

TEST PRENATAL NO INVASIVO (TPNI) SG BABYTEST *Plus / Advanced*

La gama SG BabyTest de Sistemas Genómicos está diseñada para establecer en un **momento temprano del embarazo el riesgo de que el feto pueda ser portador de una aneuploidía** (variante del número de cromosomas):

- Trisomía 21, asociada al Síndrome de Down.
- Trisomía 18, asociada al Síndrome de Edwards.
- Trisomía 13, asociada al Síndrome de Patau.
- Trisomías 16 y 22, asociadas con mayor frecuencia a aborto espontáneo, así como otras aneuploidías menos frecuentes, como las de los cromosomas 9 y 15.
- Aneuploidías de cromosomas sexuales:
 - o Síndrome de Turner (presencia de un solo cromosoma sexual X).
 - o Síndrome de Klinefelter (XXY).
 - o Triple X.
 - o Polisomías X.

Algoritmo para la determinación y evaluación del riesgo de trisomía 21, 13 y 18 con marcado CE-IVD

Además, **SG BabyTest *Advanced***, la versión ampliada de SG BabyTest, identifica aneuploidías parciales (CNVs) asociadas a **10 síndromes de microdelección conocidos**:

SÍNDROME*	TAMAÑO REGIÓN CROMOSÓMICA	INCIDENCIA
Síndrome Angelman (15q11)	5 - 7 Mb	1/12.000 - 20.000
Síndrome Prader-Willi (15q11)	4 - 6 Mb	1/10.000 - 30.000
Delección 1p36	1,5 - 10 Mb	1/5.000 - 10.000
Síndrome maullido de gato (5p)	0,560 - 40 Mb	1/15.000 - 50.000
Síndrome Wolf-Hirschhorn (4p16.3)	0,5 - 30 Mb	1/50.000
Síndrome Jacobsen (11q23)	5 - 20 Mb	1/100.000
Síndrome Langer-Giedion (8q24.1)	2,8 - 14 Mb	0,2 - 1/1.000.000
Síndrome DiGeorge II (10p14-13)	4,19 - 12,072 Mb	1/200.000
Delección 16p11.2 - p12.2	7,1 - 8,7 Mb	-
Síndrome de Phelan-McDermid (22q13.3)	0,1 - 9 Mb	-

Este Test Prenatal No Invasivo (TPNI) permite el **análisis genético del bebé no nato a partir de una muestra de sangre periférica materna** que contiene ADN libre circulante fetal:

- Prueba prenatal no invasiva: no existe un riesgo incrementado para el feto ni para la madre.
- Evita la ansiedad de someterse a un procedimiento invasivo para obtener la muestra fetal.
- Reducción significativa de la tasa de falsos positivos, respecto a otros tests de cribado prenatal.

SG BabyTest **se puede realizar a toda mujer embarazada**, independientemente de sus condicionamientos genéticos o de su historia familiar previa. Se puede realizar también en **embarazos conseguidos mediante técnicas de reproducción asistida y con donación de ovocitos**.

SG BabyTest debe realizarse en el primer trimestre del embarazo a partir de la **semana 9 de gestación**.

Está particularmente indicado en:

- Embarazo con riesgo aumentado para las anomalías debido a:
 - o Edad materna avanzada.
 - o Historial de embarazos con aneuploidías cromosómicas.
 - o Riesgo alto o intermedio establecido por el cribado bioquímico realizado en el primer trimestre.
- Fetos con ciertas alteraciones ecográficas.



BASE TECNOLÓGICA

Durante el embarazo, pequeños fragmentos del ADN fetal procedentes del citotrofoblasto son liberados al torrente sanguíneo y circulan junto a otros fragmentos de ADN materno en el plasma de la sangre de la madre. **A partir de una muestra de sangre materna** extraída en un tubo especial Streck®, que protege el ADN libre circulante de la degradación y reduce el riesgo de rotura de las células de la sangre (que contaminaría la muestra), se procede a **separar el plasma y a extraer el ADN**, el cual es analizado mediante la tecnología de secuenciación masiva de genoma completo bidireccional (**Next Generation Sequencing**) en nuestros laboratorios.

A continuación, mediante un **algoritmo bioinformático de desarrollo propio**, se realiza una estimación del número de secuencias obtenidas para cada cromosoma y se comparan con muestras de referencia para **detectar si existe un incremento o un descenso en el número de lecturas asociadas a cada uno de los cromosomas, o de algún fragmento cromosómico** en el caso de la versión **Advanced**. El cambio en el número de lecturas indica que puede existir una ganancia o una pérdida en el cromosoma identificado.

PROTOCOLO DE TRABAJO



DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE FETAL

Para un resultado certero, SG BabyTest requiere de al menos un 3,5% de ADN fetal en la muestra para detectar la presencia o ausencia de aneuploidías y/o microdeleciones.

SG BabyTest establece la fracción fetal mediante algoritmo bioinformático propio basado en los perfiles nucleosomales específicos del feto.

Debido a que el incremento de masa corporal reduce la fracción fetal, en caso de mujeres gestantes con obesidad (IMC>30) **se recomienda un test molecular previo que determina el porcentaje de ADN fetal y además informa sobre el sexo del bebé.**

Sensibilidad y especificidad superior al 99.9% para los cromosomas 21, 18 y 13

Sensibilidad mayor del 83% y especificidad superior al 99.9% para los cromosomas sexuales

Precisión superior al 99% para la determinación del sexo fetal

VENTAJAS

TPNI COMPARADO CON EL CRIBADO BIOQUÍMICO

Al igual que el Triple Screening del primer trimestre, se trata de un Test No Invasivo.

Mayor fiabilidad en la detección de aneuploidías asociadas a cromosomas concretos y mayor eficiencia de identificación de dichas aneuploidías.

Reducción significativa de la tasa de falsos positivos, que conlleva, a su vez, la reducción del número de procesos invasivos posteriores.

SG BabyTest ofrece también la determinación del genotipo RhD fetal en mujeres RhD(-)

RESULTADOS

Bajo riesgo:

Probabilidad muy baja de tener un bebé portador de una aneuploidía en alguno de los cromosomas analizados, y microdelección de la versión *Advanced*.

Alto riesgo:

Probabilidad alta de tener un bebé portador de aneuploidía en el cromosoma indicado, o microdelección en la versión *Advanced*. El resultado debe ser confirmado mediante la realización de una prueba definitiva de diagnóstico como el estudio prenatal invasivo de vellosidad corial o líquido amniótico.

Riesgo indeterminado o resultado no informativo:

Los valores obtenidos de la prueba no permiten asignar un riesgo de aneuploidía en el cromosoma indicado o microdelección, debido a que el resultado establece un valor alejado de la normalidad, pero sin llegar a ser de alto riesgo.

Resultado no concluyente:

La muestra o el resultado obtenido no supera los controles de calidad establecidos para el test (alto grado de hemólisis, bajo porcentaje fetal, resultados con valor de dispersión alto).

En los casos de resultados indeterminados o no concluyentes puede ser necesaria la extracción de una nueva muestra para repetir el estudio, tratando de eliminar los factores, en caso de conocerse, que afectaron a la primera muestra no válida.

EL INFORME INCLUYE

Datos de la muestra y de la solicitud

Metodología

Resultados (porcentaje de ADN libre fetal, riesgo para aneuploidías cromosómicas completas, microdelecciones en el caso de la versión *Advanced* y sexo fetal)

Interpretación de los resultados

Recomendaciones sobre cómo proceder según resultado

Reporte gráfico de **los cromosomas**

Nuestros expertos en diagnóstico genético prenatal y en la prueba de TPNI resolverán cualquier duda que pueda surgir durante el proceso de realización de la prueba

En caso de sospecha de aneuploidía o microdelección, Sistemas Genómicos ofrece gratuitamente el estudio genético de diagnóstico prenatal invasivo (QF-PCR, FISH o Array)

CARACTERÍSTICAS	Especificidad	Sensibilidad
Trisomía 21	> 99,9%	> 99,9%
Trisomía 18	> 99,9%	> 99,9%
Trisomía 13	> 99,9%	> 99,9%
Trisomía 9,16,22	> 99,9%	-
Aneuploidías cromosómicas sexuales (XO,XXY,XXX,YYY)	> 99,9%	> 83%
Tasa global de detección (CR.18,13)	> 99%	> 99%
Falsos positivos (detectadas aneuploidías de cr.sexuales)	<0.1	
Fracción Fetal	Algoritmo bioinformático	
Metodología	NGS bidireccional	
% de resultados no informativos	0.6%	
Válido desde qué semana gestación	9	
Válido para gemelares	Sí*	
Válido para donación de ovocitos	Sí	
Tiempo de entrega	4-6** días naturales	
Confirmación con test prenatal invasivo (biopsia corial o amniocentesis)	3 días hábiles (QF-PCR & FISH)*** 5 días hábiles (Array)	

* Consultar consentimiento informado.

** Consultar con nuestros expertos para más información.

*** Sistemas Genómicos tiene puestas a punto las técnicas de QF-PCR, FISH, Array y Cariotipo, recomendándose procedimiento invasivo de confirmación o seguimiento ecográfico en función de la cromosopatía detectada.

CONDICIONES PREANALÍTICAS QUE PUEDEN AFECTAR AL TEST PRENATAL NO INVASIVO SG BAYTEST

- **Muestra hemolizada:** la muestra de sangre ha sufrido hemólisis (rotura celular) contaminando el plasma con ADN genómico materno.
- **Bajo porcentaje fetal:** el contenido de ADN fetal en la muestra obtenida respecto al ADN de la madre es muy reducido (inferior al 3,5%) por lo que, en caso de existir una aneuploidía, podrían no detectarse.
- **Baja concentración de ADN total circulante en plasma:** el rendimiento de la extracción del ADN a partir del plasma materno ha sido tan bajo que resulta insuficiente para poder realizar el test.
- **Problemas asociados a condiciones biológicas u otros factores que están relacionados con acciones terapéuticas (como la toma de medicamentos, transfusiones, transplantes...)*:** por ejemplo, el tratamiento con heparina de bajo peso molecular antes de la toma de muestras puede afectar al test, por lo que se recomienda avisar de antemano para determinar las condiciones óptimas en las que se debe realizar la extracción de sangre.

*Cualquier tratamiento médico debe ser comunicado para ser valorado y confirmar que es viable la realización de la prueba: compatibilidad con tratamientos Adiro®, progesterona y vitaminas.

EXPERIENCIA EN ESTUDIOS PRENATALES

Especificidad	Objeto	Resultado	Año
Programa de calidad europeo CEQAS/EMQN	Determinación sexo fetal	Máxima puntuación	2015
Programa piloto de calidad europeo CEQAS/EMQN	Aneuploidías	Máxima puntuación	2016-2017
Validación en laboratorio externo	18, 13, 9, 16, 22 Sexo fetal	Correlación 100%	2016
Programa piloto de calidad europeo CEQAS/EMQN	Determinación sexo fetal y aneuploidías fetales	Máxima puntuación	2017
Programa piloto de calidad europeo CEQAS/EMQN	Determinación sexo fetal y aneuploidías fetales	Máxima puntuación	2018

ENVÍO DE MUESTRAS

- Extracción de sangre materna en uno o dos tubos Streck® BCT (preservante específico para ADN libre plasmático), según el test elegido.
- Recepción de la muestra sin refrigerar en un plazo inferior a 96 horas desde la extracción.

Test íntegramente desarrollado y realizado en España



LIMITACIONES

- La técnica TPNI puede tener resultados no concluyentes en:
 - o Edad gestacional inferior a 9 semanas.
 - o Existencia de mosaicismos o alteraciones cromosómicas parciales en el feto o en la madre.
 - o En caso de que los gemelos no sean genéticamente idénticos, ya que la carga de ADN fetal en el torrente sanguíneo de alguno de ellos puede estar por debajo del límite de detección.
 - o En gestaciones múltiples (3 o más bebés).
 - o En gestantes con obesidad (IMC>30) se recomienda determinación de la fracción fetal previa al test.
- SG BabyTest no es una prueba diagnóstica sino que se trata de un test de cribado. Al tratarse de un test de cribado, un resultado de bajo riesgo no excluye totalmente la posibilidad de afectación cromosómica fetal.
- La prueba no excluye la presencia de otras alteraciones genéticas no analizadas, tampoco la existencia de poliploidías (triploidía o tetraploidía) o que el feto sea portador de defectos congénitos cuya causa no sea ninguna de las alteraciones detectadas por el test.
- SG BabyTest requiere de un mínimo de 3,5% de fracción fetal y, además, la versión **Advanced** tiene un límite de detección de microdeleciones de tamaño mayor a 6Mb.
- Algunos de los síndromes asociados a las microdeleciones de la versión **Advanced** pueden ser debidos a cambios diferentes a dichas microdeleciones (p.ej.mutaciones) que no serían detectadas en este test.

BIBLIOGRAFÍA

- Fairbrother G et al. (2015) Prenatal screening for fetal aneuploidies with cell-free DNA in the general pregnancy population: a cost-effectiveness analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* May 22:1-5.
- Fosler L. et al (2017) Aneuploidy screening by non-invasive prenatal testing in twin pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* Apr;49(4):470-477.
- <https://decipher.sanger.ac.uk/disorders#syndromes/overview>
- Kun S. et al (2018) Size-tagged preferred ends in maternal plasma DNA shed light on the production mechanism and show utility in noninvasive prenatal testing. *PNAS*
- Allen Chan KC. et al (2016) Second generation noninvasive fetal genome analysis reveals de novo mutations, single-base parental inheritance, and preferred DNA ends. *PNAS*
- Leung TY et al. (2013) Noninvasive twin zygosity assessment and aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Prenat Diagn.* Jul;33(7):675-81.
- Mersy et al. (2013) Noninvasive detection of fetal trisomy 21: systematic review and report of quality and outcomes of diagnostic accuracy studies performed between 1997 and 2012. *Human Reproduction Update*, Vol.19, No.4 pp. 318-329.4
- Orhant et al. (2016) Droplet digital PCR combined with minisequencing, a new approach to analyze fetal DNA from maternal blood: application to the non-invasive prenatal diagnosis of achondroplasia. *Prenat Diagn.* May;36(5):397-406.
- Ou X et al. (2013) Detecting hypermethylated fetal RASSF1A sequences in maternal plasma: implications for noninvasive paternity testing in pregnancy. *Transfusion.* Aug;53(8):1856-8.
- Palomaki GE et al. (2015) Circulating cell free DNA testing: are some test failures informative? *Prenat Diagn.* Mar;35(3):289-93.
- Scott FP, Menezes M, Palma-Dias R, Nisbet D, Schluter P, da Silva Costa F, McLennan AC Factors affecting cell-free DNA fetal fraction and the consequences for test accuracy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017 Jun 8:1-8. doi: 10.1080/14767058.2017.1330881
- Shi X et al. (2015) Feasibility of noninvasive prenatal testing for common fetal aneuploidies in an early gestational window. *Clin Chim Acta.* Jan 15;439:24-8.7
- Svobodová I et al. (2015). Performance of Droplet Digital PCR in Non-Invasive Fetal RHD Genotyping - Comparison with a Routine Real-Time PCR Based Approach. *PLoS ONE* 10(11): e0142572.
- Wang E et al. (2013) Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenatal Diagnosis*, vol. 33(7):662-666.

En Ascires Sistemas Genómicos estamos comprometidos con mejorar la calidad de vida de los pacientes y sus familias. Por ello, diseñamos herramientas de calidad para el diagnóstico, combinando la tecnología más avanzada con la última investigación científica.

Con esta filosofía hemos creado SG Preconception, la gama de estudios genéticos para establecer el estatus de portador o no portador de las enfermedades hereditarias más frecuentes de los futuros progenitores.

Somos pioneros en la aplicación de la tecnología de secuenciación masiva (NGS) para el Diagnóstico Genético, como así también somos la organización con mayor trayectoria a nivel Nacional e Internacional en Investigación y Desarrollo de Servicios de Diagnóstico Genético basado en nuestra amplia experiencia en el estudio del genoma y de la genética humana.

