



PROGRESOS de OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA

www.elsevier.es/pog



ORIGINAL

Cribado combinado de síndrome de Down en primer trimestre: comparación de resultados de 4 años de aplicación con los 4 años precedentes

Javier Arenas Ramírez*, Elisa Para Margüello, Laura Fernandez Fernandez, M Teresa Otero Chouza, Beatriz Duplá Parugues, Montserrat Noriega García, Elena Couso Perez, Rebeca Pérez Fernández y Guillermo García Galarraga

Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital de Cabueñes, Gijón, España

Recibido el 1 de agosto de 2011; aceptado el 10 de octubre de 2011

Accesible en línea el 15 de diciembre de 2011

PALABRAS CLAVE

Amniocentesis;
Cribado combinado del
primer trimestre;
Diagnóstico prenatal;
Síndrome de Down

Resumen

Objetivo: Analizar los resultados de 4 años de aplicación del programa de cribado combinado del primer trimestre y su impacto sobre las tasas de detección de síndrome de Down, cobertura poblacional y procedimientos invasivos.

Sujetos y métodos: Estudio retrospectivo poblacional de 8 años consecutivos (17.564 gestaciones que contienen 51 síndromes de Down), en 2 periodos: 31 de enero de 2002 a 30 de enero de 2006, sin cribado (8.182 gestaciones y 24 síndromes de Down) y 31 de enero de 2006 a 30 de enero de 2010, con cribado (8.382 gestaciones y 27 síndromes de Down). El cribado se aplicó en 2 fases: bioquímica a la 10 semana y ecografía a la 12 semana. Se comparan los resultados del cribado con los del periodo precedente basado en la edad materna y la medida de la translucencia nuchal.

Resultados: La cobertura poblacional fue de 93%. La tasa de detección de síndrome de Down por aplicación del cribado combinado ha sido del 89% (91% para feto único) para un 3,5% de falsos positivos y se realizaron 824 procedimientos invasivos (34,3 para 1 diagnóstico). En los 4 años previos a la aplicación del cribado, la tasa de detección era del 71% y se realizaron 1.406 procedimientos invasivos (87,8 para un diagnóstico).

Conclusión: El cribado combinado ha mejorado las tasas de detección para síndrome de Down en un 18%, al tiempo que ha permitido reducir en un 41% los procedimientos invasivos.

© 2011 SEGO. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: javarenas@sego.es (J. Arenas Ramírez).

KEYWORDS

Amniocentesis;
Down syndrome;
First-trimester
combined screening;
Prenatal diagnosis

First-trimester combined screening for Down syndrome: comparison of the 4-year results with the previous 4 years**Abstract**

Objective: To analyze the 4-year results of first-trimester combined screening and its impact on rates of Down syndrome detection, population coverage and invasive procedures.

Subjects and methods: We performed a retrospective population-based study over 8 consecutive years (17,564 gestations with 51 cases of Down syndrome) divided in two periods: from January 31, 2002 to January 30, 2006 without combined screening (8,182 gestations and 24 cases of Down syndrome) and from January 31, 2006 to January 30, 2010 with combined screening (8,382 gestations and 27 cases of Down syndrome). Combined screening was applied in two phases: biochemical analysis was performed in the 10th week of pregnancy and ultrasound examination in the 12th week. We compared the results of screening with the previous period based on maternal age and fetal nuchal translucency measurement.

Results: Population coverage was 93%. The rate of Down syndrome detection due to the application of combined screening was 89% (91% for a single fetus) with a false-positive rate of 3.5%. There were 824 invasive procedures (34.1 to diagnose one episode). During the 4 years prior to the application of combined screening, the detection rate was 71% with 1,406 invasive procedures (87.8 to diagnose one episode).

Conclusion: Combined screening has improved the Down syndrome detection rate by 18% and has reduced the use of invasive procedures by 41%.

© 2011 SEGO. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El Síndrome de Down (SD) es la cromosomopatía más frecuente y en ausencia de cribado prenatal cabe esperar 1-2 casos por cada 1.000 nacimientos. Además de ser una de las principales causas de discapacidad, estos niños tienen un incremento en la incidencia de malformaciones congénitas, particularmente cardíacas y gastrointestinales y su esperanza de vida está entre los 50-60 años¹. En puridad, todas las gestantes pueden tener un feto afectado y es precisamente la detección de un aumento en el riesgo la principal indicación para efectuar procedimientos invasivos (PI) durante la gestación (amniocentesis, biopsia corial), única manera de efectuar el diagnóstico. Es evidente que no procede someter a PI a toda la población gestante pues los costes económicos, de infraestructura sanitaria y de pérdidas de fetos sanos serían inaceptables. Tras la aplicación de diferentes estrategias de selección de riesgo, se ha impuesto el cribado combinado de I trimestre entre la 11-13⁺⁶ semanas (s.), que aplica una combinación de edad materna, medida ecográfica de la translucencia nuchal fetal (TN) y cuantificación en suero materno de la proteína plasmática A asociada a la gestación (PAPP-A) y de la fracción libre de la gonadotropina coriónica humana (fβ-HGC). De trabajar en un solo tiempo haciendo la bioquímica y TN en el mismo día (OSCAR: *one-stop clinics for assessment of risk*)² se tiende a trabajar en las edades gestacionales que se han mostrado más discriminadoras, alrededor de la 10 s. para la bioquímica y de la 12 s. para la TN³. Ha pasado más de una década de las primeras publicaciones⁴ y las tasas de detección (TD) se mantienen entre 80-90% para 5% de falsos positivos (FP), con pequeñas variaciones.

En este trabajo se expondrán los resultados globales tras 4 años de aplicación del programa de cribado combinado del primer trimestre en comparación con el periodo de 4 años

precedente y se analizará su impacto sobre la cobertura poblacional, TD y procedimientos invasivos.

Material y métodos

Se realiza un estudio retrospectivo poblacional de los 4 primeros años de aplicación del cribado combinado del primer trimestre en el Hospital de Cabueñes de Gijón, del 31 de enero de 2006 al 30 de enero de 2010. En este periodo hubo un total de 9.032 partos, se realizaron 8.382 cribados y hubo 27 SD. Para evaluar el impacto sobre los PI se estableció la comparación con otro periodo consecutivo de 4 años previo a la aplicación del cribado, en los que la indicación para PI eran la edad materna y la medida de la TN: 31 de enero de 2002 al 30 de enero de 2006, con 8.182 partos y 24 SD, abarcando por tanto el estudio 17.564 gestaciones y 51 casos de SD. Cabe resaltar, por su influencia sobre la tasa de cribados, que la edad materna era de 35 o más años en el 27% de nuestras gestantes. Se precisó de consentimiento informado. Se trabajó en 2 fases, lo que requiere una logística de programación más compleja y una buena coordinación con atención primaria para una adecuada captación y cumplimiento de los tiempos para cada fase. Fijamos la 10 s. para la determinación de la bioquímica (PAPP-A y fβ-HGC) y la 12 s. para la ecografía, midiendo la TN de acuerdo con los criterios de la Fetal Medicine Foundation^{5,6}. Para la determinación de los marcadores bioquímicos se utilizó el analizador Inmulate 2000. La exploración ecográfica se realizó por ecografistas experimentados; se inició vía vaginal y se concluyó en la mayoría de los casos por vía abdominal utilizando un ecógrafo Voluson 730 expert (GE Medical Systems) o un Thosiba Xario (Thosiba Medical Systems). El cálculo de riesgo se hizo con el programa PRISCA Software 4.0, Typolog Software Ltd & Co. KG (Contractor SIEMENS Medical Solutions Diagnostics, Germany) y el nivel

de corte utilizado para ofrecer obtención de cariotipo fetal fue un riesgo estimado igual o inferior a 1/270. Los resultados se comunicaron a las gestantes al finalizar la ecografía. La obtención del cariotipo fue por biopsia corial en el 2,8% y por amniocentesis en el resto. El seguimiento de los recién nacidos se hizo a través de la sección de neonatología y de la comisión de perinatología del hospital y de la Comisión de Defectos Congénitos del Principado de Asturias, abarcando así todos los nacidos en nuestra comunidad.

Resultados

Sobre 9.032 partos en el periodo de estudio se realizaron 8382 cribados, representando una cobertura poblacional del 93%. La edad gestacional media en la realización de la bioquímica fue de 9,9 s. (objetivo: 10 s.) y de 12,3 s. para la ecografía (objetivo: 12 s.). La tasa de cribados positivos para T-21 fue del 3,8% (318/8382). Si añadimos los positivos para T-18 y negativos para T-21 (358/8382), la tasa de cribados positivos totales fue de 4,3%. Descontando los 22 verdaderos positivos para T-21, tendremos una tasa de FP para T-21 del 3,5% y descontando los verdaderos positivos para T-18, habrá una tasa del 3,8% de FP para ambas trisomías.

La media de la edad materna y la mediana son en nuestra población de 32,1 y 32,4 años respectivamente, con un 27% de gestantes de 35 o más años, lo que debe tenerse muy en cuenta a la hora de establecer las comparaciones en términos de total de cribados positivos y FP, pues ambos aumentan a medida que lo hace la edad materna (tabla 1). Debe considerarse que el grupo de gestantes de 38 o más años representa el 9,6% del total de nuestra serie y aportan el 45% del total de cribados positivos para SD. La misma proporción se encuentra para los FP, 2% hasta 38 años y 16% a partir de 38 años.

La TD de SD por cribado fue de 91% para feto único con un 3,5% de FP (tabla 2). Si se incluyen gestaciones gemelares, la TD fue del 88% (tabla 3).

En los 4 años de estudio hubo 27 casos de SD: 25 tienen cribado (22 positivo y 3 negativo) y 2 casos no tienen cribado. Tuvimos 23 interrupciones legales del embarazo: 22 cribados positivos y 1 caso no cribado tras hallazgo ecográfico de ventriculomegalia en la primera visita a la 17 s. Hubo 4 recién nacidos: 1 cribado negativo con feto sin malformaciones, 1 cribado negativo gemelar con feto sin malformaciones, 1 cribado negativo con malformaciones en eco del tercer trimestre y diagnóstico prenatal por amniocentesis que resultó en muerte intrauterina a la 38 s. y 1 caso no cribado con feto sin malformaciones.

Tabla 1 Edad materna (en el momento del cribado) y cribados + para T-21

Edad materna	Cribados 8.382	Positivos 318	VP 22	FP %
< 25	717	9	0	1,2
25-29	1787	25	1	1,3
30-34	3601	89	5	2,3
35-37	1471	53	2	3,5
> 37	806	142	14	16

FP: falsos positivos; VP: verdaderos positivos.

Tabla 2 Feto único. Tasa de detección del cribado para las diferentes cromosomopatías

T-21	21/23	91%
T-18	13/14	93%
T-13	5/5	100%
45XO	3/3	100%

La edad materna media fue de 32,1 años (mín. 15, máx. 47). En los casos de SD que participaron en el cribado, la edad materna era de 38 o más años en el 64% de las gestantes.

En los 4 años previos a la aplicación del cribado habíamos efectuado 1.406 PI, en tanto que en los 4 años tras su aplicación se hicieron 824, lo que supone un descenso del 41%. La obtención del cariotipo fue por biopsia corial en el 2,8% y por amniocentesis en el resto. El primer año de funcionamiento del cribado combinado supuso una reducción de un 22% y este impacto debe ser atribuido exclusivamente al programa. A partir del segundo año (enero de 2007) se produjo el cambio de criterio de edad materna de 35 a 38 años como indicación de PI en nuestra comunidad (fig. 1). Así, en los 4 años precibado teníamos una media de 17,1 PI por cada 100 partos, pasando en los 4 años poscribado a 9,2 y siendo de 7 por cada 100 partos en el último año (fig. 2). Para el diagnóstico de 1 caso de SD se precisaban 87,8 PI antes de la introducción del cribado, pasando a 34,3 tras su aplicación. El cambio de escenario queda reflejado en la tabla 3. Se estudian 17.564 gestaciones que contienen 51 casos de SD y observamos que en los últimos años se produce un aumento en el número de partos y en la edad materna, lo que debería generar una mayor cantidad de PI; sin embargo, estos disminuyen y lo que es más importante, la TD prenatal de SD aumenta, pasando del 71 al 89%.

En nuestro medio, las mujeres de 38 o más años pueden acogerse a PI libremente, solo con solicitarlo e independientemente de los resultados del cribado. Cuando la única indicación de PI es la edad materna avanzada, hemos comparado los 2 años previos con los 2 últimos años de la aplicación del cribado, que consideramos ya consolidado y es precisamente en este grupo donde ha sido mayor el impacto del programa: previo al cribado, el 62% de las

Tabla 3 Número de amniocentesis y detección de SD (incluye gestaciones gemelares)

	31 de enero de 2002 a 30 de enero de 2006 Precibado	31 de enero de 2006 a 30 de enero de 2010 Poscribado
N.º de partos	8.182	9.032
Edad ≥ 35 años al parto	25%	27%
N.º de AMN	1.406	824
N.º AMN/100 partos	17,2	9,2
N.º AMN/Dx 1 SD	87,8	34,3
N.º de Dx Pren de SD	17	24
RN con SD sin Dx Pren	7	3
Tasa de detección SD	71%	89%

AMN: amniocentesis; Dx: diagnóstico. Dx Pren: diagnóstico prenatal.; RN: recién nacidos; SD: síndrome de Down.

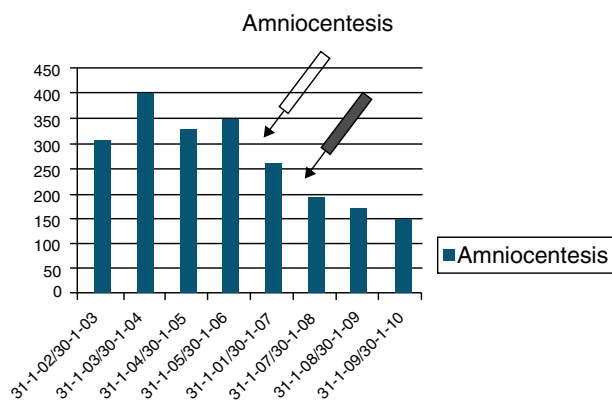


Figura 1 Número de amniocentesis en el periodo de estudio. Flecha sin relleno: inicio del programa. Flecha con relleno: indicación para prueba invasiva a partir de los 38 años.

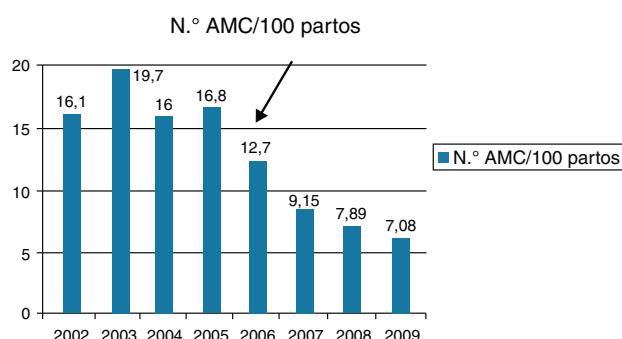


Figura 2 Número de amniocentesis por cada 100 partos. Flecha: inicio del cribado.

gestantes de 38 o más años nos solicitaban obtención del cariotipo fetal solo en razón de su edad, pasando a un 24% tras conocer los resultados del cribado (tabla 4).

Discusión

La medida de la TN debe realizarse entre la 11-13⁺⁶ s. Sabemos que se pierde sensibilidad cuanto más la retrasamos, pero no debemos olvidar que la ecografía de I trimestre tiene otros objetivos, como es la búsqueda de malformaciones de expresión precoz y es precisamente la 12 s. la que

concilia mejor ambos propósitos⁷. Es posible el análisis de la bioquímica entre la 9-13⁺⁶ s. Las diferencias en los valores de PAPP-A entre fetos trisómicos y euploides son mayores en la gestación precoz; sin embargo, para la fβ-HGC la diferencia se incrementa con la edad gestacional, aunque la importancia de esta diferencia es menor que para la PAPP-A y por ello se considera óptima la extracción de la bioquímica entre la 9-10 s. La mayoría de los grupos publican TD para SD entre el 81 y el 90% para un 5% de FP⁸⁻¹⁰ y parece que trabajando en 2 fases óptimas podrían elevarse hasta un 93-94%^{3,8,11}. Ello concordaría con nuestros resultados, en los que obtuvimos una TD de SD del 91% para 3,5% de FP (feto único) trabajando en 2 fases, con edad gestacional media de 9,9 s. y 12,3 s. para la bioquímica y la ecografía respectivamente. La TD para T-18 ha sido del 93% para 0,5% de FP, de acuerdo con el 91-100% reseñadas por diferentes autores¹²⁻¹⁴ para una tasa similar de FP, aunque llama la atención que en otras series se consiguen peores resultados, del 67% de TD para 0,4% de FP¹⁵. Nuestra tasa de cribados positivos para SD es del 3,8%, peor que la publicada en nuestro medio por Quiroga, que es del 2,9%; sin embargo, su población de 35 o más años es del 11%¹⁶. Nuestros resultados son muy parecidos a los publicados por otros autores^{15,17-19}, con medias de edad materna de 30,7 a 33 años y con TD de 80-89% para FP de 2,7-5%.

Rozenberg¹⁹ encuentra una prevalencia de SD de 3,4/1.000 gestaciones y Sood²⁰ de 2,6/1.000, muy similar a la encontrada por nosotros de 2,9/1.000 (17.564 gestaciones que contienen 51 casos de SD) y en concordancia con la del FASTER Trial de 3 casos por cada 1.000 gestaciones²¹.

El cribado combinado del primer trimestre ha sido bien acogido por médicos y gestantes, propiciando un cambio de mentalidad sobre el concepto de riesgo por edad materna como criterio único para obtener el cariotipo fetal. Esto se pone de manifiesto en la comparación de 8 años que hemos establecido (4 años previos y 4 años con cribado), reduciéndose en un 41% los PI y lo que es más importante, aumentando la TD de SD desde un 71% hasta un 89%. Pasamos de 17,1 a 9,2 PI por cada 100 partos. Müller²² en un estudio de 10 años evalúa el impacto del cribado del segundo y primer trimestre sobre los PI, pasando del 43% en 1995 al 25% en 2005. Wray²³ compara dos periodos de 1 año (con y sin cribado del primer trimestre) en gestantes de 35 o más años referidas para consejo genético y comunica una reducción del 45% en la elección de técnicas invasivas (71% vs 26%). Parece además, que esta tendencia se consolida a la baja, pues en el último año hemos pasado a 7% de PI, más cercano al 5,5% de la serie de Rozenberg¹⁹. Queda demostrado que el cribado combinado del primer trimestre contribuye a un uso más racional de los PI al tiempo que mejora la TD de SD: en los 4 años previos al cribado precisábamos de 87,8 PI para diagnosticar 1 caso de SD, en tanto que a raíz del cribado precisamos 34,3, en consonancia con la serie de Müller²², que pasaron de 86 a 40. Como habíamos publicado previamente²⁴, el impacto del cribado es más manifiesto en el grupo de edad de 38 o más años, que pudieron acogerse libremente a PI, independientemente de los resultados del cribado. En este grupo, las amniocentesis por indicación exclusiva de edad avanzada pasaron de 62% en la época precibado a 24% tras su aplicación.

Clásicamente, la ecografía de la 20 s. es considerada un filtro, una segunda oportunidad para cribado de cromosopatías, pero la introducción del cribado del primer trimestre

Tabla 4 Gestantes con edad ≥ 38 años y amniocentesis

	31 de enero de -2004 a 30 de enero de 2006 Precibado	31 de enero de 2008 a 30 de enero de 2010 Poscribado
N.º gestantes ≥ 38 años	390	572
N.º de cribados	—	517
AMN por EM ≥ 38 años	240 (62%)	140 (24%)
AMN otras indicaciones	28	71
N.º total de AMN	268 (69%)	212 (37%)

AMN: amniocentesis; EM: edad materna.

ha modificado el escenario. Si alcanzamos TD de 90% por cribado, significa que llegan muy pocos fetos con SD a la ecografía (10%), lo que obliga a replantearnos su papel y nos abre un nuevo interrogante: los fetos con SD que se escapan del cribado, ¿serán los que tendrán marcadores o malformaciones en la ecografía?, ¿o serán aquellos que se escaparán casi siempre? En este momento no hay respuesta clara. En nuestra serie, los 3 recién nacidos vivos con SD no presentaban malformaciones al igual que los 5 casos que se «escaparon» del cribado y de la ecografía en la serie de Rozenberg¹⁹. Al someter a la población a un buen método de cribado, como es el combinado, el papel del sonograma genético queda cuestionado^{25,26} y serán necesarias nuevas investigaciones en grandes series para redefinir su papel. Incluso algunos autores desaconsejan explícitamente su aplicación²⁰ por no encontrar mejorías en la TD y proponen limitarse solo al edema nuchal y a la presencia de malformaciones²⁷. En este mismo sentido se ha manifestado la guía NICE¹. No debe olvidarse que los PI conllevan riesgos. Una revisión efectuada en mi hospital sobre 1.681 amniocentesis con seguimiento hasta la 22 semana de gestación arrojaba un 0,6% de pérdidas gestacionales relacionadas con el procedimiento. Para muchos autores el beneficio del sonograma genético no solo es incierto, sino que contribuye a aumentar la ansiedad y la tasa de amniocentesis^{19,28}. Recientemente, Benacerraf²⁹ se expresaba en estos términos: «Los marcadores menores aportan solo un 4% de incremento en la TD de SD y contribuyen a aumentar en 12 veces la tasa de FP», con los procedimientos invasivos que ello conlleva.

Tampoco se acaban de incorporar con el suficiente peso los marcadores «clásicos» del primer trimestre, pese a que ya tienen cierto recorrido: ductus venoso³⁰ desde el año 1998, Hueso nasal³¹ desde el 2001 y regurgitación tricuspídea³² desde 2003. Parecía promisoriosa su incorporación al cribado del primer trimestre³³. En algunos casos, como el hueso nasal, la controversia es muy amplia, y hay autores que no le encuentran ninguna utilidad³⁴. Quizás las dificultades técnicas de obtención o de interpretación en el caso del ductus venoso y la regurgitación tricuspídea influyan en su falta de generalización³⁵. En una revisión reciente de Borrell³⁶, apunta que la asociación del cribado combinado con hueso nasal, ductus venoso o regurgitación tricuspídea puede alcanzar TD para SD del 93% para un 2,5% de FP y en el mismo sentido se pronuncia Nicolaides, señalando una TD del 96% para 2,5% de FP¹¹. Continúan las aportaciones para intentar mejorar la sensibilidad y optimizar los PI y en este sentido es interesante el trabajo de Kagan³⁷, en el que se aplican diferentes estrategias de cribado en el primer trimestre, en una política de test contingente en la que la primera evaluación está basada en diferentes marcadores ecográficos y una segunda evaluación con test bioquímicos, a la que llegarían un 20% de gestantes. Modificaría el nivel de corte de 1/300 a 1/100 según recomendaciones del National Screening Committee de Inglaterra y postula que no solo pueden incrementarse las TD hasta un 96% para un 2,6% de FP, sino que además redundaría en una racionalización de costes y una disminución de pruebas invasivas innecesarias.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. "http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/n/nicecollect/" National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance. Antenatal care: routine care for the healthy pregnant woman. National Collaborating Centre for Women's and Children's Health (UK). London: RCOG Press; 2008.
2. Bindra R, Heath V, Liao A, Spencer K, Nicolaides K. One-stop clinic for assessment of risk for trisomy 21 at 10-14 weeks: a prospective study of 15030 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2002;20:219-25.
3. Borrell A, Casals E, Fortuny A, Farre MT, Gonce A, Sanchez A, et al. First-trimester screening for trisomy 21 combining biochemistry and ultrasound at individually optimal gestation al ages. An interventional study. *Prenat Diagn.* 2004;24:541-5.
4. Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides K. A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free B human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999;13:231-7.
5. Nicolaides K, Sibire N, Snijders R. The 11-14 week scan. London: The Parthenon Publishing Group; 1999.
6. Nicolaides K. The 11-13 + 6 weeks scan. London: The Fetal Medicine Foundation; 2004.
7. Souka A, Pilalis A, Kavalakis Y, Kosmas Y, Antsaklis P, Antsaklis A. Assessment of fetal anatomy at the 11-13 week ultrasound examination. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004;24:730-4.
8. Kagan K, Wright D, Baker A, Sahota D, Nicolaides K. Screening for trisomy 21 by maternal age, fetal nuchal translucency thickness, free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31:618-24.
9. Aagaard-Tillery K, Malon F, Nyberg D, Porter F, Cuckle H, Fuchs K, et al. for the First and Second Trimester Evaluation of Risk (FASTER) Research Consortium. Role of Second-Trimester Genetic Sonography After Down Syndrome Screening *Obstet Gynecol.* 2009;114:1189-96.
10. Borrell A, Robinson J, Santolaya-Forgas J. Report on the 11- to 13⁺ week ultrasound evaluation as a screening test for trisomy 21 in singleton pregnancies. *Am J Perinatol.* 2009;26:703-10.
11. Nicolaides K. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn.* 2011;31:7-15.
12. Spencer K, Spencer C, Power M, Moakes A, Nicolaides K. One stop clinic for assessment of risk for fetal anomalies: a report of the first year of prospective screening for chromosomal anomalies in the first trimester. *BJOG.* 2000;107:1271-5.
13. Krantz D, Hallahan T, Orlandi F, Buchanan P, Larsen J, Macri J. First trimester Down syndrome screening using dried blood biochemistry and nuchal translucency. *Obstet Gynecol.* 2000;96:207-13.
14. Wapner R, Thom E, Simpson JL, Pergament E, Silver R, Filkins K, et al. First-trimester screening for trisomies 21 and 18. *N Engl J Med.* 2003;349:1405-13.
15. Jaques A, Halliday J, Francis I, Bonacquisti L, Forbes R, Cronin A, et al. Follow up and evaluation of the Victorian first-trimester combined screening programme for Down syndrome and trisomy 18. *BJOG.* 2007;114:812-8.
16. Quiroga R, Perales A, Oriola A, Orellana C, Roselló M. Cribado de trisomía 21 en el primer trimestre mediante el test combinado. Valoración de su efectividad. *Progr Diag Trat Prenat.* 2007;19:54-8.
17. Sahota D, Leung T, Chan L, Law L, Fung T, Chen M, et al. Comparison of first-trimester contingent screening strategies for Down syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010;35:286-91.
18. Sabriá J, Barceló-Vidal C, Arigita M, Jimenez JM, Puerto B, Borrell A. The CUSUM test applied in prospective nuchal translucency quality review. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011;37:582-7.

19. Rozenberg P, Bussi eres L, Chevret S, Bernard JP, Malagrida L, Cuckle H. Screening for Down syndrome using first-trimester combined screening followed by second-trimester ultrasound examination in an unselected population. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;195:1379–87.
20. Sood M, Rochelson B, Krantz D, Ravens R, Tam Tam H, Vohra N, et al. Are second-trimester minor sonographic markers for Down syndrome useful in patients who have undergone first-trimester combined screening? *Am J Obstet Gynecol*. 2010;203:408e1–4e.
21. Malone FD, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski R, et al. First- and Second-Trimester Evaluation of Risk (FASTER) Research Consortium. First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. *N Engl J Med*. 2005;353:2001–11.
22. Muller PR, Cocciolone R, Haan EA, Wilkinson C, Sage L, Bird R, et al. Trends in state/population-based Down syndrome screening and invasive prenatal testing with the introduction of first trimester combined Down syndrome screening, South Australia, 1995–2005. *Am J Obstet Gynecol*. 2007;196:315e1–7e.
23. Wray AM, Ghidini A, Alvis C, Hodor J, Landy HL, Poggi SH. The impact of first-trimester screening on AMA patients' uptake of invasive testing. *Prenat Diagn*. 2005;25:350–3.
24. Arenas Ramírez J, Fernandez Castro C, Dupl  Paragues B, Otero Chouza MT, Castillo Nuñez M, López Ca al P, et al. Impacto de la Introducción en el primer trimestre del cribado combinado de trisom a 21 en la tasa de procedimientos invasivos. *Prog Obstet Ginecol*. 2009;52:320–6.
25. Lau ST, Evans MI. Second-trimester sonographic soft markers: what can we learn from the experience of first-trimester nuchal translucency screening? *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008;32:123–5.
26. Benacerraf B. The history of the second-trimester sonographic markers for detecting fetal Down syndrome, and their current role in obstetric practice. *Prenat Diagn*. 2010;30:644–52.
27. Smith-Bindman R. Second trimester prenatal ultrasound for the detection of pregnancies at increased risk of Down syndrome. *Prenat Diagn*. 2007;27:535–44.
28. Lauria M, Branch MD, LaCroix VH, Harris RD, Baker ER. J Clinical Impact of systematic genetic sonogram screening in a low risk population. *Reprod Med*. 2007;52:359–64.
29. Benacerraf B. What Does the Patient Really Have to Know About the Presence of Minor Markers on the Second-Trimester Sonogram? *J Ultrasound Med*. 2010;29:509–12.
30. Matias A, Gomes C, Flack N, Montenegro N, Nicolaides K. Screening for chromosomal abnormalities at 10–14 weeks: the role of ductus venosus blood flow. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1998;12:380–4.
31. Cicero S, Curcio P, Papageorgiou A, Sonek J, Nicolaides K. Absence of nasal bone in fetuses with trisomy 21 at 11–14 weeks of gestation: an observational study. *Lancet*. 2001;358:1665–7.
32. Huggon IC, De Figueiredo DB, Allan LD. Tricuspid regurgitation in the diagnosis of chromosomal anomalies in the fetus at 11–14 weeks of gestation. *Heart*. 2003;89:1071–3.
33. Nicolaides K. Screening for chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003;21:313–21.
34. Ramos-Corpas D, Santiago JC, Montoya F. Ultrasonographic evaluation of fetal nasal bone in a low-risk population at 11–13 + 6 gestational weeks. *Prenat Diagn*. 2006;26:112–7.
35. Borrell A. Promises and pitfalls of first trimester sonographic markers in the detection of fetal aneuploidy. *Prenat Diagn*. 2009;29:62–8.
36. Borrell A, Robinson J, Santolaya-Forgas J. Report on the 11 to 13⁺6 week ultrasound evaluation as a screening test for trisomy 21 in singleton pregnancies. *Am J Perinatol*. 2009;26:703–10.
37. Kagan K, Staboulidou I, Cruz J, Wright D, Nicolaides K. Two-stage first-trimester screening for trisomy 21 by ultrasound assessment and biochemical testing. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010;36:542–7.