(44,8%)	0	61

Tabla 51. Técnicas Invasivas y tasa de revocaciones realizadas desde el año 2008 hasta el 2016.

4.7. CRIBADO DE CROMOSOMOPATIAS EN FORMA CONTINGENTE. PRIMER PASO: TEST COMBINADO O DOBLE TEST. SEGUNDO PASO: ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA FETAL ASOCIADO A TEST PRENATAL NO INVASIVO, TC-SGP- TPN.

De los 12.282 casos cribados en la población de estudio han dado un paso de cribado positivo 579 (4,7% de la población). A 574 casos se les ha aplicado una evaluación morfológica precoz (5 casos perdidos) y ha resultado de alto riesgo 35 casos. En 71 casos del grupo de bajo riesgo del primer paso también se les ha aplicado una evaluación morfológica precoz y han resultado de alto riesgo en 20 casos. En total se ha ofertado una técnica invasiva con este modelo secuencial de cribado a 55 casos por malformación estructural fetal y a 15 casos por presentar una translucencia nucal mayor de 3,5 mm (total 70 casos, lo que supone un 0,5% de la población de estudio).

De los 49 casos de T-21 en 32 casos no se ha ofertado TPNI por presentar en la valoración ecográfica precoz la sospecha de una malformación fetal (24 casos en el grupo de alto riesgo en el test combinado y 4 en el grupo de bajo riesgo en el test combinado con sospecha en la ecografía del 1 trimestre de una malformación) o una translucencia nucal mayor de 3,5 mm (4 casos), 6 casos de T-21 se han diagnosticados por realización directa de técnica invasiva sin desear realizarse un TPNI aunque se había ofertado, 4 casos de T-21 se han diagnosticado en el grupo de oferta de TPNI, 5 casos de T-21 no se han identificado con esta metodología contingente (3 casos de T-21 se identifican por malformación estructural en la ecografía de las 20 semanas). Tablas 52, 53 y 54.

Este modelo de cribado presenta una sensibilidad para T-21 de 91,8% (45/49).

De los 15 casos de otras cromosomopatías no se ha ofertado TPNI a 12 casos por presentar una valoración morfológica precoz la sospecha de una malformación fetal (8 casos

en el grupo de alto riesgo en el test combinado y 1 en el grupo de bajo riesgo en el test combinado con sospecha en la ecografía del 1 trimestre de una malformación) o una translucencia nucal mayor de 3,5 mm (3 casos), 1 caso ha sido un aborto diferido y solo un caso se ha identificado por la presencia de una malformación estructural a las 20 semanas. Este modelo de cribado presenta una sensibilidad para otras cromosomopatías diferente a la T-21 de un 93,3% (14/15).

Este modelo secuencial de cribado presenta una sensibilidad global de un 92,1% (59/64) para una tasa de falsos positivos de un 0,1% (13 casos).

En nuestro grupo de estudio hemos obtenido una sensibilidad global de un 89,0% (57/64 casos) con una tasa de realización de técnica invasiva de un 3,1% (382/12.282).

De este modelo de cribado han aceptado la realización de un TPNI en vez de una técnica invasiva en caso de primer paso del cribado positivo un 19,6% (113/574) y se han identificado 3 casos de T-21, que se han confirmado con técnica invasiva posteriormente.

Se ha pasado de una tasa de realización de TPNI de un 17,4% (27/155) en el año 2013 a un 44,8% (61/136).

ID	Edad (años)	Riesgo Edad	β -hCG (MoM)	PAPP-A (MoM)	Riesgo Bioquímico	CRL (mm)	TN (mm)	Riesgo Test Combinadz	Cariotipo	Evolución	Observación	Diagnóstico ecográfico
6	32	496	0,32	1,18	149	9	1,1	855	47,XX,+21	IVE	Dandy Walker	20+1
11	24	1.331	0,27	0,61	1.851	53	1,1	8.952	47,XY,+21	IVE	Pies Zambos Bilateral	19+6
18	29	975	1,08	0,39	30.471	55	1,3	80.437	47,XY,+21	IVE	DSVD	20+1
32	23	1.389	0,46	0,9	2.327	60	1,3	9.143	47,XY,+21			
37	34	318	0,66	1,52	236	45	0,9	1.521	47,X,+21			

Tabla 52. Casos de T-21 no diagnosticados con el modelo contingente TC-SGP-TPNI.

ID	Edad (años)	Riesgo Edad	β -hCG (MoM)	PAPP-A (MoM)	Riesgo Bioquímico	CRL (mm)	TN (mm)	Riesgo Test Combinado	Cariotipo	Evolución
4	34	301	0,2	0,85	31	45	1,7	31	47,XY,+21	IVE
10	38	99	2,8	1,45	12	73	3,3	3	47,XY,+21	IVE
13	31	636	0,24	2,14	20	65	0,9	124	47,XX,+21	IVE
34	37	143	0,4	1,54	36	65	1,7	108	47,XY,+21	IVE
42	37	137	0,21	0,24	4	69	3,1	2	47,XX,+21	IVE
43	36	224	0,2					207	47,XX,+21	IVE

Tabla 53. Casos de T-21 diagnosticados con el modelo contingente TC-SGP-TPNI mediante técnica invasiva.

ID	Edad (años)	Riesgo Edad	β -hCG* (MoM)	PAPP-A (MoM)	Riesgo Bioquímico	CRL (mm)	TN (mm)	Riesgo Test Combinado	Cariotipo	Evolución
8	39	76	0,54	2,72	11	59	1,6	32	47,XY,+21	IVE
21	36	187	0,65	1,33	211	68	2,6	147	47,XX,+21	IVE
3	36	224	0,21	0,63	164	61	2,2	207	47,XY,+21	IVE
1	34	355	0,16	1,74	7	52	2,1	6	47,XX,+21	IVE

Tabla 54. Casos de T-21 diagnosticados con el modelo contingente TC-SGP-TPNI mediante TPNI.

5. DISCUSIÓN

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

En el periodo de estudio ha habido un total de 12.650 gestantes con 12.803 neonatos pertenecientes a nuestra área sanitaria.

La edad media de las gestantes es de 30 años, Se ha observado un 16,8% de mujeres con edad igual o mayor de 35 años, un 5,4% mayor o igual a 38 años y un 1,8% de mujeres mayores de 40 años. Éstos datos similares a la media nacional y andaluza ⁴² y semejante en cuanto a datos epidemiológicos a estudios previos. ⁴⁰

La edad gestacional media al parto es de 39,1 semanas, El 92,9% de las gestaciones finalizan entre las 37 y 42 semanas, y el 7,1% antes de las 37 semanas (pretérmino).

De los datos de los recién nacidos destacamos los siguientes: el 95,7% de los neonatos tenían un peso superior a los 2.500 gr y el 4,3% tenían un peso inferior o igual a dicha cifra. El 0,30% eran recién nacidos con muy bajo peso, es decir, por debajo de los 1.000 grs. Estos datos son semejantes a los que se recogen en registros internacionales de malformaciones. ^{41,42,43,44}

La prevalencia en la población gestante de tener un feto afecto, y por tanto un recién nacido que presente algún tipo de defecto congénito al nacimiento es de un 2-4%. ^{41,42} En nuestra población general estudiada, la prevalencia de defectos congénitos (malformaciones estructurales y cromosomopatías) fue 2,36 % para el total de gestaciones. Si tenemos en cuenta el número total de fetos (RNV+RNM+IVEs) la prevalencia es 2,31%. La prevalencia de defectos congénitos al nacimiento es de 1,51% en nuestro centro. La prevalencia de malformaciones estructurales (RNV+ RNM) es de 1,85%. Estos datos son comparables a los que aporta el registro europeo de malformaciones congénitas EUROCAT ^{41,42} y ECEMC ⁴³ En datos de EUROCAT, la prevalencia global de defectos congénitos (RNV+ RNM+ IVEs) es 2,30%, la prevalencia de malformaciones estructurales (excluyendo las cromosomopatías) en la misma población fue 2,01%. Si nos fijamos en el resumen de datos que presentan desde 2011 a 2015, las prevalencias pasarían a 2,09% y 1,1% respectivamente. ^{41, 42}

En los datos publicados por el ECEMC,⁴³ con una cobertura poblacional en torno al 20%, podemos observar que la prevalencia de defectos congénitos (RN+ IVEs) en España para el año 2009, 2011 y el resumen de 1986 a 2009 es respectivamente de 1,05%, 1,18% y 1,46%. Para Andalucía esta prevalencia es aún más baja: 0,82%, 0,93% y 1,11% respectivamente.

Todos estos datos nos informan de que nuestro estudio se refiere a una población de bajo riesgo para defectos congénitos.

En nuestro estudio observamos el impacto que el diagnóstico prenatal ejerce sobre la prevalencia de los defectos congénitos. Así vemos como la prevalencia de los defectos congénitos pasa del 2,36% al 1,51% tras aplicar el cribado ecográfico de malformaciones estructurales y el cribado de cromosomopatías.

La sensibilidad mínima de la ecografía para la detección de anomalías estructurales congénitas graves, según Gonçalves²⁵² debe ser de un 60%. Otros autores refieren el mínimo estándar aceptable para los centros que ofrecen diagnóstico prenatal debe ser de un 60-80%.¹⁴ Si comparamos estos, con los datos aportados (79,77%), observamos que nuestra tasa de diagnóstico prenatal de malformaciones estructurales es adecuada con respecto a lo publicado hasta el momento.

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

Durante el periodo de estudio, la prevalencia de cromosomopatías en nuestra población de gestantes es de 0,50% (64 casos en total). Si tenemos en cuenta que el 95% de estos casos son gestaciones interrumpidas, la prevalencia de cromosomopatías en recién nacidos es de un 0,031%. La cromosomopatía más frecuente es el Síndrome de Down (T-21), que supone un 76,5% del total de las mismas (49 casos).

En el periodo de estudio, se ha ofertado el cribado de cromosomopatías al 98,50% de la población. Del total de la población cribada se han realizado un Test combinado en el 98,42% de los casos. El 1,43% de las gestantes han revocado la realización del cribado de cromosomopatías.

El registro del ECEMC ⁴³ para Andalucía registra un número similar de recién nacidos con una cobertura del 12,69%. Al realizar un test de cribado, no sólo debemos tener en cuenta la sensibilidad, sino también la tasa de implementación o cobertura.

Un aspecto importante en todo método de cribado es la tasa de implementación o cobertura, ya que si se aplica un método de cribado con buena sensibilidad, pero con baja cobertura, no se logrará el objetivo (identificar los casos afectos). Nuestro estudio presenta una cobertura mayor del 90% por lo que cumple ampliamente los criterios de calidad de un método de cribado.

El NHS (2011) plantea aplicar el test combinado como prueba cribado Gold Standard, alcanzando coberturas del 60%, hay datos sobre las dificultades obtenidas para alcanzar coberturas mayores del 60-70% para el test combinado, la extracción de marcadores entre semana 8-13 y la evaluación de la TN entre semanas 11-13+6, nos permite obtener una alta cobertura con sensibilidad adecuada. Para mantener una tasa de cobertura alta del cribado de cromosomopatías, se debe ofrecer la posibilidad de un cribado de segundo trimestre de rescate, como el cuádruple test. ⁵⁵

El test combinado para trisomía 21, ha obtenido una sensibilidad del 85,1% (40/47) para la trisomía 21 y del 85,2% (52/61) para todas las cromosomopatías.

Tanto las guías NICE ⁵⁴ como la SEGO ²⁹⁵ determinan que un cribado de calidad es aquel que además de una sensibilidad por encima del 85-95% mantiene una TFP por debajo del 5%, por tanto mantenemos los criterios de calidad también respecto a la TFP.

Todos estos datos nos informan de que en el Área sur de Sevilla hay implementado un cribado de cromosopatías basado en un test combinado universal y de calidad, con una sensibilidad adecuada, de acuerdo con nuestro objetivo secundario.

5.3. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS EN FORMA SECUENCIAL.

El cribado secuencial para trisomía 21, ha obtenido una sensibilidad del 95,8% para la trisomía 21 y del 96,7% para todas las cromosomopatías. Si se incluyen 2 casos de cromosomopatías (1 de T-21 y otro de T-18) que se presentaron en gestantes que no desearon cribado, la tasa de diagnóstico para T-21 es del 95,9% y para todas las cromosomopatías del 96,8%.

La TFP del modelo secuencial es de un 4,7%. El modelo secuencial de cribado de cromosomopatías mejora la aplicación simple de un test combinado, como plantean numerosos autores, Aunque conocemos la importancia de la ecografía morfológica, la forma de asociarla al cribado gold estándar de cromosomopatías aún no está definida, Benacerraf en 2010 ⁴ propone que si el sonograma genético es normal, reduce hasta en un 80% el riesgo inicial de Síndrome de Down, Sin embargo, no existe consenso sobre qué marcadores debemos utilizar, basándonos en los resultados obtenidos por Sainz ²⁵⁶ aplicamos un sonograma genético modificado, Rozenberg en 2006 ²⁵⁶ presenta un modelo secuencial que integra el test combinado con sonograma genético modificado para una población de bajo riesgo, Incluyó a 13.935 gestantes (200 casos de técnicas invasivas), Realizó un sonograma genético modificado como segundo paso del modelo secuencial, con una sensibilidad para la T-21 de 89,7% y una TFP de 4,2% lo que supone un incremento de la sensibilidad de un 12% respecto al test combinado y un aumento de un 1% de la TFP. Aagaard-Tillery ²⁵⁷ aporta resultados similares al asociar el sonograma genético modificado al test combinado, con un aumento de 9% de la sensibilidad para una TFP del 5%. Con lo cual, obtenemos resultados comparables con la bibliografía, pero la tasa de falsos positivos es superior al 1% planteado en nuestros objetivos secundarios.

En los últimos modelos de cribados publicados, se otorga importancia a los modelos de cribados secuenciales y contingentes, los cuales realizan una ecografía tras un resultado de alto riesgo en el primer caso y en los de riesgo intermedio (1/100-1/1.000) en el segundo; basado en que, aquellas gestaciones con fetos aneuploides, aparte de presentar posibles marcadores ecográficos, conforman un grupo de elevado riesgo de poseer malformaciones estructurales. En el cribado contingente asociado a la realización de un sonograma genético modificado, descrito por múltiples autores consigue una mejora en la sensibilidad de un 14,3% y una disminución en la tasa de falsos positivos hasta un 2,8%.⁶⁷ Una limitación importante actualmente a achacar a este modelo, es la realización del sonograma genético modificado entre las 16-20 semanas de gestación, lo que retrasa al segundo trimestre la segunda fase del cribado.

El primer trimestre de la gestación ha adquirido gran importancia en los últimos años. No sólo por el traslado del cribado combinado de aneuploidias al primer trimestre de forma íntegra; se realiza la medición de la translucencia nucal, la detección de marcadores ecográficos y bioquímicos, aportando el alcance diagnóstico de más del 90% de las aneuploidias.⁴⁷ Según los últimos avances y publicaciones obstétricas, cada vez más se plantea un seguimiento de la gestación lo más individualizado posible dentro del seguimiento poblacional. Profundizando en esta idea surgió el concepto del profesor Nicolaides de “pirámide invertida”. Si conseguimos estratificar el riesgo en la primera visita gestacional, podremos individualizar de forma más adecuada el seguimiento de la gestación. Gracias a los avances científicos y tecnológicos el primer trimestre es el período ideal para detectar gestaciones con riesgo de parto pretérmino, preeclampsia, macrosomía y retrasos del crecimiento.²²¹ En este sentido también debería incluir la ecografía morfológica, para que el primer trimestre abarque la posibilidad real de estratificar el riesgo de la gestación de forma íntegra partir de esta visita.

5.4. ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y ECOGRÁFICOS

Se define como gestaciones de alto riesgo para defecto congénito a: riesgo de transmisión de enfermedad de origen genético, antecedente familiar de primer grado con malformación congénita, exposición a teratógenos o enfermedad materna intercurrente con riesgo de patología fetal, hijo anterior con anomalía cromosómica o padres portadores de translocación cromosómica. Cabría añadir aquellas gestaciones con resultado de alto riesgo para cribado de aneuploidías de primer trimestre.¹⁴

Nosotros hemos realizado una ecografía morfológica precoz a 645 gestantes pertenecientes al área sur de Sevilla, 574 han sido por presentar un cribado de cromosomopatías de alto riesgo (5 casos perdidos), 33 casos se han realizado por sospecha ecográfica de malformación estructural fetal en la ecografía del primer trimestre, 30 han sido por antecedente de defecto congénito en gestación previa y 4 caso por defecto congénito en los progenitores.

De las 574 gestaciones con cribado de cromosomopatías de alto riesgo es con un test combinado de alto riesgo en un 95,2% (546 casos) y un doble test un 4,8% (28 casos).

La edad media de las gestantes es de 32,23 años y el IMC es de 25,17. En cuanto las características técnicas, el tiempo de exploración medio de la evaluación ecográfica es de 18,2, 17,9 y 18,6 minutos para la población general, cribado de alto riesgo y otros motivos, respectivamente.

Sabemos que para que el cribado de malformaciones estructurales congénitas sea costo-efectivo deben tenerse en cuenta el tiempo llevado a cabo en la ecografía, ya que influye en la costo-efectividad.²⁶⁰ Timor-Trish et al,^{243, 283} y otros autores^{261, 262, 257} refieren el tiempo medio para la realización de la exploración ecográfica es de 20 minutos; aunque también admiten que ecografistas expertos son capaces de llevarlos a cabo en menos tiempo.²⁴⁹

Las condiciones técnicas de la ecografía han sido buenas en el 80,9%, 80,3% y 85,9 % para la población general, cribado de alto riesgo y otros, respectivamente. Son resultados homogéneos para los grupos estudiados.

De las 645 gestaciones exploradas, 550 fueron concluyentes, el 85,2%; y 95 fueron no concluyentes, el 14,8% del total de exploraciones.

En cuanto a la capacidad de identificación de órganos y sistemas fetales en nuestro estudio, del total de las 550 concluyentes, el 12% se situaron entre 12+6 y 13+2 semanas de amenorrea. El 62% entre la 13+3 y la 13+6 semanas de amenorrea. Finalmente el 26%, entre 14+0 y 14+6.

Por otra parte 95 fueron no concluyentes, siendo el 27,1% entre 12+6 y 13+2 semanas de amenorrea. El 62% entre la 13+3 y la 13+6 semanas de amenorrea. Finalmente, el 22,1% entre 14+0 y 14+6 semanas de amenorrea.

A diferencia de los estudios previos sobre ecografía morfológica precoz que valora solo la detección de malformaciones estructurales, nosotros nos proponemos evaluar la capacidad de valoración de estructuras. Debemos destacar la importancia que tiene la visualización de las estructuras fetales normales de la detección de malformaciones, ya que, creemos al igual que otros investigadores^{248,249} que se debe conocer la evolución natural del desarrollo fetal normal para la adecuada identificación de estructuras fetales y posibles malformaciones en el primer trimestre.

Hay que tener en cuenta que la totalidad de las exploraciones se han realizado exclusivamente por vía abdominal y la gran mayoría de los estudios analizados con los que vamos a comparar nuestros resultados combinan la vía abdominal con la vía vaginal. Saltvedt et al,²⁵⁹ en la descripción de la metodología declara haber utilizado la vía abdominal en pocas ocasiones. Sobre una población de estudio de 39572 gestantes, la sensibilidad alcanzada fue de un 38%.

Los factores que influyen sobre la identificación de las estructuras fetales en nuestro estudio son:

La *calidad de imagen*, de tal forma que en las exploraciones concluyentes el 84,9% la calidad de imagen era buena y tan sólo el 46,2% de las exploraciones no concluyentes la calidad de imagen la consideramos adecuada.

Al igual que expresan otros autores en sus estudios²⁷⁵ tanto *el peso de la gestante y por tanto también el IMC* afectan en la visualización concluyente de la ecografía. A mayor peso o IMC peor visualización.

El *tiempo* empleado en la realización de la ecografía morfológica en primer trimestre también influyó en nuestro estudio. El tiempo de exploración medio recomendado por diversos estudios es de 20 minutos. ^{243, 261, 264, 257}

Chen et al, ²⁸⁰ y Souka et al, ²⁶³ añaden que el pequeño tamaño del feto también, lógicamente, es uno de los parámetros que influyen en la dificultad de la evaluación en primer trimestre.

Sin embargo, en nuestro estudio, la talla, la localización de la placenta, el índice de líquido amniótico, no influyen en la capacidad de identificación correcta de órganos y sistemas fetales en primer trimestre.

Estratificamos las ecografías concluyentes y no concluyentes en tres grupos según edad gestacional y obtuvimos que la capacidad de visualización de los órganos fetales en primer trimestre aumenta conforme aumenta la edad gestacional. Conseguimos la visualización de todos los órganos y sistemas fetales en el 12%, 62% y 26,0% para edades gestacionales comprendidas entre 12+6 y 13+2 semanas de, 13+3 y 13+6 semanas y 14+0 y 14+6 semanas respectivamente.

Whitlowand et al, ²³⁴ afirma también que la visualización de las estructuras fetales en primer trimestre aumenta conforme aumenta la edad gestacional; así, a las 10, 11, 12, 13 y 14 semanas, la capacidad de visualización sería 6%, 75%, 96%, 98% y 98% con sonda transvaginal y 0%, 58%, 81%, 87% y 91% vía abdominal; y concluye que a menor edad gestacional se precisará en mayor proporción el uso conjunto de la sonda transvaginal y transabdominal. De hecho, la mayoría de los autores revelan que el uso de la sonda transvaginal es útil en mujeres obesas, en la exploración cardíaca fetal, en la visualización del sistema urinario y SNC. ²⁴⁸

Al igual que otros autores la evaluación del corazón-grandes vasos, es el sistema fetal más difícil de visualizar en su totalidad. Es el sistema anatómico fetal causa de la mayoría de las exploraciones no concluyentes en nuestro estudio. ^{266, 268}

El resto de sistemas fetales (cabeza-SNC; columna vertebral-dorso; cara; extremidades; abdomen-pared anterior; tórax-pulmones-diafragma) superan el 60% de visualizaciones concluyentes. De ellos, el sistema que se visualizó la totalidad de las exploraciones realizadas (100%) fueron las extremidades fetales. Supera el 80% de visualizaciones concluyentes en nuestro estudio el sistema que engloba la columna vertebral y el dorso fetal. El resto de sistemas comprenden entre un 60-80% de concluyentes. ²⁴⁸

Hemos descrito anteriormente que conforme aumenta la edad gestacional aumenta la capacidad de identificación de las estructuras fetales. ^{248, 249}

Sin embargo, cuando analizamos la capacidad de identificación según grupos de edad gestacional y sistemas fetales, destaca que se cumple una capacidad identificativa mayor del 60% de todos los sistemas, excepto para la visualización de la cabeza/SNC, cara fetal y la visualización completa del corazón-grandes vasos. No hay una clara mejora de la visualización de estos dos sistemas fetales a pesar de que aumente o no la edad gestacional, al menos entre la 13+6 y la 14+6 semanas.²⁴⁹

En el resto de los sistemas fetales si hay una mejora evidente en la capacidad de identificación completa de estos conforme aumenta la edad gestacional. Ello concuerda con los estudios previos, en los que, declaran la dificultad de la exploración ecográfica del corazón fetal, del paladar y labio fetales en el feto de primer trimestre.^{248, 249}

Todos los autores coinciden en la dificultad en la visualización de dos órganos en el primer trimestre: el corazón y el SNC, Ebrashy et al,²⁵⁴ y Taipale et al,²⁵⁵ refieren una capacidad de identificación de la ecografía transabdominal del corazón fetal del 61%, en comparación con la correcta identificación del resto de estructuras fetales en un 85% de los casos. Timor-Tritsch et al,²⁴³ señala que los órganos menos reproducibles en su visualización durante la exploración fetal en primer trimestre son: fosa posterior, cerebelo, corazón, genitales y porción sacra de la columna vertebral.

5.5. ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ. CAPACIDAD DE DETECCIÓN DE MALFORMACIONES ESTRUCTURALES.

En el grupo de estudio de ecografía morfológica precoz, 645 casos, ha habido una tasa de malformaciones estructurales de 8,9 % (58 casos).

La evaluación morfológica precoz ha identificado 52 de las 58 malformaciones estructurales (89,6%) en éste grupo de estudio. Existe variabilidad en cuanto a la capacidad de detección de malformaciones fetales, en primer trimestre. La capacidad diagnóstica de la ecografía morfológica del primer trimestre varía del 16-84%.²⁶¹ Con lo cual, en nuestro grupo de estudio obtenemos una capacidad diagnóstica similar a la descrita en la literatura.^{83, 249, 268, 274}

En la revisión sistemática de la ecografía morfológica precoz en primer trimestre realizada por Rossi y Perfumo en 2013,²⁶⁴ sobre 996 fetos con malformación estructural, afirman que las malformaciones más diagnosticadas en primer trimestre se localizan en el cuello (92%), seguido del abdomen (88%), cerebro y espina (51%), corazón (48%), tracto urinario (34%) y cara fetal (34%).

La ecografía morfológica precoz en éste grupo de estudio ha presentado 3 casos de falsos positivos, siendo 2 casos de sospecha de comunicación interventricular y 1 caso de sospecha de labio leporino.

Las CIV son también causa de un porcentaje importante de FP en la ecografía de segundo trimestre al igual que las pielectasias renales.²⁶⁵ Por tanto, es similar para nuestro estudio, así como la ecografía morfológica de segundo trimestre estandarizada.

En la bibliografía la sensibilidad de detección de la tetralogía de Fallot ronda un 4,8-30% y de 0-6% en el caso de la CIV.²⁷⁶

Los defectos cardíacos que permite diagnosticar la ecocardiografía precoz, corresponden en su mayoría a cardiopatías severas. Si analizamos las de primer trimestre coinciden en que la mayor dificultad se encuentra en el diagnóstico prenatal de malformaciones cardíacas en primer lugar, seguidas de las renales y de la cara fetal.^{249, 254, 276}

La dificultad que entraña el diagnóstico de las malformaciones cardíacas (al igual que en segundo trimestre) es la complejidad y presentación sutil que tienen unido al pequeño tamaño del corazón fetal en primer trimestre.

Acercas de las malformaciones renales, su dificultad recae en primer lugar en que la producción de orina fetal comienza alrededor de la semana 10 (retrasando el diagnóstico de malformaciones dependientes de la función renal) y de la ecogenicidad renal en primer trimestre,

El labio y paladar fetales presentan también bajas sensibilidades diagnósticas en primer trimestre (similar en nuestro estudio), debido a que la finalización de la formación del paladar duro ocurre en semana 13 y a la menor ecogenicidad del labio y mayor ecogenicidad del paladar duro, lo que dificulta su visualización.²⁶⁴

No se han identificado 6 malformaciones estructurales fetales con la ecografía morfológica precoz. En el grupo de alto riesgo de cromosomopatías no se han identificado un caso de malformación pulmonar fetal, un caso de displasia renal, un caso de labio leporino y un caso de CIV. En el otro grupo de estudio no se han identificado con la ecografía morfológica precoz un caso de ventriculomegalia cerebral.

Al analizar los falsos negativos debemos tener en cuenta el desarrollo normal fetal en primer trimestre; de tal forma, que debemos saber e informar a los familiares de determinadas malformaciones no visibles en primer trimestre, como son la agenesia del cuerpo calloso, lisencefalia²⁴³ malformaciones pulmonares²⁴⁸, riñones poliquísticos y uropatía obstructiva alta y malformaciones evolutivas del corazón, como la miocardiopatía hipertrófica o arritmias fetales,

Destacar la importancia del estudio de la sonoembriología en primer trimestre, ya que los signos ecográficos difieren con respecto a los de segundo trimestre: ausencia del signo de la banana en la mayoría de los casos, pérdida de la imagen en alas de mariposa en la hidrocefalia o ausencia o disminución de la translucencia intracraneal,^{249, 279}

Syngelaki et al,²⁶⁶ realiza una clasificación de malformaciones siempre, potencialmente diagnosticables en primer trimestre o sólo diagnosticables en segundo trimestre, muy práctica al respecto

Al igual que se explica en estudios que analizan la diversidad de sensibilidad de la ecografía morfológica estandarizada^{223, 243} y como realiza Rossi et al,²⁶¹ en primer trimestre, analizamos la sensibilidad obtenida en nuestro estudio, la cuales de un 89,6 %. Esta mejora se debe en primer lugar al número de gestaciones de alto riesgo incluidas, en su mayoría

resultados de alto riesgo en el cribado de cromosomopatías, al entrenamiento específico en diagnóstico prenatal y uso de un protocolo de evaluación fetal estandarizado, tanto el explorador con experiencia superior como el de menor están formados en ecografía morfológica y la mejora en los equipos técnicos, destacando además que todas nuestras exploraciones son llevadas a cabo vía abdominal.

Gracias a los avances científicos, se está avanzando en muchos campos en ginecología; no sólo en diagnóstico prenatal, sino también en otras áreas como suelo pélvico o la patología de la mama. Estas mejoras aplicadas a la realización de la ecografía morfológica incluyen las ya descritas en estudios anteriores como el armónico y el cine ²³ y el uso de equipos de alta resolución que incluyen sonda obstétrica de alta frecuencia (9,3 Mhz).

Estas características asociadas a un aprendizaje enfocado al diagnóstico prenatal en primer trimestre serían responsables de una sensibilidad adecuada para implementar la ecografía morfológica estandarizada en primer trimestre de la gestación. No sería suficiente con el nivel básico ecográfico que obtienen nuestros especialistas; sino que precisarían conocimientos específicos en embriología, desarrollo anatómico fetal y sonoembriología en primer trimestre.

5.6. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS EN FORMA CONTINGENTE. PRIMER PASO: TEST COMBINADO O DOBLE TEST. SEGUNDO PASO: ECOGRAFÍA MORFOLÓGICA PRECOZ ASOCIADO A TEST PRENATAL NO INVASIVO. EVOLUCIÓN DE LA TASA DE TÉCNICAS INVASIVAS.

Los primeros estudios sobre la utilidad de DNA fetal libre circulante o TPNI ^{89,90,91,92} como método de cribado de aneuploidias presentaron una excelente sensibilidad (>99%) para una muy baja tasa de falsos positivos (<0,1%), observándose los mismos resultados en grupos de alto y bajo riesgo. ¹¹ Varios estudios demuestran que el estudio de DNA fetal libre circulante como alternativa a la técnica invasiva es una metodología válida. ²⁰⁹

Sin embargo, toda prueba diagnóstica debe, además de demostrar su utilidad, encontrar su campo de aplicación en la práctica clínica diaria. Además de evaluar la tasa de detección y los falsos positivos, se debe evaluar también la aceptación por la población de estudio y la relación costo-efectividad. Es este último aspecto la principal limitación para la utilización del TPNI como método gold estándar de cribado de cromosomopatías y por lo que se ha planteado su aplicación de forma contingente. ^{11, 292, 293, 294}

Los primeros estudios identificaron que el TPNI en un grupo de riesgo entre 1/100-1/2500 presentaba una tasa de detección de T-21 del 97%.⁷⁰ En este mismo estudio de Gil se observa que con un punto de corte de 1/500 ya se obtiene clara mejoría de la sensibilidad (97%) del método de cribado. Si se aplica esta metodología contingente a cribados comprendido entre 1/2.500 y 1/10.000 no suponía una mejoría de los resultados y si un aumento importante de los costes. ^{195, 196}

Las recomendaciones y consensos de las sociedades científicas varían en cuanto a las estrategias de aplicación según cada país: TPNI como cribado universal frente a aplicación en los casos de mayor riesgo como alternativa a técnicas invasivas.^{290, 291, 168}

En España, desde 2018, la SEGO recomienda la utilización del DNA fetal libre circulante como alternativa a la técnica invasiva en caso de test combinado de alto riesgo, limitando su utilización en caso de riesgo muy alto o la presencia de una malformación fetal, ya que estos casos presentan un riesgo muy elevado de aneuploidias.^{292, 295}

En nuestro estudio, hemos comprobado en primer lugar que se aplica el test combinado al 98,42% de las gestantes (primer paso). Además, dicho test combinado ha obtenido una sensibilidad del 85,1% para la trisomía 21 y del 85,2% para todas las cromosomopatías manteniendo TFP por debajo del 5%, acorde a las recomendaciones de las guías NICE⁵³ y de la SEGO.²⁹⁵

En la estrategia de segundo paso, a todas las gestantes con test combinado con riesgo alto se les realizó en primer lugar una ecografía morfológica precoz antes de aplicar el test prenatal no invasivo. Tras la EMP se han identificado 55 casos de sospecha de malformación estructural fetal y 15 casos que han presentado una TN > 3,5 mm (total 70 casos, lo que supone un 0,5% de la población de estudio) y a las que se les ha realizado una técnica invasiva con QF-PCR y arrays y no se les ha ofrecido TPNI debido a que se conoce que estos casos presentan muy alto riesgo de tener una anomalía genética y que el estudio con TPNI no realiza una cobertura adecuado de estas patologías.^{292, 295}

En la última actualización del protocolo de SESEGO de cribado de defectos congénitos, y que su publicación ha sido posterior a este estudio, incluye esta indicación de técnica invasiva y no de TPNI, Kagan, en un estudio reciente, ofrece adecuados resultados (sensibilidad >95%) para el cribado de T-21 aplicando TPNI de forma contingente, donde incluye la aplicación previa de técnica invasiva en caso de presentación de malformación fetal o TN > 3,5 mm.²⁸³

Este modelo secuencial de cribado ha presentado en nuestro grupo una sensibilidad global de un 90,6%. La tasa de realización de técnicas invasivas en nuestro grupo ha sido de un 3,1% y si se hubiera seguido de forma estricta esta metodología contingente hubiera sido de un 0,19%.

La realización de técnicas invasivas en el periodo de estudio ha disminuido un 52%, pasando de un 5,2% en el 2008 a un 44,8% en el año 2016. La aparición del TPNI en el año 2013 supuso un incremento de las revocaciones de técnicas invasivas de un 22,5% y se llegó a revocar casi la mitad de las técnicas invasivas y sustituirlas por TPNI en el año 2016.

Nuestros resultados demuestran que la aplicación de la metodología contingente con inclusión de TPNI presenta una adecuada sensibilidad y reduce de forma significativa la realización de técnicas invasivas. Este estudio está realizado previo a publicación de las recomendaciones de la UK NHS y la SEGO sobre la aplicación de la metodología contingente con inclusión del TPNI. Uno de los aspectos que se deben evaluar en la aplicación de esta metodología es el concepto de la aceptación por parte de las gestantes de la sustitución de un método de cribado, TPNI, por un método de diagnóstico, como es el cariotipo tras técnicas invasivas. En este aspecto observamos en nuestro estudio la rápida aceptación por parte de las gestantes de esta sustitución y aunque la realización de una técnica invasiva solo conlleve un riesgo de pérdida gestacional de un 0,1-0,2%.²⁸⁴ Así Malan²⁸⁵ recientemente realiza un estudio randomizado en caso de test combinado de alto riesgo sobre la realización de técnica invasiva versus TPNI y es plenamente aceptado y con resultados semejantes entre ambas técnicas.

6. LIMITACIONES Y CONCLUSIONES

LIMITACIONES.

Consideramos como limitaciones del estudio:

- Dentro de la valoración de la metodología de cribado, la oferta del TPNI no fue sustentado su costo por parte del sistema público sanitario hasta el año 2016.
- No haber realizado una evaluación económica de la metodología de cribado de cromosomopatías.
- 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.

CONCLUSIONES.

1. En el Hospital Universitario de Valme existe un cribado de cromosopatías basado en un test combinado que se aplica de forma universal y presenta una sensibilidad y una tasa de falsos positivos adecuados, según criterios internacionales.

2. El cribado de cromosopatías está integrado en el control gestacional con un cribado de malformaciones estructurales de garantía, con una sensibilidad mayor del 80%, lo que nos asegura una adecuada tasa de detección de defectos congénitos.

3. La tasa de aplicación del doble test, que se realiza siempre como segunda opción de cribado de cromosopatías en pacientes con inicio de control tardío de la gestación, es baja (1,57%).

4. La metodología secuencial (test combinado asociado al sonograma genético modificado) mejora los resultados de dicho test combinado, arrojando una tasa de detección de cromosopatías del 96,7%.

5. La capacidad identificativa de las estructuras fetales estandarizadas en la ecografía morfológica fetal precoz (12-14 semanas) es alta (85,2%) y los factores que influyen en la capacidad identificativa son: el índice de masa corporal, la duración de la exploración ecográfica, la edad gestacional y el peso fetal.

6. La ecografía morfológica fetal precoz (12-14 semanas) presenta una sensibilidad alta (89,6%) para el diagnóstico de las malformaciones estructurales fetales en grupo de alto riesgo de defectos congénitos.

7. La aplicación de una metodología de cribado de cromosopatías de forma contingente, basada en un test combinado asociado a un TPNI mejora los resultados del test combinado ya que presenta una sensibilidad del 90,6% y reduce la tasa de realización de técnicas invasivas a un 3,1%.

8. Como conclusión final, la ecografía morfológica fetal precoz es útil para la aplicación de una metodología contingente del cribado de cromosopatías basado en el test combinado y el TPNI.

7. ANEXOS

ANEXO 1

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

JUNTA DE ANDALUCIA 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**

I 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.

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. Sistema de Información de Cribado de Anomalías Cónogenitas

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:

TRAS 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. Sistema de Información de Cribado de Anomalías Cóngenitas

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA REALIZACION DE LA PRUEBA DE CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS

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.

PACIENTE: Nombre y Apellidos	PROFESIONAL QUE OBTIENE EL CI: Nombre y Apellidos
FIRMA	FIRMA
Lugar y fecha	

RECHAZO DEL PROCEDIMIENTO

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

PACIENTE: Nombre y Apellidos	FIRMA
Lugar y fecha	

ANEXO 2**MODELO DE CONSENTIMIENTO
INFORMADO SOBRE PRUEBAS INVASIVAS****INFORMACIÓN PREVIA A LA REALIZACIÓN DE LA AMNIOCENTESIS**

¿En qué consiste?

La amniocentesis consiste en la obtención de una muestra del líquido amniótico que envuelve al feto. Se realiza mediante la punción con una aguja fina a través de la pared abdominal materna, pasando la pared uterina y la membrana amniótica hasta entrar en la cavidad amniótica o bolsa de aguas. La prueba se puede hacer a partir de las 15-16 semanas de embarazo.

Se realiza de forma ambulatoria en la misma Consulta de Medicina Fetal, no hace falta venir en ayunas. La técnica en sí no es compleja y suele durar entre 5- 15 minutos, aunque ocasionalmente las dificultades técnicas pueden hacer que se sobrepase ese tiempo. No es más molesta que una inyección intramuscular o una extracción sanguínea, por lo que no requiere anestesia local.

En el líquido amniótico obtenido, habitualmente entre 15 y 20ml, se puede realizar estudios genéticos, moleculares, bioquímicos o microbiológicos, según el motivo por el que se realiza la prueba.

En mi caso la indicación es (seleccionar):

Cribado de aneuploidía con riesgo $\geq 1/270$ para trisomía 21 o 18 (por test combinado o cribado bioquímico de segundo trimestre

- Anomalía cromosómica en gestación previa
- Anomalía cromosómica parental
- Anomalía fetal ecográfica (detectada durante la ecografía morfológica)
- Confirmación de un resultado por TPNI
- Confirmación de un resultado no conclusivo en vellosidad corial
- Crecimiento intrauterino retardado (CIR) severo muy precoz (< 22 semanas)
- CIR severo entre 22-28 semanas con riesgo intermedio
- Sonograma genético con riesgo resultante $\geq 1/270$
- Anomalía discordante en gemelos monocoriales diamnióticos
- Riesgo de enfermedad monogénicas con diagnóstico molecular o bioquímico disponible en LA.
- Riesgo de infección fetal con PCR disponible (CMV, toxoplasma, parvovirus-B19, varicela, rubeola, herpes 1-2, enterovirus)
- Riesgo de corioamnionitis o inflamación intraamniótica.
- Otras indicaciones (texto libre):

Recomendaciones tras la técnica

Tras el procedimiento podrá irse a casa debiendo guardar reposo relativo las primeras 48 horas. Si su grupo sanguíneo es Rh negativo se ha de poner un 1.500 UI de ammaglobulina anti-D, siempre dentro de las primeras 72h tras la técnica. Evitará actividad física intensa durante 24 horas. En caso de presentar sangrado igual o superior a una regla, dolor abdominal intenso de tipo cólico, fiebre o pérdida de líquido amniótico (líquido transparente y a temperatura corporal) deberá acudir a urgencias.

¿Qué complicaciones pueden aparecer?

Aunque la amniocentesis es una técnica segura, existe riesgo de rotura de la bolsa de las aguas (muy raro), hemorragia vaginal materna (muy raro), infección materna (excepcional) y punción accidental del feto (excepcional) o

del cordón umbilical (excepcional). Aunque el riesgo global de pérdida fetal tras una amniocentesis es del 0,5-1%, sólo en el 1/1000 de los casos la pérdida del embarazo será debida a la amniocentesis. La mayoría de los casos la pérdida del gestación estará relacionada con el motivo por el que se le realizó la prueba.

Limitaciones de la técnica

- Puede no conseguirse extraer suficiente cantidad de líquido amniótico para analizar o bien que fracase el cultivo de las células amnióticas (0,5%). En tal caso deberá repetirse la amniocentesis
- En caso de resultado no concluyente (muy raro) podría ser necesario completar el estudio mediante la realización de otra técnica, como la punción del cordón umbilical.
- Dado que es imposible descartar todas las anomalías genéticas, un resultado normal no excluye la posibilidad de que el recién nacido pueda tener otros tipos de defectos.

¿Cuánto tarda el resultado?

En un plazo aproximado de 3-4 días laborables, podremos darle un resultado preliminar en el que se descartan las anomalías cromosómicas más frecuentes (número de cromosomas 21, 13, 18 y sexuales), lo que nos permite descartar, entre otros, el síndrome de Down. En el plazo de 3-4 semanas tendremos el cariotipo completo, es decir el mapa de los 23 pares de cromosomas. En el caso de haber realizado otras pruebas especiales, el tiempo de espera puede variar.

¿Qué otras alternativas tiene?

Optar por una amniocentesis es una decisión completamente personal. Otras alternativas incluyen:

- No hacer ninguna otra prueba y esperar al parto, realizando los estudios al recién nacido si fuera necesario.
- En determinadas indicaciones hacer un estudio de ADN-libre circulante en sangre materna (análisis de sangre). No es una prueba diagnóstica, por lo que su resultado es orientativo y en caso de alto riesgo debe confirmarse con una técnica invasiva. Sólo informa del riesgo de las alteraciones cromosómicas numéricas más frecuentes (cromosomas 21, 13 y 18). No está indicado cuando la ecografía muestra hallazgos que no son normales ya que en estos casos las alteraciones genéticas pueden ser muy diversas.

En función de la indicación, otras posibles alternativas podrían ser:

- Hacerse otro tipo de técnica invasiva como la biopsia corial (obtención de muestra de placenta a través de una punción del abdomen de la madre o de la vagina). El riesgo de pérdida fetal atribuible a la técnica es similar.
- Cordocentesis (extracción de muestra de sangre fetal del cordón umbilical)
- No hay ninguna científicamente recomendada mejor que ésta para su diagnóstico.
- Otras:

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA AMNIOCENTESIS

He leído y entendido la hoja informativa para la realización de una amniocentesis

He tenido la oportunidad de hacer las preguntas que he considerado necesarias y estas han sido contestadas satisfactoriamente

Estoy de acuerdo en que se me realice una amniocentesis

PACIENTE: Nombre y Apellidos	PROFESIONAL QUE OBTIENE EL CI: Nombre y Apellidos
FIRMA	FIRMA
Lugar y fecha	

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

He leído y entendido la hoja informativa para la realización de una amniocentesis

He tenido la oportunidad de hacer las preguntas que he considerado necesarias y éstas han sido contestadas satisfactoriamente

Adecuadamente informada y libremente, he decidido no realizarme una amniocentesis

PACIENTE: Nombre y Apellidos	FIRMA
Lugar y fecha	

INFORMACIÓN PREVIA A LA REALIZACIÓN DE LA BIOPSIA CORIAL

¿En qué consiste?

Consiste en la obtención de una pequeña muestra de la placenta (corion) entre la semana 11ª y 14ª de la gestación. Se puede realizar por vía vaginal, mediante una pinza de calibre fino que se introduce por el cuello del útero; o por vía abdominal, a través de una aguja. Los resultados son similares.

La prueba se hace de forma ambulatoria en la misma Consulta de Medicina Fetal, no hace falta venir en ayunas. Dura aproximadamente 15-20 minutos y, aunque es un poco molesta, no requiere anestesia. En algunos casos puede ponerse una pequeña cantidad de anestesia local en el abdomen antes de introducir la aguja para minimizar las molestias.

El material obtenido permite realizar estudios genéticos, moleculares y bioquímicos. En su caso la indicación de la biopsia de corion es:

- Alto riesgo de aneuploidía en el cribado de primer trimestre ($> 1/270$)
- Translucencia nucal aumentada $>$ percentil 99
- Anomalía cromosómica en gestación previa
- Anomalía cromosómica parental
- Anomalía estructural fetal detectada en la ecografía de primer trimestre
- Confirmación de un diagnóstico preimplantacional
- Confirmación de un resultado en ADN- Ic
- Pérdida gestacional precoz
- Enfermedad monogénica
- Otras (texto libre):

Recomendaciones tras la técnica

Tras el procedimiento podrá irse a casa debiendo guardar reposo relativo las primeras 48 horas. Si es Rh negativo se ha de poner un 1.500 U.I. de gammaglobulina anti-D, siempre dentro de las primeras 72h tras la técnica. No realizar actividad física intensa durante 24 horas. En caso de presentar sangrado igual o superior a una regla, dolor abdominal intenso de tipo cólico, fiebre o pérdida de líquido amniótico (líquido transparente y a temperatura corporal) deberá acudir a urgencias.

¿Qué complicaciones pueden aparecer?

Rotura de la bolsa amniótica (muy raro), hematomas a nivel de la placenta (suelen resolverse espontáneamente), infección materna (muy raro), sangrado vaginal que habitualmente es escaso y se limita espontáneamente (sobre todo cuando la muestra se toma vía vaginal). Aunque el riesgo global de aborto tras una biopsia de corion es del 0.5-1%, sólo en el 1/1.000 de los casos la pérdida del embarazo será debida a la técnica. La mayoría de los casos la pérdida del embarazo estará relacionada con el motivo por el que se le realizó la prueba y de no haberse hecho la prueba se podría haber producido el aborto de forma espontánea.

Limitaciones de la técnica

Puede no conseguirse extraer material placentario suficiente y de buena calidad para su análisis o que el laboratorio no pueda emitir un diagnóstico con seguridad (0.5-1%). En estos casos deberá realizarse posteriormente una amniocentesis. Aunque habitualmente el cariotipo de la placenta coincide con el del feto, en algunas ocasiones (0.1-1%) pueden aparecer anomalías cromosómicas raras que afectan únicamente a la placenta. En estos casos el diagnóstico se tendrá que confirmar mediante amniocentesis. Dado que es imposible descartar todas las anomalías genéticas, un resultado normal no excluye la posibilidad de que el recién nacido pueda tener defectos otros tipos de defectos.

¿Cuánto tarda el resultado?

En un plazo aproximado de 3-4 días laborables, podremos darle un resultado preliminar en el que se descartan las anomalías cromosómicas más frecuentes (número de cromosomas 21, 13, 18 y sexuales), lo que nos

permite descartar, entre otros, el síndrome de Down. En el plazo de 3-4 semanas tendremos el cariotipo completo, es decir el mapa de los 23 pares de cromosomas. En el caso de haber realizado otras pruebas especiales, el tiempo de espera puede variar.

¿Qué otras alternativas tiene?

Optar por una biopsia de corion, una vez habiendo sido informada, es una decisión completamente personal. Otras alternativas incluyen:

- No hacer ninguna otra prueba y esperar al parto, realizando el estudio genético al recién nacido si se precisara
- En determinadas indicaciones hacer un estudio de ADN-libre circulante en sangre materna (análisis de sangre). No es una prueba diagnóstica, por lo que su resultado es orientativo y en caso de alto riesgo debe confirmarse con una técnica invasiva. Sólo informa del riesgo de las alteraciones cromosómicas numéricas más frecuentes (cromosomas 21, 13 y 18). No está indicado cuando la ecografía muestra hallazgos que no son normales ya que en estos casos las alteraciones genéticas pueden ser muy diversas.
- Hacerse otro tipo de técnica invasiva como la amniocentesis (obtención de líquido amniótico a través de una punción del abdomen de la madre) no recomendada antes de la 16ª semana de forma habitual. El riesgo de pérdida fetal atribuible a la técnica es similar.
- Cordocentesis (extracción de muestra de sangre fetal del cordón umbilical)
- No hay ninguna científicamente recomendada mejor que ésta para su diagnóstico.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA BIOPSIA CORIAL

- He leído y entendido la hoja informativa para la realización de una biopsia corial
- He tenido la oportunidad de hacer las preguntas que he considerado necesarias y estas han sido contestadas satisfactoriamente
- Estoy de acuerdo en que se me realice biopsia corial.

PACIENTE: Nombre y Apellidos	PROFESIONAL QUE OBTIENE EL CI: Nombre y Apellidos
FIRMA	FIRMA
Lugar y fecha	

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

- He leído y entendido la hoja informativa para la realización de una biopsia corial
- He tenido la oportunidad de hacer las preguntas que he considerado necesarias y éstas han sido contestadas satisfactoriamente
- Adecuadamente informada y libremente, he decidido no realizarme una biopsia corial

PACIENTE: Nombre y Apellidos
FIRMA
Lugar y fecha

ANEXO 4 CONSENTIMIENTO PARA TEST DE DNA FETAL CIRCULANTE
EN SANGRE MATERNA.



Etiqueta de la muestra
del laboratorio solicitante

Completar todos los campos del consentimiento informado

Información de la paciente

Nombre y apellidos _____

Fecha de nacimiento _____

Dirección _____

Ciudad o provincia _____

País/Código postal _____

DNI _____

Teléfono _____

País (Cg) _____ Estatura (m) _____

Correo electrónico _____

Información de la clínica

Número de cuenta 17988 Nombre de la cuenta Magalib _____

Médico prescriptor _____

Nombre del centro _____

Dirección _____

Ciudad o provincia _____

País/Código postal _____

Teléfono _____

Correo electrónico _____

Firma de la paciente para el consentimiento informado

Mi firma en este formulario indica que he leído, o me han leído, el consentimiento informado al inicio de este formulario. Comprendo el consentimiento informado y autorizo a Magalib a realizar los análisis de laboratorio solicitados. He leído la oportunidad de hacer preguntas y recibir las respuestas, las instrucciones y los posibles riesgos de los(los) prueba(s), así como cualquier otro o más que he deseado. Sé que, al hacerlo, puedo recibir asesoramiento genético profesional antes de firmar este consentimiento.

Expresamente acepto y entiendo que mis datos personales incluidos en este formulario de solicitud de prueba(s) (entre otros, mi nombre, dirección, información acerca de mi embarazo y otra información personal) así como mi muestra de sangre se enviarán y almacenarán a Magalib en Madrid con el fin de que se realice(n) el(los) prueba(s) Harmony. En caso de que acceda al consentimiento o no lo haga, no recibiré los resultados de los(los) prueba(s) Harmony. Magalib destruirá los resultados inmediatamente razonables para destruir de inmediato mi muestra de sangre conforme a las leyes vigentes y con los protocolos estándar de Magalib para la destrucción de muestras. Estoy de acuerdo en que, en caso de que llegase a recibir los(los) prueba(s) Harmony solicitados en este formulario, Magalib puede conservar mis datos personales (incluidos los resultados de mi prueba(s)) y el resultado de mi muestra de la prueba(s) durante el plazo que sea necesario, en conformidad con lo dispuesto en el RGPD (EU 2016/679), normativa española vigente en materia de protección de datos y la Ley 41/2010, sobre regulación de la actividad del Profesional.

Deseo participar No deseo participar

Marque la opción que corresponda para indicar si es su consentimiento para que se realicen estudios investigativos de desarrollo y validación de laboratorio. Si marca la casilla Deseo participar, reconozco y acepto que, después de que finalice los(los) prueba(s) que haya solicitado, sus datos personales (incluida, entre otros, la información que consta en este formulario de solicitud de prueba(s) y en los resultados de los prueba(s) y el resultado de su muestra, que puede conservarse durante más de 90 días, se almacenarán y pueden ser usados en estudios de desarrollo, desarrollo de productos y/o control de calidad de laboratorio en Magalib. Si no marca la casilla Deseo participar, sus datos personales y el resultado de su muestra se utilizarán en el desarrollo de estudios de desarrollo y validación de laboratorio. En todos los casos, los resultados de las pruebas y los datos personales, incluidos los resultados, se conservarán, utilizarán y destruirán de conformidad con las leyes españolas.

Firma de la paciente _____

Fecha _____

Información de autorización

Trabajo de análisis Clínica/Proveedor

Firma del médico

Certifico que mi paciente ha recibido toda la información sobre los detalles, los posibles riesgos y las limitaciones de los(los) prueba(s). La paciente ha dado su pleno consentimiento para que se realice esta prueba.

Firma del médico _____

Fecha _____

Opciones del menú de prueba e información clínica

Harmony Prenatal Test (T21, T18, T13)

Marque las otras opciones de prueba que solicite:

Único fetal

Heterocromía X (óbito embrionario de un feto)

Panel de aneuploidias de los cromosomas sexuales (óbito embrionario de un feto)

22q11.2 (óbito anatómico de un feto)

Edad gestacional, en(A o B):

A. _____ semanas días medio al _____

B. PLEP PFP FIV* Fecha _____

Número de fetos 1 2

¿Embarazo por FIV? No Sí → **Óvulo utilizado en la FIV:**
 Paciente Donante

Edad de la paciente/donante en la obtención del óvulo: _____ Años

Información importante sobre la extracción de sangre

A. Fecha de obtención: _____

B. Adhira las etiquetas del tubo(s) y el consentimiento informado. →

*El cumplimiento de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica, concretamente los artículos 47 y 48, al médico prescriptor deberá obtener consentimiento informado para la realización de pruebas genéticas. La firma de la paciente en este consentimiento va acompañada de un sello con dicho propósito.

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 síndrome potencial del cromosoma Y, la evaluación del riesgo para anomalías de los cromosomas sexuales (X, Y) y la microdelección 22q11.2 a través de la microdelección del ADN fetal libre y circulante presente en plasma materno.

El Test Prenatal Harmony analiza fragmentos de los cromosomas sexuales mediante la tecnología de nanoporos. Esta técnica es un método de secuenciación altamente preciso, ya que genera un cribado directo del mismo a los cromosomas de interés (X1, Y, X2, X3, Y y X3). Para ello se utilizan dos algoritmos (DADA2), que permiten un cribado directo a las cromosomas sexuales, X1, X2, X3 y Y, y Y y X3, así como la detección de la presencia del cromosoma del 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 cribado de la microdelección 22q11.2 la tasa de detección es del 79% y la tasa de falsos positivos es < 0.0%.

¿Quién puede optar por el análisis Harmony Prenatal Test?

Las gestantes deben estar entre 18 y 35 años en la semana 9 de gestación para iniciar análisis de los óvulos de la prueba Harmony. Las gestantes que hayan recibido transfusión de sangre fetal o de donante o que hayan estado sometidas en cualquier momento al Harmony Prenatal Test. Detalle los otros criterios de idoneidad a continuación.

	Harmony (Trisomías 21, 13 y 18) con o sin la opción de cribado de ADN fetal	Harmony con opción de microdelección cromosoma X & Y (21, 13)
Indicaciones para cribado fetal (síndrome Y)	✓	✓
Indicaciones para cribado de anomalías cromosómicas sexuales (X, Y)	✓	No aplica
Uso de Y-fetor	No aplica	No aplica

¿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 los cromosomas sexuales sexuales son opcionales. No detecta la presencia de microdelecciones y otras condiciones genéticas a los cromosomas autosómicos.
- Riesgo residual:** Las trisomías principales de la prueba, representadas en torno al 95% de la patología cromosómica fetal asociada a consecuencias clínicas significativas, por ello existe un riesgo residual para otras anomalías cromosómicas fetales no investigadas por la prueba (Caril y cols, Am J Med Genet A 2010; Feresin, Groll y cols 2010).
- Falsos positivos y negativos:** El Test Harmony se basa en el cribado y cuantificación de fragmentos de ADN fetal libre y circulante procedente de la aplicación de células placentarias. Por ello puede haber interpretaciones (falsos positivos y negativos) sobre el resultado de la prueba y la correlación cromosómica fetal real, debido a la existencia de mosaicismos fetoplacentarios (1-2% frecuencia de reproducción). La presencia de un falso "eventual" en gestaciones gemelares, implantaciones múltiples e interrupción, anomalías cromosómicas maternas y fetos maternos son otros ejemplos de discrepancias correladas hasta la fecha (Mayo 2010) (Groll y cols, Med Genet 2014). Ante el descubrimiento de estas condiciones entre de la prueba no se recomienda esperar una evaluación basada en el ADN circulante. "Caso excepcional" En los casos de embarazo múltiple en los que se plantea uno de los fetos en está reabsorbido la realización del test ya que no está validado para estos casos. Existe un consentimiento escrito para que, en el caso de querer seguir adelante con la prueba, se pactará puntualmente firmar y confirmar con el test.
- Limitación de los resultados de este riesgo:** Por las razones anteriores, en el caso de un resultado de alto riesgo, se recomienda la confirmación cromosómica mediante un diagnóstico prenatal convencional (amniocentesis o biopsia de vellosidad coriónica) bajo cribado del cromosoma. En gestaciones que los que existe algún problema diagnóstico prenatal, se recomienda, con independencia de la evaluación o no del Test Harmony un diagnóstico prenatal invasivo y puntual asesoramiento genético sobre ADN fetal para 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 79% 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 (Schwarz y cols, 2017).

Para más información y/o información consulte con:

- Dr. Iñaki Gómez (igomez@megalab.es). Responsable sección NPT.
- María Dorcas (mdorcas@megalab.es). Bióloga Adjunta sección NPT.

El Harmony y el análisis Harmony son marcas registradas de Artemis Diagnostics, Inc en EE.UU. Harmony es una marca comercial de Roche en otros países. Todos los demás nombres comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios.

- Otras limitaciones:** El resultado para trisomías 21, 13 y 18 y microdelección 22q11.2 se comunicará en aproximadamente el 25 de los casos y por lo tanto se requiere por segunda muestra de sangre materna sin coágulo adicional, en el 0,5-1 % de los casos la prueba no proporciona ningún resultado debido a 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 muestra un resultado para el panel de anomalías de los cromosomas sexuales con un resultado de este tipo y observado un resultado concluyente para las trisomías 21, 13 y 18 (y microdelección 22q11.2 cuando se requiriera) no se repite la prueba con una segunda muestra si se mantuviera el caso de la misma. El subsecuente y adecuado, así como mantener el mismo nivel de riesgo antes de la realización de la muestra de sangre peritoneal materna, sobre una muestra del test ya que estos procedimientos pueden dar lugar a una dilución del ADN fetal en plasma materno, lo que podría conllevar a un resultado no concluyente.
- Restricciones geográficas:** En el ámbito de las trisomías 21, 13 y 18 se aplicará un cribado indirecto de ALTO o BAJO riesgo que hace referencia a los dos fetos. En estos casos solo puede realizarse 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 el mayor caso de los dos fetos es de sexo masculino.

CONCLUSIONES

- El Test Prenatal Harmony es una prueba potencial de SCREENING. No sustituye al diagnóstico prenatal convencional, sino que es una herramienta más dentro de todas las pruebas realizadas que se realizan a lo largo de una gestación.
- El Test Prenatal Harmony constituye una herramienta alternativa viable del diagnóstico de presentar anomalías cromosómicas fetales, con la finalidad, especificidad y buena sensibilidad anteriormente.
- El tiempo de análisis del feto es de 3 a 5 días hábiles. Los resultados de la prueba están disponibles exclusivamente online y sujetos a la restricción del acceso profesional.

¿Qué se hace con el resultado una vez que se completa el análisis?

No se realizará más análisis adicionales con su muestra de sangre excepto los que haya autorizado su profesional sanitario. Existen límites de tiempo de los resultados de la prueba ante a los profesionales sanitarios involucrados en la primera página de este folleto, o a su representante, salvo que existiera alguna otra opción o según lo indique las leyes, las regulaciones o las otras jurisdicciones.

EL PROFESOR MEDICAR, 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 (Ley 33/2018) y normativa nacional vigente, para la realización de pruebas diagnósticas, análisis e informes médicos, formación y gestión de incidencias. Le hace justicia para estos tratamientos así lo dispuesto en el artículo 6.1 apartado f), o y / RGPD. Puede ejercer sus derechos de acceso a los datos de tratamiento, o en su caso, si desea legalmente para cada uno de los obligaciones legales que derivan de los tratamientos descritos a continuación.

De la forma 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 y portabilidad de los mismos según lo establecido en el RGPD. Puede ejercer estos derechos, o ejercer el consentimiento, por escrito en EUROFINES MEGALAB, S.A. Valdeaviso, 71 - 28007 o en correo electrónico info@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.

En este informe de resultados médicos que los médicos elaboran el consentimiento informado para realizar análisis genéticos.

Firma de la paciente

Fecha




LABORATORIO Eurofins MEGALAB
 Calle de Valdeaviso, 71 - 28007 Madrid
 Teléfono: +34 91 531 20 00





www.eurofins.com

ANEXO 5

Infome comité ético



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

ÁREA HOSPITALARIA DE VALME

**INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN SEVILLA
SUR**

D^a. ANA LOZA VAZQUEZ

Presidente del Comité de Ética de la Investigación Sevilla Sur del Hospital
Universitario de Valme de Sevilla

CERTIFICA:

Que este Comité ha **APROBADO** los aspectos éticos sobre el proyecto
titulado:

**“Utilidad de la ecografía morfológica precoz en la aplicación del estudio de DNA
fetal en sangre materna como alternativa a las técnicas invasivas en el
diagnóstico prenatal de cromosomopatías”.**
CODIGO INTERNO: 0109-N-17

Cuyo investigador principal es:

Dr. José Antonio Sainz Bueno.

Lo que firmo en Sevilla a 31 de enero de 2017.



Fdo.: Ana Loza Vazquez
Presidente del Comité de Ética de
la Investigación Sevilla Sur

8. BIBLIOGRAFÍA

¹ Nicolaides KH. A model for a new pyramid of prenatal care based on the 11 to 13 weeks' assessment. *Prenat Diagn.* 2011 Jan; 31(1):3-6.

² ISUOG Practice Guidelines: performance of first-trimester fetal ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 41: 102–113.

³ Cuckle H, Wald N, Thompson S, Nicolaides KH. 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.

⁴ 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.

⁵ Sainz JA, Zurita MJ, Borrero C, Serrano R, Turmo E, Almeida C, Caballero V, Garrido R. Role of fetal echocardiography in stepwise sequential screening for chromosomal disorders (combined test associated with modified genetic sonography). *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012 Nov; 25(11):2216-20.

⁶ Agathokleous M, Chaveeva P, Poon LC, Kosinski P, Nicolaides KH. Meta-analysis of second-trimester markers for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013; Mar 41(3):247-61.

⁷ Malone FD, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski R. 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.

⁸ 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.

⁹ 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 Aug;48(2):256-68.

-
- ¹⁰ Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *The Lancet* 1997; 350: 485-487.
- ¹¹ 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 Sep;50(3):302-314.
- ¹² 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, Organización Mundial de la Salud, 2006.
- ¹³ Jones KL. *Smith's recognizable patterns of human malformation*, 6th ed, Elsevier Saunders, Philadelphia 2006.
- ¹⁴ Programa andaluz de cribado de anomalías congénitas (PACAC). Servicio Andaluz de Salud, 2009, ISBN: 978-84-692-8427-8. D.L.: SE 7104-2009.
- ¹⁵ Parra M. Cromosopatías: aspectos de mayor relevancia en medicina fetal. En: Gratacós E, Gómez R, Nicolaides K, Romero R, Cabero L editores. *Medicina Fetal*. Madrid: Panamericana SA; 2009; p 511-516.
- ¹⁶ Jones KL. Down syndrome. In: *Smith's recognizable patterns of human malformation*, 6th ed, Elsevier Saunders, Philadelphia 2006. p.70.
- ¹⁷ Bull MJ. Committee on Genetics. Health supervision for children with Down syndrome. *Pediatrics* 2011; 128:393./Winders PC. Gross motor milestone statistics. In: *Gross motor skills in children with Down syndrome: A guide for parents and professionals*, Woodbine House, Baltimore 1997. p.228.
- ¹⁸ Irving CA, Chaudhari MP. Cardiovascular abnormalities in Down's syndrome: spectrum, management and survival over 22 years. *Arch Dis Child.* 2012; 97:326.
- ¹⁹ Fabia J, Drolette M. Malformations and leukemia in children with Down's syndrome. *Pediatrics* 1970; 45:60.

²⁰ Roizen NJ, Mets MB, Blondis TA. Ophthalmic disorders in children with Down syndrome. *Dev Med Child Neurol* 1994; 36:594.

²¹ Bathia S, Verma IC, Shrivasta S. Congenital heart disease in Down Syndrome: an ecocardiographic study. *Indian Pediatrics* 1992; 29(9): 1113-6.

²² Edwards J, Hernden D, Cameron A, Crosse V, Wolff O. A new trisomic Syndrome. *The Lancet*.1960; 1:789-9.

²³ Nicolaides K, Sebire N, Sjindres J. The 11-14 weeks scan, the diagnosis of fetal abnormalities. *Am J Obs Gynecologist*. 2004;191:45-67.

²⁴ Chitty L, Mason S, Barrett A, McKay F, Lench N, Daley R. 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.

²⁵ Amicucci P, Gennarelli M, Novelli G, Dallapiccola B. Prenatal diagnosis of Myotonic dystrophy using fetal DNA obtained from maternal plasma. *Clin. Chem.*2000;46:301–302.

²⁶ Gonzalez-Gonzalez MC, Trujillo M, Rodriguez de Alba M, Garcia-Hoyos M, Lorda-Sanchez I, Diaz-Recasens J. Huntington disease-unaffected fetus diagnosed from maternal plasma using QF-PCR. *Prenat. Diagn.*2003;23:232–34.

²⁷ Gonzalez-Gonzalez M, Garcia-Hoyos M, Trujillo M, Rodriguez de Alba M, Lorda-Sanchez I, Diaz-Recasens J. Prenatal detection of a cystic fibrosis mutation in fetal DNA from maternal plasma. *Prenat. Diagn.*2002;22:946–48.

²⁸ Lench N, Barrett A, Fielding S, McKay F, Hill M, Jenkins L. The clinical implementation of non-invasive prenatal diagnosis for single-gene disorders: challenges and progress made. *Prenat. Diagn.* 2013;33:555-62.

²⁹ Chiu R, Lau T, Cheung P, Gong Z, Leung T, Lo Y. Non invasive prenatal exclusion of congenital adrenal hyperplasia by maternal plasma analysis: a feasibility study. *Clin. Chem.* 2002;48: 778–80

-
- ³⁰ Chiu R, Lau T, Leung T, Chow K, Chui D, Lo Y, Prenatal exclusion of beta thalassaemia major by examination of maternal plasma, *Lancet*. 2002;360:998–1000.
- ³¹ Tsui B, Kadir R, Chan K, Chi C, Mellars G, Tuddenham E. Non invasive prenatal diagnosis of hemophilia by microfluidics digital PCR analysis of maternal plasma DNA *Blood*. 2011;117: 3684–91.
- ³² Lun F, Tsui N, Chan K, Leung T, Lau T, Charoenkwan P. Non invasive prenatal diagnosis of monogenic diseases by digital size selection and relative mutation dosage on DNA in maternal plasma, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2008;105:19920–25.
- ³³ Barrett N, McDonnell T.C.R, Chan K.C.A, Chitty L.S. Digital PCR analysis of maternal plasma for noninvasive detection of sickle cell anemia. *Clin. Chem*. 2012;58:1026–32.
- ³⁴ Gu W, Koh W, Blumenfeld Y, El-Sayed Y, Hudgins L, Hintz S. Non invasive prenatal diagnosis in a fetus at risk for methylmalonic acidemia. *Genet. Med*. 2014;16:564–67.
- ³⁵ Lv W, Wei X, Guo R, Liu Q, Zheng Y, Chang J. Non-invasive prenatal testing for Wilson disease by use of circulating single-molecule amplification and resequencing technology (cSMART). *Clin. Chem*. 2015;61:172–81.
- ³⁶ New M, Tong Y, Yuen T, Jiang P, Pina C, Chan K, et al., Noninvasive prenatal diagnosis of congenital adrenal hyperplasia using cell-free fetal DNA in maternal plasma. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2014;99:1022–30.
- ³⁷ Yoo S, Lim B, Byeun J, Hwang H, Kim K, Hwang Y, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of Duchenne muscular dystrophy: comprehensive genetic diagnosis in carrier, proband, and fetus. *Clin. Chem*. 2015;61:829–37.
- ³⁸ You Y, Sun Y, Li X, Li Y, Wei X, Chen F, et al., Integration of targeted sequencing and NIPT into clinical practice in a Chinese family with maple syrup urine disease. *Clin. Chem*. 2015;32:195–99.

- ³⁹ Meng M, Li X, Ge H, Chen F, Han M, Zhang Y, et al., Noninvasive prenatal testing for autosomal recessive conditions by maternal plasma sequencing in a case of congenital deafness. *Genet. Med.* 2014;16:972–976.
- ⁴⁰ Sánchez-Sánchez P.J. Epidemiología de los defectos congénitos. *Cienc Gynecol.* 2006; 1: 1-5.
- ⁴¹ Garne E, Dolk H, Loane M and Boyd PA. EUROCAT website data on prenatal detection rates of congenital anomalies. *J Med Screen* 2010; 17: 97–98.
- ⁴² The status of health in the European Union: congenital malformations. EUROCAT Central Registry, University of Ulster. Available at: www.eurocat.ulster.ac.uk/pdf/special-report-con-malifs.pdf.
- ⁴³ Centro de investigación sobre Anomalías Congénitas (CIAC-ECEMC). Instituto de Salud Carlos III. Disponible en: <http://isciii.es/>.
- ⁴⁴ International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research (ICBDSR). Disponible en: <http://www.icbdsr.org>.
- ⁴⁵ Dolk H, Loane M, Garne E. The prevalence of congenital anomalies in Europe. *Adv Exp Med Biol.* 2010; 686: 349-64
- ⁴⁶ World Health Organization (WHO). Centro de prensa: Nota descriptiva N°370. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs370/es/index.html>.
- ⁴⁷ Castilla E. Annual Report 2011 with data for 2009. International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research. Via Carlo Mirabello 14 - 00195 Roma – Italy. 2011.
- ⁴⁸ Nicolaides KH. The 11-13+6 weeks scan. Fetal Medicine Foundation, London 2004. Disponible en: <http://fetalmedicine.com/pdf/11-14/english/FMF-English>.
- ⁴⁹ Bromley B, Lieberman E, Shipp T, Benacerraf B. The genetic sonogram: a method of risk assessment for Down syndrome in the second trimester. *J Ultrasound Med.* 2002; 21:1087-96.

-
- ⁵⁰ Souter V, El-Bastawissi A, Young S, Luthhardt F, Luthy D. Isolated sonographic markers for detection of fetal Down syndrome in the second trimester of pregnancy. *J Ultrasound Med* 2001; 20:1053-63.
- ⁵¹ Nyberg D, Souter V, El-Bastawissi A, Young S, Luthhardt F, Luthy D. Isolated sonographic markers for detection of fetal Down syndrome in the second trimester of pregnancy. *J Ultrasound Med* 2001; 20: 1053-
- ⁵² Antenatal care: routine care for healthy pregnant woman. Clinical guideline, March 2008. www.nice.org.uk
- ⁵³ National Down's Syndrome Screening Programme for England. 4rd Annual Programme Report 2006-2007. Disponible en: www.screening.nhs.uk/home.htm
- ⁵⁴ Royal College of Obstetricians and Gynaecologist. www.rcog.org.uk.
- ⁵⁵ American College of Obstetricians and Gynecologists. First-trimester screening for fetal aneuploidy: opinion 296. *Obstet Gynecol* 2004; 104:215-7
- ⁵⁶ Kagan KO, Wright D, Spencer K, Molina FS, Nicolaides KH. 2008a. Firsttrimester 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* 31: 493–502.
- ⁵⁷ Cuckle HS, van Lith JMM. 1999. Appropriate biochemical parameters in firsttrimester screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 19: 505–512.
- ⁵⁸ 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.
- ⁵⁹ 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 and in a trisomy 16 mouse. *Anat Embryol (Berl)* 1998; 197(2):105-24.

⁶⁰ Souka AP, von Kaisenberg CS, Hyett JA, Sonek JD, Nicolaides KH. Increased nuchal translucency with normal karyotype. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 2005; 192(4): 1005-1021.

⁶¹ Sotiriadis, A., Papatheodorou, S. and 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.

⁶² Bindra R, Heath V, Liao A, Spencer K, Nicolaides KH. 2002. One stop clinic for assessment of risk for trisomy 21 at 11–14 weeks: a prospective study of 15,030 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 20: 219–225.

⁶³ Madsen H, Ball S, Wright D, Topping N, Petersen O, Nicolaides K, 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.

⁶⁴ Nicolaides K, Spencer K, Avgidou K, Faiola S, Falcon O. Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005; 25:221-226.

⁶⁵ Muñoz-Cortes M, Arigita M, Falguera G, Seres A, Guix D, Baldrich E, Acera A, Torrent A, Rodriguez-Veret A, Lopez-Quesada E, Garcia-Moreno R, Gonce A, Borobio V, Borrell A. Contingent screening for Down Syndrome completed in the first trimester: a multicenter study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012 Apr; 39(4):396-400.

⁶⁶ García-Cabrera MS. Aplicación de la metodología contingente en el cribado del síndrome de Down. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla. Disponible en: idus.us.es/xmlui/handle/11441/57443.

⁶⁷ Sainz JA, Serrano R, Turmo E, Almeida C, Caballero V, Garrido R. Contribution of "modified genetic sonography" to the combined test as a screening method for chromosomal abnormalities. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012 Aug; 25(8):1399-405.

⁶⁸ Neocleous AC, Syngelaki A, Nicolaides KH, Schizas CN. Two-stage approach for risk estimation of fetal of fetal T-21 and other aneuploidies using computational intelligence systems. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017 in press.

-
- ⁶⁹ Gil MM, Revello R, Poon LC, Akolekar R, Nicolaides KH. Clinical implementation of routine screening for fetal trisomies in the UK NHS: cell-free DNA test contingent on results from first-trimester combined test. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47: 45-52.
- ⁷⁰ Santorum M, Wright, Syngelaki A, Karagiotti N, Nicolaides KH. Accuracy of first-trimester combined test inscreening for trisomies 21, 18 and 13. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 49: 714-720.
- ⁷¹ Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia 2017. Guía de asistencia práctica: Cribado y diagnóstico precoz de anomalías genéticas.
- ⁷² Kitzman JO, Snyder MW, Ventura M, Lewis AP, Qiu R, Simmons LE, Gammill HS. Noninvasive whole-genome sequencing of a human fetus. *Sci Transl Med* 2012; 4:137-76.
- ⁷³ Fan HC, Gu W, Wang J, Blumenfeld YJ, El-Sayed YY, Quake SR. Non-invasive prenatal measurement of the fetal genome. *Nature* 2012; 487:320–324.
- ⁷⁴ 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.
- ⁷⁵ Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 16–26.
- ⁷⁶ 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.
- ⁷⁷ 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.
- ⁷⁸ Antsaklis A, Daskalakis G, Papantoniou N, Michalas S. Fetal blood sampling--indication-related losses. *Prenat Diagn* 1998; 18: 934–940.

- ⁷⁹ American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No. 88, December 2007. Invasive prenatal testing for aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2007; 110: 1459–67.
- ⁸⁰ Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012; 367: 2175–84.
- ⁸¹ Grande M, Jansen FA, Blumenfeld YJ, Fisher A, Odibo AO, Haak MC, Borrell A. Genomic microarray in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 46: 650–58.
- ⁸² 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.
- ⁸³ Cambiaghi S, Restano L, Cavalli R, Gelmetti C. Skin dimpling as a consequence of amniocentesis. *J Am Acad Dermatol* 1998; 39: 888–90.
- ⁸⁴ Epley SL, Hanson JW, Cruikshank DP. Fetal injury with midtrimester diagnostic amniocentesis. *Obstet Gynecol* 1979; 53: 77–80.
- ⁸⁵ Philip J, Silver RK, Wilson RD, Thom EA, Zachary JM, Mohide P. Late first-trimester invasive prenatal diagnosis: results of an international randomized trial; NICHD EATA Trial Group. *Obstet Gynecol* 2004; 103: 1164–73.
- ⁸⁶ Mujezinovic F, Alfirevic Z. Analgesia for amniocentesis or chorionic villus sampling. American College of Medical Genetics. *Genet Med* 2000; 2: 356–61
- ⁸⁷ Evans MI, Wapner RJ. Invasive prenatal diagnostic procedures. *Semin Perinatol* 2005;29(4):215–28.
- ⁸⁸ Evans MI, Krivchenia EL, Wapner RJ, et al. Principles of screening. *Clin Obstet Gynecol* 2002;45(3):657–60.

-
- ⁸⁹ Hill M, Finning K, Martin P, Hogg J, Meaney C, Norbury G. Non-invasive prenatal determination of fetal sex: translating research into clinical practice. *Clin.Genet.* 2011;80: 68–75.
- ⁹⁰ Bianchi DW, Simpson JL, Jackson LG, et al. Fetal gender and aneuploidy detection using fetal cells in maternal blood: analysis of NIFTY I data. National Institute of Child Health and Development Fetal Cell Isolation Study. *Prenat Diagn* 2002; 22(7):609–15.
- ⁹¹ Bianchi DW, Williams JM, Sullivan LM, Hanson FH, Klinger KW, Shuber AP. PCR Quantitation of fetal cells in maternal blood in normal and aneuploid pregnancies, *AM. J. Hum. Genet.* 1997; 61: 822–29.
- ⁹² Choi H, Lau TK, Jiang FM, et al. Fetal aneuploidy screening by maternal plasma DNA sequencing: 'false positive' due to confined placental mosaicism. *Prenat Diagn* 2013;33(2):198–200.
- ⁹³ Angert E, Leshane YM, Lo L, Chan LC, Delli-Bovi DW, Bianchi E, 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;49:195–98.
- ⁹⁴ Chim SC, Tong RW, Chiu TK, Lau TN, Leung LS, Chan A et al. Detection of the placental epigenetic signature of the maspin gene in maternal plasma, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2005;102:14753–58.
- ⁹⁵ 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: 237-243.
- ⁹⁶ 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.* 2015;22: 1429–35.
- ⁹⁷ Chiu R.W.K, Chan K.C.A., Gao Y, Lau V.Y.M, Zheng W, Leung T.Y, et al., Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 2008;105:20458–63.

⁹⁸ Lo YM, Zhang J, Leung TN, Lau TK, Chang AH, Hjelm NM. Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma, *Am. J. Hum. Genet.* 1999;64:218–24.

⁹⁹ 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. U.S.A.* 1996; 93:705–8.

¹⁰⁰ Sekizawa A, Samura O, Zhen DK, et al. Apoptosis in fetal nucleated erythrocytes circulating in maternal blood. *Prenat Diagn* 2000; 20:886.

¹⁰¹ Wang E, Batey A, Struble C, et al. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn* 2013; 33:662.

¹⁰² 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

¹⁰³ Dar P, Curnow KJ, Gross SJ, et al. Clinical experience and follow-up with large scale single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal aneuploidy testing. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 211(5):527-49

¹⁰⁴ 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.

¹⁰⁵ 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

¹⁰⁶ 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.

¹⁰⁷ Ehrich M, Deciu C, Zwielfhofer 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.

-
- ¹⁰⁸ Chiu RW, Akolekar R, Zheng YW, et al. Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study. *BMJ* 2011; 342-401.
- ¹⁰⁹ Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM. et al. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. *Genet Med* 2011; 13:913.
- ¹¹⁰ Nygren AO, Dean J, Jensen TJ. et al. Quantification of fetal DNA by use of methylation-based DNA discrimination. *Clin Chem* 2010; 56:1627.
- ¹¹¹ Canick JA, Palomaki GE, Kloza EM, et al. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies. *Prenat Diagn* 2013; 33:667.
- ¹¹² Nicolaides KH, Syngelaki A, del Mar Gil M, et al. Prenatal detection of fetal triploidy from cell-free DNA testing in maternal blood. *Fetal Diagn Ther* 2014; 35:212.
- ¹¹³ Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, et al. Circulating cell free DNA testing: are some test failures informative? *Prenat Diagn* 2015;35(3):289–93.
- ¹¹⁴ Lo YM, Zhang J, Leung TN, et al. Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma. *Am J Hum Genet* 1999; 64:218.
- ¹¹⁵ Yu SC, Lee SW, Jiang P, et al. High-resolution profiling of fetal DNA clearance from maternal plasma by massively parallel sequencing. *Clin Chem* 2013; 59:1228.
- ¹¹⁶ Bevilacqua E, Gil MM, Nicolaides KH, Ordoñez E, Cirigliano V, Dierickx H, Willems PJ, Jani JC. Performance of screening for aneuploidies by cell-free DNA analysis of maternal blood in twin pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 61-66.
- ¹¹⁷ 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.

¹¹⁸ Tabor A, Alfrevic Z. Update on procedure-related risks for prenatal diagnosis techniques. *Fetal Diagn. Ther.* 2010; 27:1–7.

¹¹⁹ Lewis, M. Hill, H. Skirton, L.S. Chitty, Non-invasive prenatal diagnosis for fetal sex determination: benefits and disadvantages from the service users' perspective, *Eur. J. Hum. Genet.* 2012; 20:1127–33.

¹²⁰ Banch Clausen F, Steffensen R, Christiansen M, Rudby M, Jakobsen M., Jakobsen T., et al., Routine non invasive prenatal screening for fetal RHD in plasma of RhD-negative pregnant women-2 years of screening experience from Denmark, *Prenat. Diagn.* 2014;34:1000–1005.

¹²¹ Scheffer C, Van Deer Schoot G, Page-Christiaens M. 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;118:1340-8.

¹²² Chitty L, 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; 349-54.

¹²³ New M, Abraham M, Yuen T, Lekarev O. An update on prenatal diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Semin. Reprod. Med.* 2012;30:396–99.

¹²⁴ Costa J, Benachi A, Gautier E, Jouannic J, Ernault P, Dumez Y. First trimester fetal sex determination in maternal serum using real-time PCR, *Prenat. Diagn.* 2001; 2:1070–74.

¹²⁵ Rijnders R, Van der Schoot C, Bossers B, de Vroede M, Christiaens G. Fetal sex determination from maternal plasma in pregnancies at risk for congenital adrenal hyperplasia. *Obstet. Gynecol.* 2001;98:374–78.

¹²⁶ Odeh M, Granin V, Kais M, Ophir E, Bornstein J. Sonographic fetal sex determination. *Obstet. Gynecol. Surv.* 2009;64:50–57.

¹²⁷ Emerson D, Felker R, Brown D, The sagittal sign. An early second trimester sonographic indicator of fetal gender, *J. Ultrasound Med.* 1989;8:293–97.

-
- ¹²⁸ Efrat Z, Akinfenwa O, Nicolaides K. First-trimester determination of fetal gender by ultrasound. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 1999;13:305–7.
- ¹²⁹ Hyett J, Gardener G, Stojilkovic-Mikic T, Finning K, Martin P, Rodeck C. Reduction in diagnostic and therapeutic interventions by non-invasive determination of fetal sex in early pregnancy, *Prenat. Diagn.* 2005;25: 1111-16.
- ¹³⁰ Devaney A, Palomaki G, Scott J, Bianchi D. Noninvasive fetal sex determination using cell-free fetal DNA: a systematic review and meta-analysis. 2011;30:627–36.
- ¹³¹ Finning S, Chitty L, Non-invasive fetal sex determination: impact on clinical practice. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2008;13: 69–75.
- ¹³² 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.
- ¹³³ Hill M, Taffinder S, Chitty L, Morris S. Incremental cost of non-invasive prenatal diagnosis versus invasive prenatal diagnosis of fetal sex in England. *Prenat. Diagn.* 2011;31:267–273.
- ¹³⁴ Debrand E, Lykoudi A, Bradshaw E, Allen SK. A Non-Invasive Droplet Digital PCR (ddPCR) Assay to Detect Paternal CFTR Mutations in the Cell-Free Fetal DNA (cffDNA) of Three Pregnancies at Risk of Cystic Fibrosis via Compound Heterozygosity. *PLoS One* 2015;10:014-73.
- ¹³⁵ Bellus G, Hefferon T, Ortiz de Luna R, Hecht J, Horton W, Machado M, et al. Achondroplasia is defined by recurrent G380R mutations of FGFR3. *Am. J. Hum. Genet.* 1995;56:368–73.
- ¹³⁶ Liv W, Wei X, Guo R, Liu Q, Zheng Y, Chang J, et al. Non-invasive prenatal testing for Wilson disease by use of circulating single-molecule amplification and resequencing technology (cSMART). *Clin. Chem.* 2015; 61: 172–81.

- ¹³⁷ Lam K, Jiang P, Liao G, Chan K, Leung T, Chiu R, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of monogenic diseases by targeted massively parallel sequencing of maternal plasma: application to β -thalassemia. *Clin. Chem.* 2012;58:1467–75.
- ¹³⁸ Song Y, Liu C, Qi H, Zhan Y, Bian X, Liu J. Noninvasive prenatal testing of fetal aneuploidies by massively parallel sequencing in a prospective Chinese population. *Prenat. Diagn.* 2013;33:700–706.
- ¹³⁹ Zhang H, Gao Y, Jiang F, Fu M, Yuan Y, Guo Y, et al. Noninvasive prenatal testing for trisomy 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2015; 45: 530–38.
- ¹⁴⁰ Swanson, A.J. Sehnert, S. Bhatt, Non-invasive prenatal testing: technologies, clinical assays and implementation strategies for women's healthcare practitioners, *Curr. Genet. Med. Rep.* 2013;1: 113–21.
- ¹⁴¹ Minear M.A, Lewis C, Pradhan S, Chandrasekharan S, Global perspectives on clinical adoption of NIPT. *Prenat. Diagn.* 2015; 35: 959–67.
- ¹⁴² Gil M, Quezada M, R. Revello, R. Akolekar, K.H. Nicolaides. Analysis of cellfree DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2015; 45: 249–66.
- ¹⁴³ Norton M, Jacobsson B, Swamy G, Laurent L, Ranzini A, Brar H., et al., Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy. *N. Engl. J. Md.* 2015;37:1589–1597.
- ¹⁴⁴ Bianchi D, Parker R, Wentworth J, Madankumar R, Saffer C, Das A, et al., DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N. Engl. J. Med.* 2014;370:799–808.
- ¹⁴⁵ Futch T, Spinosa J, Bhatt S, de Feo E, Rava R, Sehnert A. Initial clinical laboratory experience in noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy from maternal plasma DNA samples. *Prenat. Diagn.* 2013;33:569–574.

-
- ¹⁴⁶ Lau T, Jiang F, Stevenson R, Lo T, Chan L, Chan M, et al., Secondary findings from non-invasive prenatal testing for common fetal aneuploidies by whole genome sequencing as a clinical service. *Prenat. Diagn.* 2013; 33: 602–608.
- ¹⁴⁷ Chen C, Cram D, Xie F, Wang P, Xu X, Li H, et al..A pregnancy with discordant fetal and placental chromosome 18 aneuploidies revealed by invasive and noninvasive prenatal diagnosis. *Reprod. Biomed. Online.* 2014;29: 136–39.
- ¹⁴⁸ Kalousek D, Vekemans M, Confined placental mosaicism, *J. Med. Genet.* 1996;33:529–33.
- ¹⁴⁹ Benn P, Cuckle H, Pergament E. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy: current status and future prospects. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2013;42: 15–33.
- ¹⁵⁰ Grati F, Malvestiti F, Ferreira J, Bajaj K, Gaetani E, Agrati C, et al., Fetoplacental mosaicism: potential implications for false-positive and false-negative noninvasive prenatal screening results. *Genet. Med.* 2014;16:620–624.
- ¹⁵¹ Osborne C, Hardisty E, Devers P, Kaiser-Rogers K, Hayden M, Goodnight W, et al., Discordant noninvasive prenatal testing results in a patient subsequently diagnosed with metastatic disease. *Prenat. Diagn.*2013; 33: 609–611.
- ¹⁵² Dharajiya, T. Monroe, D.H. Farkas, T. Boomer, J. Wardrop, J. Jesiolowski, E. Almasri, C. Zhao, C. Deciu, J. Saldiva, Adventitious detection of maternal neoplasia during noninvasive prenatal testing, *J. Mol. Diag.* 16 (2014) 699–89.
- ¹⁵³ Palomaki G, Kloza E, Lambert-Messerlian G, Van den Boom D, Ehrich M, Deciu C, et al., Circulating cell free DNA testing: are some test failures informative *Prenat. Diagn.* 2015;35:289–93.
- ¹⁵⁴ Bianchi D.W, Pregnancy: prepare for unexpected prenatal test results. *Nature* 2015;522:29–30
- ¹⁵⁵ Bianchi D.W, Chudova D, Schnert A.J, et al. Noninvasive prenatal testing and incidental detection of occult maternal malignancies. *JAMA.* 2015;314:162–169.

¹⁵⁶ Wang Y, Chen Y, Tian F, Zhang J, Song Z, Wu Y, et al., Maternal mosaicism is a significant contributor to discordant sex chromosomal aneuploidies associated with noninvasive prenatal testing. *Clin. Chem.* 2014;60: 251–259.

¹⁵⁷ Flowers N, Kelley J, Sigurjonsson S, Bruno D, Pertile M, Maternal mosaicism for a large segmental duplication of 18q as a secondary finding following non-invasive prenatal testing and implications for test accuracy. *Prenat. Diagn.* 2015;35: 986–989.

¹⁵⁸ Bianchi D, Wilkins-Haug L, Integration of noninvasive DNA testing for aneuploidy into prenatal care: what has happened since the rubber met the road? *Clin.Chem.*2014;60:78–87.

¹⁵⁹ Vora N, Johnson K, Basu S, Catalano P, Hauguel De Mouzon S, Bianchi D, A multifactorial relationship exists between total circulating cell-free DNA levels and maternal BMI, *Prenat. Diagn.*2012; 32: 912–914.

¹⁶⁰ Cribado y diagnóstico precoz de anomalías genéticas. Grupo expertos SESEGO y SEMEPE consensuado con AEDP.2017

¹⁶¹ Pergament H, Cuckle B, Zimmermann M, Banjevic S, Sigurjonsson A, Ryan, et al., Single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal screening in a high-risk and low-risk cohort. *Obstet. Gynecol.* 2014;124: 210–218.

¹⁶² American College of Obstetricians and Gynecologists, Committee opinion No. 640: cell-free DNA screening for fetal aneuploidy. *Obstet. Gynecol.* 2015;126:31

¹⁶³ Tartaglia NR, Howell S, Sutherland A, Wilson R, Wilson L. A review of trisomy X (47,XXX). *Orphanet J Rare Dis* 2010; 5: 8.

¹⁶⁴ Forabosco A, Percesepe A, Santucci S. Incidence of non-agedependent chromosomal abnormalities: a population-based study on 88965 amniocenteses. *Eur J Human Genet* 2009; 17: 897–903.

¹⁶⁵ 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: 711–17.

-
- ¹⁶⁶ Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia 2017. Guía de asistencia práctica: Cribado y diagnóstico precoz de anomalías genéticas.
- ¹⁶⁷ Dondorp W, Wert G, Bombard Y, Bianchi DW, Bergmann C, Borry P, 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.
- ¹⁶⁸ 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: 266-271.
- ¹⁶⁹ Chiu RW, Chan KC, Gao Y, Lau VY, Zheng W, Leung TY, Foo CH, Xie B, Tsui NB, Lun FM, Zee BC, Lau TK, Cantor CR, Lo YM. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008.
- ¹⁷⁰ Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, et al. Maternal Blood IS Source to Accurately diagnose fetal aneuploidy (MELISSA) Study Group. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Obstet Gynecol* 2012; 119(5):890–901.
- ¹⁷¹ Sehnert AJ, Rhee B, Comstock D, et al. Optimal detection of fetal chromosomal abnormalities by massively parallel DNA sequencing of cell-free fetal DNA from maternal blood. *Clin Chem* 2011;57(7):1042–9.
- ¹⁷² Yeang CH, Ma GC, Hsu HW, et al. Genome-wide normalized score: a novel algorithm to detect fetal trisomy 21 during non-invasive prenatal testing. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;44(1):25–30.
- ¹⁷³ Norton ME, Brar H, Weiss J, et al. Non-invasive Chromosomal Evaluation (NICE) study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal.
- ¹⁷⁴ Dan S, Wang W, Ren J, et al. Clinical application of massively parallel sequencing-based prenatal noninvasive fetal trisomy test for trisomies 21 and 18 in 11,105 pregnancies with mixed risk factors. *Prenat Diagn* 2012;32(13):1225–32.

- ¹⁷⁵ Lau TK, Chen F, Pan X, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of common fetal chromosomal aneuploidies by maternal plasma DNA sequencing. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012;25(8):1370–4
- ¹⁷⁶ 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
- ¹⁷⁷ Stokowski R, Wang E, White K, 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
- ¹⁷⁸ Juneau K, Bogard PE, Huang S, Mohseni M, Wang ET, Ryvkin P, Kingsley C, Struble CA, Oliphant A, Zahn JM. Microarray-based cell-free DNA analysis improves noninvasive prenatal testing. *Fetal Diagn Ther* 2014; 36: 282-286.
- ¹⁷⁹ Samango-Sprouse C, Banjevic M, Ryan A, et al. SNP-based non-invasive prenatal testing detects sex chromosome aneuploidies with high accuracy. *Prenat Diagn* 2013;33(7):643–9.
- ¹⁸⁰ Dar P, Curnow KJ, Gross SJ, et al. Clinical experience and follow-up with large scale single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal aneuploidy testing. *Am J Obstet Gynecol* 2014;211(5):527.1–17.
- ¹⁸¹ 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.
- ¹⁸² 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
- ¹⁸³ Cuckle H, Benn P, Pergament E. Maternal cfDNA screening for Down syndrome– a cost sensitivity analysis. *Prenat Diagn* 2013;33(7):636–42.

-
- ¹⁸⁴ Evans MI, Sonek JD, Hallahan TW, et al. Cell-free fetal DNA screening in the USA: a cost analysis of screening strategies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45(1):74–83.
- ¹⁸⁵ 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
- ¹⁸⁶ 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.
- ¹⁸⁷ Rodeck C, Tutschek B, Sherlock J, et al. Methods for the transcervical collection of fetal cells during the first trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* 1995;15(10):933–42.
- ¹⁸⁸ Katz-Jaffe MG, Mantzaris D, Cram DS. DNA identification of fetal cells isolated from cervical mucus: potential for early non-invasive prenatal diagnosis. *BJOG* 2005;112(5):595–600.
- ¹⁸⁹ Schmid M. Nichtinvasive pränatale tests in der zukunft. *Gynäkologe* 2016; 49: 437–441
- ¹⁹⁰ American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 545: Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2012; 120:1532.
- ¹⁹¹ 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.
- ¹⁹² 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(4):328. Epub 2016 Feb 28.
- ¹⁹³ Palomaki GE, Kloza EM, O'Brien BM, et al. The clinical utility of DNA-based screening for fetal aneuploidy by primary obstetrical care providers in the general pregnancy population. *Genet Med* 2017.

- ¹⁹⁴ 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.
- ¹⁹⁵ 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.
- ¹⁹⁶ Miltoft CB, Rode L, Tabor A. Positive view and increased likely uptake of follow-up testing with analysis of cell-free fetal DNA as alternative to invasive testing among Danish pregnant women. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2018 May;97(5):577-586.
- ¹⁹⁷ Yaron Y. The implications of non-invasive prenatal testing failures: a review of an under-discussed phenomenon. *Prenat Diagn* 2016; 36:391.
- ¹⁹⁸ Hartwig TS, Ambye L, Sørensen S, Jørgensen FS. Discordant non-invasive prenatal testing (NIPT) - a systematic review. *Prenat Diagn* 2017; 37:527.
- ¹⁹⁹ 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.
- ²⁰⁰ Bianchi DW, Chudova D, Sehnert AJ, et al. Noninvasive Prenatal Testing and Incidental Detection of Occult Maternal Malignancies. *JAMA* 2015; 314:162.
- ²⁰¹ Amant F, Verheecke M, Wlodarska I, et al. Presymptomatic Identification of Cancers in Pregnant Women During Noninvasive Prenatal Testing. *JAMA Oncol* 2015; 1:814.
- ²⁰² Kalousek DK, Howard-Peebles PN, Olson SB, et al. Confirmation of CVS mosaicism in term placentae and high frequency of intrauterine growth retardation association with confined placental mosaicism. *Prenat Diagn* 1991; 11:743.
- ²⁰³ 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.

-
- ²⁰⁴ 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
- ²⁰⁵ Kalousek DK, Barrett IJ, McGillivray BC. Placental mosaicism and intrauterine survival of trisomies 13 and 18. *Am J Hum Genet* 1989; 44:338.
- ²⁰⁶ 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.
- ²⁰⁷ Mennuti MT, Cherry AM, Morrissette JJ, Dugoff L. Is it time to sound an alarm about false-positive cell-free DNA testing for fetal aneuploidy? *Am J Obstet Gynecol* 2013; 209:415. Stone JF, Sandberg AA. Sex chromosome aneuploidy and aging. *Mutat Res* 1995; 338:107.
- ²⁰⁸ Committee on Practice Bulletins—Obstetrics, Committee on Genetics, and the Society for Maternal-Fetal Medicine. Practice Bulletin No. 163: Screening for Fetal Aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2016;127
- ²⁰⁹ Bucher HC, Schmidt JG. Does routine scanning improve outcome in pregnancy? Meta-analysis of various outcome measures. *BMJ* 1993; 307: 13-17.
- ²¹⁰ Levi S. Ultrasound in prenatal diagnosis: polemics around routine ultrasound screening for second trimester fetal malformations. *Prenat Diagn* 2002; 22: 285-295.
- ²¹¹ DeVore GR. The routine antenatal Diagnostic Imaging with Ultrasound Study (RADIUS): another perspective. *Obstet Gynecol.* 1994; 84: 611-626.
- ²¹² Saari-Kemppainen A, Karjalainen O, Ylöstalo P, Heinonen OP. Ultrasound screening and perinatal mortality: Controlled trial of systematic one-stage screening in pregnancy. The Helsinki Ultrasound Trial. *Lancet* 1990; 336: 387-391.
- ²¹³ Leivo T, Tuominen R, Saari-Kemppainen A, Ylostalo P, Karjalainen I, Heinonen OP. Cost-effectiveness of one-stage ultrasound screening in pregnancy: a report from the Helsinki ultrasound trial. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1994; 7: 309-314

- ²¹⁴ Vanara F, Bergeretti F, Gaglioti P, Todros A. Economic evaluation of ultrasound screening options for structural fetal malformations. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 24: 633–639.
- ²¹⁵ Luck CA. Value of routine ultrasound scanning at 19 weeks: a four year study of 8849 deliveries. *BMJ* 1992; 304: 1474-8.
- ²¹⁶ Skupski DW, Newman S, Edersheim T, Hutson JM, Udom-Rice I, Chervenak FA, McCullough LB. The impact of routine obstetric ultrasonographic screening in a low-risk population. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175(5): 1142-5.
- ²¹⁷ Bricker L, Garcia J, Henderson J, Mugford M, Neilson J, Roberts T ,et al. Ultrasound screening in pregnancy: a systematic review of the clinical effectiveness, cost-effectiveness and women's views. *Health Technol Assess* 2000; 4(16).
- ²¹⁸ Canadian Task Force on Periodic Health Examination. Canadian guide to clinical preventive health care. Ottawa: Canada Communication Group; 1994: 4-14.
- ²¹⁹ Neilson, JP. Routine ultrasound in early pregnancy (before 24 weeks gestation). *The Cochrane Collaboration - Volume (Issue 2) 2002*
- ²²⁰ Bricker L, Neilson JP, Dowswell T. Routine ultrasound in late pregnancy (after 24 weeks' gestation). *Cochrane Database Syst Rev.* 2008 Oct 8; (4).
- ²²¹ Lausman A, Kingdom J; Maternal Fetal Medicine Committee, Gagnon R, Basso M, Bos H, Crane J, Davies G, Delisle MF, Hudon L, Menticoglou S, Mundle W, Ouellet A, Pressey T, Pylypjuk C, Roggensack A, Sanderson F. Intrauterine growth restriction: screening, diagnosis, and management. *J Obstet Gynaecol Can.* 2013 Aug; 35(8): 741-8.
- ²²² Sylvan K, Ryding EL, Rydhstroem H. Routineultrasound screening in the third trimester: a population-based study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005 Dec; 84(12) : 1154-8.
- ²²³ Ashe RG, Dorman JC, Patterson CC, Thompson W. Evaluation of routine ultrasound in the prenatal diagnosis of structural anomalies of the fetus. *Ir Med J* 1996; 89(5): 180-182.

-
- ²²⁴ Crane JP, LeFevre ML, Winborn RC, Evans JK, Ewigman BG, Bain RP, et al. A randomized trial of prenatal ultrasonographic screening: impact on the detection, management, and outcome of anomalous fetuses. The RADIUS Study Group. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171(2): 392-9.
- ²²⁵ LeFevre ML, Bain RP, Ewigman BG, Frigoletto FD, Crane JP, McNellis D, and the RADIUS Study Group. A randomized trial of prenatal ultrasonographic screening: Impact on maternal management and outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169(3): 483-9.
- ²²⁶ Ewigman BG, Crane JP, Frigoletto FD, LeFevre ML, Bain RP, McNellis D. A randomized trial of prenatal ultrasound screening: impact on perinatal outcome. *N Engl J Med* 1993; 329: 931-7.
- ²²⁷ Gradjean H, Larroque D, Levi S, and the Eurofetus Study Group. The performance of routine ultrasonographic screening of pregnancies in the Eurofetus Study. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181(2): 446-54.
- ²²⁸ Timor-Tritsch IE, Fuchs KM, Monteagudo A, MD, D'Alton ME. Performing a Fetal Anatomy Scan at the Time of First-Trimester Screening. *Obstet Gynecol*. 2009 Feb; 113(2 Pt 1): 402-7.
- ²²⁹ Protocolos de la SEGO: Diagnóstico prenatal de los defectos congénitos. Cribado de anomalías cromosómicas. Actualizado en 2010. Disponible en: <http://www.prosego.com/>.
- ²³⁰ Goldberg J. Routine screening for fetal anomalies: expectations. 2004; 31: 35-50.
- ²³¹ Stoll C, Tenconi R, Clementi M and EUROSCAN Group (2001). Detection of congenital anomalies by fetal ultrasonographic examination across Europe. *Community Genetics*. 4: 225-232.
- ²³² Garne E, Stoll C, Clementi M; Euroscan Study Group. Evaluation of prenatal diagnosis of congenital heart diseases by ultrasound: experience from 20 European registries. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 17(5): 386-391.
- ²³³ Donnelly J, Malone F. Early fetal anatomical sonography. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* 2012; 26: 561–573.

- ²³⁴ Whitlowand BJ, Economides DL. The optimal gestational age to examine fetal anatomy and measure nuchal translucency in the first trimester. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 11: 258–261.
- ²³⁵ Pajkrt E, Chitty LS. Early prenatal diagnosis of skeletal anomalies. *Prenat Diagn* 2011; 31(1): 115-124.
- ²³⁶ Heath V, Kypros N. Características ecográficas de las anomalías cromosómicas. Capítulo 2. En: *La ecografía de las 11-13+6 semanas*. Fetal Medicine Foundation, Londres, 2004;3: 47-59.
- ²³⁷ Gonçalves LF, Jeanty P, Piper JM. The accuracy of prenatal ultrasonography in detecting congenital anomalies. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171(6): 1606-12.
- ²³⁸ Achiron R, Glaser J, Gelernter I, Hegesh J, Yagel S. Extended fetal echocardiographic examination for detecting cardiac malformation in low-risk pregnancies. *Br Med J*. 1992; 304: 671-4.
- ²³⁹ Sylvan K, Ryding EL, Rydhstroem H. Routine ultrasound screening in the third trimester: a population-based study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005; 84: 1154–1158.
- ²⁴⁰ Sainz J, Serrano R, Peral I, Turmo E, Moro A, Almeida C, Caballero V, Garrido R. Implementación universal de un cribado de defectos congénitos de garantía en un área sanitaria: área hospitalaria de Valme, Sevilla, España. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2011; 76(5): 325-333.
- ²⁴¹ Rozenberg P, Bussieres L, Chevret S. Screening for Down syndrome using first-trimester combined screening followed by second-trimester ultrasound examination in an unselected population. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195 (5):1379-1387.
- ²⁴² Kjersti M, Aagaard-Tillery MD , Fergal D, Malone MD, David A, Nyberg MD, Cuckle M, et al. Role of second-trimester genetic sonography after Down Syndrome screening. *Obstet Gynecol* 2009; 114:1189-1196

-
- ²⁴³ Gutiérrez L. Evaluación morfológica fetal precoz. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla. 2014.
- ²⁴⁴ Saltvedt S, Almstrom H, Kublickas M, Valentin L, Grunewald C. Detection of malformations in chromosomally normal fetuses by routine ultrasound at 12 or 18 weeks of gestation—a randomized controlled trial in 39,572 pregnancies. *BJOG* 2006; 113: 664–674.
- ²⁴⁵ Rossi C, Prefumo F. Accuracy of Ultrasonography at 11–14 Weeks of Gestation for Detection of Fetal Structural Anomalies. *Obstet Gynecol.* 2013 Dec; 122(6): 1160-7
- ²⁴⁶ Becker R, Wegner RD. Detailed screening for fetal anomalies and cardiac defects at the 11–13 week scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 27: 613–618
- ²⁴⁷ Resta RG. Changing demographics of advanced maternal age and the impact of the predicted incidence of Down syndrome in the United States: implications for prenatal screening and genetic counselling. *Am J Med Genet A* 2005; 133: 31-6.
- ²⁴⁸ Souka AP, Pilalis A, Kavalakis Y, Kosmas Y, Antsaklis P, Antsaklis A. Assessment of fetal anatomy at the 11-14-week ultrasound examination. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004 Dec; 24(7): 730-4.
- ²⁴⁹ Smrcek JM, Berg C, Geipel A et al. Early fetal echocardiography. Heart biometry and visualization of cardiac structures between 10 and 15 weeks' gestation. *J Ultrasound Med* 2006, 26: 173-182.
- ²⁵⁰ McAuliffe FM, Fong KW, Toi A, Chitayat D, Keating S, Johnson JA. Ultrasound detection of fetal anomalies in conjunction with first-trimester nuchal translucency screening: a feasibility study. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193: 1260–5.
- ²⁵¹ Roberts T, Henderson J, Mugfordc M, Brickerd L, Neilsond J, Garcia J. Antenatal ultrasound screening for fetal abnormalities: a systematic review of studies of cost and cost effectiveness. *BJOG: an International Journal of Obstetrics and Gynaecology.* January 2002, Vol.109, pp. 44–56.

²⁵² Achiron R, Tadmor O. Screening for fetal anomalies during the first trimester of pregnancy: transvaginal versus transabdominal sonography. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1991 May; 1(3): 186-91

²⁵³ Weiner Z, Goldstein I, Bombard A, Applewhite L, Itzkovits-Eldor J. Screening for structural fetal anomalies during the nuchal translucency ultrasound examination. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197: 181.

²⁵⁴ Ebrashy A, El Kateb A, Momtaz M, et al. 13–14-Week fetal anatomy scan: a 5-year prospective study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010; 35: 292–296

²⁵⁵ Taipale P, Ammala M, Salonen R, Hiilesmaa V. Learning curve in ultrasonographic screening for selected fetal structural anomalies in early pregnancy. *Obstet Gynecol* 2003; 101: 273–8

²⁵⁶ Martinez-Zamora MA, Borrell A, Borobio V, Goncel A, et al. False positives in the prenatal ultrasound screening of fetal structural anomalies. *Prenat Diagn* 2007; 27: 18–22.

²⁵⁷ Yagel S, Cohen SM, Messing B. First and early second trimester fetal heart screening. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2007; 19: 183-190.

²⁵⁸ Bronshtein M, Zimmer EZ, Gerlis LM, Lorber A, Drugan A. Early ultrasound diagnosis of fetal congenital heart defects in high-risk and low-risk pregnancies. *Obstet Gynecol* 1993; 82: 225–9.

²⁵⁹ Rosati P, Guariglia L. Transvaginal Sonographic Detection of Embryonic-Fetal Abnormalities in Early Pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000;3:96.

²⁶⁰ Persico N, Moratalla J, Lombardi CM, Zidere V, Allan L, Nicolaides KH. Fetal echocardiography at 11–13 weeks by transabdominal high-frequency ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; 37: 296–301

²⁶¹ Volpe P, Ubaldo P, Volpe N et al. Fetal cardiac evaluation at 11-14 weeks by experienced obstetricians in a low-risk population. *Prenat Diagn* 2011; 31: 1054–61.

-
- ²⁶² Westin M, Saltvedt S, Bergman G et al. Routine ultrasound examination at 12 or 18 gestational weeks for prenatal detection of major congenital heart malformations? A randomized controlled trial comprising 36,299 fetuses. *BJOG* 2006; 113: 675–682.
- ²⁶³ Sebire N, Noble PL, Snijders JM, Nicolaides KH. Presence of the lemon sign in fetus with spina bifida at 11-14 weeks scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997; 10: 403-405.
- ²⁶⁴ Sepulveda W. Megacystis in the first trimester. *Prenat Diagn* 2004; 24: 144–14.
- ²⁶⁵ Chen M, Lee CP, Lam YH, Tang RY, Chan BC, Wong SF, et al. Comparison of nuchal and detailed morphology ultrasound examinations in early pregnancy for fetal structural abnormality screening: a randomized controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 31: 136–46.
- ²⁶⁶ Syngelaki A, Chelemen T, Dagklis T, Allan L, Nicolaides KH. Challenges in the diagnosis of fetal non-chromosomal abnormalities at 11-13 weeks. *Prenat Diagn.* 2011 Jan; 31(1): 90-102.
- ²⁶⁷ Liao AW, Sebire NJ, Geerts L, Cicero S, Nicolaides KH. Megacystis at 10–14 weeks of gestation: Chromosomal defects and outcome according to bladder length. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 21: 338–41.
- ²⁶⁸ Bronshtein M, Bar-Hava I, Blumenfeld Z. Clues and pitfalls in the early prenatal diagnosis of late onset infantile polycystic kidney. *Prenatal Diagn* 1992, 12:293-8
- ²⁶⁹ Cavoretto P, Molina F, Poggi Setal. Prenatal diagnosis and outcome of echogenic fetal lung lesions. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 32: 769–7833.
- ²⁷⁰ Sepulveda W, Wong AE, Martinez-Ten P, Perez-Pedregosa J. Retronasal triangle: a sonographic landmark for the screening of cleft palate in the first trimester. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010 Jan; 35(1): 7-13.,
- ²⁷¹ Katorza E, Achiron R. Early Pregnancy Scanning For Fetal Anomalies—The New Standard? *Clinical Obstetrics And Gynecology*. 2012. Volume 55, Number 1, 199–216.

- ²⁷² Blaas HGK, Eik-Nes SH. Sonoembryology and early prenatal diagnosis of neural anomalies. *Prenatal Diagn* 2009; 29: 312-325.
- ²⁷³ Nebot-Cegara J. Embriología del corazón y circulación fetal. En: Gratacós E, Gómez R, Nicolaides K, Romero R, Cabero L editores. *Medicina Fetal*. Madrid: Panamericana SA; 2009 pp. 309-315.
- ²⁷⁴ Bronshtein M, Amit A, Achiron R, Noy I, Blumenfeld Z. The early prenatal sonographic diagnosis of renal agenesis: techniques and possible pitfalls. *Prenat Diagn* 1994 Apr; 14(4): 291-7.
- ²⁷⁵ Salafia C, Gabrielli S, Hobbins JC. Transvaginal ultrasonographic detection of congenital anomalies in the first trimester. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 466-76.
- ²⁷⁶ Bronshtein M., et al. Pseudoprognathism an auxiliary ultrasonographic sign for transvaginal ultrasonographic diagnosis of cleft lip and palate in the early second trimester. *Am J Obstet Gynecol*. 1991 Nov; 165(5 Pt 1): 1314-6.
- ²⁷⁷ Timor- Tritsh IE, Monteagudo A, Peisner DB. High frequency transvaginal sonographic examination for the potential malformation assessment of the 9 to 14 week fetus. *J Clin Ultrasound* 1992 May; 20(4): 231-8.
- ²⁷⁸ Santacruz Martín B, Martínez Ten P, Adiego Burgos B. Metodología de la exploración normal en el primer trimestre de la gestación. En: Dr. J. Díaz Recasens, Dra. I. Pelayo Delgado, Dr. M. Álvaro Navidad. *Ecografía en el primer trimestre de la gestación. Curso teórico-práctico de ecografía y doppler SESEGO*. Enfoque Editorial S.C. 2012. Pp. 9-18.
- ²⁷⁹ Mattias Neyt, Frank Hulstaert, and Wilfried Gyselaers. Introducing the non-invasive prenatal test for trisomy 21 in Belgium: a cost-consequences analysis. *BMJ Open*. 2014; 4(11).
- ²⁸⁰ Royal College of Obsetricians and Gynaecologists. Non-invasive prenatal testing for chromosomal abnormality using maternal plasma DNA (Scientific Impact Paper)
- ²⁸¹ Gil MM, Giunta G, Macalli EA, et al. UK NHS pilot study on cell- free DNA testing inscreening for fetal trisomies: factors affecting uptake. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45:67-73.

-
- ²⁸² Oepkes D, Bartha JL, Schmid M, Yaron Y. Benefits of contingent screening vs primary screening by cell-free DNA testing: think again. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47: 542 – 545.
- ²⁸³ Kagan KO, Sroka F, Sonek J, Abele H, Lüthgens K, Schmid M, Wagner P, Brucker S, Wallwiener D, Hoopmann M. First-trimester risk assessment based on ultrasound and cell-free DNA vs combined screening: a randomized controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Apr;51(4):437-444.
- ²⁸⁴ Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015 Jan;45(1):16-26.
- ²⁸⁵ Malan V, Bussièrès L, Winer N, Jais JP, Baptiste A, Le Lorc'h M, Elie C, O'Gorman N, Fries N, Houfflin-Debarge V, Sentilhes L, Vekemans M, Ville Y, Salomon LJ; SAFE 21 Study Group. Effect of Cell-Free DNA Screening vs Direct Invasive Diagnosis on Miscarriage Rates in Women With Pregnancies at High Risk of Trisomy 21: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2018 Aug 14;320(6):557-565.

