



Cribado y diagnóstico precoz de anomalías genéticas

titulo inglés

Grupo expertos SESEGO y SEMEPE consensuado con AEDP. Grupo de expertos SEGO que han consensuado el documento (por orden alfabético): Begoña Adiego, Eugenia Antolín, Javier Arenas, Elena Carreras, Carmina Comas, Juan Luis Delgado, Nerea Maiz, Maria del Mar Gil, Francisca Molina, Bienvenido Puerto, Jose Antonio Sainz, Belén Santacruz y Walter Plasencia. Colaboradores AEDP: Javier Suela y Javier García Planells

INTRODUCCIÓN

La detección prenatal de las anomalías genéticas, capaces de generar grandes discapacidades en el individuo, es uno de los grandes retos de la Medicina Fetal actual. El diagnóstico prenatal de las anomalías genéticas actualmente requiere la obtención de material genético mediante una técnica invasiva (TI), biopsia corial (BC) o amniocentesis (AC), que no son pruebas inocuas y llevan asociado un riesgo de pérdida gestacional. Además existen numerosas formas de procesamiento de las muestras desde el punto de vista genético. El coste ético y económico, tanto como la baja rentabilidad diagnóstica si se realizaran a todas las gestantes, hace que no cumplan criterios para recomendarlas de forma indiscriminada a toda la población.

Por todos estos motivos se han desarrollado diversas estrategias de cribado (tamizaje o screening) mediante pruebas inocuas y relativamente fáciles de realizar, con las que identificar aquellas gestantes con fetos que presentan un riesgo elevado de tener una anomalía genética. Es a este grupo al que se le ofrecerán las diferentes pruebas y métodos diagnósticos personalizados, siendo indispensable la opinión de los progenitores (y específicamente de la madre) en la toma de decisiones.

Hasta ahora nuestros esfuerzos de cribado se han orientado a detectar la anomalía cromosómica más prevalente, la trisomía 21 (T21); mientras que la detección del resto, especialmente de la trisomía 13 (T13) y la trisomía 18 (T18) son una consecuencia beneficiosa de este cribado. Sabemos que existen otras anomalías genéticas que también causan graves discapacidades como son las microdeleciones (que afectan entre el 1-2% de la población), para muchas de las cuales tenemos capacidad diagnóstica; pero aún no se dispone de un método de cribado para identificar el grupo de alto riesgo dentro de la población general al que realizar las TI y, aunque es probable que en un futuro próximo puedan ser incluidas en un programa general de cribado de anomalías genéticas, en este momento nuestra propuesta es buscarlas en los fetos en que por sus características podamos obtener una mayor eficiencia de las pruebas necesarias para su detección (microarray) sin aumentar los riesgos en pérdidas fetales, lo que supondría un cribado oportunista de las mismas.

Recientemente dos grandes avances científicos nos obligan a replantear nuestra estrategia de cribado; en primer lugar la posibilidad de estudiar el ADN libre circulante (ADN-ic) en el plasma materno para el cribado de

*Las Guías de Asistencia Práctica de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia pretenden contribuir al buen quehacer profesional de todos los ginecólogos, especialmente los más alejados de los grandes hospitales y clínicas universitarias. Presentan métodos y técnicas de atención clínica aceptadas y utilizadas por especialistas en cada tema. Estas guías no deben interpretarse de forma rígida ni excluyente, sino que deben servir de guía para la atención individualizada a las pacientes. No agotan todas las posibilidades ni pretenden sustituir a los protocolos ya existentes en departamentos y servicios hospitalarios.

las trisomías fetales, y en segundo lugar el desarrollo de las técnicas de diagnóstico genético, y en particular del microarray genómico.

No existe actualmente un programa de cribado de anomalías genéticas establecido a nivel nacional; mientras que a nivel autonómico es muy dispar, con diferentes tipos de cribados, diferentes pruebas diagnósticas ofertadas y muy escasos controles de calidad de los programas (en muchos casos inexistentes), lo que genera inequidades del sistema en relación a las gestantes. En general el cribado combinado del primer trimestre (CCPT) se ha consolidado en casi todas las Comunidades Autónomas (CCAA) tanto en el ámbito de la Medicina Privada como de la Medicina Pública, aunque es extremadamente difícil obtener datos sobre los resultados de los mismos y muchos de nuestros centros no los tienen disponibles.

Es por ello que desde la SESEGO y SEMEPE hemos considerado fundamental convocar a un grupo amplio de expertos en el tema, para realizar una guía con información actualizada y consensuada, que pueda servir de referencia tanto a los especialistas como a los gestores que tienen que organizar y controlar los programas de cribado. Hemos sido consecuentes con el hecho de que una buena atención sanitaria hoy en día se debe acompañar de una buena gestión de los recursos disponibles y por ello hemos incluido también criterios económicos en esta guía.

EL CRIBADO POBLACIONAL

El programa de cribado poblacional es aquel que se ofrece activamente a toda la población diana, de manera sistemática y dentro de un marco reglado de política sanitaria de salud pública, protocolizada y con una adecuada evaluación continua de la calidad y los resultados. Si queremos obtener buenos resultados debemos realizar técnicas de forma estandarizada y con altos criterios de calidad. De lo contrario todos los esfuerzos realizados no lograrán alcanzar el objetivo.

Para conseguir un buen cribado poblacional debemos, en primer lugar, conseguir que al menos el 80% de nuestra población gestante (población diana) tenga acceso al mismo; en segundo lugar, que la prueba de cribado elegida mantenga un rendimiento apropiado y, por último, que la población de alto riesgo tenga acceso a la prueba diagnóstica. Pero el cribado no es una prueba puntual sino un proceso continuo que no finalizará hasta la revisión de los resultados, los controles de calidad y la introducción de las mejoras. Además debe ser equitativo y factible de realizar desde el punto de vista técnico y económico.

En la tabla I se exponen de manera esquemática las recomendaciones a seguir para conseguir un cribado poblacional. Estas recomendaciones son aplicables tanto al ámbito público como al privado.

Tabla I.

Recomendaciones para conseguir un cribado poblacional

RECOMENDACIONES PARA CONSEGUIR UN CRIBADO POBLACIONAL	
Facilitar el acceso	Coordinación con Atención Primaria: <ul style="list-style-type: none"> • Cuándo derivar • Quién y cuándo solicitar analítica • Quién y cuándo hacer el consejo pre- y pos- cribado • Posibilidad de derivación "urgente"
	Gestión de agendas
Recursos materiales y humanos	<ul style="list-style-type: none"> • Ecógrafos de alta resolución • Laboratorio con experiencia • Especialistas formados • Tiempo adecuado de exploración (mínimo 20 minutos) • Programas de software para cálculo de riesgo
Asesoramiento	<ul style="list-style-type: none"> • Pre-cribado • Resultados (poscribado) Pruebas diagnósticas
Control de calidad	<ul style="list-style-type: none"> • Parámetros bioquímicos • Parámetros ecográficos: por operador y por centro • Algoritmo de cribado (software) • Programa del cribado

RENDIMIENTO DE LOS DIFERENTES MÉTODOS DE CRIBADO

El cribado de trisomía 21 comenzó en los años 1970 cuando, con el conocimiento de que su prevalencia la aumenta con la edad materna, se comenzó a ofrecer AC a aquellas gestantes de 35 años o más. Desde entonces, los métodos de cribado han ido evolucionando pero todos utilizan al menos la edad materna y la edad gestacional como punto de partida, es decir, como riesgo a priori, que se ajusta por diversos factores correctores (marcadores ecográficos, bioquímicos...) para obtener un riesgo final, o riesgo a posteriori.

Aunque en la tabla II se adjunta un resumen del rendimiento de los diferentes métodos disponibles, hoy en día el test de cribado ampliamente establecido en España es el CCPT. Este método engloba parámetros ecográficos como la medida de la translucencia nuchal (TN) y parámetros bioquímicos analizados en el suero materno, como la medida de la fracción β libre de la gonadotropina coriónica humana (β -hCG) y la proteína plasmática placentaria A (PAPP-A); presentando una tasa de detección (TD) del 90% para la trisomía 21 y del 95% para las trisomías 18 y 13 con una tasa de falsos positivos (TFP) global del 5% en condiciones óptimas de realización del test.

Tabla II.
Rendimiento de los diferentes métodos de cribado

MÉTODO DE CRIBADO	TD (%)	TFP (%)
EM	30	5
Primer trimestre		
EM + TN fetal	75-80	5
EM + β -hCG + PAPP-A séricas	60-70	5
EM + TN fetal + β -hCG + PAPP-A séricas	85-95	5
Cribado combinado + hueso nasal o flujo tricúspideo o flujo en el ductus venoso	93-96	5
Segundo trimestre		
EM + AFP + hCG séricas (test doble)	55-60	5
EM + AFP + β -hCG séricas (test doble)	60-65	5
EM + AFP + hCG + uE3 séricas (test triple)	60-65	5
EM + AFP + β -hCG + uE3 séricas (test triple)	65-70	5
EM + AFP + hCG + uE3 + inhibina A séricas (test cuádruple)	65-70	5
EM + AFP + β -hCG + uE3 + inhibina A séricas (test cuádruple)	70-75	5
EM + TN fetal + PAPP-A séricas (11-13 semanas) + test cuádruple	90-94	5
Primer, segundo o tercer trimestre		
Análisis de ADN-Ic en sangre materna	>99	<0,1

TD, tasa de detección; TFP, tasa de falsos positivos; EM, edad materna; TN, translucencia nucal; β -hCG, fracción β libre de la gonadotropina coriónica humana; PAPP-A proteína plasmática placentaria A; AFP, alfa fetoproteína; uE3, estriol no conjugado; ADN-Ic, ADN libre circulante.

LA TRASLUCENCIA NUCAL

El marcador ecográfico por excelencia es la TN. Cuando se encuentra aumentada, además de ser un marcador para trisomías 21, 18 y 13, lo es también de la monosomía X, de las triploidías diándricas y también de las alteraciones estructurales, fundamentalmente cardíacas. La medida de la TN se puede realizar cuando la longitud cráneo-caudal (LCC) fetal se encuentra entre 45 y 84 mm, correspondiente a una edad gestacional de 11 + 0 a 13 + 6 semanas. Los criterios para la estandarización de sus mediciones más extendidos y aceptados son los de la Fetal Medicine Foundation y para ellos remitimos a su correspondiente página web.

La mayor TD de la TN se alcanza cuando se realiza en semana 11ª y, consecuencia de un mayor solapamiento entre afectos y sanos conforme avanza la gestación, es menor en la semana 13ª. Sin embargo, es a partir de la

semana 12ª cuando ya se puede realizar una buena exploración anatómica fetal y evaluar con mejor rendimiento otros marcadores ecográficos, por lo que ésta es la semana más recomendada.

CUANDO REALIZAR LA BIOQUÍMICA

La determinación de β -hCG y PAPP-A séricas se puede realizar entre la semana 9+0 y la 13+6. Sin embargo, al igual que pasa con la TN, la mayor TD mediante estos marcadores bioquímicos se consigue en las semanas 9ª a 11ª y, es menor en la semana 13ª.

Por tanto, el mejor rendimiento del cribado combinado se obtiene cuando la bioquímica se analiza en la semana 9ª-11ª de gestación y la medición de la TN se realiza en la semana 11ª-12ª. (Fig. 1)

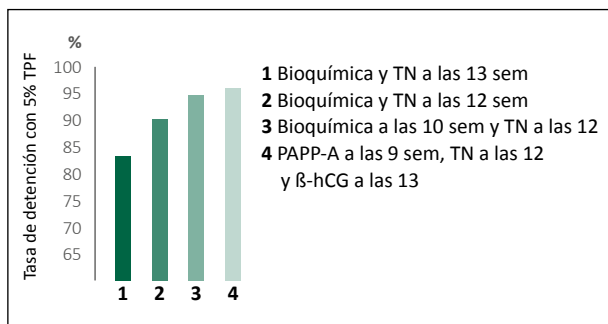


Figura 1.

OTROS MARCADORES ECOGRÁFICOS

Se han descrito otros marcadores de segunda línea, principalmente el hueso nasal, el flujo tricuspídeo y el ductus venoso (DV); sin embargo con la introducción en la práctica clínica del test de ADN-Ic, está por definir el papel real de estos marcadores en grupos de riesgo intermedio para ayudar a aumentar la TD y disminuir la TFP.

La medición de la frecuencia cardíaca fetal (FCF), sencilla de realizar, es muy eficaz para la detección de la trisomía 13, ya que ésta se encuentra aumentada en el 80% de los casos afectos por esta condición.

TEST DE ADN LIBRE CIRCULANTE

En los últimos años se ha incorporado el análisis del ADN-Ic en el plasma materno para el cribado de las trisomías fetales, aumentando la TD de T21 a más del 99% y disminuyendo la TFP a menos del 0,1%. Este método también analiza los cromosomas 18 y 13 y tiene el potencial de llegar a cubrir todo el genoma, si bien a día de hoy su gran superioridad ha quedado demostrada únicamente para T21. Aunque la inclusión de las T18 y 13 parece razonable, pues también se han estudiado extensamente, en el momento actual no hay evidencia suficiente para incluir el análisis de los cromosomas sexuales ni el panel de microdeleciones ofertado por algunos laboratorios.

Este test se basa en el análisis del ADN libre total circulante en el plasma materno del que aproximadamente un 10% es de origen placentario (no estrictamente fetal). Para calcular el riesgo de las diferentes aneuploidías se estudia el *pool* total (materno y placentario) mediante diversas técnicas (counting methods: recuento relativo por secuenciación masiva, recuento relativo por microarrays dirigidos o genotipado de SNP maternos y fetales); y el riesgo final se calcula aplicando algoritmos en los que se tienen en cuenta la edad materna, la edad gestacional y características de la gestante y del embarazo. Cuanto mayor es la proporción de ADN placentario (fracción fetal o FF) mayor es el rendimiento de este

análisis. La FF es por tanto un factor limitante de esta técnica y si es < 4% limita su sensibilidad y especificidad y de forma general debe ser nuestro punto de referencia. La FF es por tanto el principal factor determinante de la precisión del test y debe ser tenida en cuenta a la hora de interpretar los resultados. En general, la literatura existente apunta que se precisa una FF mínima del 4% para emitir un resultado fiable y en el momento actual, éste punto de corte es nuestra referencia. Sin embargo, aunque la literatura publicada es todavía escasa, la continua mejora en las técnicas de secuenciación y el desarrollo de nuevas tecnologías señala que es posible obtener resultados fiables con FF inferiores al 4%. Por ello, con el fin de interpretar correctamente el cribado desde un punto de vista clínico, el informe emitido con los resultados del test debería incluir la TD y el VPP para la condición cribada; así como la FF hallada, la técnica de análisis empleada y la tasa de falsos positivos para esa técnica y FF.

A la hora de ofertar el test de ADN-Ic no debemos olvidar que se trata de un método de cribado cuyos resultados positivos requieren confirmación mediante técnica invasiva y los negativos no excluyen la condición al 100%. Por otro lado, ante la presencia de una TN > percentil (p) 99 o malformaciones ecográficas, sigue siendo de elección la realización de una TI para diagnóstico genético. Por último, alrededor del 1-3% de las muestras que enviamos al laboratorio no generarán ningún resultado, siendo este hecho más probable en casos de obesidad materna o valores de PAPP-A sérica bajos. En estos casos se ha observado una sobrerrepresentación de las trisomías 18 y 13 (no de T21). En estos es importante, para asesorar correctamente a la gestante, realizar una buena evaluación morfológica fetal para decidir si repetir el test (ya que en la mitad de los casos proporcionará un resultado) o valorar una prueba invasiva. No se ha demostrado que repetirlo una tercera vez mejore los resultados. No se recomienda su realización antes de la semana 10ª, pero no existe un límite superior. Los resultados suelen estar disponibles en 5-15 días dependiendo del laboratorio.

En resumen, el análisis del ADN-Ic en plasma materno constituye el mejor método de cribado para T21. Sin embargo el coste actual de esta prueba hace que, cualquier estrategia basada en él como primera línea, suponga una derivación de recursos sanitarios difícilmente justificable, especialmente en sectores poblacionales con un riesgo a priori bajo. Dado que la ecografía en la semana 12ª nos aporta una información mucho más amplia (estudio anatómico, y el posible cribado de otras condiciones como la preclampsia), consideramos que es en estos momentos insustituible como parte del control habitual de la gestación.

Antes de la realización de una prueba de ADN-Ic se debe informar a la gestante por escrito y obtener su consentimiento informado firmado.

Interpretación del resultado de un test ADN-Ic

Los diferentes laboratorios entregan los resultados de manera genérica como "alto riesgo", "sospecha de aneuploidías" o ">99%"; o al contrario como "bajo riesgo", "ausencia de aneuploidía" o "<1/10.000". Pero cuando el test de ADN-Ic está integrado dentro de un modelo contingente, la forma de calcular el riesgo individual de cada paciente consiste de nuevo en ajustar su riesgo a priori (en este caso el riesgo resultante del CCPT) mediante las razones de probabilidad positiva o negativa como se explica a continuación.

La razón de probabilidad (likelihood ratio, LR) positiva de que un feto esté afecto cuando un test de ADN-Ic da un resultado de alto riesgo es alrededor de 1.102, 740 y 700 para T21, la T18 y T13 respectivamente. Por lo tanto, habrá que multiplicar por este factor el resultado obtenido en el CCPT. La forma de obtener el nuevo riesgo sería:

LR positivo / a (a = denominador del resultado de CCPT)

Varios ejemplos: si el resultado de CCPT para T21 era de 1 en 11.020 y en el test de ADN-Ic realizado posteriormente se obtiene un resultado de alto riesgo, la nueva probabilidad ajustada de que el feto esté afecto es de 1 en 10 ($1/11.020 \times 1.102$). De la misma manera, si el riesgo del test combinado era de 1 en 2.204 ($1/2.204 \times 1102$), la nueva probabilidad será de 1 en 2. En todos los casos con un alto riesgo del test de ADN-Ic se debe ofrecer a los padres una prueba invasiva para diagnóstico definitivo.

La razón de probabilidad negativa cuando el test de ADN-Ic da un resultado de bajo riesgo es alrededor de 333, 56 y 100 para las trisomías 21, 18 y 13 respectivamente. La fórmula sería: $1/a \times$ LR negativo (a = denominador del resultado de CCPT).

Por ejemplo, si el cribado previo mediante el test combinado había dado un riesgo para T21 de 1 en 100 y el test de ADN-Ic muestra un bajo riesgo, la probabilidad de que el feto esté afecto es de 1 en 33.000 [$1 / (100 \times 333)$]; si el riesgo inicial era de 1 en 2, la probabilidad post test ADN-Ic será 1 en 666 [$1 / (2 \times 333)$]. Si el riesgo del CCPT es de 1 en 2 para T13 y el test de ADN-Ic muestra un bajo riesgo, la probabilidad de que el feto esté afecto es de 1 en 200 [$1 / (2 \times 100)$].

TÉCNICAS INVASIVAS PARA CONFIRMAR TEST DE ADN-IC DE ALTO RIESGO

Dado que el origen del ADN fetal que se encuentra circulando en la sangre materna no es realmente fetal sino placentario, un test de ADN-Ic no es diagnóstico; por esta razón es importante saber si la prueba invasiva de elección confirmatoria debe ser la amniocentesis (ADN de origen fetal) o la biopsia corial (ADN de origen placentario). Por norma general, para confirmar un test positivo de T21 se puede usar la QF-PCR tanto en placenta como LA. Sin

embargo si el resultado de la QF-PCR se ha realizado sobre tejido placentario y es positivo para T18, y especialmente para T13 y monosomía X sin hallazgos ecográficos, se debe esperar al resultado del cultivo mesenquimal. Aun así un 3% de esos casos requerirá realización de amniocentesis posterior, por lo que la elección de la técnica invasiva se debe hacer de forma individualizada en función de los resultados, la edad gestacional y los hallazgos ecográficos.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

La confirmación o exclusión con certeza de una anomalía genética pasa ineludiblemente por una técnica invasiva que permita la obtención de material biológico sobre el que realizar el estudio genético. Las técnicas invasivas más empleadas son la BC y la AC. Como parte de un programa de cribado no puede haber la indicación "deseo materno o ansiedad" puesto que las pruebas diagnósticas por definición sólo se realizan al grupo de riesgo que identifica el método utilizado.

El consentimiento para todos los procedimientos invasivos se prestará por escrito, al igual que la revocación. Para las mujeres de 16 años y menores o incapaces, el consentimiento deberá prestarlo su representante legal, aunque la persona mayor de 12 años debe ser escuchada. En el modelo de consentimiento informado se debe proporcionar la información básica siguiente: a) las consecuencias relevantes o de importancia que la intervención origina; b) los riesgos relacionados con las circunstancias personales o profesionales del paciente; c) los riesgos probables en condiciones normales, conforme a la experiencia y al estado de la ciencia o directamente relacionados con el tipo de intervención; d) las contraindicaciones.

La elección del procedimiento técnico a realizar debe hacerse en función de las características de cada caso y no condicionarla únicamente a la experiencia técnica del operador. El tiempo mínimo necesario asignado a una consulta en la que se realice una técnica invasiva debería ser de 30 minutos y debe ser realizada al menos por un especialista con experiencia suficiente.

Tras una TI el riesgo de pérdida fetal es aproximadamente del 0.5-1% de los casos; sin embargo hay evidencia reciente de que el riesgo real atribuible a la técnica per se es del 0.1-0.2% (sin diferencias significativas entre ambas); y el resto de las pérdidas fetales son consecuencia de la condición por la que se indicó la prueba. Cuanto mayor es la experiencia del operador y del centro, mayor es la tasa de éxito en la obtención de muestra adecuada en un primer intento y menores las tasas de pérdidas fetales.

Los especialistas a cargo de la realización de las TI deben mantener su competencia mediante el entrenamiento adecuado y la práctica continuada; si es preciso se debe recurrir a simuladores o rotaciones externas para garantizar la seguridad del paciente.

BIOPSIA CORIAL

Consiste en la extracción de una muestra de trofoblasto bien por vía transcervical (BC-TC) o transabdominal (BC-TA) sin diferencias significativas entre ambas respecto al riesgo de pérdida fetal (estimado como hemos comentado anteriormente entre 0.1 -0.2 %); o la tasa de éxito para consecución de la muestra (99% en manos expertas). No es recomendable su realización antes de la semana 10 puesto que se asocia a defectos fetales transversales en las extremidades, micrognatia y microglosia. Debería ser 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 ADN 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 TI (amniocentesis) debido a contaminación materna, fracaso del cultivo o por tener resultados citogenéticos no concluyentes debido a la sospecha de un mosaicismo confinado a la placenta. En cualquier caso, cuando se diagnostique un mosaicismo debe ofrecerse una AC que, en la mayoría de los casos informará del cariotipo real del feto. En caso de T18 o monosomía X sin signos ecográficos sugestivos, la confirmación también debería ser mediante AC.

Cuando se requiere un estudio molecular, es preferible la realización de una BC sobre la amniocentesis ya que proporciona una cantidad superior de ADN.

Cuanto mayor es la experiencia del operador y del centro, mayor es la tasa de éxito en la obtención de muestra adecuada en un primer intento, y menores las tasas de intentos fallidos y de pérdidas fetales.

AMNIOCENTESIS

Consiste en la punción de la cavidad amniótica por vía abdominal para la obtención de líquido amniótico. Debe realizarse preferiblemente a partir de la 16+0 semana (no antes de la 15) debido a que en estos casos el corion no está fusionado con el amnios, lo que dificulta la llegada a la cavidad amniótica y además se asocia a un riesgo triple de pérdida gestacional y a mayor frecuencia de anomalías musculoesqueléticas. Presenta en general una mayor sencillez técnica que la BC, con éxito próximo al 100% en manos expertas.

La precisión diagnóstica está por encima del 99%. Son raros los fracasos de cultivo (<1%) o de contaminación materna. Proporciona cariotipos de más fácil interpretación y la tasa de mosaicismos es menor que para la BC. Además es útil para el diagnóstico de un espectro más amplio de enfermedades fetales, como la infección fetal y los estudios bioquímicos de las enfermedades metabólicas.

PRUEBAS GENÉTICAS

Existen diferentes tipos de estudios posibles sobre amniocitos o vellosidad corial que se pueden realizar manera aislada o en combinación dependiendo de la indicación.

Cariotipo

El cariotipo se usa para detectar cambios en amplias regiones cromosómicas (traslocaciones, deleciones o en la alteración del número de cromosomas enteros). Los amniocitos o el citotrofoblasto se cultivan para estimular la división hasta detenerla en metafase. El cariotipo tiene algunas ventajas frente a los estudios de genética molecular porque muestra la localización del material genómico del genoma completo aunque no detecta el origen de la alteración; tampoco detecta pequeñas ganancias o pérdidas de ADN y es una técnica muy dependiente del cultivo citogenético (contaminación, crecimiento lento...) y de la experiencia y habilidad del operador.

QF-PCR (PCR-fluorescencia cuantitativa)

Se trata de una PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa) cuantitativa fluorescente que permite detectar las anomalías cromosómicas numéricas más frecuentes mediante análisis de marcadores polimórficos de los cromosomas 21, 18, 13, X e Y. Su principal ventaja es la precisión y rapidez en proporcionar resultados para estas aneuploidías y para las triploidías, con un coste menor al cariotipo; además nos ayuda a evitar la posibilidad de contaminación materna en las técnicas invasivas en casos de fetos femeninos o población triploidia, realizándola sobre sangre materna.

Su desventaja es que un pequeño porcentaje de casos con una anomalía cromosómica relevante pueden pasar inadvertidos y por eso se debe identificar cuidadosamente el grupo de pacientes al que se le pueda ofrecer únicamente esta técnica y las dificultades diagnósticas por la contaminación materna, especialmente en líquidos hemáticos.

Sus principales recomendaciones son: detección de trisomías 21, 18, 13, X e Y. Está especialmente indicada en el grupo de alto riesgo en el CCPT sin anomalía estructural y con TN < 3,5mm. En caso de TN ≥3.5mm o reordenación cromosómica familiar debe acompañarse de microarray (al menos de un cariotipo si éste no está disponible en nuestro medio). Si se detecta una trisomía 13 o 21 en la QF-PCR y deseamos realizar conejo genético reproductivo, deberíamos realizar también un cariotipo (en el feto o en ambos progenitores) que descarte que uno de los progenitores sea portador sano de una traslocación robertsoniana.

FISH

La hibridación fluorescente in situ es una técnica que por su mecanismo de detección permite el recuento y localización de cromosomas de manera sencilla y rápida y no precisa necesariamente cultivo; permite la identificación de determinadas deleciones, duplicaciones y traslocaciones, así como de aneuploidías, pero no es capaz de identificar pequeñas mutaciones, pequeñas deleciones o inserciones, monotonía uniparental o algunas inversiones. Además el clínico tiene que elegir la sonda específica para realizar un diagnóstico correcto. Con la aparición de los microarrays la FISH debería usarse casi exclusivamente para el estudio de aneuploidías prenatales (dónde le ha ganado terreno la QP-PCR).

Microarray

Permite mediante análisis molecular, la identificación pequeñas pérdidas o ganancias de material genético (copy number variants, CNVs) con mayor resolución que cualquiera de los métodos anteriores, por lo que tiene una mayor capacidad diagnóstica. Se considera una evolución del cariotipo (también recibe el nombre de cariotipo molecular) ya que analizan todo el genoma con enriquecimiento de regiones de interés. Hay diferentes tipos como los de CGH (hibridación genómica comparada) o los de SNPs (single nucleotide polymorphism).

La técnica no requiere cultivo y los resultados pueden estar disponibles entre 5-12 días. El análisis computerizado lo hace muy objetivo. La disposición de sus sondas permite a la vez estudiar de manera específica algunas regiones asociadas a síndromes de microdelección/ microduplicación conocidos y cubrir el genoma completo con diferentes grados de resolución.

Los resultados se expresan en forma de variaciones por exceso o por defecto en el número de copias (CNV) que son los segmentos de ADN >100 kb que difieren del genoma de referencia. Estas CNV pueden tener, por su asociación o no con patologías, un significado benigno, incierto (VOUS), o patológico. A mayor resolución es mayor la probabilidad de encontrar VOUS cuya interpretación puede generar incertidumbre si se acuerda comunicarlo a la gestante (aunque cada vez existe más consenso en que no deben comunicarse).

Aunque permite detectar e identificar alteraciones en el número de copias que se producen en reordenamientos cromosómicos no equilibrados (traslocaciones e inversiones), no es capaz de detectar los reordenamientos causados sin cambio neto en el número de copia (duplicación o deleción), es decir, reordenamientos equilibrados. Las técnicas de microarray no detectan mosaicismos de bajo grado cuando éstos se encuentran por debajo de los 20-30% (aCGH) o 10-15% (SNP). Además, el array-CGH,

debido a que sólo es capaz de detectar cambios de número de copia discretos, no permite detectar triploidías completas ni regiones de homocigosidad (como puede pasar en la disomía uniparental). El array identifica anomalías genéticas subcromosómicas en un 3-8% adicional frente al cariotipo convencional, especialmente en casos de anomalías estructurales, TN > p99 o en el estudio de casos de muerte fetal anteparto en los que el cultivo celular es muchas veces fallido. De esta manera puede combinarse con la QF-PCR, relegando el cariotipo convencional para el consejo genético.

Sus principales inconvenientes son: el hallazgo de VOUS y los problemas éticos que pueden conllevar algunos diagnósticos por su incertidumbre en su expresión posnatal; el coste (habitualmente superior al cariotipo) y la falta de disponibilidad de plataformas en muchos centros.

FASES DEL PROCESO DE CRIBADO Y DIAGNÓSTICO**ASESORAMIENTO A LOS PADRES**

La información es un derecho fundamental de la persona y jurídicamente exigible. La información y el consentimiento son parte de un proceso que promueve los valores fundamentales en las relaciones clínicas, que son: a) La comunicación entre personas b) El trato no discriminatorio c) El respeto por el derecho a decidir según las propias creencias y valores.

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 la denegación de alguna de las partes del CCPT (p.e. que quiera realizarse la ecografía pero no conocer su riesgo combinado). Si la gestante rechaza el cribado en alguno de sus puntos

debe igualmente constar en la historia clínica. Nuestra recomendación es que la información tanto pre como poscribado 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 poscribado 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.

ELECCIÓN DE LA ESTRATEGIA DE CRIBADO DE ANOMALÍAS GENÉTICAS

La realización de una estrategia de cribado consiste en identificar una población con alto riesgo sobre el que emplear una técnica diagnóstica.

Establecer el punto de corte para los diferentes riesgos debería ser una decisión de política sanitaria basada en la evidencia científica que depende del rendimiento deseado del cribado en términos de equilibrio entre sensibilidad y tasa de falsos positivos; y en términos económicos (en el coste de oportunidad: los recursos que se dedican a un fin no pueden emplearse para otro) y con un claro requerimiento ético de que el beneficio supere los posibles efectos secundarios.

En el momento actual el CCPT es la estrategia de elección recomendada por el Sistema Nacional de Salud para T21. Aunque hay diversos puntos de corte establecidos en la literatura y en cada uno de nuestros centros, el más habitual para considerar un riesgo alto de T21 en nuestro país es el mayor o igual a 1 en 250; este es el punto de corte cuando el cálculo del riesgo se realiza con la edad materna (EM) en el día de la extracción sanguínea y es equivalente a 1 en 270 si se realiza con la EM en el momento del parto.

ADN-Ic poblacional

El mejor método de selección de riesgo por su TD y TFP para T21, 18 y 13 sería el análisis de ADN-Ic en sangre materna, pero el factor económico hace que no parezca factible su implementación poblacional en el sistema público a corto plazo.

Si en algún momento se pudiera instaurar, una posible estrategia sería la recogida de la sangre en semana 10^a-11^a para que los resultados estuvieran listos al tiempo de realizar la ecografía de la semana 12^a-13^a. En condiciones ideales, éste sería también un buen momento para recoger sangre para β -hCG y PAPP-A para la interpretación conjunta con el ADN-Ic y para otros posibles cribados si se llevaran a cabo; además serviría como sistema de rescate en el caso de no lograr resultado para la muestra de ADN-Ic.

Esta estrategia conllevaría la realización de una ecografía antes de la recogida de la muestra para confirmar viabilidad, número de fetos, datar la gestación y, probablemente, detectar anomalías muy evidentes.

Una ventaja adicional futura de este sistema de cribado sería la posibilidad de cribar otro tipo de anomalías genéticas, como las microdeleciones, pero en este momento el test no tiene la sensibilidad ni especificidad suficiente como para recomendarlo de forma general.

Cribado combinado en dos tiempos

El cribado combinado sigue siendo el método de elección si hablamos de eficiencia. La estrategia más recomendada por presentar un mayor rendimiento es la recogida de la muestra para β -hCG y PAPP-A séricas en semanas 9^a-10^a y la realización de la ecografía en semana 12^a. Se puede aprovechar este primer análisis de sangre para incluir toda la analítica del primer trimestre que podría ser valorada en su conjunto en la consulta de la semana 12^a. (Fig 2.)

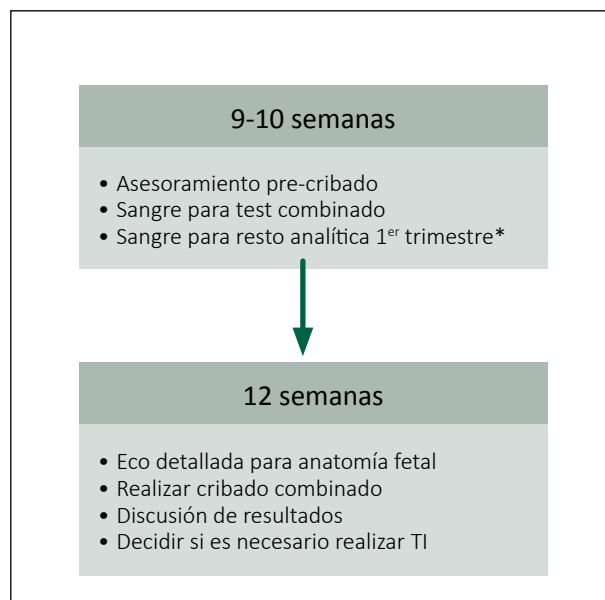


Figura 2. * opcional.

Cribado combinado en un tiempo

Consiste en realizar la ecografía en la semana 12ª y ese mismo día realizar la extracción de la muestra y entregar resultados en aproximadamente 2 horas. Se puede organizar de diferentes formas coordinadas con el lugar de procesamiento de la prueba, pero puede ser muy útil en aquellos centros donde el cribado del primer trimestre se realice de manera independiente a la consulta obstétrica, por lo que no son precisos otros resultados analíticos.

Tanto si el CCPT se realiza en un tiempo como en dos, las recomendaciones actuales se pueden resumir en la figura 3.

Cribado contingente con ADN-Ic en base a los resultados del CCPT

Existen diversas publicaciones en las que el cribado con ADN-Ic, en el marco de un cribado contingente, son costo-efectivos (eficientes) en comparación con la estrategia actual de CCPT con TI en IR ≥ de 1 en 250.

Aunque es cierto que aún están por definir muchas incógnitas debemos intentar diseñar estrategias que hagan factible su incorporación a los esquemas actuales con el fin primario de disminuir los efectos secundarios de las TI y aumentar en lo posible las TD.

Aunque es difícil establecer una estrategia única de implementación por los diferentes modelos de gestión hospitalaria, por los diferentes costes de una misma prueba en los diferentes centros (cariotipo, array, QF-PCR) e

incluso por la propia organización de las técnicas invasivas (con costes muy diferentes si se realizan en el mismo centro que se controla la gestación o si deben ser enviadas a otro centro de referencia), sí parece claro que en el momento actual el cambio de la realización de una técnica invasiva a la realización de un segundo cribado con ADN-Ic sobre un grupo de riesgo previamente determinado (en nuestro medio 1/250 con el CCPT) puede ser coste neutral en todos nuestros centros. Como ejemplo de los costes añadidos de una técnica invasiva sobre ADN-Ic tenemos que tener en cuenta las visitas adicionales que se precisan, el tiempo y recursos necesarios para una TI frente a una extracción de sangre (la extracción sanguínea puede ser llevada a cabo por enfermería no especializada y sin embargo una técnica invasiva requiere la presencia de uno o dos especialistas senior, ecógrafos de gama media-alta y 20-30 minutos de consulta), las complicaciones de las TI; los costes por falsos negativos, y es incuantificable la ansiedad y otros factores "sin precio" ligados a la gestación y los efectos de no realizar un test de cribado.

En la tabla III se muestra el porcentaje de población a la que se ofrecería el test de ADN-Ic y el rendimiento de este cribado contingente en función de los diferentes puntos de corte de CCPT.

Estrategias de rescate

No es fácil establecer una estrategia de rescate puesto que implementar una estrategia (test bioquímico cuádruple etc.) cuando son muy infrecuentes los casos en los que rea-

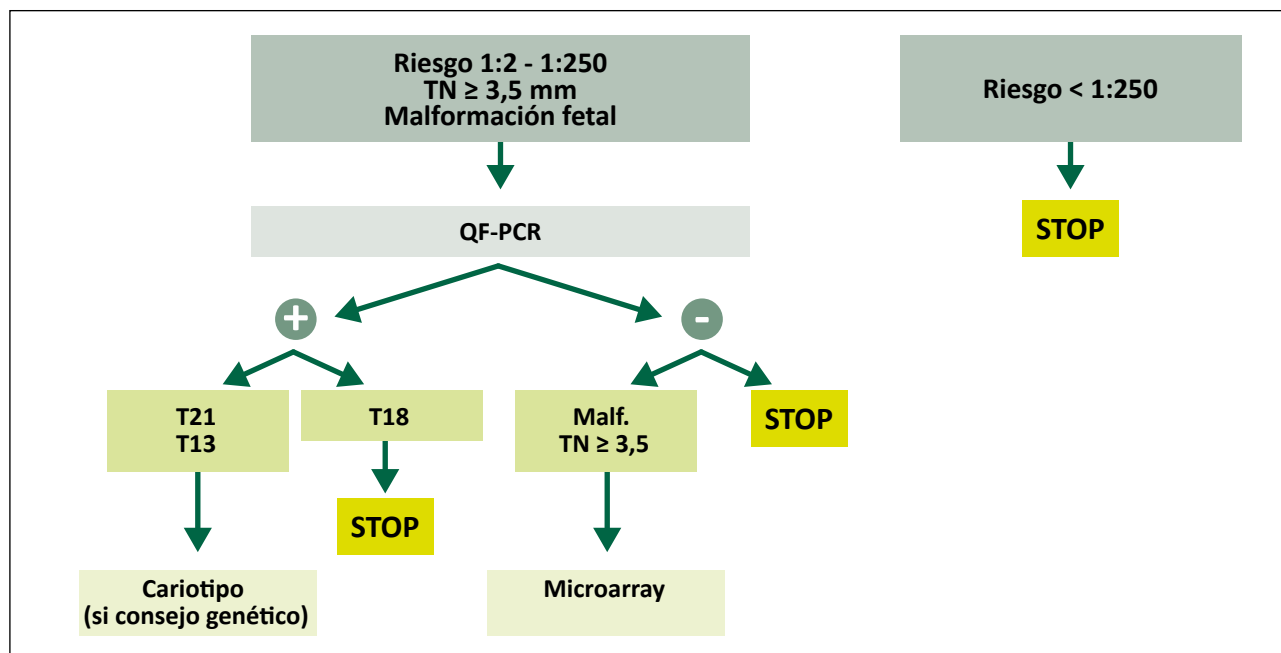


Figura 3.

Tabla III.

Porcentaje de población a la que se le ofrece test de ADN-Ic, 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 ADN-Ic

Punto de corte (1 en x)	Cribado mediante TN, FCF, PAPP-A y β -hCG			
	ADN-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%

TN, translucencia nual; FCF, frecuencia cardíaca fetal; PAPP-A proteína plasmática placentaria; β -hCG, fracción β libre de la gonadotropina coriónica humana; ADN-Ic, ADN libre celular; TD, tasa de detección; T, trisomía; TI, técnica invasiva.

lizan, no siempre es posible, no sólo por el coste asociado sino por la disponibilidad de los diferentes laboratorios y las plataformas que se necesitan. Cuando una gestante acuda fuera de los límites establecidos para el CCPT, se debería tomar el riesgo a priori que tengamos de ella. En la peor de las situaciones, la edad materna es siempre un riesgo a priori. En los casos en que el riesgo disponible a priori supere 1 en 250, deberemos asesorarla de forma individualizada en función de las posibilidades de nuestro centro y las características y opinión de la gestante.

EL CRIBADO DEL PRIMER TRIMESTRE EN GESTACIONES GEMELARES

En gestaciones gemelares el test de cribado recomendado es el CCPT que se realizará cuando la LCN del feto mayor (idealmente la LC de ambos gemelos) se encuentre entre 45 y 84 mm.

En el caso de gemelos bicoriales (BC) se calculará el riesgo de cada feto utilizando su TN correspondiente y su LCC, introduciendo en el programa de cálculo el tipo de gestación gemelar (indispensable para ajustar la bioquímica sérica). La TD es similar a la del test combinado para gestaciones únicas (90%), pero su TFP es ligeramente mayor (6% vs 5%). En el caso de gemelos monocoriales (MC) el riesgo se puede calcular usando la media de las TN de ambos gemelos/CRL del mayor; o (si se utiliza el software de cálculo actualizado de la FMF) se calcula también de forma individual el riesgo de cada gemelo con su TN y su CRL; y el riesgo final del embarazo será la media de ambos riesgos calculada según un algoritmo específico [axbx2 / (a+b); a = denominador riesgo feto A; b: denominador riesgo feto B], Esta metodología consigue una TD similar (90%) pero a expensas de una mayor TFP (8%) consecuencia de que la TN aumentada puede ser también un marcador o signo de síndrome de transfusión feto-fetal (STFF); es la opinión de muchos expertos desaconsejar el uso

de la RT y del DV en la gestación MC como marcador de aneuploidía en riesgos intermedios, independientemente de que existan o no otros marcadores precoces de STFF.

En el caso de existir un gemelo evanescente, la bioquímica sólo podrá ser usada para el cálculo si no se visualiza embrión o si la LCC del mismo es <4 mm. Si no cumple este requisito, sólo se usará la edad materna y la TN para el cálculo de riesgo, con el apoyo de los marcadores secundarios si es posible ya que también supone una contraindicación para ADN-Ic. La TD en este caso es del 75-80% para la misma TFP. Ésta misma estrategia será la utilizada en caso de gestaciones múltiples evolutiva de más de dos fetos. La TD para cada feto se mantiene en 75-80% pero la TFP global será 5 x número de fetos. Por ejemplo, 15% en la gestación triple o 20% en la cuádruple.

Estrategia de rescate: al igual que en gestaciones únicas si la paciente no se ha realizado CCPT se debería actuar igual que para únicos (multiplicando el riesgo por dos en el caso de gestaciones BC).

TEST DE ADN-Ic EN GEMELARES

Aunque la evidencia científica del cribado de aneuploidías con ADN libre circulante en la gestación gemelar es limitada puesto que el número de casos estudiados no es suficiente como para poder establecer una TD y una TFP precisa, la TD para trisomía 21 parece encontrarse entre el 95-99% y la de TFP < 0,25%. Estos datos llevan a este comité de expertos a incluirlo en las estrategias de cribado combinado en la gestación gemelar informando a la paciente previamente de la limitación de la evidencia.

Se informara a la paciente de la mayor tasa de resultados fallidos (2-3% en gestaciones únicas vs 8-10% si gemelares), especialmente en gestaciones gemelares bicoriales, obtenidas mediante FIV y en pacientes obesas. Se desaconsejará el cribado de aneuploidías con ADN

libre circulante en las gestaciones gemelares con gemelo evanescente, independientemente de visualizarse o no embrión.

CONTROL DE CALIDAD DEL PROGRAMA DE CRIBADO COMBINADO DEL PRIMER TRIMESTRE

El control de calidad es un aspecto esencial e imprescindible de los programas de cribado prenatal; abarca la evaluación de múltiples aspectos que conciernen a los parámetros bioquímicos o ecográficos, al software utilizado para la estimación del riesgo y al propio informe emitido.

PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

Obtención, identificación y procesado. En primer lugar es fundamental la adecuada obtención e identificación de las muestras. Se recomienda el análisis de las muestras pocos minutos después de la extracción, en caso contrario refrigerar a 4 °C hasta el análisis para evitar la inestabilidad de los analitos.

Dada la importancia del tipo de analizador utilizado y de los reactivos empleados los resultados del cribado, es recomendable que ambos tengan acreditado control de calidad para el CCPT. Cada casa comercial es responsable de los protocolos de calibración y mantenimiento y sería recomendable que se publicaran los resultados obtenidos y las acreditaciones de cada una de ellas.

Resultados: los valores obtenidos deben convertirse en MoM. Es muy importante que cada laboratorio calcule sus propias medianas a partir de una muestra suficientemente grande de fetos euploides (mínimo 100), para cada semana de gestación, para cada marcador y para la población que habitualmente atiende, y que estas sean periódicamente actualizadas.

Validez analítica: se define por la habilidad para una medición fiable de un analito específico de uso clínico. Cada laboratorio es responsable de documentar su validación interna, de acuerdo con criterios estandarizados.

PARÁMETROS ECOGRÁFICOS

Es imperativo un control de calidad en la medición de la TN para el programa en general y para cada uno de los exploradores.

La TN es el componente de mayor peso en el cálculo de riesgo, pero al mismo tiempo está sometida a una gran variabilidad, muy superior a los parámetros bioquímicos por lo que es indispensable la adherencia a una técnica estandarizada. Mínimas desviaciones en la medida de la TN pueden causar importantes cambios en la eficacia del cribado.

Las principales fuentes de error en la medición de la TN que conducen a sobre o infraestimación de la misma son: la selección incorrecta del plano medio-sagital, del plano de máximo grosor de la misma y la colocación exacta de los calipers. Además, la magnificación de la imagen o el uso de armónicos produce una atenuación del contraste entre los bordes, lo que dificulta la colocación adecuada de los calipers con una tendencia a infraestimar la medida (remitimos de nuevo a los criterios para la medición de TN de la FMF).

Una infraestimación reduce la TD y la TFP y al contrario pasa con la sobreestimación. El control de calidad se puede hacer con métodos cualitativos o cuantitativos.

Métodos Cualitativos. Son valorados aspectos que contribuyen a la correcta medición a través de la remisión de imágenes del operador a un equipo supervisor. Aunque este método es un instrumento valioso, requiere mucho tiempo y su aplicación es excesivamente costosa. Sin embargo es especialmente útil durante el entrenamiento inicial, o cuando se necesita un reentrenamiento y una corrección una vez identificada una desviación respecto a la norma.

Métodos cuantitativos o estadísticos. Es más objetiva y eficiente. Se pueden utilizar indicadores indirectos (como los propuestos por el Women & Infants Hospital of Rhode Island, WIHRI) que consisten en parámetros estadísticos como la mediana de MoM (adecuado entre 0,90-1,10), la desviación estándar a escala logarítmica de los MoM (adecuado entre 0,08-0,13), o el incremento porcentual por semana gestacional (15-35).

El método inicialmente propuesto por la FMF se basaba en la proporción de medidas de la TN por encima y debajo de determinados percentiles. Así la proporción de valores $>p95$ o $<p5$ no debería superar el 4-6%. Un abordaje más reciente se basa en el hecho de que el comportamiento de la medida de la TN sigue un modelo mixto con dos distribuciones: una dependiente de la LCC (más frecuente el feto euploides) y otra independiente (más frecuente en fetos aneuploides). El control de calidad consiste en la valoración de la distribución de las medianas de la TN y de la amplitud de la dispersión de las medidas mediante la distribución de las desviaciones estándar (DE). Así una infraestimación o sobreestimación en la medición de la TN reduce la TD para una TFP fija. Para un punto de corte fijo, una infraestimación reduce la TD y una sobreestimación incrementa la TFP. Una mayor amplitud en la dispersión de las medidas tiene un pequeño impacto en la TD pero genera un incremento considerable en la TFP.

Como alternativa o complemento se propone el método CUSUM o cumulative sum. Se basa en que en cualquier proceso médico existe una cierta cantidad de variabilidad alrededor de un valor establecido llamado diana, que responde a la variabilidad natural del proceso. Cuando el proceso está afectado por otras causas no debidas al azar, sino a errores, exhibe mayor variabilidad por lo que se considera fuera de control. Estas desviaciones acumulativas respecto a la media se representan gráficamente.

Se establecen 2 límites (H+ y H-), superior e inferior, de modo que en el momento que o bien la línea de sobreestimación o la de infraestimación sobrepasen dicho límite, el proceso estaría fuera de control. Esta gráfica resulta especialmente útil para detectar cambios lentos con respecto al valor objetivo. Esta evaluación continua tiene la ventaja de ser prospectiva y permitir la detección temprana de las desviaciones.

SOFTWARE PARA LA ESTIMACIÓN DEL RIESGO

Diferentes programas, algoritmos o incluso diferentes implementaciones de un mismo algoritmo pueden llevar a calcular diferentes riesgos individuales, que pueden resultar en decisiones individuales diferentes, incluso aunque las cifras globales de tasas de detección y tasas de falsos positivos sean similares. Por ello, se recomienda la utilización de programas cuyo software esté certificado por instituciones acreditadas.

EVALUACIÓN GLOBAL DEL PROGRAMA

Para ofrecer una información real y precisa de la eficacia del programa de cribado, éste debe ser evaluado periódicamente.

El objetivo final del cribado es obtener una óptima TD y TFP, sin alejarse de los estándares; una forma cuantitativa de valorar la calidad es a través de su eficacia en términos de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo. Estos indicadores varían según el punto de corte definido y la distribución de edades de la población cribada.

El control epidemiológico global de los resultados del cribado, requiere disponer de información sobre el padecimiento o no de cromosomopatía del feto o recién nacido de todas las gestantes que han participado en él. Este dato es muy difícil de obtener si no existe un registro centralizado o autónomo de obligado cumplimiento.

Una alternativa es comparar la tasa de positivos observada con la esperada en función de la distribución de la edad materna. Es similar a la TFP pero no requiere el seguimiento de los casos.

Para el cribado de T21 la sensibilidad debe mantenerse entre el 80-90 % en caso del cribado combinado con una TFP no superior al 5%.

En otros países Europeos existe un Comité Nacional de Cribado de anomalías genéticas. El grupo de expertos considera que en nuestro país debería existir un organismo similar o uno al menos en cada autonomía. En su defecto es muy recomendable suscribir un control externo del programa de cribado en agencias internacionales como la UK NEQAS (United Kingdom National External Quality Assessment Service) o RIQAS (International Quality Assessment Scheme).

NUEVA ESTRATEGIA DE CRIBADO Y DIAGNÓSTICO DE ANOMALÍAS GENÉTICAS PROPUESTA POR EL GRUPO DE EXPERTOS DE LA SESEGO

Teniendo en cuenta la evidencia científica actual, las necesidades sociales y la situación económica del país, hemos elaborado una estrategia de implementación del ADN-Ic basada en el actual modelo de CCPT (ya implementado y presupuestado en nuestros centros) con el punto de corte en un índice de riesgo (IR) de 1/270 en el momento del parto (1 en 250) que detecta el 90% de los casos con un 5% de TFP, que ya es el más utilizado en nuestros hospitales. El objetivo de esta estrategia no es aumentar la TD sino minimizar los riesgos de las TI y mejorar el diagnóstico de otras anomalías genéticas que en este momento no se tienen en cuenta. Todo ello intentando llegar a un coste neutral desde el punto de vista económico en el cambio de estrategia y teniendo en cuenta los costes marginales a la hora de diseñar los puntos de corte.

ESTRATEGIA DE CRIBADO CONTINGENTE CON IMPLEMENTACIÓN DEL TEST DE ADN-Ic (incluidos gemelares con las limitaciones especificadas en esta GAP)

Aplicar a toda la población diana (gestaciones únicas y gemelares) un CCPT (Fig. 4).

IR ≥ 1 en 50, malformación ecográfica o TN ≥ 3,5 mm

- Realización de TI (BC de elección). Realizar QF-PCR para T21, 18 y 13. En caso de T21 o 13, realizar cariotipo posterior si se va a realizar consejo genético. En caso de normalidad de QF-PCR con presencia de malformación ecográfica o TN ≥ 3.5 mm realizar estudio genético mediante técnica de array.

IR 1 en 50 - 1 en 250 sin anomalía ecográfica asociada.

- Realizar un segundo test de cribado mediante ADN-Ic. Si positivo: realizar técnica invasiva con las mismas recomendaciones que en el grupo anterior. Si negativo: STOP.

< 1 en 250

- Informar del resultado y finalizar estrategia de cribado. Realizando un estudio de costes (Tabla IV) y valorando la realización del test de ADN-Ic en 200 euros (por debajo del precio actual de mercado) y con una prevalencia estimada de T21 de 1/500 RN vivos, no parece prudente, en términos económicos, ofertarlo en riesgos < 1/250 pues

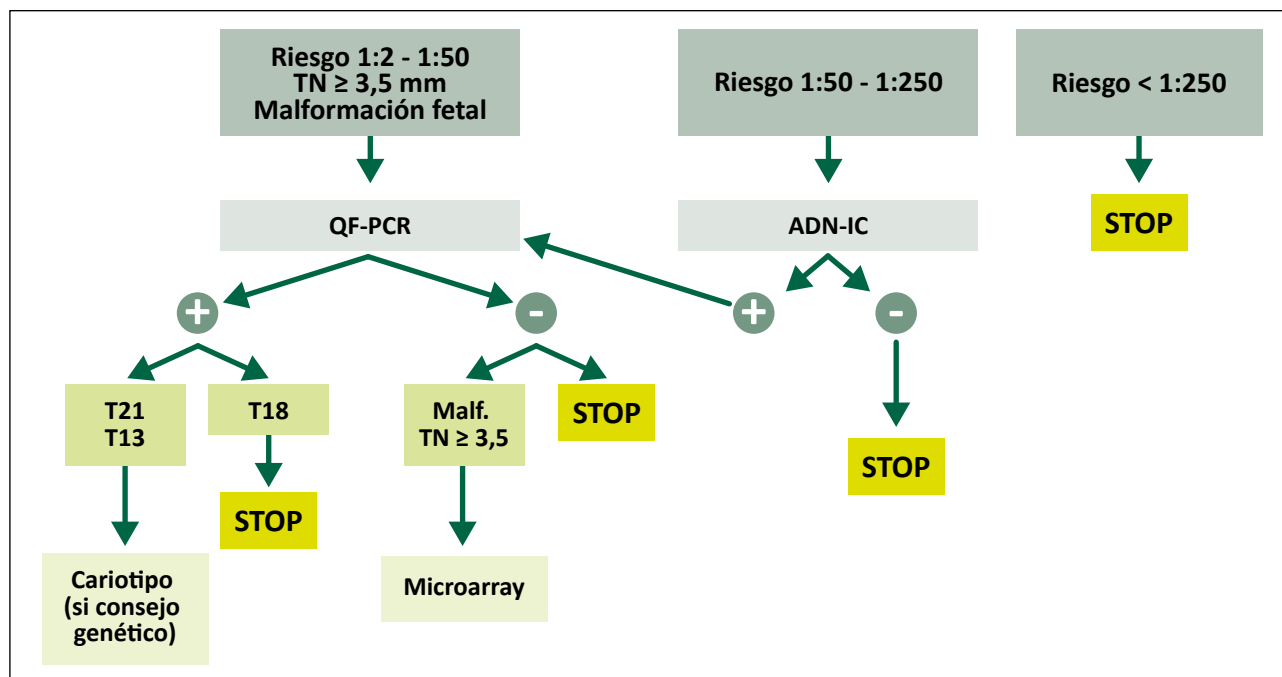


Figura 4.

el coste global del programa de cribado para detectar un mínimo de casos, sería casi el mismo que el coste global de todo el programa.

En estos momentos parece más eficiente conseguir que todos los centros alcancen el rendimiento óptimo del cribado combinado, antes que intentar aumentar la TD sobre un programa de CCPT que no tiene, en el conjunto nacional, controles de calidad acreditados.

Con esta estrategia y basándonos (para el modelo matemático) en un nº de partos de 400.000/año en España conseguiríamos una TD de T21 en primer trimestre, del 90% (similar a la estrategia actual) pero con una disminución muy significativa del número de pérdidas globales asociadas a las TI: de 2-100/año en la estrategia sin ADN-IC y entre 4 y 20/año en la estrategia propuesta por el grupo de expertos.

Tabla I.

Estudio de costes simplificado de la implementación del test de ADN-IC de manera contingente (según diferentes puntos de corte) en una población de 400.000 gestantes con 800 casos de T21 (prevalencia 1 en 500) y con un precio estimado de 200€/test

Coste global (Millones €)	Punto corte	TFP	Detectados	CM desde 1/250	No detectados	€ por caso	CM por caso €
4	250	5,0	720		80	5.555	
5,76	500	7,2	744 (+22)	+1,760.000€	56	7.741	80.000
9,52	1.000	11,9	760 (+40)	+5,520.000€	40	12.526	138.000
12,56	1.500	15,7	768 (+48)	+8,560.000€	32	16.354	178.333
15,2	2.000	19,0	776 (+56)	+11,200.000€	24	19.587	200.000
19,44	3.000	24,3	784 (+64)	+15,440.000€	16	24.795	241.250
25,92	5.000	32,4	788 (+68)	+21,920.000€	12	32.893	323.352
30,72	7.000	38,4	792 (+72)	+26,720.000€	8	38.787	371.111
80	Todos	99,9	798 (+78)	+76,000.000€	2	100.250	974.358

TD, tasa de detección; TFP, tasa de falsos positivos. CM: coste marginal; CM caso: coste marginal por caso detectado a partir de riesgo de 1/250.

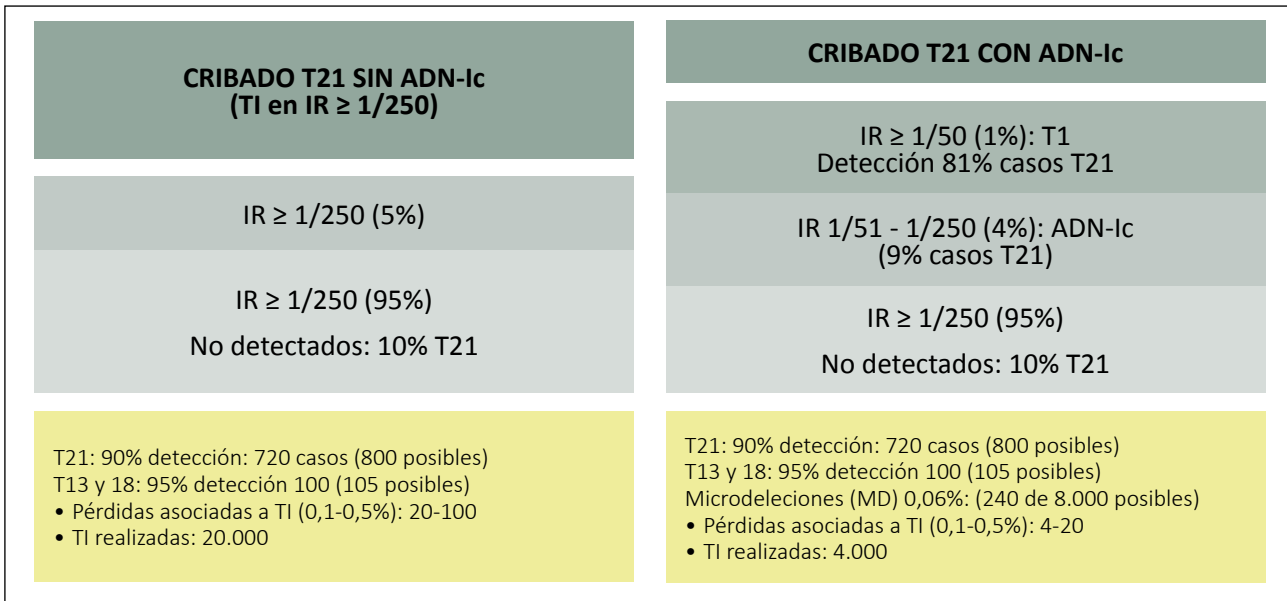


Figura 5. Comparación entre estrategia sin ADN-Ic y con ADN-Ic: población 400.000 gestaciones/año.

Como beneficio adicional, y sin asociarse pérdidas fetales, se detectarían el 95% de las T18 y T13, y el 0,06% (240) de las MD esperadas en la población (240). (Fig. 5)

El papel de los marcadores ecográficos del primer trimestre: (Fig. 6)

La inclusión de los marcadores ecográficos del primer trimestre (ausencia o hipoplasia de hueso nasal, ductus

venoso reverso o presencia de regurgitación tricuspídea) permitiría rescatar un grupo de pacientes de entre 1 en 251 a 1 en 1000 para aumentar la tasa de detección. La presencia de un marcador positivo en ese grupo recalcularía el riesgo a priori según el esquema de la figura 5.

Aunque en muchos centros están implantados ya en la rutina de la ecografía del primer trimestre, la realización correcta de todos estos marcadores a nivel nacional requiere unos recursos humanos y materiales que no siempre están disponibles. Dado que una prueba de criba-

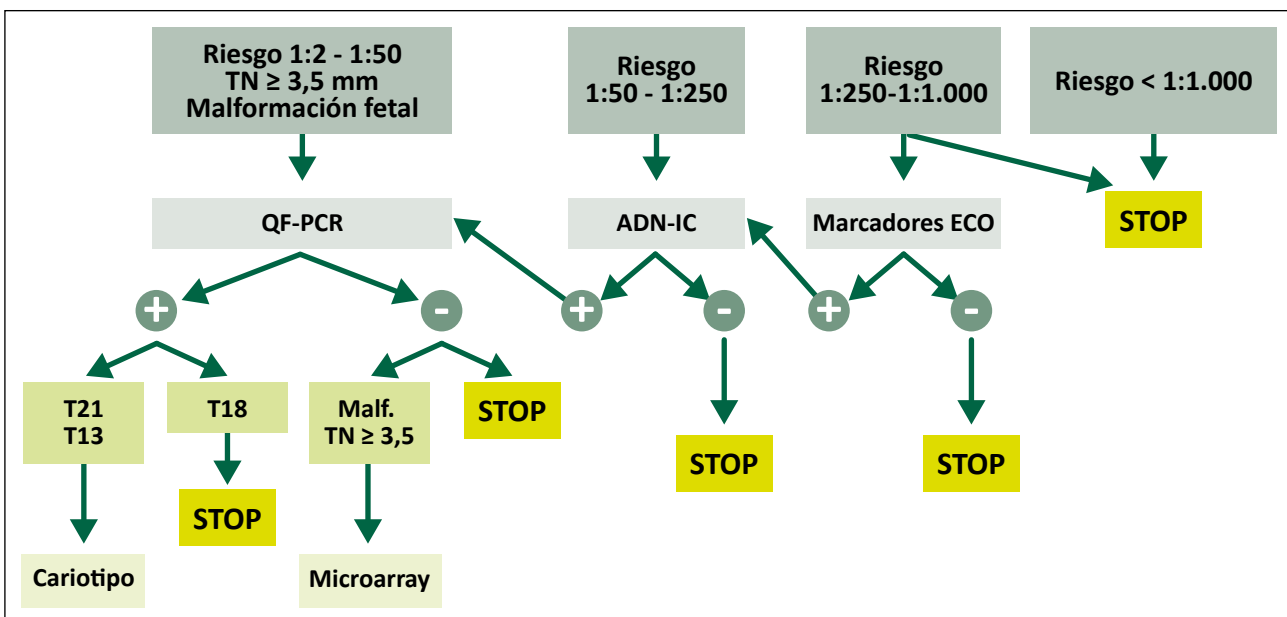


Figura 6.

do debe ser implícitamente fácil de realizar y accesible a toda la población, el grupo de expertos considera que no debe formar parte de forma poblacional como estrategia de cribado; aunque en los centros en los que se dispongan de ellos puede emplearlos tanto en investigación como parte de su rutina diaria

DISCUSIÓN

Para que la propuesta de cribado implementando ADN-Ic será eficiente a nivel poblacional, es necesario establecer por centros, CCAA y/o a nivel nacional un control de calidad del programa de cribado como sucede en otros países europeos en los que se está implantando.

Consideramos que los requisitos mínimos indispensables para que esta estrategia sea eficiente y son:

- Conocer los resultados CCPT que tenemos en nuestros centros. Si no se es superior al 85% se debería reauditar todo el proceso de cribado (medición de TN, control de calidad del laboratorio y del software utilizado.)
- Calcular, sobre nuestra población de referencia, la cantidad estimada de test de ADN-Ic que necesitaríamos en función del histórico de los resultados de CCPT. Debería auditarse, al menos anualmente, si la tasa esperada se corresponde con la tasa real; si existen diferencias significativas, revisar las indicaciones de la prueba y el proceso completo de cribado.

Dado que el cribado de anomalías genéticas en un tema en constante evolución y revolución será necesaria la revisión de nuestra estrategia de cribado acorde a las circunstancias científicas y económicas.

ADENDUM 1: DOCUMENTO INFORMATIVO SOBRE CRIBADO Y DIAGNÓSTICO DE ANOMALÍAS GENÉTICAS EN PRIMER TRIMESTRE

Las anomalías genéticas son alteraciones de los genes que están presentes desde el momento de la concepción de su hijo y que pueden condicionar su desarrollo futuro. De entre todas ellas, la más frecuente es el síndrome de Down. En general son más frecuentes cuanto mayor sea la edad de la madre pero pueden ocurrir en embarazos a cualquier edad.

¿Qué son las trisomías 21, 18 o 13?

En los seres humanos hay 23 tipos de cromosomas y la mayoría de la gente tiene un par de cada tipo, por lo tanto, 46 cromosomas. En el caso de las trisomías, en lugar de dos, existen tres cromosomas de un tipo en particular, haciendo un total de 47. La trisomía más común es la

del cromosoma 21, también conocida como síndrome de Down. Otras trisomías incluyen aquellas que implican a los cromosomas 18 o 13.

- Trisomía 21 (o síndrome de Down): Es la causa genética más frecuente de discapacidad intelectual y se produce aproximadamente en 1 de cada 830 nacidos vivos. Las personas con Sd. de Down tienen un cociente intelectual promedio de 50 y todos presentan cierto grado de discapacidad intelectual. Algunos niños con Sd de Down presentan defectos en el corazón o en otros órganos, que pueden precisar cirugía o tratamiento médico. Otros presentan trastornos médicos incluidas deficiencias auditivas o de visión. La esperanza de vida está en torno a los 60 años.
- Trisomía 18 (síndrome de Edwards): se produce aproximadamente en 1 de cada 5000 nacidos vivos y provoca discapacidad intelectual grave. La mayoría de estos bebés presentan graves malformaciones congénitas en cerebro, corazón y otros órganos. Durante el embarazo es frecuente que presenten problema de crecimiento y muchos fetos sufren abortos espontáneos o mueren antes durante el embarazo. La mayoría de los bebés que nacen con vida mueren antes de cumplir un año. Los que superan ese año sobreviven con profundas discapacidades intelectuales y problemas de crecimiento y desarrollo.
- Trisomía 13 (síndrome de Patau): se produce en aproximadamente 1 de cada 16.000 nacidos vivos y provocan una discapacidad intelectual grave con graves malformaciones congénitas a nivel cerebral y en otros órganos. La mayoría de los casos afectados sufren abortos espontáneos o fallecen antes de nacer. De los que nacen con vida, la mayoría muere antes del año.

¿Qué es el cribado combinado del primer trimestre?

Este sistema de cribado consiste en seleccionar de entre todos los embarazos, aquellos en los que el feto tiene una posibilidad mayor de presentar una anomalía genética (aproximadamente el 5% de los embarazos). El tipo de cribado recomendado por el Sistema Nacional de Salud en la actualidad es el cribado combinado del primer trimestre, enfocado a la detección de las trisomías 21, 18 y 13.

Este método se basa en la observación de que los fetos con Síndrome de Down presentan con más frecuencia una serie de marcadores (señales) en la ecografía del primer trimestre (translucencia nucal aumentada) o en la sangre (concentraciones alteradas de algunas sustancias: PAPP-A y beta-hCG). Estos marcadores también pueden estar presentes en fetos sin anomalías, por ello estar en este grupo no significa que el feto esté afectado. De hecho la mayoría de las veces no lo estará a pesar de estar en el grupo seleccionado. Eso se llama falso positivo.

¿Cómo lo realizamos?

Consiste en el análisis de una muestra de su sangre (entre las 9 y las 13 semanas de embarazo desde su última regla) y la realización de una ecografía (entre las 11 y las 13 semanas) que se combinará con su edad para darle el resultado. Los resultados nos dicen cuál es el riesgo o la probabilidad de que su hijo esté afecto de una de estas anomalías. Esta prueba es capaz de detectar el 85-90% de los casos, lo que significa que el 10-15% de ellos no se detecta con este test. Además, como hemos comentado, en un 5% de los casos el resultado de la prueba indicará un alto riesgo de que su bebé tenga síndrome de Down cuando en realidad no lo tiene (falso positivo). Por lo tanto, el cribado combinado no es una prueba diagnóstica sólo una posibilidad.

¿Qué riesgos tiene el cribado combinado?

No conlleva ningún riesgo para su hijo. Los únicos riesgos son los derivados de cualquier análisis de sangre (pequeños hematomas en el brazo, pequeñas molestias locales en la punción.) La ecografía en general se realiza por el abdomen y no tiene riesgos para el feto. En algunos casos se debe realizar por la vagina y puede conllevar pequeñas molestias para usted; para la realización de la misma se suele poner un protector en la sonda habitualmente de látex por lo que si es alérgica al mismo, recuerde comentarlo en la consulta.

¿Qué mostrarán los resultados del cribado combinado?

Los resultados aparecen como un "riesgo" o "probabilidad". Por ejemplo, si el riesgo es 1 en 100 significa que de 100 mujeres con el mismo resultado, una tendrá un feto afecto por el síndrome y las otras 99 no. Esto es lo mismo que decir que la probabilidad de que lo tenga es del 1% y la probabilidad de que no lo tenga es del 99%.

El punto de corte para valorar hacer más pruebas en nuestro país está establecido en alrededor de un riesgo de 1 en 250 en el momento de la extracción de la sangre (1/270 en el momento del parto).

¿Qué pasa si tengo un resultado con riesgo >1 en 250?

Como hemos explicado no es un diagnóstico, solo una posibilidad (de hecho un riesgo 1/250 significa que 1 feto estará afecto de Sd. de Down y 249 no). Su médico, de forma individualizada le explicará las diferentes alternativas para realizar o no más pruebas. La decisión de someterse a ellas es personal.

¿Qué alternativas tengo al cribado?

- Ecografías de rutina de su embarazo: Hasta el 50% de los fetos afectados por síndrome de Down muestran hallazgos que se pueden detectar por ecografía, sin embargo el otro 50% puede pasar desapercibido. La proporción de fetos con hallazgos ecográficos es mayor en los casos de las trisomías 18 y 13. Por tanto una ecografía normal no le puede garantizar que su hijo no tenga uno de estos síndromes.
- Existen otras pruebas que usted se puede realizar fuera del programa nacional de cribado. Si usted desea más información puede consultarlo con su médico obstetra.

ADENDUM 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO TEST DE ADN LIBRE CIRCULANTE FETAL EN SANGRE MATERNA PARA EL CRIBADO DE TRISOMÍAS 21, 18 Y 13.

Hoja informativa para realización de la prueba de cribado con ADN libre circulante (ADN-ic)

¿Qué son las trisomías 21, 18 o 13?

En los seres humanos hay 23 tipos de cromosomas y la mayoría de la gente tiene un par de cada tipo, por lo tanto, 46 cromosomas. En el caso de las trisomías, en lugar de dos, existen tres cromosomas de un tipo en particular, haciendo un total de 47. La trisomía más común es la del cromosoma 21, también conocida como síndrome de Down. Otras trisomías incluyen aquellas que implican a los cromosomas 18 o 13.

- Trisomía 21 (o síndrome de Down): Es la causa genética más frecuente de discapacidad intelectual y se produce aproximadamente en 1/830 RN vivos. Las personas con Sd de Down tienen un cociente intelectual promedio de 50 y todos presentan cierto grado de discapacidad intelectual. Algunos niños con S de Down presentan defectos en el corazón o en otros órganos, que pueden precisar cirugía o tratamiento médico. Otros presentan trastornos médicos incluidas deficiencias auditivas o de visión. La esperanza de vida está en torno a los 60 años.
- Trisomía 18 (síndrome de Edwards): se produce aproximadamente en 1 de cada 7.500 nacidos vivos y provoca discapacidad intelectual grave. La mayoría de estos bebés presentan graves malformaciones congénitas en cerebro, corazón y otros órganos. Durante el embarazo es frecuente que presenten problema de crecimiento y muchos fetos sufren abortos espontáneos o mueren antes durante el embarazo. La mayoría de los bebés que nacen con vida mueren antes de

cumplir un año. Los que superan ese año sobreviven con profundas discapacidades intelectuales y problemas de crecimiento y desarrollo.

- Trisomía 13 (síndrome de Patau): se produce en aproximadamente 1 de cada 22.700 nacidos vivos y provocan una discapacidad intelectual grave con graves malformaciones congénitas a nivel cerebral y en otros órganos. La mayoría de los casos afectos sufren abortos espontáneos o fallecen antes de nacer. De los que nacen con vida, la mayoría muere antes del año.

¿En qué consiste este test?

- El test analiza el ADN libre de la sangre materna y proporciona una gran información sobre si el feto tiene un riesgo muy alto o muy bajo de tener trisomía 21, 18 o 13. Se ha demostrado que es capaz de detectar más del 99% de los casos de trisomía 21 y el 98% de los casos de trisomía 18 y de trisomía 13. No detecta mosaicos ni trisomías parciales.
- No provee información sobre otras anomalías de los cromosomas, en general, mucho más raras. Si la ecografía de la semana 11^a-13^a muestra una translucencia nucal aumentada (más de 3,5 mm) o defectos fetales mayores, el riesgo de alteraciones en los cromosomas puede ser alto y por lo tanto se recomendaría realizar un procedimiento invasivo.
- Tampoco provee información sobre defectos físicos o del crecimiento. Por lo tanto, sigue siendo recomendable realizar las ecografías del segundo y tercer trimestre según el protocolo del seguimiento de embarazo de su centro

¿Quién puede realizarse el test?

Esta prueba puede llevarse a cabo en mujeres embarazadas de un solo feto y a partir de las 10 semanas de gestación.

Existen situaciones especiales que requieren una valoración individual:

- Obesidad (elevado IMC): Técnicamente puede realizarse, pero se ha demostrado una mayor posibilidad de no obtener resultados por falta de material genético suficiente del feto para su análisis.
- Gestaciones obtenidas por técnicas de reproducción asistida (TRA): Puede realizarse, pero se ha demostrado una mayor incidencia de resultados fallidos.
- Gestaciones obtenidas por TRA y donación de ovocitos: Puede realizarse, pero exclusivamente con cierta tecnología (métodos de contaje).
- Consanguinidad de primer grado: Puede realizarse, pero exclusivamente con cierta tecnología (métodos de contaje).

- Gestación gemelar: la evidencia científica del cribado de aneuploidías con ADN libre circulante en la gestación gemelar es limitada; la detección para trisomía 21 parece ser algo menor que en embarazos únicos, y más errores en los resultados (0.25% de los casos). Se asocia con una tasa mayor de casos sin resultado.
- Gestación triple o superior: Prueba contraindicada.
- Gemelo evanescente (embarazo gemelar en los que uno de los gemelos no llega a desarrollarse): Prueba contraindicada (mayor tasa de resultados falsos positivos).

¿Cuándo puedo esperar los resultados?

- El resultado de la prueba suele estar disponible entre 5 y 15 días, dependiendo de la técnica y tipo de test comercial.
- En el 2-5% de los test realizados la prueba no permite obtener un resultado (prueba fallida). Esta situación puede ocurrir con todos los test comerciales, y puede ser atribuida a problemas logísticos, técnicos, clínicos o médicos. El riesgo de un resultado fallido es más elevado en edades gestacionales más precoces y en pacientes obesas. En estos casos se reevaluarán las opciones de forma individualizada, existiendo la posibilidad de repetir el test, que proporcionará resultados en la mitad de los casos.

¿Cómo se interpreta y utiliza la información que dan los resultados?

- Si la prueba indica que existe alto riesgo de trisomía, la probabilidad de que el resultado sea cierto es alto, alrededor del 80% (más alta para la T21 y 18 y menor para la T13), pero es variable y depende de varios factores. Por ello es necesario siempre confirmar este resultado con una prueba invasiva prenatal (biopsia de corion o amniocentesis).
- Si la prueba indica bajo riesgo de trisomía, es extremadamente improbable que el feto esté afecto (pero no imposible) ya que detecta más del 99% de los casos de trisomía 21, 98 % de los casos de trisomía 18 y 91 de trisomía 13.

¿Es necesaria la ecografía?

Es de gran importancia que siempre que se vaya a realizar un test de ADN-Ic, la indicación de la prueba esté precedida por una ecografía de alta resolución a fin de confirmar el tipo de gestación, la edad gestacional y el tipo de prueba recomendada en función de los hallazgos ecográficos; así

como para descartar aquéllos casos en estaría contraindicada, no fuera la mejor prueba o el momento de su realización no fuera el apropiado.

¿Cuáles son las recomendaciones de las sociedades científicas?

La evidencia científica ha demostrado que es el mejor método de cribado para las condiciones habitualmente detectadas con los métodos tradicionales, las trisomías más comunes, con una fiabilidad claramente superior a cualquier otra estrategia. En pacientes con cribado combinado del primer trimestre con riesgo para T21 >1/250, su uso ha demostrado una franca disminución de los procedimientos invasivos innecesarios, manteniendo o superando las tasas de detección habituales.

¿La realización de este test excluye la necesidad de otras pruebas?

Si el resultado de la prueba es de bajo riesgo y la ecografía es normal, debe seguirse el protocolo habitual de control de la gestación, sin ninguna prueba adicional específica. Si en la ecografía morfológica habitual de 20-22 semanas se detectara algún hallazgo adicional, será necesario revalorar la conducta a seguir.

¿Qué alternativas tengo?

- Técnica invasiva El único modo de conocer de manera segura si el feto tiene una anomalía cromosómica, incluyendo las trisomías 21, 18 y 13, es realizando un procedimiento invasivo como la biopsia corial (a las 11^a-15^a semanas de embarazo) o la amniocentesis (a partir de la semana 16^a). Estas pruebas consisten en la introducción de una pequeña aguja o fórceps en el útero para tomar una pequeña muestra de la placenta (en el caso de la biopsia corial) o de líquido amniótico (en el caso de la amniocentesis) y a diferencia del test de ADN-Ic (que no tiene riesgos para el feto) sí que conllevan un riesgo de aborto asociado a la técnica de aproximadamente 1 de cada 1000 casos.
- No realizar ningún otro test. En el caso de que no se quisiera realizar ninguna otra prueba de cribado o diagnóstico de trisomías se reevaluaría el riesgo de que el feto estuviera afecto en el segundo trimestre mediante la realización de la correspondiente ecografía morfológica. Esta ecografía evalúa la anatomía fetal y los marcadores de trisomía, pero en ningún momento es capaz de dar un diagnóstico de certeza de alteraciones en los cromosomas.

¿Qué riesgos tiene el test de ADN libre fetal?

- No se trata de un procedimiento invasivo, por lo que no conlleva ningún riesgo para el feto.
- Todo lo que conlleva es la toma de una muestra sanguínea materna, tal y como se realiza para cualquier otro análisis de sangre. Esto puede conllevar alguna molestia o dolor local y, en algunas ocasiones, un pequeño hematoma.

CONSENTIMIENTO INFORMADO	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ He leído (o se me ha leído) y entendido la hoja informativa sobre la prueba de cribado con ADN-Ic. ▪ He tenido la oportunidad de hacer las preguntas que he considerado necesarias, y éstas han sido contestadas satisfactoriamente. ▪ Estoy de acuerdo en realizar la prueba de cribado con ADN-Ic para la detección de la trisomía 21, 18 y 13. 	
Paciente: Nombre y Apellidos..... Fecha	
FIRMA _____	
Profesional que obtiene el consentimiento: Nombre y Apellidos.....	
FIRMA _____	

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ He leído y entendido la hoja informativa para la realización de la prueba de cribado con ADN-Ic ▪ 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 prueba de cribado con ADN-Ic 	
Paciente: Nombre y Apellidos..... Fecha	
FIRMA _____	
Profesional que obtiene el CI: Nombre y Apellidos.....	
FIRMA _____	

ADENDUM 3: INDICACIONES PARA LAS DIFERENTES TÉCNICAS INVASIVAS

INDICACIONES DE BIOPSIA CORIAL

- Alto riesgo de aneuploidía en el cribado de primer trimestre ($> 1/250$ ó $> 1/50$ si se dispone de test de ADN-Ic.)
- Translucencia nucal aumentada $>$ percentil 99
- Anomalía genómica en gestación previa (asesorar previamente ya que en trisomías autosómicas se puede recalcular el riesgo y en otras anomalías el riesgo de recurrencia es muy bajo)
- 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 positivo.
- Pérdida gestacional precoz (no sólo en pérdida recurrente) en gestaciones por encima de la semana 10 de desarrollo embrionario (12ª semana de edad gestacional por amenorrea)
- Enfermedad monogénica con diagnóstico molecular o bioquímico disponible

Antes de realizar la BC, se deberán considerar las siguientes contraindicaciones relativas:

- Sangrado vaginal: En general, se recomienda posponer la BC hasta una semana después de la finalización del sangrado
- Infección materna por HIV, HBV o HCV: el procedimiento de elección es la amniocentesis no transplacentaria.

INDICACIONES DE AMNIOCENTESIS

- Cribado de aneuploidía con riesgo $\geq 1/250$ para trisomía 21 o 18 (por test combinado o cribado bioquímico de segundo trimestre ó $>1/50$ si se dispone de test de ADN-Ic)
- Anomalía cromosómica en gestación previa (sobre todo trisomías)
- Anomalía cromosómica parental
- Anomalía fetal ecográfica (detectada durante la ecografía morfológica)
- Confirmación de un resultado por ADN-Ic
- Confirmación de un resultado no conclusivo en vello-sidad corial
- CIR severo muy precoz (< 22 semanas)
- CIR severo entre 22-28 semanas con riesgo intermedio
- Sonograma genético con riesgo resultante $\geq 1/250$ o $1/50$ si se dispone de ADN-Ic
- 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.

INDICACIONES DE CORDOCENTESIS

1. Estudio citogenético (cariotipo):
 - Confirmación de resultado citogenético no conclusivo en líquido amniótico (mosaicos)
 - Hidrops fetal
2. Riesgo de enfermedad monogénica y consulta tardía
3. Marcadores de infección fetal por CMV (plaquetas y perfil hepático)
4. Sospecha de anemia fetal:
 - Isoinmunización
 - Infección PVB19
 - Agonía/muerte reciente de un gemelo MC
5. Sospecha de trombocitopenia fetal:
 - Trombocitopenia aloinmune
 - Trombocitopenia autoinmune severa

ADENDUM 4: INDICACIONES DE MICROARRAY GENÓMICO

- Defecto congénito en la ecografía:
- Identificación de un defecto congénito mayor o más de uno, o de hallazgos que sugieren defectos congénitos menores, probablemente malformativos, una vez excluidos T21, 13 y 18. En caso de cualquier malformación la probabilidad de un hallazgo relacionado con el fenotipo es de un 6%, superior en el microarray que en el cariotipo. En caso de cardiopatía este porcentaje aumenta hasta el 12%.
- Crecimiento intrauterino restringido (CIR) precoz y severo CIR precoz (<32 semanas) y severo ($<$ percentil 3), sobretodo en los que coexistan malformaciones o marcadores ecográficos (polihidramnios, oligoamnios...).
- Translucencia nucal aumentada ($> 3.5\text{mm}$ o $>$ percentil 99).
- Antecedente familiar de reordenamiento cromosómico de riesgo para la gestación en curso:
 - Translocación parental recíproca en equilibrio o inversión pericéntrica: para detectar segregaciones desequilibradas no visibles por cariotipo.
 - Delección o duplicación críptica familiar con riesgo de transmisión significativo y penetrancia y relevancia clínica.
 - Cromosomas marcadores presentes en mosaico en un progenitor y heredables por el feto, de carácter potencialmente patogénico.

- Deleción o duplicación críptica no detectable por cariotipo y por tanto detectada por FISH/microarray) "de novo" en un descendiente previo. Aunque no esté demostrado un incremento en el riesgo de recurrencia, existe la posibilidad de un mosaico germinal en uno de los progenitores. Se podría recurrir también al FISH o MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*) dirigidos, pero la capacidad de detección global del microarray recomienda su uso en caso de prueba invasiva.
- Hallazgo de una translocación recíproca o inversión "de novo" aparentemente equilibrada o de un cromosoma marcador (especialmente del tipo anillo y marcador no satelizado) en el cariotipo fetal. Se aplicará un microarray de alta resolución.
- Muerte fetal intrauterina y aborto de segundo trimestre. El microarray tiene más éxito al no necesitar cultivo y mayor capacidad de detección que el cariotipo.

OTRAS POSIBLES INDICACIONES

- En caso de aborto espontáneo, en el que se quiera intentar un diagnóstico genético, el microarray también sería de utilidad a partir de los restos ovulares. Al no precisar de cultivo celular, las probabilidades de fracaso técnico son inferiores y con mayor frecuencia se consigue obtener resultado que con el cariotipo. Es aconsejable realizar un test de contaminación materna en casos de posible contaminación (p.e. legrado)

ADENDUM 5: MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO SOBRE AMNIOCENTESIS. INFORMACIÓN PREVIA A LA REALIZACIÓN DE LA PRUEBA

¿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 $\geq 1/250$ 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 ADN-Ic
- Confirmación de un resultado no conclusivo en vello-sidad corial
- Crecimiento intrauterino retardado (CIR) severo muy precoz (< 22 semanas)
- CIR severo entre 22-28 semanas con riesgo intermedio
- Sonograma genético con riesgo resultante $\geq 1/250$
- 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 1500 UI de gammaglobulina 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	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 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..... Fecha.....	
FIRMA _____	
Profesional que obtiene el CI: Nombre y Apellidos.....	
FIRMA _____	
Lugar y fecha.....	

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 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 ▪ Adecuadamente informada y libremente, he decidido no realizarme una amniocentesis 	
Paciente: Nombre y Apellidos..... Fecha.....	
FIRMA _____	
Profesional que obtiene el CI: Nombre y Apellidos.....	
FIRMA _____	
Lugar y fecha.....	

ADENDUM 6: CONSENTIMIENTO INFORMADO DE BIOPSIA CORIAL. 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 (> 1/250)
- 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-1c
- 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 1500 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 1/1000 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.

En función de la indicación, otras posibles alternativas podrían ser:

- 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.
- Otras: especificar.

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
- Estoy de acuerdo en que se me realice biopsia corial.

Paciente:
Nombre y Apellidos..... Fecha

FIRMA _____

Profesional que obtiene el CI:
Nombre y Apellidos.....

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 amniocentesis

Paciente:
Nombre y Apellidos..... Fecha

FIRMA _____

Profesional que obtiene el CI:
Nombre y Apellidos.....

FIRMA _____

Lugar y fecha.....

ADENDUM 7: HOJA INFORMATIVA CORDOCENTESIS

¿Qué es una cordocentesis y para qué sirve?

Esta prueba consiste en la punción de un vaso del cordón umbilical del feto para extraer una muestra de su sangre, con fines diagnósticos y/o terapéuticos. Sirve para el estudio de sus cromosomas o genes en células fetales, o para la realización de otros análisis en la sangre del feto, como en sospechas de infección, anemia u otras enfermedades fetales. También sirve como vía de acceso para realizar algunos tratamientos dentro del útero.

Por tanto, sus indicaciones son:

1. Estudios genéticos
2. Marcadores de infección fetal por CMV (plaquetas y perfil hepático)
3. Sospecha de anemia fetal
4. Sospecha de trombocitopenia fetal
5. Otras.

¿Cómo se realiza?

Se suele realizar a partir de las 17-18 semanas de gestación. Puede ser necesaria la utilización de anestesia local materna y, en ocasiones, fetal. La técnica comienza con la localización mediante ecografía de la placenta y del cordón umbilical del feto que llega a ella. Una vez localizado y ayudándose de la ecografía para guiar la aguja, se realiza la punción atravesando la pared del abdomen y del útero de la madre, para llegar a un vaso del cordón umbilical y obtener la sangre fetal.

¿Qué efectos le producirá?

Puede producir un ligera molestia durante el pinchazo y de forma ocasional pequeño sangrado del cordón umbilical que suele ceder en 1-2 minutos.

Si Usted presentara sangrado vaginal abundante, pérdida de líquido o fiebre, debe acudir a urgencias hospitalarias (preferiblemente al centro en dónde se le ha realizado la prueba).

¿Qué beneficios tiene?

Conocer el diagnóstico de la enfermedad por la que se realizó la prueba.

Si el procedimiento se realizó para tratar una enfermedad en el feto, éste puede curarla

¿Qué alternativas tengo? (seleccionar)

- En su caso no existe alternativa posible
- En mi caso la alternativa es: (texto libre)

¿Qué riesgos tiene?

La mayor parte de las veces la intervención no produce daños o efectos secundarios indeseables. Pero a veces no es así. Por eso es importante que usted conozca los riesgos que pueden aparecer en este procedimiento o intervención.

El riesgo más frecuente es el sangrado por el lugar de la punción, que suele ceder en 1-2 minutos.

Los riesgos más graves son los menos frecuentes:

- El aborto o pérdida del embarazo con un 2-3% de riesgo.
- Pérdida de líquido amniótico por rotura prematura de la bolsa o infección.
- Parto prematuro.
- La sensibilización Rh. Cuando son incompatibles las células de la sangre de la madre y del feto, se pone tratamiento para prevenirla en los casos susceptibles.
- Hemorragias de los anejos fetales.
- El hematoma en el lugar de la punción es poco frecuente (1 a 3 de cada 100 mujeres). Puede ser grave al producir una bradicardia fetal y muerte en pocos minutos si comprime el cordón.
- Muerte fetal después de las 28 semanas (1 de cada 100 mujeres).
- Infección materna (1 de cada 100 mujeres) o peritonitis en casos extremadamente raros.

Situaciones especiales que deben ser tenidas en cuenta

Pueden existir circunstancias que aumenten la frecuencia y gravedad de riesgos y complicaciones a causa de enfermedades que usted ya padece. Para ser valoradas debe informar a su médico de sus posibles alergias medicamentosas, alteraciones de la coagulación, enfermedades, medicaciones actuales o cualquier otra circunstancia incluso si usted no la considera relevante.

Si alguna de estas circunstancias complicara el procedimiento o hubiera dificultades técnicas para realizarlo a valoración del médico, este puede considerar no hacerlo o retrasarlo hasta un momento posterior del embarazo.

Otra información de interés

Las muestras obtenidas se envían al laboratorio para su estudio posterior. A veces el laboratorio no puede ofrecer los resultados o proporciona resultados parciales debido a contaminación en las muestras, o problemas de la técnica del laboratorio. Esto ocurre en general con una frecuencia del 1%.

En estos casos, los padres decidirán si quieren repetir la prueba. Los resultados tienen una fiabilidad de más del 99%.

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

CONSENTIMIENTO INFORMADO	
<ul style="list-style-type: none"> • He leído y entendido la información proporcionada en este consentimiento para la realización de una cordocentesis • He tenido la oportunidad de hacer las preguntas que he considerado necesarias y éstas han sido contestadas satisfactoriamente • Estoy de acuerdo en que se me realice una cordocentesis 	
<p>Paciente: Nombre y Apellidos..... Fecha</p> <p style="text-align: right;">FIRMA _____</p>	
<p>Profesional que obtiene el CI: Nombre y Apellidos.....</p> <p style="text-align: right;">FIRMA _____</p>	
<p>Lugar y fecha.....</p>	

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

1. Acuerdo Marco sobre Cribado Poblacional aprobado por la 177ª Comisión de Salud Pública celebrada el 15 Diciembre 2010.
2. Descripción del estado de situación del cribado prenatal de las cromosopatías Descripción del estado de situación del cribado prenatal de las cromosopatías fetales más frecuentes -principalmente Síndrome de Down en el Estado español y propuestas de mejora en la práctica clínica habitual. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. AATRM Núm.2006/03
3. <https://www.fetalmedicine.org/education/the-11-13-weeks-scan>
4. ISUOG Practice Guidelines: invasive procedures for prenatal diagnosis. Ultrasound Obstet Gynecol 2016;48:256-68.
5. Ley 33/2011, General de Salud Pública. <https://www.boe.es/boe/dias/2011/10/05/pdfs/BOE-A-2011-15623.pdf>
6. Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica
7. 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.

8. Akolekar R, Bower S, Flack N, Bilardo CM, Nicolaides KH. Prediction of miscarriage and stillbirth at 11-13 weeks and the contribution of chorionic villus sampling. *Prenat Diagn* 2011;31:38-45.
9. Alldred SK, Takwoingi Y, Guo B, Pennant M, Deeks JJ, Neilson JP, Alfirevic Z. First trimester serumtests for Down's syndrome screening. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2015, Issue 11. Art. No.: CD011975. DOI: 10.1002/14651858.CD011975.
10. Alcaine MJ, et al. Estado actual del cribado prenatal de cromosopatías en España: resultados encuesta SEQC 2013. *Rev Lab Clin* 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lab-cli.2015.07.002>
11. Comas C, Echevarría M, Rodríguez MA, Rodríguez I, Sabriá J. Control de calidad en el cribado prenatal de aneuploidías. *Diag Prenat* 2012;23:15-24.
12. Cruz-Lemini M, Parra-Saavedra M, Borobio V, Bannasar M, Gonce A, Martínez JM, Borrell A. How to perform an amniocentesis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;44:727-31.
13. De la Paz-Gallardo MJ, García FS, De Haro-Muñoz T, Padilla-Vinuesa MC, Zafra-Ceres M, Gómez-Capilla JA, Gómez-Llorente C. Quantitative-fluorescent-PCR versus full karyotyping in prenatal diagnosis of common chromosome aneuploidies in southern Spain. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1333-38.
14. Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH. Analysis of Cell-Free DNA in Maternal Blood in Screening For Aneuploidies: Updated Meta-Analysis *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017 Apr 11. doi: 10.1002/uog.17484.
15. Gil MM, Brik M, Casanova C, Martin-Alonso R, Verdejo M, Ramírez E, Santacruz B. Screening for trisomies 21 and 18 in a Spanish public hospital: From the combined test to the cell-free DNA test. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016 Nov 22:1-7. DOI: 10.1080/14767058.2016.1253062.
16. Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar R, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45:249-66.
17. Grati FR, Bajaj K, Malvestiti F, Agrati C, Grimi B, Malvestiti B, Pompili E, Maggi F, Gross S, Simoni G, Ferreira JC. The type of feto-placental aneuploidy detected by cfDNA testing may influence the choice of confirmatory diagnostic procedure. *Prenat Diagn* 2015;35:994-8.
18. Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL, Monaghan KG, Bajaj K, Best RG, Klugman S, Watson MS. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med* 2016 Oct;18(10):1056-65. DOI: 10.1038/gim.2016.97.
19. Nicolaides KH, Syngelaki A, Poon LC, Gil MM, Wright D. First-trimester contingent screening for trisomies 21, 18 and 13 by biomarkers and maternal blood cell-free DNA testing. *Fetal Diagn Ther* 2014;35:185-92.
20. Ramírez FA, Ulibarrena J, Valverde S, Ramayo E, Camacho A. Modelo de control de calidad para marcadores bioquímicos y ecográficos del cribado prenatal de aneuploidías fetales centralizado en el laboratorio. *Rev Lab Clin*. 2012;5:182-7.
21. Schrijver I, Zehnder JL, Cherry AM. www.uptodate.com. Last updated Mar 16,2016. Tool for genetics and genomics. *Cytogenetics and molecular genetics*.
22. Stergiotou I, Borobio V, Bannasar M, Gonce A, Mula R, Nuruddin M, Soler A, Borrell A. Transcervical chorionic villus sampling: A practical guide. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2016;29:1244-51.
23. Suela J, López-Expósito I, Querejeta ME, Martorell R, Cuatrecasas E, Armengol L, Antolín E, Domínguez Garrido E, Trujillo-Tiebas MJ, Rosell J, García Planells J, Cigudosa JC; Grupo de diagnóstico prenatal del INGEMM; Grupo de genética prenatal del Hospital Clínico San Carlos. *Med Clin (Barc)* 2017;148:328.e1-328.e8. DOI: 10.1016/j.medcli.2016.12.028.
24. Syngelaki A, Pergament E, Homfray T, Akolekar R, Nicolaides KH. Replacing the combined test by cell-free DNA testing in screening for trisomies 21, 18 and 13: Impact on the diagnosis of other chromosomal abnormalities. *Fetal Diagn Ther* 2014;35:174-84.
25. Van Opstal, Srebniak MI. Cytogenetic confirmation of a positive NIPT result: Evidence-based choice between chorionic villus sampling and amniocentesis depending on chromosome aberration. *Expert Rev Mol Diagn* 2016;16:513-20.
26. Wright D, Wright A, Nicolaides KH. A unified approach to risk assessment for fetal aneuploidies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 48-54.