

# 1

## 早期妊娠染色體異常的診斷

1866 年，Langdon Down 發現 21 三體症病者的皮膚缺乏彈性及過厚，鼻細而且面部扁平，其後此病症亦以他命名。今天，借助不斷進步的超聲技術，我們已能夠在 3 個月大的胎兒觀察到這些特徵了。

21 三體症胎兒中，約 75% 的胎兒的頸項透明層（nuchal translucency, NT）會出現增厚，而 65-70% 的胎兒的鼻骨則無法觀察得到（圖 1 及圖 2）。

### 染色體異常的診斷

#### 入侵性診斷

##### *羊膜腔穿刺*

目前只有一項隨機對照研究檢查了羊膜腔穿刺的流產風險。在這項研究中，共 4,606 名低風險健康婦女（年齡介乎 25-34 歲）在孕 14-20 週被隨機分配接受羊膜腔穿刺或超聲檢查（Tabor et al 1986）。接受羊膜腔穿刺之孕婦的胎兒流失率較後者高出 1%。研究又指出，羊膜腔穿刺與新生兒呼吸窘迫綜合症及肺炎的風險增加有關。隨機研究亦證明早期羊膜腔穿刺（10-14 週），相比絨毛取樣或中期羊膜腔穿刺，胎兒流失率高出 2%、馬蹄內翻足發病率亦高出 1.6%。

##### *絨毛取樣*

隨機研究證明，在孕 11-14 週進行經腹絨毛取樣，胎兒流失率與在中期妊娠進行羊膜腔穿刺相同。致於經陰道絨毛取樣的胎兒流失率

是否較高，目前尚有爭議。在一些富有超聲引導入侵技術經驗的中心，其羊膜腔穿刺與絨毛取樣（不論途徑）的風險很可能是相同的。



圖 1：胎兒頸後出現皮下積水（感謝 University of Amsterdam Dr Eva Pajkrt 提供圖片。）



圖 2：21 三體胎在 12 週之聲像圖，顯示 NT 增厚及缺乏鼻骨。

可是，在 10 週前進行絨毛取樣，與胎兒患有橫向截肢缺陷（transverse limb reduction）、下頷過小及舌頭過小是相關的。因此，絨毛取樣必須在 11 週後方可進行，且須由受過適當訓練的人員負責。

### 入侵性診斷

- 胎兒染色體異常的診斷，需要使用入侵性測試進行。
- 在早期妊娠進行絨毛取樣的流產風險，與在中期妊娠進行羊膜腔穿刺相同。
- 羊膜腔穿刺不應在 15 週前進行。
- 絨毛取樣不應在 11 週前進行。
- 入侵性測試必須由受過適當訓練及有經驗的人員進行。

### 非入侵性診斷

#### *孕婦血液內的胎兒細胞*

在過去 30 年間，大量的研究致力於透過分離及檢驗孕婦血液內的胎兒細胞，發展一種非入侵性產前診斷方法。在孕婦的血液中，每  $10^3$ - $10^7$  個核細胞只有一個是胎兒細胞。透過磁性活化細胞分類法（magnetic activated cell sorting, MACS）及螢光活化細胞分類法（fluorescence activated cell sorting, FACS）等技術，將磁性標記或螢光抗體貼於胎兒細胞表面的特異標記上，胎兒細胞的比率可濃縮至 1/10-100。縱使如此，這比率仍不足以用作傳統細胞遺傳學分析（cytogenetic analysis）。然而，透過利用染色體特異DNA探針及螢光原位雜交法（fluorescent in situ hybridization, FISH），我們仍可觀察母血樣本中的胎兒細胞有否出現三訊號核（three-signal nuclei），從而發現可疑的三體症。

鑒於技術的限制，母血胎兒細胞的檢驗可能適用作產前染色體異常風險評估，還未能作為非入侵性產前診斷。然而，這種技術的敏感度與血清篩查相若，但所費的人力多，技術也繁複，濃縮胎兒細胞的技術仍有待改進，加上如何發展為自動化系統以便同步分析大量

樣本等問題還待解決。相比起來，血清篩查用於大規模人群篩查則優勝很多了。

### 孕婦血漿中的游離胎兒 DNA

近期的研究重點已轉移到孕婦血漿中的游離胎兒 DNA (cell-free fetal DNA)，以及利用實時定量 PCR 在男胎妊娠中量化母血中胎兒 DNA。有關 21 三體妊娠中游離胎兒 DNA 的含量，目前仍有相矛盾的證據：一些研究報導其含量升高，而另一些則指與染色體正常妊娠無異。游離胎兒 DNA 能否成爲 21 三體症篩查的另一個母體血清標記，尚有待觀察。

#### 非入侵性診斷

- 檢驗孕婦血中的胎兒細胞，可能較適用作產前染色體異常風險評估，還未能作爲非入侵性產前診斷。
- 有關 21 三體妊娠中游離胎兒 DNA 的含量，目前仍有相矛盾的證據。

## 染色體異常的篩查

在 21 三體症的產前篩查中，「篩查陽性比率」(screen positive rate) 與「入侵性測試率」(invasive testing rate) 兩詞在臨牀應用上是相通的，因爲大部分篩查測試呈陽性的婦女都會接受入侵式測試。「篩查陽性比率」亦與「假陽性率」(false positive rate)相通，因爲這些婦女中，絕大部分的胎兒都是正常的。

### 以孕婦年齡作篩查

21 三體症的首個篩查在 1970 年代首度推行，開始時是建基於 21 三體症與高齡孕婦的相關性上。由於羊膜腔穿刺有一定的流產風險，再加上財政開支的考慮，並非所有孕婦均獲得產前診斷的機會。因此，羊膜腔穿刺最初只爲年過 40 歲的婦女提供。當羊膜腔穿刺漸漸變得普遍及較「安全」時，「高危」孕婦便重新介定義年過 35 歲的婦女。在當時，這個「高危」組別佔所有孕婦的 5%。

於是在過去的 30 年，漸漸形成了兩項刻板的規條。其一是把「高危」的界線定為「35 歲或以上」或其等同的風險值，這於擁有私家醫療制度的國家尤甚。但由於孕婦年齡在大多數已發展國家經已上升，這項規條令篩查陽性比率提升至 15% 以上。其二是把「篩查陽性比率」或「入侵性測試率」設定為 5%，這於擁有國家醫療制度的地方尤甚。由於那些地方 38 歲或以上的孕婦約佔總妊娠的 5%，故入侵性測試的臨界年齡便由 35 歲上調至 38 歲。這類別孕婦中的 21 三體妊娠佔總 21 三體妊娠的 30%。

### 中孕期血清生化篩查

1980 年代後期推出了一種新的篩查方法，不單考慮了孕婦年齡，還加入了孕婦血液中多種胎兒及胎盤生物質在計算內。在孕 16 週，21 三體妊娠的母血清甲胎蛋白 ( $\alpha$ -fetoprotein, AFP)、游離雌三醇 (unconjugated estriol, uE3)、總及游離 $\beta$ 絨毛膜促性腺激素 (total and free- human chorionic gonadotropin, hCG) 及抑制素 A (inhibin-A) 的含量，與正常妊娠有足夠差異。若將部分或全部數據結合，可以用作篩選「高危」組別。這項篩查方法較只計算孕婦年齡更有效，在篩查陽性比率為 5% 時，能夠識別出 50-70% 的 21 三體症胎。

### 早孕期超聲掃描及血清生化綜合篩查

到了 1990 年代，醫學界首度引進了 11-13<sup>+</sup>6 週胎兒 NT 厚度配合孕婦年齡的篩查方法。現已證明，在篩查陽性比率設定為 5% 時，這方法能夠識別約 75% 的 21 三體胎。

隨後還加入了母血清游離 $\beta$ -hCG 及妊娠性血漿蛋白-A (pregnancy associated plasma protein A, PAPP-A) 生化測定，合併三方面的數據能識別 85-90% 的 21 三體胎。此外，新的生物化學測試方法的發展，使化驗結果可在抽取血液樣本後 30 分鐘內得出，令一站式風險評估診所 (one-stop clinics for assessment of risk, OSCAR) 變得可行 (圖 3)。

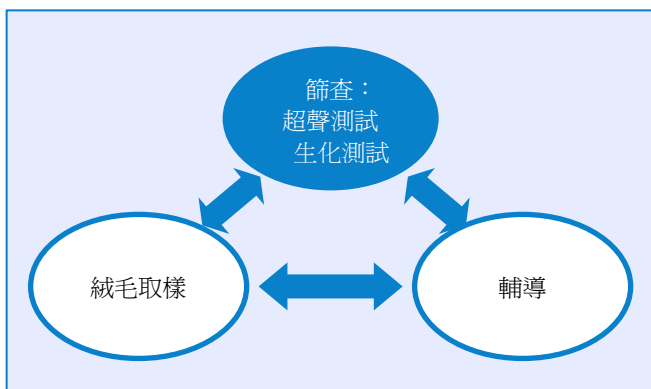


圖 3：染色體異常的風險評估，可結合孕婦年齡、11-13<sup>6</sup>週超聲之胎兒NT厚度及鼻骨，及孕婦血清中游離β-hCG及PAPP-A水平等數據計算。這項綜合篩查可以一站式的形式進行(*one-stop clinics for assessment of risk, OSCAR*)。經過輔導後，孕婦可決定是否進行絨毛取樣來作染色體核型分析。而絨毛取樣亦可在與OSCAR同一次的探訪中進行。

此外，在 2001 年醫學界發現 60-70% 的 21 三體胎的鼻骨 (nasal bone, NB) 無法在 11-13<sup>+6</sup>週的超聲掃描中觀察到。初步結果顯示，這項發現能夠令早孕期超聲掃描及血清生化綜合篩查的檢出率增至超過 95% (表 1)。

## 染色體異常的病者特異風險

每個孕婦都有懷染色體異常胎兒的風險。計算個人風險或病者特異風險 (patient-specific risk) 的方法，是把其背景或前設風險 (a priori risk) 乘以一些標記的似然比 (likelihood ratio)。前設風險取決於孕婦年齡及孕週，而標記的似然比則取決於測試該標記所得的測量值：若在染色體異常胎兒中有 X%胎兒合乎某測量值，而在正常胎兒中有 Y%合乎該測量值，則似然比是 X 除以 Y。

表 1：在假陽性率為 5%時，以不同方法篩查 21 三體症的檢出率的比較。在產前篩查中，篩查陽性比率與入侵性測試率相通，因為大部分篩查測試呈陽性的婦女都會接受入侵性測試。篩查陽性比率亦與假陽性率相通，因為這些胎兒中絕大部分都是正常的。

篩查方法	檢出率 (%)
MA	30
MA 加 15-18 週母親血清生化測試	50-70
MA加 11-13 <sup>+6</sup> 週胎兒NT	70-80
MA加 11-13 <sup>+6</sup> 週胎兒NT及母親血清游離β-hCG及PAPP-A	85-90
MA加 11-13 <sup>+6</sup> 週胎兒NT及胎兒NB	90
MA加 11-13 <sup>+6</sup> 週胎兒NT及NB及母親血清游離β-hCG及PAPP-A	95

(MA：孕婦年齡；NT：頸項透明層；NB：鼻骨；hCG：絨毛膜促性腺激素；PAPP-A：妊娠性血漿蛋白-A)

每次進行測試後，都可將前設風險乘以該測試的似然比，而所得的數值則會成為下一項測試的前設風險值，如此類推（Snijders 與 Nicolaides 1996）。這個序貫（sequential）篩查步驟，前設是不同測試間互相獨立。否則，便需使用一些牽涉到多變量統計的方法計算合併似然比。透過推行 OSCAR，序貫篩查的所有步驟都能夠在約孕 12 週時，在同一次診所探訪中進行，以決定病者特異風險。

### 序貫篩查

- 每個婦女都有懷有染色體異常胎兒的風險。
- 背景或前設風險視乎孕婦年齡及孕週而定。
- 個人的病者特異風險的計算，是將前設風險乘以一些標記的似然比而得出的；似然比取決於懷孕期間進行的篩查測試結果。
- 每次進行測試後，將前設風險乘以該測試的似然比，可計算新的風險值作為下一項測試的前設風險。

## 孕婦年齡及孕週

多種染色體異常的風險都會隨孕婦年齡上升（圖 4）。此外，由於染色體異常胎兒的宮內死亡率較正常胎兒高，因此風險會隨著孕週下降（圖 5）。

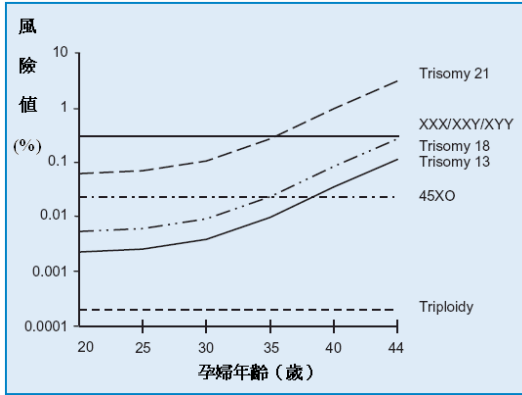


圖 4：多種染色體異常的風險與孕婦年齡的關係

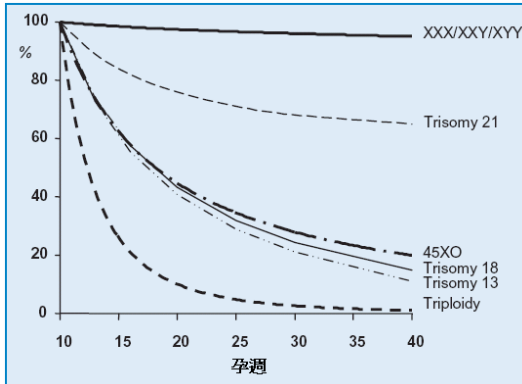


圖 5：孕週與多種染色體異常的風險值的關係。每條線均代表相對孕 10 週時的風險值

過往，21 三體嬰的孕婦年齡特異風險值（maternal age -specific risk）的估計，都是基於一些出生統計調查而得出（Hecht 與 Hook 1994），那時產前診斷還未引進在臨牀應用。及至近 15 年，由於在不同妊娠階段引進了不同型式的篩查，在計算前設風險值時，有必要確立對孕婦年齡及孕週的特異風險值（maternal age and gestational age-specific risk）（Snijders 等 1995, 1999）。透過比較 21 三體的出生率、中孕期羊膜腔穿刺及早孕期絨毛取樣的檢出率，可以推算出不同孕婦年齡及孕週的特異風險值，亦可推算出，在 12 週至 40 週間的 21 三體胎的宮內自然死亡率約為 30%，而在 16 週至 40 週間則約為 20%。

類似的方法，亦可用於估算其他染色體異常的風險上。13 三體症和 18 三體症的風險隨孕婦年齡上升、隨孕週下降；他們在 12 週至 40 週的宮內自然死亡率均約 80%（表 2）。特納氏綜合症（Turner syndrome）通常是由於父親 X 染色體的喪失所引致，因此 45,X 胚胎的受孕率亦有別於其他三體症，與孕婦年齡無關。它的發生率於 12 週時為 1/1500、20 週時為 1/3000、40 週時則為 1/4000。孕婦年齡對其他性染色體異常（47,XXX, 47,XXY 及 47,XYY）沒有顯著影響，宮內死亡率並不較染色體正常的胎兒高，故總發生率（約為 1/500）不會隨孕週下降。多倍體（polypoidy）影響約 2%的胚胎，但由於死亡率甚高，在出生嬰兒中非常罕見。其發生率在 12 及 20 週分別約為 1/2000 及 1/250 000。

#### 孕婦年齡及孕週與懷有染色體異常胎的風險的關係

- 三體症的風險隨孕婦年齡上升。
- 特納氏綜合症與多倍體的風險不受孕婦年齡影響。
- 妊娠期越早，染色體異常的風險越大。
- 21 三體症在 12 週（在進行 NT 厚度篩查時）至 40 週間的胎兒死亡率約為 30%，而在 16 週（在進行中孕期母體血清生化測試時）至 40 週間則約為 20%。
- 18 三體、13 三體及特納氏綜合症在 12 週至 40 週間的胎兒死亡率約為 80%。

表2：在21三體、18三體及13三體症中，與孕婦年齡及孕週相關的估計風險值（1表中數目）。

孕婦年齡 (歲)	21 三體 孕週				18 三體 孕週				13 三體 孕週			
	12	16	20	40	12	16	20	40	12	16	20	40
20	1068	1200	1295	1527	2484	3590	4897	18013	7826	11042	14656	42423
25	946	1062	1147	1352	2200	3179	4336	15951	6930	978	12978	37567
30	626	703	759	895	1465	2103	2869	10554	4585	6470	8587	24856
31	543	610	658	776	1263	1825	2490	9160	3980	5615	7453	21573
32	461	518	559	659	1072	1549	2114	7775	337	4766	6326	18311
33	383	430	464	547	891	1287	1755	6458	2806	3959	5254	15209
34	312	350	378	446	725	1047	1429	5256	284	3222	4277	12380
35	249	280	302	356	58	837	1142	4202	1826	2576	3419	9876
36	196	220	238	280	456	659	899	3307	1437	2027	2691	7788
37	152	171	185	218	354	512	698	2569	1116	1575	2090	6050
38	11	131	142	167	272	393	537	1974	858	1210	1606	4650
39	89	100	108	128	208	300	409	1505	654	922	1224	3544
40	68	76	82	97	157	227	310	1139	495	698	927	2683
41	51	57	62	73	118	171	233	858	373	526	698	2020
42	38	43	46	55	89	128	175	644	280	395	524	1516

## 以往胎兒染色體異常妊娠史

曾懷 21 三體妊娠的婦女，其後妊娠的 21 三體復發風險，較於測試時同齡及同孕週的婦女的風險高出 0.75%。例如，一名曾懷有 21 三體嬰的 35 歲婦女，在懷孕第 12 週時的風險便由 1/249 (0.40%) 增加至 1/87 (1.15%)；而有同樣病歷的 25 歲婦女，風險便由原來的 1/946 (0.106%) 上升至 1/117 (0.856%)。

導致風險上升的機制，可能是由於曾有三體症妊娠的伴侶中，有一小部分（少於 5%）有親本嵌合體（parental mosaicism）或某種基因缺損，影響正常的染色體分離過程，而令復發風險大大增加。在大多數的伴侶中（超過 95%），復發的風險實際上沒有上升。目前證據顯示，復發模式都具染色體特異性，因此，在大部份的復發個案中，親本嵌合體是可能的機制。

### 染色體異常復發

- 在曾懷有三體症胎兒或子女的婦女中，其後懷孕復發的風險較其前設風險高 0.75%。
- 復發模式具染色體特異性。

## 胎兒頸項透明層

在正常情形下，胎兒 NT 厚度隨孕週（頭臀長, crown-rump length）增加。在不同長度的頭臀長下所量度的每個 NT 厚度值，都代表一個不同的似然比，可將之乘以孕婦年齡及孕週相關的前設風險，以計算一個新的風險值。NT 越厚，似然比越大，新風險值亦因此越高。相反，NT 厚度越小，似然比則越小，而新風險值亦因此而越低（圖 6）。

## 鼻骨及其他早孕期超聲標記

在 21 三體胎兒中，有 60-70% 在 11-13<sup>+6</sup>週超聲中無法觀察到鼻骨，在染色體正常胎兒中則有 2%。靜脈導管血流速波（flow velocity waveform from ductus venosus）異常，可於 80% 的 21 三體胎及 5% 的染色體正常胎中觀察到。

同樣地，與染色體正常胎兒比較，其他超聲標記例如臍膨出（exomphalos）、巨大膀胱症（megacystis）及單臍動脈的發生率在某些染色體異常胎兒中較高。這些超聲標記，各自都有一個相關的似然比，可用作與前設風險相乘，計算新風險值。

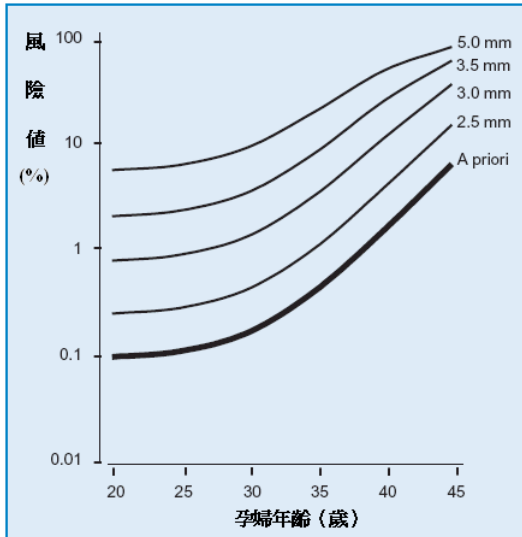


圖 6：在孕 12 週時，孕婦年齡和胎兒 NT 厚度與 21 三體症的風險值的關係。

### 早孕期母體血清生化測試

在正常情況下，母體血液中的游離 $\beta$ -hCG 水平會隨孕週下降，PAPP-A 水平則上升。在 21 三體妊娠中，游離 $\beta$ -hCG 水平比正常妊娠高，PAPP-A 水平則較低。在某孕週的每個 $\beta$ -hCG 及 PAPP-A 水平，都代表了一個似然比，可將之與前設風險相乘，以計算新風險值。游離 $\beta$ -hCG 水平越高、PAPP-A 越低，則 21 三體的風險越高（圖 7）。

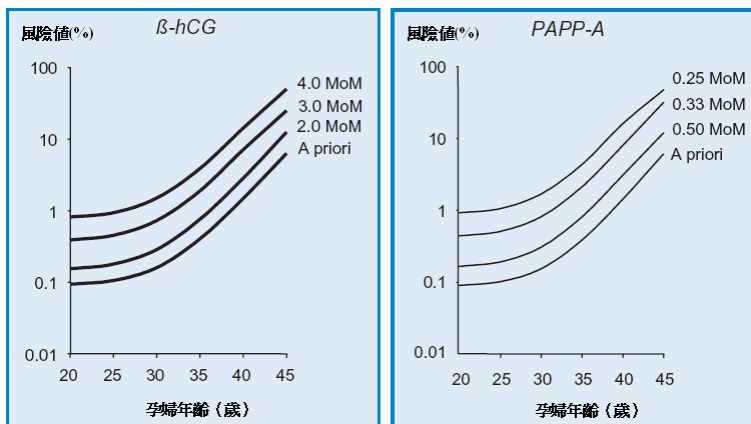


圖 7：在孕 12 週時，母體血清游離β-hCG（左）、PAPP-A（右）及孕婦年齡與 21 三體症的風險值的關係。

## 頸項透明層厚度

### 頸部水囊瘤、頸水腫及頸項透明層

在早孕期，不論頸後皮下的積水帶有否隔壁、是否局限於頸部，均一律使用「透明層」（translucency）一詞。到了中孕期，透明層通常會消退，但在少部分個案中，會變為頸水腫或水囊瘤。頸項透明層（nuchal translucency；NT）增厚與 21 三體、特納氏綜合症及其他染色體異常、以及多種畸胎及遺傳綜合症有關，但 NT 的形態則不重要。此外，唯有客觀的量度結果——而非主觀的形態——才可被標準化及審核。

在妊娠中期及晚期，胎兒頸後出現的異常積水可分為兩類：水囊瘤（cystic hygromas）和頸水腫（nuchal edema）。在出現水囊瘤的胎兒中，有 75% 屬染色體異常；當中約 95% 的異常個案屬特納氏綜合症。頸水腫有多種成因，其中約三分之一為胎兒染色體異常，而當中約 75% 的異常個案屬 21 三體症或 18 三體症。其他成因包括胎兒心血管及肺畸形、骨骼發育異常、先天性感染、代謝及血液失調等。因此，出現頸水腫而染色體正常的胎兒之預後可能不佳（參第三章）。

### 頸項透明層—定義

- 頸項透明層是指在早孕期利用超聲觀察到於胎兒頸後的皮下積水。
- 不論頸後皮下的積水有否隔壁、是否局限於頸部，均一律使用「透明層」一詞。
- 染色體及其他病變與 NT 的厚度而非形態相關。
- 到了中孕期，透明層通常會消退，但在少部分個案中，會變為頸水腫或水囊瘤。

### 頸項透明層的測量

準確測量 NT 的能力，決定於有否接受適當的訓練及謹遵標準技巧，以達致不同聲像圖師間一致的量度結果。

### 孕週與頭臀長

量度胎兒 NT 厚度的最佳孕期為 11 週至 13 週 6 天間。頭臀長應不小於 45 mm，及不大於 84 mm。

選擇 11 週作為最早量度 NT 的時間的原因有二。第一、篩查需有診斷測試跟進，但 11 週前進行絨毛取樣與橫向截肢缺陷有關。第二、很多嚴重畸形都不易在 11 週前利用掃描診斷或排除。例如顱蓋缺失 (acrania) 及無腦兒 (anencephaly)，由於 11 週前超聲無法可靠地評估胎兒頭顱的骨化，其診斷便有困難。心臟四個心房及主動脈亦只可在 10 週後觀察得到。在 8 至 10 週，所有胎兒都會出現中腸疝 (可觀察到臍帶底部出現高回聲帶 (hyperechogenic mass))，因此在這時期診斷臍膨出並不可靠。此外，在 10 週時，只有在 50% 的胎兒中可觀察到膀胱，至 11 週時有 80%，12 週則可達至 100%。

以 13 週 6 天作為上限的原因有三。第一、這可供問題胎兒的母親在早孕期而非中孕期選擇中止妊娠。第二、染色體異常的胎兒出現異常頸積水在 14 至 18 週間的發生率較 14 週前低。第三、在 10 至 13 週量度 NT 的成功率為 98-100%，至 14 週時，由於胎兒會轉動姿態，增加量度的難度，成功率下降至 90%。

## 影像及測度

在量度胎兒 NT 時，所使用的超聲儀器必須具備高解析度、影像迴轉功能、及能提供準確至 0.1 毫米量度的游標尺。經腹超聲檢查可成功量度 95% 胎兒的 NT；其餘的則需進行經陰道超聲。經腹與經陰道掃描的結果相近。

在量度 NT 時，應將影像盡可能放至最大，使影像只包括胎兒頭部及上胸（圖 8a），及令游標尺的輕微移動只會改變量度結果 0.1 mm。在進行影像放大時（不論是定格前或後），必須將補償功能調低，這能避免誤將游標尺放在線條模糊的邊界，而低估了 NT 厚度。

與量度胎兒頭臀長時一樣，量度 NT 應先取得良好的胎兒中矢切面圖，並在胎兒在自然姿勢下進行。若胎兒頸部過度伸展，可令量度高估 0.6 mm；頸部屈曲則可令量度低估 0.4 mm。

由於在這妊娠期，胎兒的皮膚與羊膜在聲像圖中均顯示為一層薄膜（圖 8a），因此必須小心分辨兩者。方法是可待胎兒因自然活動而遠離羊膜時拍攝聲像圖，或可請孕婦嘗試咳嗽及／或輕拍孕婦腹部，令胎兒彈離羊膜。

應在皮膚與頸椎上的軟組織之間距離最闊的透明地帶量度（圖 8e）。游標尺應放在定義 NT 厚度的界線上——橫標尺不應放於頸部積水上，而應放置在白線的邊界，直至兩者融合而橫標尺不易被察看到。在掃描時，應量度多於一次，並記錄多次量度中所得的最大數值。在 5-10% 的個案中，胎兒頸部會被臍帶圍繞，令 NT 的量度結果偏高。在這些情況下，臍帶上與臍帶下的 NT 厚度會不同。在計算風險時，取兩個數值的均值會較為恰當（圖 8f）。

種族、產次或孕次、吸煙、糖尿控制、透過輔助生育技術而受孕、妊娠初期出血或胎兒性別等，對 NT 的量度並無臨床相關的影響。

在 95% 的個案中，胎兒 NT 量度的觀察者自身和觀察者間誤差小於 0.5 mm。

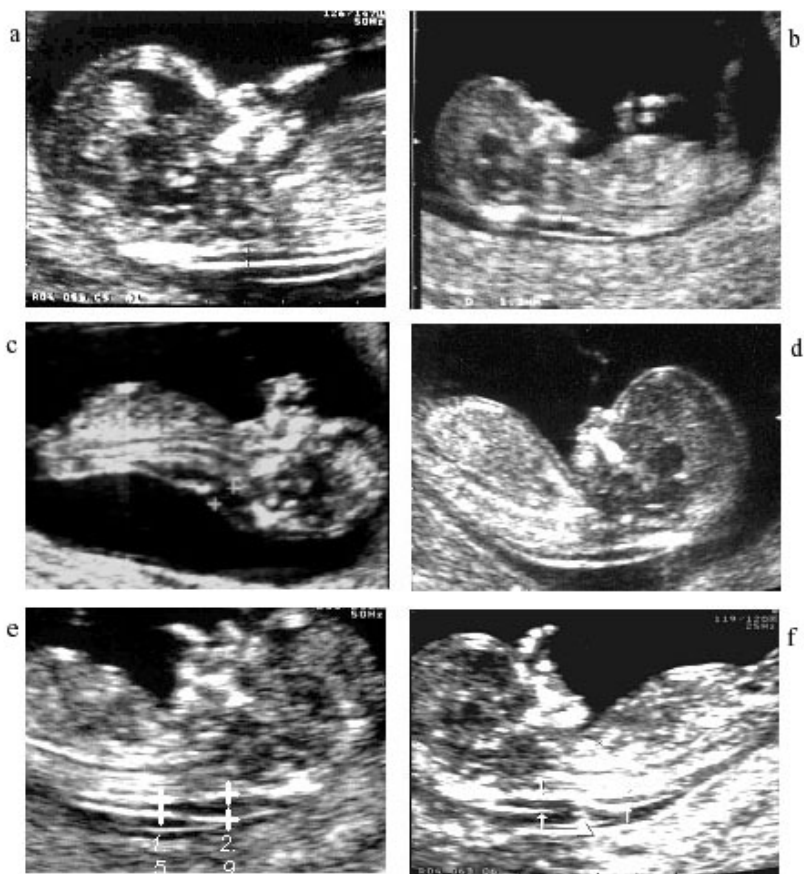


圖 8：孕 12 週之胎兒聲像圖。全部六張圖片都取得了良好的胎兒中矢切面圖。圖 (a) 由於只顯示了胎兒頭部及上胸，而且可見一層與羊膜分隔開的薄透明層，因此適合用作量度 NT。圖 (b) 中，影像放大不足，不能準確量度 NT。圖 (c) 中胎兒的頸部過度伸展，在圖 (d) 中則過度屈曲。在圖 (e) 中，應量度 NT 的最大厚度。而在圖 (f) 中，由於頸部被臍帶圍繞，應量度臍帶上及臍帶下兩段的 NT，然後以兩者的平均值用作計算風險。

## 與正常值之偏差程度

胎兒 NT 正常厚度隨頭臀長（或孕週）增加，因此在決定透明層是否過厚時，必須考慮量度時的孕週。在一項納入 96,127 名孕婦的研究中，在頭臀長為 45 mm 時，中位及 95th 百分位數分別為 1.2 及 2.1 mm；而在頭臀長為 84 mm 時，相應的數字為 1.9 及 2.7 mm（Snijders et al 1998）。

在篩查染色體異常時，病者特異風險的計算，是透過將孕婦年齡及孕週相關的前設風險，與似然比相乘而得出的。而似然比的高低，則取決於胎兒 NT 厚度與基於相同頭臀長的預期中位數的偏差程度，以 Delta-NT 代表（單位為 mm）。例如，某胎兒的頭臀長及 NT 厚度分別為 45mm 及 2mm，由於在頭臀長為 45mm 時正常 NT 中位數是 1.2mm，故 Delta-NT 為  $2 - 1.2 = 0.8\text{mm}$ （圖 9-11）。

利用 NT 厚度作篩查時，Delta-NT 能提供準確的病者特異風險（Spencer et al 2003a）。相反，經常應用在血清生化篩查的中值倍數方法（multiple of the median, MoM）在此較不適用，因為支持這個方法的三項基本假設都不成立：第一、在正常人群中，NT 的中值倍數及  $\log_{10}$ （NT MoM）並非常態分佈；第二、標準誤差（standard deviation）會隨懷孕期轉變；第三、21 三體妊娠的 NT MoM 中位數並非與正常妊娠的中位數成固定比例。在 11 週使用中值倍數，會高估了病者的三體症風險，在 13 週則會低估了風險。

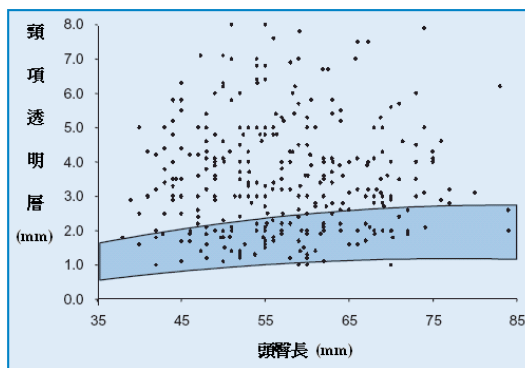


圖 9：在 326 個 21 三體胎中量度的 NT 厚度，標繪於頭臀長之正常值範圍（95th 及 5th 百分位數）表上。

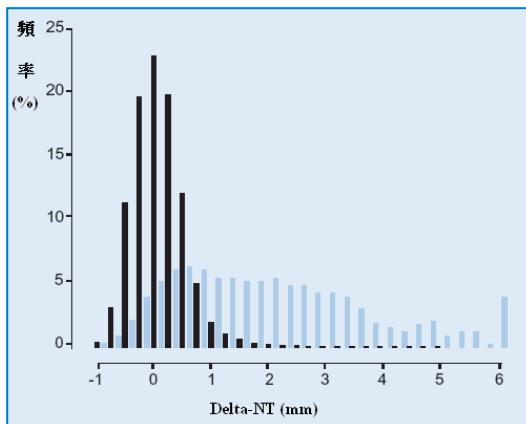


圖 10 : Delta-NT 的分佈圖，顯示 326 個 21 三體胎（白線）的 NT 偏離染色體正常胎兒（黑線）的程度。

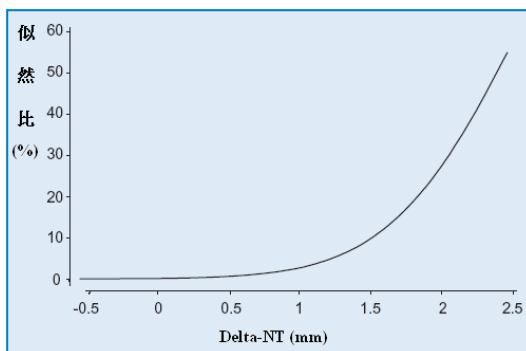


圖 11 : Delta-NT 及其相關之 21 三體似然比。

### 頸項透明層—測量

- 應於 11-13<sup>+</sup>6 週、胎兒頭臀長為 45-84 mm 時進行。
- 應取得胎兒的正中矢切面圖，並在胎兒自然姿勢時量度 NT。
- 應經常將影像放至最大，使影像只顯示胎兒頭部及上胸，及令游標尺的輕微移動只會改變量度結果 0.1 mm。
- 應在皮膚與頸椎上的軟組織之間距離最闊的透明地帶量度
- 小心分辨胎兒皮膚及羊膜。
- 游標尺應放在定義 NT 厚度的界線上——橫標尺不應放於頸部積水上，而應放置在白線的邊界，直至兩者融合而橫標尺不易被察看到。
- 在掃描時，應量度多於一次，並記錄量度所得的最大數值。

### 測量頸項透明層的培訓及品質檢定

聲像圖師的適當訓練，及對 NT 量度標準技巧的遵從，是良好臨床應用必需的先決條件。此外，篩查計劃的成功，有賴一套定期及持續評審 NT 量度水準的機制。

對胎兒掃描有經驗的聲像圖師，都已具備了準確測量頭臀長及取得合適胎兒脊椎中矢切面圖的能力，對他們而言，應能輕易在數小時內掌握量度 NT 的基本技巧。然而，量度 NT 及取得具可重複性結果的能力，亦隨經驗累積而增長。通常經過 80 次經腹掃描及 100 次經陰道掃描練習後，可達到良好的成果。經過初部的學習階段，並檢討有關量度結果的分佈及聲像圖品質過後，測量的誤差便會減小。

一些研究顯示，持續評審影像及 NT 量度分佈，對評估篩查中心 / 單位的質素是不可或缺的，亦有助識別偏離平均表現的個別聲像圖師。英國註冊慈善團體胎兒醫學基金會 (Fetal Medicine Foundation, FMF) 經已成立一套培訓及品質檢定的程序，以便適當地將 NT 篩查引入臨床應用。培訓包括 (1) 理論課、(2) 如何取得適當聲像圖並正確量度 NT 的實習指導、及 (3) 定期及持續評審，包括審

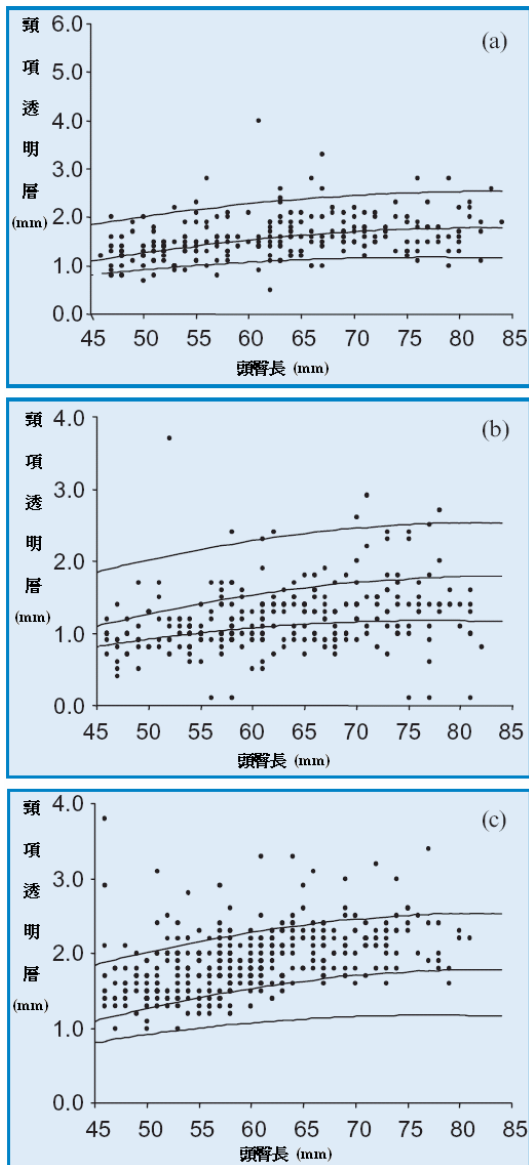


圖 12：胎兒 NT 厚度的分佈。在圖 (a) 中分佈良好，圖 (b) 的量度偏低，而圖 (c) 的量度則偏高。

核胎兒 NT 量度的分佈（圖 12），及抽聲像圖師所拍攝的聲像圖樣本。

### 頸項透明層—培訓及品質檢定

- 聲像圖師的適當訓練，及對 NT 量度標準技巧的遵從，是良好臨床常規必需的先決條件。
- 篩查計劃的成功，需要一套定期審核結果及持續評定影像品質的系統。
- 培訓基於（1）理論課、（2）如何取得合適影像並正確量度 NT 的實習指導、及（3）聲像圖評審。
- 持續的品質檢定基於評估胎兒 NT 量度的分佈，及抽查每個參與篩查的聲像圖師所拍攝的影像樣本。

### 頸項透明層厚度及染色體異常風險

在 1992 年的一項研究中，研究員在進行絨毛取樣以作胎兒核型分析前，先量度了胎兒 NT 厚度。研究發現，在大部分有染色體異常胎兒中，其 NT 出現增厚現象（Nicolaidis et al 1992）。這個相關性在後來的數項研究中得到了證實。合併了 17 項研究資料，發現共 1,690 名 NT 異常增厚的個案中，其染色體異常的發生率為 29%（Nicolaidis 2004）。但由於不同研究中孕婦年齡分佈有差異，及採用 NT 異常的定義不同（由 2mm 至 10mm），因此不同研究間的染色體異常發生率差異甚大（由 11%至 88%不等）。

到了 1990 年代中期，數項研究進一步證明了三點：第一、在正常妊娠中，胎兒 NT 隨孕週增厚。第二、在 21 三體及其他嚴重染色體異常胎兒中，NT 出現增厚。第三、三體症的風險，可以透過將孕婦年齡與孕週相關的前設風險乘以似然比計算得出，而這個似然比取決於胎兒 NT 厚度與相同頭臀長的預期正中位數的偏差程度（Delta-NT；Nicolaidis et al 1994, Pandya et al 1995）。

據估計，在孕婦年齡平均為 28 歲的懷孕人群中，若以 1/300 的風險值作為 21 三體胎篩查的臨界值，則假陽性率為 5%，檢出率約 80%。

### 頸項透明層——計算病者特異風險

- 三體症的風險，是透過將孕婦年齡與孕週相關前設風險，乘以 NT 的似然比計算得出的。
- NT 的似然比，取決於胎兒 NT 厚度與相同頭臀長的預期正中位數的偏差程度(Delta-NT)。

### 常規頸項透明層篩查之實行

其後，一些前瞻性國際研究調查利用 NT 作常規篩查的實行 (Nicolaidis 2004)，部分研究採用了固定的胎兒 NT 臨界值、部分則採用合併孕婦年齡及胎兒 Delta-NT 計算的風險值，作為篩查陽性組的定義。這些研究的重要發現如下：首先，量度胎兒 NT 的成功率超過 99%。其次，由於受試人群的年齡分佈不同，及採用了不同的胎兒 NT 或風險值為臨界值，研究互相之間無可避免地出現假陽性率及檢出率的差異。最後，在納入超過 200,000 名孕婦、包括超過 900 個 21 三體胎的合併數據中，若假陽性率為 5%，胎兒 NT 可篩查出超過 75% 有 21 三體及其他嚴重染色體異常的胎兒；而當假陽性率為 1% 時，檢出率為 60% (Nicolaidis 2004)。

在一項由 FMF 協調、目前最大型的研究中 (包括英國 22 個中心和 306 名具合適資格的聲像圖師)，共 100,311 單胎懷孕婦女接受了超聲掃描篩查，量度了胎兒 NT 及頭臀長 (Snijders et al 1998)。基於孕婦年齡、孕週及 Delta-NT 計算了病者特異風險。在 96,127 個個案隨訪中，共發現 326 個 21 三體胎及 325 個其他染色體異常胎兒 (表 3)。篩查時的孕週中位數為 12 週 (範圍：10-14 週)，孕婦中位年齡為 31 歲。若以 1/300 或以上為篩查陽性的臨界值，則假陽性率為 8%，21 三體胎檢出率為 82%，其他染色體異常的檢出率為 78%。

### 宮內自然死亡的問題

在早孕期而非中孕期進行染色體異常篩查的好處，包括可更早地作出產前診斷，而且若選擇中止妊娠，可將其創傷減低。但有一個可能的缺點，是較早篩查會選擇性地優先識別註定會自然流產的染色體異常胎。約 30% 的 21 三體胎會在 12 週至足月間死亡。當然，這

表 3：由胎兒醫學基金會協調的多中心研究。NT 厚度高於 95th 百分位數，及 21 三體風險值於等或高於 1/300 的妊娠數目(風險基於孕婦年齡、胎兒 NT 及頭臀長估計) (Snijders et al 1998)。

胎兒核型	例數	NT >95th 百分位數	風險值≥1/300
正常	95,476	4,209 (4.4%)	7,907 (8.3%)
21 三體	326	234 (71.2%)	258 (82.2%)
18 三體	119	89 (74.8%)	97 (81.5%)
13 三體	46	33 (71.7%)	37 (80.4%)
特納氏綜合症	54	47 (87.0%)	48 (88.9%)
三倍體	32	19 (59.4%)	20 (62.5%)
其他*	64	41 (64.1%)	51 (79.7%)
合共	96,127	4,767 (5.0%)	8,428 (8.8%)

\*缺失(deletion)、部分三體 (partial trisomies)、不平衡易位 (unbalanced translocations)、性染色體非整倍體 (sex chromosome aneuploidies)

個可能缺點同樣會存在於所有產前篩查中，包括中孕期母體血清生化篩查，原因是在 16 週至足月間的宮內死亡率約為 20%。

我們無法從產前篩查研究中得知被正確診斷 21 三體及中止妊娠的個案中，有多少是實際可出生之活嬰。然而，我們可以估計產前篩查對 21 三體嬰出生率的影響。這可透過比較實際出生的問題嬰兒數目，與基於篩查人群的年齡分佈及其年齡所估計的 21 三體出生率得出。根據一項 FMF 研究的資料估計 (Snijders et al 1998)，若產前篩查伴隨入侵性診斷測試及選擇性中止問題妊娠，21 三體出生率可能可減少 78-82%。(該項研究乃合併孕婦年齡及胎兒 NT 的篩查研究，臨界風險設定為 1/300 時，假陽性率為 8%、檢出率為 82%)。

#### 頸項透明層—21 三體症篩查的效益

- 一項納入超過 200,000 名孕婦、包括超過 900 個 21 三體胎的前瞻性研究中，胎兒 NT 可篩查出超過 75%有 21 三體症及其他嚴重染色體異常的胎兒，假陽性率為 5%。
- NT 增厚所識別的三體胎，並不一定會在子宮內死亡。
- 從早孕期 NT 篩查中確診的 21 三體胎，只有小部份會註定自然流產。

## 測量 NT 的成功率

準確地量度 NT 的能力，有賴適當的訓練、標準技巧的遵守及聲像圖師的積極性。這三方面，都可從量度 NT 的動機是否作介入性研究或純觀察性質之間的差異得知；後者只要求聲像圖師記錄胎兒 NT 厚度，而無須就結果採取任何行動 (Nicolaides 2004)。在介入性研究中，成功量度 NT 的個案都超過 99%，而在觀察性研究中僅為 75%。此外，在介入性研究中，76.8% 的 21 三體胎及 4.2% 的染色體正常胎兒錄得 NT 增厚，而在觀察性研究中，這些數值則分別為 38.4% 及 5.0%。

在那些觀察性研究中，掃描很多時被安排在不適當的孕週進行、及由沒有足夠訓練或欠缺量度 NT 積極性的聲像圖師負責。例如在其中一項研究中，聲像圖師受指示，不要花超過量度頭臀長所需的時間進行掃描，故這項研究只有 66% 的個案成功量得胎兒 NT (Roberts et al 1995)。在另一項研究中，54% 的胎兒頭臀長小於 33 mm；研究要求聲像圖師於三分鐘內量度胎兒 NT，結果有 42% 的個案不成功 (Kornman et al 1996)。另一項研究進一步彰顯了這些執行上的問題：研究為 47,053 個單胎孕婦在孕 6-16 週間進行掃描 (Wald et al 2003a)，結果發現，由於孕週不適合、聲像圖師不能成功量度、或所取得影像無一合乎品質要求，導致有 23% 的個案沒有可靠的 NT 厚度數據。

Crossley et al (2002) 提供了觀察性研究與介入性研究間差異的進一步證據。在這項研究的首階段，在 17,229 名孕婦中，有 73% 的個案成功錄得胎兒 NT。在次階段，孕婦會獲發掃描照片，在 2,000 名孕婦中，成功錄得胎兒 NT 的個案達 99.8%。

## 頸項透明層及母體血清生化測驗

三體症妊娠與母體血清多種胎兒胎盤生物質含量改變相關，包括甲胎蛋白、游離 $\beta$ -hCG、游離雌三醇 (unconjugated estriol, uE3) 抑制素 A 及 PAPP-A。在中孕期利用孕婦年齡以及游離 $\beta$ -hCG、甲胎蛋白、uE3 及抑制素 A 等不同組合進行篩查，可在假陽性率為 5% 時，識別 50-75% 的 21 三體症妊娠。早孕期以孕婦年齡結合血清游離 $\beta$ -hCG 及 PAPP-A，可在假陽性率為 5% 時識別 60% 的三體症妊

娠。然而，生化篩查中一個必備的條件，是以超聲準確計算孕期，否則檢出率會減低約 10%。

在使用母體血清生化篩查時，衡量某生化標記的水平是否偏高或偏低，會採用中值倍數方法（multiple of the median, MoM），就是把該生化標記的血清含量轉換成正常妊娠的相同孕週的中值倍數，再以 $\log_{10}$ （MoM）表達。21 三體及正常妊娠的 $\log_{10}$ （MoM）均是高斯（Gaussian）常態分佈，故可用似然比調整孕婦年齡相關前設風險，以得出病者特異風險。

### **早孕期胎兒 NT 及母體血清測試綜合篩查**

在孕 12 週時，21 三體胎母親血清中的游離 $\beta$ -hCG 含量較懷染色體正常胎兒的母親為高（約 2 MoM），而 PAPP-A 則較低（約 0.5 MoM）。正常胎兒與 21 三體胎之間的母體血清游離 $\beta$ -hCG 的差異，會隨孕週拉遠，而 PAPP-A 的差異則會收窄。在製作風險演算表時，應考慮到標記水平隨孕週的變化，以及它們與母親體重的關係，以算出準確的病者特異風險。

由於不論在 21 三體或染色體正常的妊娠中，胎兒 NT 與母體血清游離 $\beta$ -hCG 或 PAPP-A 均無顯著相關性，因此可以合併 NT 與這兩個生化標記，以提供比單獨使用其一更有效的篩查（Spencer et al 1999）。已有六項篩查研究證實了綜合篩查的可行性及效果。共納入 38,804 名孕婦、包括 182 個 21 三體胎的合併數據顯示，在假陽性率為 5%時，21 三體症的檢出率為 86.3%（Nicolaides 2004）。

母體血清游離 $\beta$ -hCG 及 PAPP-A 在 18 及 13 三體妊娠中較低。在性染色體變異的個案中，母體血清游離 $\beta$ -hCG 水平正常，而 PAPP-A 則偏低。在雙雄受精而成的三倍體症中，母體血清游離 $\beta$ -hCG 大大上升，而 PAPP-A 則輕微下降。雙雌受精的三倍體症則與母體血清游離 $\beta$ -hCG 及 PAPP-A 顯著上升相關。利用胎兒 NT 合併母體血清 PAPP-A 及游離 $\beta$ -hCG 作篩查，可在篩查陽性率為 1%時，檢出上述染色體異常的 90%個案。

生化分析的一項重要發展，是一種採用「時間分辨擴增穴狀化合物釋放」（time-resolved-amplified-cryptate-emission）之「隨機存取免疫分析測定儀」（random access immunoassay analyzer）的推出。

這種新技術能在血樣收集後 30 分鐘內提供準確且具可重複性的量度結果。這種技術的出現，實現了將生化測試、超聲測試以及輔導以站式推行（OSCAR）的理想（Bindra et al 2002, Spencer et al 2003b）。

### **早孕期胎兒 NT 及中孕期母體血清合併測試**

婦女在早孕期 NT 篩查後再接受中孕期生化測試時，其前設風險須就早孕期篩查的結果作出調整。結合早孕期胎兒 NT 及中孕期母體血清生化測試的前瞻性篩查研究報導指，在假陽性率為 5%時，21 三體的檢出率（85-90%）與在早孕期綜合篩查相若（Nicolaidis 2004）。

### **早孕期與中孕期複合篩查**

據一個結合早孕期胎兒 NT 及母體血清 PAPP-A、與中孕期游離β-hCG、uE3 及抑制素 A 的統計模型估計，在假陽性率為 5%時，21 三體的檢出率可達 94%（Wald et al 1999）。這項測試假設了孕婦的完全依從性：第一、她們會參與相距一個月的雙階段測試；第二、她們會同意接受超聲掃描，但不獲通知有關胎兒是否正常的資料；第三、她們會同意在中孕期而非早孕期接受診斷及中止妊娠。因此，即使這個假設測試的結果可以在前瞻性研究中實現，亦難以得到廣泛的臨床應用。

一項對早孕期及中孕期 21 三體複合篩查進行的多中心觀察性研究（SURUSS, Wald et al 2003a），突顯了複合篩查在執行上的困難。研究的目的是，在早孕期取得胎兒 NT 厚度，並在早孕期及中孕期收集母體血清及尿液樣本。介入治療是基於中孕期血清結果及所有其他數據的回顧性分析。然而，在全部納入的 47,053 名婦女中，只有 60%完成研究的所有部分。在這項研究中，共有 101 個 21 三體胎，但當中只有 75 個個案取得符合要求的 NT 影像。利用這些數據得出的統計模型估計，當假陽性率為 5%時，93%的 21 三體胎可能被複合篩查檢出。然而，這個模型很可能並不準確。例如，當假陽性率為 5%時，使用其中兩個生化標記作篩查的預計檢出率為 71%、三個為 77%、四個為 83%；這些檢出率大大高於同一作者在其前瞻性研究所報導的 61%、66%及 75%（Wald et al 2003b）。

美國有一項同類型研究（FASTER 研究），共納入 33,557 名具早孕期及中孕期完整數據的孕婦、包括 84 個 21 三體個案（Malone et al 2004）。據估計，當假陽性率為 5.4%時，90%的 21 三體胎可被檢出。前瞻性研究顯示，同樣的結果可透過在早孕期篩查胎兒 NT 及母體血清游離 $\beta$ -hCG 及 PAPP-A 成功取得（Bindra et al 2002, Spencer et al 2003b）。

因此，在實行篩查時，首要是確保篩查工具——超聲掃描及生化測量合乎高水準，而非過度追求一個不設實際的統計模型，以致延遲了產前診斷至中孕期。

#### 頸項透明層及血清生化篩查

- 在孕 11-13<sup>+</sup>6週時，21 三體胎母親血清中的游離 $\beta$ -hCG水平較懷正常胎兒的母親為高（約 2 MoM），而PAPP-A則較低（約 0.5 MoM）。
- 由於不論在 21 三體或染色體正常的妊娠中，胎兒 NT 與母體血清游離 $\beta$ -hCG 或 PAPP-A 均無顯著相關性，因此超聲與生化檢驗可以合併，以提供比單獨使用一項更有效的篩查。
- 在超過 50,000 名孕婦，包括超過 250 個 21 三體胎中進行的前瞻性研究顯示，合併胎兒 NT 及早孕期或中孕期母體血清生化測試作篩查，可在假陽性率為 5%時，識別 85-90%的 21 三體胎。
- 母體血清游離 $\beta$ -hCG 及 PAPP-A 水平在 18 及 13 三體妊娠中較低。在性染色體變異的個案中，母體血清游離 $\beta$ -hCG 水平正常，而 PAPP-A 則偏低。在雙雄受精而成的三倍體症中，母體血清游離 $\beta$ -hCG 大大上升，而 PAPP-A 則輕微下降。雙雌受精的三倍體症則與母體血清游離 $\beta$ -hCG 及 PAPP-A 顯著上升相關。利用胎兒 NT 合併母體血清 PAPP-A 及游離 $\beta$ -hCG 作篩查，可在篩查陽性率為 1%時，檢出上述染色體異常的 90%個案。

## 婦女對早孕期及中孕期篩查的態度

調查孕婦對篩查方法之態度的研究報導指出，絕大多數孕婦都較希望在早孕期而非中孕期進行篩查。一些學者對 NT 篩查的批評是，這項篩查令一些懷 NT 增厚但最終會自然流產的胎兒之孕婦，不必要地面對了是否進行入侵性測試及最終是否中止妊娠的抉擇。在一項婦女態度的調查中，約 70% 的受訪者表示，即使篩查檢出的所有唐氏綜合症胎兒都會在中孕期前流產，她們都會選擇進行 NT 篩查（Mulvey 與 Wallace 2000）。不論妊娠結果如何，婦女都希望知道自己的胎兒是否曾患有唐氏綜合症；再者，若出現流產，她們亦希望得悉造成流產的原因。

### 尊重自主權的臨床重要性

對自主權的尊重，是醫療道德及法律的中心原則。這項道德原則，令醫師有義務去探究並實行病人的選擇。對自主權的尊重，與在早孕期進行篩查的關係有兩方面。第一、及早診斷胎兒異常，以及可及早中止妊娠的選擇，對很多婦女而言十分重要。第二，若風險不高，很多婦女都希望不必接受入侵性測試，而大部份的早孕期篩查，都能為這些婦女提供安心保證。因此，在早孕期提供高質素的篩查服務，便大大增加了孕婦的自主權（Chasen et al 2001）。

#### 婦女的選擇

- 絕大多數孕婦都較希望在早孕期而非中孕期進行篩查。

## 參考文獻

Bindra R, Heath V, Liao A, Spencer K, Nicolaides KH. One stop clinic for assessment of risk for trisomy 21 at 11-14 weeks: A prospective study of 15,030 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002;20:219-25.

Chasen ST, Skupski DW, McCullough LB, Chervenak FA. Prenatal informed consent for sonogram: the time for first-trimester nuchal translucency has come. *J Ultrasound Med.* 2001;20:1147-52.

Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, McBride E, Connor JM. Combined ultrasound and biochemical screening for Down's syndrome in the first trimester: a Scottish multicentre study. *BJOG* 2002;109:667-76.

Down LJ. Observations on an ethnic classification of idiots. *Clin Lectures and Reports, London Hospital* 1866;3:259-62.

Hecht CA, Hook EB. The imprecision in rates of Down syndrome by 1-year maternal age intervals: a critical analysis of rates used in biochemical screening. *Prenat Diagn* 1994;14:729-38.

Kornman LH, Morssink LP, Beekhuis JR, DeWolf BTHM, Heringa MP, Mantingh A. Nuchal translucency cannot be used as a screening test for chromosomal abnormalities in the first trimester of pregnancy in a routine ultrasound practice. *Prenat Diagn* 1996;16:797-805.

Malone FD, Wald NJ, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski R, et al. First- and second-trimester evaluation of risk (FASTER) trial: principal results of the NICHD multicenter Down syndrome screening study. *SMFM 2004, Abstract 1.*

Mulvey S, Wallace EM. Women's knowledge of and attitudes to first and second trimester screening for Down's syndrome. *BJOG* 2000;107:1302-5.

Nicolaides KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *BMJ* 1992;304:867-89.

Nicolaides KH, Brizot ML, Snijders RJM. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for fetal trizomy in the first trimester of pregnancy. *BJOG* 1994;101:782-6.

Nicolaides KH. Nuchal translucency and other first-trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:45-67.

Pandya PP, Snijders RJM, Johnson SJ, Brizot M, Nicolaides KH. Screening for fetal trisomies by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10 to 14 weeks of gestation. *BJOG* 1995;102:957-62.

Roberts LJ, Bewley S, Mackinson AM, Rodeck CH. First trimester fetal nuchal translucency: Problems with screening the general population 1. *BJOG* 1995;102:381-5.

Snijders RJM, Sebire NJ, Cuckle H, Nicolaides KH. Maternal age and gestational age-specific risks for chromosomal defects. *Fetal Diag Ther* 1995;10:356–67.

Snijders RJM, Nicolaides KH. Sequential screening. In: Nicolaides KH, editor. *Ultrasound markers for fetal chromosomal defects*. Carnforth, UK: Parthenon Publishing, 1996, pp109–13.

Snijders RJM, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH. UK multicentre project on assessment of risk of trizomy 21 by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10–14 weeks of gestation. *Lancet* 1998;351:343–6.

Snijders RJM, Sundberg K, Holzgreve W, Henry G, Nicolaides KH. Maternal age and gestation-specific risk for trizomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;13:167–70.

Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides KH. A screening program for trizomy 21 at 10–14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free  $\beta$ -human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;13:231–7.

Spencer K, Bindra R, Nix ABJ, Heath V, Nicolaides KH. Delta- NT or NT MoM: which is the most appropriate method for calculating accurate patient-specific risks for trisomy 21 in the first trimester? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003a;22:142-8.

Spencer K, Spencer CE, Power M, Dawson C, Nicolaides KH. Screening for chromosomal abnormalities in the first trimester using ultrasound and maternal serum biochemistry in a one stop clinic: A review of three years prospective experience. *BJOG* 2003b;110:281-6.

Tabor A, Philip J, Madsen M, Bang J, Obel EB, Norgaard-Pedersen B. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4,606 low-risk women. *Lancet* 1986;1:1287–93.

Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome on the basis of tests performed during the first and second trimesters. *N Engl J Med* 1999;341:461-7.

Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM; SURUSS Research Group. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *Health Technol Assess* 2003a;7:1-77.

Wald NJ, Huttly WJ, Hackshaw AK. Antenatal screening for Down's syndrome with the quadruple test. *Lancet* 2003b;361:835-6.