



**Universidad**  
Zaragoza

## Trabajo Fin de Grado

### Cribado prenatal de cromosomopatías: protocolo de Aragón.

Revisión bibliográfica y análisis descriptivo.

### Prenatal screening for chromosomal abnormalities: Aragon's protocol.

Bibliographic review and descriptive analysis.

Autora

Sandra Luz Miguel

Director

Mauricio Tajada Duaso

Facultad de Medicina - Universidad de Zaragoza  
Curso 2017-2018



## INDICE

1. RESUMEN. PALABRAS CLAVE.....	2-3 págs.
2. ABREVIATURAS.....	4-5 págs.
3. METODOLOGÍA.....	5-6 págs.
4. OBJETIVOS.....	6 pág.
5. INTRODUCCIÓN.....	7-8 págs.
6. RESULTADOS.....	9-30 págs.
6.1. ESTRATEGIA DE CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS PREVIA A LA INTRODUCCION DEL TEST FETAL NO INVASIVO.....	9-12 págs.
6.2. NUEVO PROTOCOLO DE CRIBADO DE CROMOSOMOPATIAS EN ARAGÓN. DIFERENCIA CON EL RECOMENDADO POR LA SEGO.....	12-14 págs.
6.3. TEST FETAL NO INVASIVO. ESTUDIOS COMPARATIVOS.....	14-19 págs.
6.4. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PRENATAL DE CROMOSOMOPATIAS: BIOPSIA CORIAL Y AMNIOCENTESIS...20-21 págs.	
6.5. REVISIÓN DE ANÁLISIS GENÉTICOS DISPONIBLES. ANÁLISIS GENÉTICOS EMPLEADOS EN EL HUMS.....	21-26 págs.
6.6. ANALISIS DE LOS RESULTADOS DEL CRIBADO Y DIAGNÓSTICO DE CROMOSOMOPATÍAS OBTENIDOS EN EL HUMS DURANTE EL AÑO 2017.....	26-30 págs.
7. DISCUSIÓN.....	31-33 págs.
8. CONCLUSIONES.....	34 pág.
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35-37 págs.
10. ANEXOS.....	38-45 págs.

## **1. RESUMEN**

### **Introducción**

El cribado prenatal de cromosomopatías está instaurado en casi toda Europa. Las trisomías que se criban son la 21 (principalmente), la 13 y la 18. Existen diferentes estrategias de cribado, siendo las más empleadas las que combinan marcadores serológicos y ecográficos para calcular el riesgo individual. En España no existe un protocolo único de actuación, aunque el cribado combinado del primer trimestre (CCPT) es ampliamente empleado. Se han producido avances, entre los cuales destacan la introducción del test fetal no invasivo (TFNI) y el microarray. Aragón ha sido una comunidad puntera en realizar un protocolo unificado para todos sus hospitales introduciendo estos avances.

### **Objetivos**

1. Comparar el protocolo actual de Aragón con el cribado previo al TFNI y con el recomendado por la SEGO.
2. Estudiar el TFNI en términos de precisión diagnóstica y coste-efectividad en comparación con el cribado actual.
3. Analizar las técnicas de diagnóstico y los análisis genéticos.
4. Analizar descriptivamente los resultados del cribado en el HUMS en 2017.

### **Metodología**

Para los tres primeros objetivos, se realizó una revisión bibliográfica con búsqueda en español y en inglés, entre 2010 y 2018, en diferentes bases de datos.

Para el cuarto, se recopiló y analizó la información del cribado del HUMS de 2017.

### **Resultados**

El TFNI disminuye el número de técnicas invasivas y de pérdidas fetales. Tiene mayor sensibilidad en alto riesgo y embarazos únicos. Tiene especificidad elevada en las tres trisomías y mayor sensibilidad en T21. La tasa de falsos positivos es baja y tiene cierta tasa de fallos.

El cariotipo es el análisis genético de referencia. QF-PCR y FISH son pruebas rápidas de diagnóstico y el microarray proporciona el diagnóstico adicional de microdelecciones y microduplicaciones no detectadas por cariotipo.

### **Discusión y conclusiones**

El TFNI es el método de cribado más efectivo. La mayoría de los estudios lo apoyan como cribado contingente (combinado con el CCPT). Unos estudios apoyan realizarlo a partir del riesgo 1/250 y otros a partir de 1/1000.

El diagnóstico debe confirmarse con una prueba invasiva para realizar un análisis genético. La introducción del microarray detecta un porcentaje adicional de anomalías.

**PALABRAS CLAVE:** Cribado prenatal, anomalías cromosómicas, análisis del ADN de células libres, pruebas prenatales invasivas, cariotipo, microarray, Qf-PCR.

## **ABSTRACT**

### **Introduction**

Prenatal chromosomal abnormalities screening is established in almost all of Europe. Trisomies that are screened are 21 (mainly), 13 and 18. There are different strategies for screening, being more maids which combine serological markers and ultrasound to estimate individual risk. In Spain, there is not a unique action protocol, although the combined screening of the first trimester (CSFT) is widely employed. There have been advances, among which, the introduction of non-invasive fetal test (NIPT) and microarray. Aragon has been a leading community in making a protocol unified for all its hospitals that introduces these advances.

### **Objectives**

1. To compare the current Protocol of Aragon with screening before the NIPT and screening recommended by SEGO.
2. To study NIPT in terms of diagnostic accuracy and cost-effectiveness compared with the current screening.
3. To analyze diagnostic techniques and genetic analyses.
4. To analyze descriptively the screening results at the HUMS in 2017.

### **Methodology**

For the first three objectives, a bibliographic review was conducted with search in Spanish and English, between 2010 and 2018, in different databases.

For the fourth, It collected and analysed information from the screening of the HUMS of 2017.

### **Results**

NIPT decreases the number of invasive techniques and fetal losses. Has greater sensitivity at high risk and single pregnancies. It has high specificity in the three trisomies and greater sensibility in T21. False positive rate is low and it has certain failure rate.

The karyotype is the genetic analysis of reference. QF-PCR and FISH are rapid diagnostic tests and the microarray provides additional diagnosis of microdeletions and microduplications not detected by karyotype.

### **Discussion and Conclusions**

NIPT is the most effective screening method. Most studies support it as contingent screening (combined with CSFT). Some studies support doing it from the risk 1/250 and others from 1/1000.

The diagnosis must be confirmed with an invasive test to perform a genetic analysis where the introduction of the microarray detect an additional percentage of anomalies.

**KEYWORDS:** Prenatal screening, chromosomal abnormalities, cell-free DNA analysis, invasive prenatal test, karyotyping, microarray, Qf-PCR.

## **2. ABREVIATURAS**

- HUMS: Hospital Universitario Miguel Servet.
- ADN: ácido desoxirribonucleico.
- F $\beta$ -HCG: fracción  $\beta$  de la gonadotropina coriónica humana.
- PAPP-A: proteína plasmática A asociada al embarazo.
- LCC: longitud cráneo caudal.
- TN: translucencia nucal.
- CCPT: cribado combinado del primer trimestre.
- FIV: fertilización “in vitro”.
- AFP: alfa feto proteína.
- uE3: estriol no conjugado.
- TFNI: test fetal no invasivo.
- BC: biopsia corial.
- BC-TC: biopsia corial transcervical.
- BC-TA: biopsia corial transabdominal.
- AC: amniocentesis.
- FISH: hibridación in situ por fluorescencia.
- QF-PCR: fluorescencia cuantitativa – reacción en cadena de la polimerasa.
- CGH-array: hibridación genómica comparada.
- SNP-array: matriz de polimorfismos de un solo nucleótido.
- CMA: análisis de microarrays cromosómicos.
- VOUS: variante de significado incierto.
- IVE: interrupción voluntaria del embarazo.
- T13: trisomía 13 (síndrome de Patau).

- T18: trisomía 18 (síndrome de Edwards).
- T21: trisomía 21 (síndrome de Down).
- SNS: Sistema Nacional de Salud.
- SEGO: Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia.
- ACOG: Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos.
- SMFM: Sociedad de Medicina Materno Fetal.
- TD: tasa de detección.
- TFP: tasa de falsos positivos.

### 3. METODOLOGÍA

Esta revisión bibliográfica se realizó para recopilar información sobre el cribado prenatal de cromosomopatías con el fin de contrastarla con el protocolo de cribado de cromosomopatías de Aragón, que es la piedra angular del trabajo. Además, era oportuno incluir el análisis descriptivo de los resultados obtenidos en el cribado y diagnóstico de cromosomopatías en el Hospital Universitario Miguel Servet en 2017, para analizar los datos resultantes una vez implantado dicho protocolo.

Para ello, se revisó la literatura científica publicada entre los años 2010 y 2018, en castellano e inglés.

La búsqueda en castellano se realizó en la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (**SEGO**) donde se obtuvieron dos guías, una de 2012 y otra actualizada de 2017. Además, se realizó una búsqueda asistida en la **biblioteca Cochrane Plus** donde se emplearon las palabras clave “cribado prenatal” y “cromosomopatías” combinados mediante el operador boleano “AND” de donde se empleó un documento. En **Elsevier** se encontró otro documento mediante las palabras clave “cribado prenatal” combinado con “AND” con “microarray”. Además, se consultó el informe del **Comité de Bioética de España** sobre el consejo genético prenatal. El **protocolo de diagnóstico de cromosomopatías** en Aragón fue proporcionado por el tutor. Se reunió información sobre las pruebas genéticas realizadas en dicho hospital, aportada por las genetistas del HUMS.

Para el análisis descriptivo se recopilaron los datos sobre el cribado de cromosomopatías realizado en el HUMS en 2017.

Se buscó en inglés en **PubMed**, donde se emplearon las palabras clave “prenatal screening” combinadas con el operador booleano “AND” con “chromosomal abnormalities”; también se combinó mediante “AND” con “cell-free DNA analysis”. Por otra parte, se combinaron “invasive prenatal test” mediante “AND” con “karyotyping”, “microarray” y “Qf-PCR” en distintas variantes de búsquedas. De la búsqueda en PubMed se seleccionaron veintidós documentos útiles, tres de ellas revisiones sistemáticas de **Cochrane**.

Se empleó **Alcorze** para poder acceder a algunos de los estudios de PubMed y fue seleccionado uno de **ScienceDirect** empleando las palabras clave “prenatal screening” combinada mediante “AND” con “chromosomal abnormalities”.

Se buscaron las actuales recomendaciones americanas del uso de microarray en **The American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG)**.

También se buscaron las recomendaciones de uso de microarray británicas actuales en **The Royal College of Pathologists**.

Por último, se buscaron en **EUROCAT** las políticas europeas de cribado prenatal, siendo la última actualización de 2010.

#### **4. OBJETIVOS**

- Analizar el protocolo de cribado prenatal de cromosomopatías que se está llevando a cabo en Aragón actualmente.
- Comparar el nuevo cribado con el que se realizaba antes de la introducción del test fetal no invasivo.
- Comparar el cribado implantado en Aragón con el recomendado por la SEGO a nivel nacional.
- Estudiar el test fetal no invasivo como alternativa al cribado combinado del primer trimestre o como prueba contingente al cribado combinado.
- Analizar qué tipos de técnicas invasivas y de estudios genéticos se emplean para el diagnóstico de cromosomopatías.
- Valorar los resultados del cribado y diagnóstico de cromosomopatías obtenidos en el Hospital Universitario Miguel Servet durante el año 2017.

## **5. INTRODUCCIÓN**

El diagnóstico prenatal de cromosomopatías fetales es un reto dentro de la medicina fetal, que ha avanzado significativamente a lo largo de los últimos años, siendo cada vez más preciso y eficiente.

Para confirmar la existencia de dichas anomalías genéticas es preciso realizar una técnica invasiva (biopsia corial o amniocentesis). Dichas pruebas, aunque cada vez son más seguras, llevan implícito cierto riesgo de pérdida fetal.

Puesto que las pruebas invasivas no son inocuas, tienen baja rentabilidad diagnóstica si se realizaran de manera universal y tienen un coste económico no asumible si se hicieran indiscriminadamente; se han desarrollado estrategias de cribado que sí se recomienda aplicar de manera rutinaria a todas las embarazadas. (1, 2, 8)

¿Con qué fin se realiza el cribado prenatal de cromosomopatías?

El objetivo principal es identificar, mediante pruebas inocuas, a las gestantes cuyos fetos presentan un riesgo elevado de tener una anomalía cromosómica y por lo tanto se puedan beneficiar de las pruebas invasivas.

Actualmente, la tendencia en el cribado se basa en combinar los hallazgos ecográficos con los analíticos y los datos epidemiológicos de la gestante para así calcular el riesgo específico para cada embarazo.

El cribado realizado hasta la actualidad se ha centrado en la detección de la cromosomopatía más prevalente, el Síndrome de Down (T21).

La detección del resto, especialmente el Síndrome de Edwards (T18) que es la segunda más prevalente, el Síndrome de Patau (T13) o la monosomía X, son un hallazgo beneficioso de este cribado. (8, 13)

En los últimos años se ha incrementado la prevalencia de la trisomía 21 y de la trisomía 18 a causa, principalmente, del incremento de la edad de las embarazadas, dado que esta es el principal factor de riesgo (a partir de los 35 años) asociado a alteraciones cromosómicas en el feto. (1, 2, 4, 5, 8)

El cribado prenatal comenzó a realizarse en los años 1970, donde únicamente se ofrecía amniocentesis a las gestantes mayores de 35 años. (2) A partir de la década de los 90 se empezó a analizar la medida de la translucencia nuchal (8, 12). Desde entonces, se

han ido desarrollando diferentes técnicas no invasivas, principalmente basadas en el análisis bioquímico y ecográfico. Desde 2011-2012 se ha empezado a introducir el análisis del ADN fetal libre en sangre materna, el cual ha sido un hallazgo de gran interés, puesto que disminuye la necesidad de realizar pruebas invasivas y de las pérdidas fetales resultantes de las mismas. (8, 15)

El cribado prenatal se oferta en la mayoría de países con renta media-alta como proceso rutinario de control (8). No obstante, en la última década, según EUROCAT 2010, todavía hay países que no lo ofrecen de manera gratuita y universal como Malta, Irlanda, Países Bajos o Austria. Además, existen disparidades en el tipo de estrategias de cribado utilizadas entre los países que sí lo ofrecen como entre Bélgica, Croacia, Dinamarca, Francia, Italia, Suiza, Finlandia, España, Reino Unido (país que en poco tiempo introducirá el TFNI de manera contingente al cribado del primer trimestre) y dentro del mismo. (6, 9)

En España, la SEGO publicó en 2012 y una reciente actualización en 2017 de las guías de recomendación para la realización del cribado prenatal de cromosomopatías. Sin embargo, no está todavía establecido un programa de cribado a nivel nacional, existiendo variaciones entre las pruebas realizadas en cada comunidad autónoma. (2)

En este sentido, Aragón ha sido una de las primeras comunidades a nivel nacional en incluir el test fetal no invasivo como procedimiento adicional de cribado de cromosomopatías según está reflejado en el *“PROTOCOLO REGIONAL DE DIAGNÓSTICO PRENATAL DE DEFECTOS CONGÉNITOS. NUEVA ESTRATEGIA PARA LA DETECCIÓN DE ANEUPLOIDÍAS FETALES.”* (1) En él, se recogen los procedimientos consensuados y realizados en todos los hospitales públicos de Aragón.

## **6. RESULTADOS**

### **6.1. ESTRATEGIA DE CRIBADO DE CROMOSOMOPATIAS PREVIA A LA INTRODUCCION DEL TEST FETAL NO INVASIVO (TFNI)**

El diagnóstico prenatal debe ofrecerse a todas las gestantes dado que, aunque hay gestantes que tienen riesgo alto, puede producirse también en pacientes sin riesgo conocido ya que tiene un carácter multifactorial (1) Se basa en dos tipos de técnicas:

- Técnicas no invasivas: ecografía y bioquímica.
- Técnicas invasivas: biopsia corial o amniocentesis. (1)

Existen diferentes estrategias de cribado, las cuales analizan exclusivamente marcadores bioquímicos o combinan estos con los hallazgos ecográficos. Las combinadas obtienen resultados significativamente mejores que si se realizan por separado. (3) En la **TABLA I** se adjunta el rendimiento de cada uno de los tipos de cribado. (2, 8)

La estrategia que está ampliamente establecida en España es el **CRIBADO COMBINADO DEL PRIMER TRIMESTRE (CCPT)**, que se emplea como punto de partida del cribado, realizándose a todas las gestantes. (1, 2, 4)

Este método estima de manera individualizada el riesgo de tener un feto con alguna aneuploidía. Se estudian los siguientes factores:

- a) Edad materna. Si es FIV con óvulo de donante, se debe considerar la edad de la donante. Peso, tipo de gestación, raza, tabaquismo.
- b) Analítica en sangre materna entre la semana 9 y 13 de gestación (idealmente en la 10) para determinar la concentración de la fracción libre de  $\beta$  gonadotropina coriónica humana ( $\beta$ -HCG) y de proteína plasmática A asociada al embarazo (PAPP-A).
- c) Ecografía entre las semanas 11 a la 13+6 de gestación (idealmente en la 12 a 12+6) para la medida de la longitud cráneo caudal (LCC) y la translucencia nucal del feto (TN). (1, 2, 4)

Las principales ventajas del CCPT son su elevada sensibilidad, su precocidad, y su gran tasa de detección (83-95%) con una tasa de falsos positivos del 5-9%. (4, 8).

Una situación especial son las gestaciones gemelares. En estas se valora la TN y la LCC en cada embrión tras aplicar factores de corrección para los marcadores bioquímicos. Si son gestaciones monocoriales se establece un único riesgo para ambos (teniendo en cuenta la media de la TN y LCC superior); y si son bicoriales se establece un riesgo para cada uno. (1, 4)

#### -MARCADORES ECOGRÁFICOS:

La ecografía se emplea para confirmar la edad gestacional, permitiendo cálculos de riesgo más precisos con las pruebas serológicas; y también para medir la TN, que es el marcador ecográfico más efectivo y usado (2, 4, 8, 10).

Si la TN está aumentada, es un marcador para trisomía 21 principalmente, pero también para trisomía 18, la trisomía 13, la monosomía X y en algunas malformaciones estructurales, sobre todo cardíacas (2)

La medida óptima de la TN se realiza cuando la LCC está entre 45 y 84 mm, que corresponde a una edad gestacional de 11+0 a 13+6. La semana más recomendable para realizarla es la 12. (2, 8)

Las gestaciones que tengan una TN superior o igual al percentil 99 (> o igual a 3,5 mm) y tengan un cariotipo normal tienen indicación de ecografía morfológica precoz a las 20 semanas, para valorar minuciosamente la anatomía fetal. (4, 8)

Además, se pueden medir otros marcadores como la hipoplasia de hueso nasal, la regurgitación tricuspídea y el flujo sanguíneo del ductus venosos, que también pueden estar alterados en las trisomías. (10) No obstante, la TN sigue siendo la prueba de oro de los marcadores.

En la **TABLA II** se exponen los objetivos de exploración de la ecografía en cada trimestre.

#### -MARCADORES BIOQUÍMICOS:

Los marcadores serológicos que se emplean son proteínas de origen fetal o feto-placentario que se detectan en sangre materna, y cuyo aumento o disminución, según que marcador, se correlacionan con la presencia de trisomías (4, 8)

En el primer trimestre de gestación (9-13 semanas) en el CCPT se realizan las determinaciones de los marcadores F $\beta$ -GCH y PAPP-A. (1, 2, 4, 8, 10)

El rendimiento óptimo se obtiene cuando la bioquímica se analiza entre la semana 9<sup>a</sup>-11<sup>a</sup> de gestación y la medición de la TN se realiza en la semana 12<sup>a</sup>. (2)

Una vez realizada la ecografía y el estudio bioquímico del primer trimestre, se calcula el índice de riesgo para aneuploidías mediante programas estadísticos especializados, que tienen en cuenta factores de corrección (peso materno, raza, hábito tabáquico, presencia de diabetes, tipo de concepción, espontánea o FIV). (1, 4)

Antes de la introducción del TFNI en nuestra comunidad, si el riesgo del cribado combinado resultaba mayor o igual a 1/300, se consideraba elevado, ofreciendo a la gestante la posibilidad de realizar una técnica invasiva de diagnóstico prenatal. Riesgos menores de esa cifra se consideraban bajos y la gestante seguía los controles ecográficos habituales.

### **ESTRATEGIA DE RESCATE:**

Si la gestante consulta **a partir de la semana 14 y hasta la semana 18 + 6**, puede realizarse el cribado bioquímico del II trimestre, que se basa en el **test triple** (si edad en parto mayor o igual a 38 años) o **cuádruple** (si edad en parto mayor o igual a 40 años) dada su mayor eficacia. (1, 4, 8) Se ha comprobado que las pruebas que emplean dos o más marcadores combinados con la edad materna son más sensibles que los que solo emplean un marcador. (7)

El test cuádruple emplea la edad materna y los siguientes marcadores bioquímicos medidos en sangre materna: F $\beta$ -HCG, AFP, Inhibina A y uE3. (4)

Si a la **gestante no se le ha podido hacer ni el CCPT ni el cuádruple del segundo trimestre**, se considera la edad materna como criterio para indicar realizar un estudio invasivo. Cada centro establece el punto de corte (> o igual a 35 años o a 38 años) (4)

**Posteriormente, el riesgo de aneuploidía será revaluado en el segundo trimestre, mediante la ecografía morfológica fetal (sonograma genético) de la semana 20.** (1, 4)

Si se halla una malformación estructural en esta ecografía, se recomienda realizar una técnica invasiva. (4)

Sin embargo, si se hallan marcadores ecográficos de cromosomopatías como engrosamiento nucal mayor o igual a 6 mm, hiperrefringencia intestinal, fémur corto, ectasia piélica o foco hiperecogénico intracardiaco, en una gestante con un cribado fiable

previo, no está indicado el estudio citogenético. Se recomienda tener en cuenta el riesgo calculado previamente y recalcular con el riesgo de la razón de probabilidad de cada marcador. (1, 4)

No obstante, si no se le ha realizado a la paciente un cribado previo, la identificación de estos marcadores sí puede aconsejar realizar una técnica invasiva. (4, 8)

Una vez identificadas a las gestantes con un riesgo alto de aneuploidía fetal, se debe de confirmar el diagnóstico mediante una **prueba invasiva**. (2)

## **6.2. NUEVO PROTOCOLO DE CRIBADO DE CROMOSOMOPATIAS EN ARAGON.**

La incorporación del Test Fetal No Invasivo ha obligado a los profesionales de la medicina fetal a replantear la estrategia de cribado prenatal de cromosomopatías. (2, 5)

A nivel mundial, los TFNI se están comercializando actualmente en 61 países de Europa, Asia, África y América. (8)

En España, se dispone de este test desde 2012 en clínicas y laboratorios privados.

En la actualidad, además de los hospitales privados, varios hospitales públicos (entre ellos la Comunidad de Madrid, Barcelona, Galicia, Cantabria, Aragón) ya incluyen el TFNI en sus protocolos de cribado prenatal (5)

En Aragón, se ha incorporado el TFNI a la estrategia de cribado desde hace tres años. Esto ha llevado a los médicos encargados del diagnóstico prenatal en Aragón, a redactar un protocolo regional actualizado para el diagnóstico prenatal de defectos congénitos. (1)

Tanto la SEGO en su guía de diagnóstico prenatal de aneuploidías fetales actualizada en 2017, como el nuevo protocolo de cribado en Aragón, emplean el mismo punto de partida en el cribado, el **Cribado Combinado del Primer Trimestre** explicado anteriormente. (1, 2)

El CCPT, que se realiza de la misma forma que en el protocolo previo, tiene como objetivo principal clasificar a las embarazadas en tres grupos según el valor del índice de riesgo de tener un feto afectado con una trisomía (principalmente la T21, T18 y T13). En Aragón se emplean los siguientes puntos de cortes en los índices de riesgo: (1) **TABLA III**

- Bajo riesgo ( $< 1/1000$ ): No se realizarán pruebas adicionales. Seguimiento normal con la ecografía de la semana 20.
- Alto riesgo ( $> 1/50$ ): se les ofrece la realización de una prueba invasiva, porque pueden existir anomalías no diagnosticables por el TFNI. Son la mayoría de los verdaderos positivos del cribado combinado.
- Riesgo intermedio ( $1/50$  a  $1/1000$ ): Se considera que hay un riesgo moderado de aneuploidía y la gran mayoría de fetos de este grupo serán normales. Esta es la principal novedad del protocolo nuevo: a este grupo de riesgo considerado intermedio, se les indica el TFNI.

Otras indicaciones para ofrecer el TFNI en Aragón, además del riesgo intermedio después del CCPT, son: (1)

1. Cribado bioquímico de 2º trimestre con riesgos entre  $1/51$  y  $1/1000$ :
  - Cribado triple (AFP, Estriol,  $\beta$ -HCG) con edad en el parto  $\geq 38$  años.
  - Cribado cuádruple (AFP, uE3,  $\beta$ -HCG, Inhibina A) con  $\geq 40$  años en el parto.
2. Sonograma genético con riesgo entre  $1/300$  y  $1/1000$  y edad gestacional  $< 20$  semanas.
3. Edad  $\geq 35$  años si no se ha realizado cribado y tiene una edad gestacional  $< 20$  semanas.

#### COMPARACIÓN CON LA SEGO DEL USO DEL TEST FETAL NO INVASIVO:

La SEGO establece un punto de corte intermedio diferente al establecido en Aragón:

- Riesgo alto:  $\geq 1/50$  o malformación ecográfica o TN  $\geq 3,5$  mm. Se realiza técnica invasiva.
- Riesgo intermedio: entre  $1/50 - 1/250$  sin anomalía ecográfica asociada. Se realiza TFNI. Si es positivo: se realizará una técnica invasiva. Si es negativa: ya no se realizarán más pruebas.
- Riesgo bajo:  $< 1/250$ . Se informa del resultado y se finaliza la estrategia de cribado. (2)

En España el punto de corte para realizar TFNI está en  $1/50-1/250$ , mientras que en Aragón este punto de corte se ha elevado hasta  $1/1000$  (antes era de  $1/300$  para indicar prueba invasiva).

El punto de corte en 1/1000 hace que aumente la tasa de detección, pero también la tasa de falsos positivos. Ello supone que la tasa de gestantes a las que se va a realizar TFNI va a ser más elevada que la tasa previa de técnicas invasivas. Pero la inocuidad del TFNI permite utilizar esta opción sin riesgos de pérdidas fetales adicionales. (1)

La SEGO prefiere el punto de corte 1/250 basándose en un estudio económico que valora la realización del TFNI en 200 euros (por debajo del precio actual de mercado), determinando que no es rentable económicamente, ofertar en riesgos  $< 1/250$  puesto que el coste global sería muy elevado para detectar un mínimo de casos. (2)

Tanto en Aragón como en España se recomienda el uso del TFNI de forma contingente, es decir, en combinación con el CCPT y no sustituyendo al mismo. Se les realiza solo a las gestantes de riesgo intermedio.

La estrategia de rescate si la paciente llega tarde para realizarse el cribado combinado del primer trimestre, sigue siendo la establecida por la SEGO en la guía explicada en el punto 5.1, previa a la introducción del TFNI.

### **6.3. TEST FETAL NO INVASIVO. ESTUDIOS COMPARATIVOS.**

Para realizar este test solo es necesaria una extracción de sangre materna, siendo una prueba sin riesgo para el feto. (2, 5, 8)

Dicho test se basa en el análisis del ADN libre total circulante en el plasma materno del que un pequeño porcentaje procede de la lisis de las células fetales y placentarias. (2) (5, 8)

Para calcular el riesgo de las diferentes aneuploidías se aísla el ADN de origen placentario y se analiza mediante diversas técnicas: secuenciación masiva paralela de la firma o secuenciación masiva paralela dirigida, ambas con similar sensibilidad y especificidad clínica. (15). Para calcular el riesgo final se aplican algoritmos teniendo en cuenta la edad materna, la edad gestacional y características de la gestante y del embarazo. (2, 3, 8)

Los resultados son clasificados en "alto riesgo" (sospecha de aneuploidías) y en "bajo riesgo" (ausencia de aneuploidía). Pero si forma parte de un modelo contingente, para calcular el riesgo individual se ajusta su riesgo a priori (el resultante del CCPT). (2)

El rendimiento del análisis es mayor cuanto mayor es la proporción de ADN placentario (fracción fetal). Por lo tanto, es el principal factor limitante de la técnica y determinante de la precisión del test. Las recomendaciones apuntan a que se precisa una fracción fetal mínima del 4% para que el resultado sea fiable. (2, 8)

La prueba se realiza entre las semanas 10 y 22 de gestación. (5, 8) El resultado está disponible en 5-15 días. (2)

Todavía no existe un consenso entre los profesionales de la medicina fetal sobre cuándo emplear el TFNI. Existen dudas sobre si realizarlo como cribado universal a todas las gestantes o como cribado contingente junto al cribado combinado del primer trimestre. Tampoco hay acuerdo sobre el punto de corte de riesgo que emplear, puesto que es un factor clave en el TFNI como prueba contingente porque afecta a los costes y a la precisión de la prueba. (8)

Estas dudas por lo tanto se plantean en base a diferentes aspectos como la precisión de la prueba (sensibilidad, especificidad, tasa de detecciones, falsos positivos y negativos), las pérdidas fetales evitadas por realización de técnicas invasivas y el coste-efectividad.

A continuación, se exponen los resultados de artículos y estudios sobre el test fetal no invasivo que analizan estos aspectos.

En el estudio de Bayón Yusta JC et al., 2016 se realiza una revisión bibliográfica de dos recientes meta-análisis para evaluar la precisión del TFNI y un análisis económico para el cribado de trisomía 21.

Respecto al análisis de precisión se han obtenido los siguientes resultados:

La sensibilidad del TFNI realizado a la población general es del 99,3%, siendo superior en la población de alto riesgo, y la especificidad fue del 99,9%.

La sensibilidad de los TFNI es superior en embarazos únicos (sensibilidad agrupada del 97,7%) que en los embarazos gemelares (sensibilidad agrupada del 89,4%). Pero la especificidad estimada no varía demasiado, siendo del 99,8% (únicos) y el 99,6% (gemelares). Taylor-Phillips et al. 2016, indica que es factible emplear el TFNI en embarazos gemelares, no obstante su precisión diagnóstica es peor que en embarazos únicos.

La tasa de detección en embarazos de alto riesgo es del 91%, siendo inferior (82%) en la población general. En otro meta-análisis de 21 estudios, la tasa de detección ponderada agrupada es del 99,2% y la tasa de falsos positivos del 0,09%.

La tasa de fallo analítico de los distintos estudios, varía entre el 0% y el 12,7%.

El valor predictivo negativo aumenta en las mujeres con bajo riesgo de aneuploidías, casi 100% en la población general. Por lo tanto, un resultado negativo de los TFNI es altamente fiable, pero no descarta los falsos negativos.

En cuanto al estudio de coste-efectividad:

-El TFNI como prueba de cribado de primera línea (se sustituiría el CCPT, pero se mantendría la ecografía del primer trimestre para la medición de TN) detecta un mayor número de casos de T21 y es más caro que el cribado del primer y segundo trimestre (cribado actual).

-El TFNI como prueba de cribado de primera línea es más caro y más efectivo que como prueba contingente. Por lo tanto, el TFNI como prueba de primera línea sería coste-efectiva si disminuyese el precio siendo por lo menos igual que el del cribado actual. Pero tendría el inconveniente de que podrían pasar desapercibidas otras anomalías fetales identificadas tempranamente con el CCPT.

-El TFNI como prueba contingente, siendo el punto de corte  $\geq 1:270$ , tienen menor capacidad de detección de casos a un coste ligeramente menor comparado con el cribado actual.

-Si el punto de corte disminuye a 1:500 o 1:1.000, el número de casos de SD detectados aumenta, y el precio será un 4% superior, lo que puede convertirla en una alternativa coste-efectiva.

El informe de García Pérez L, et al., 2016, es una revisión bibliográfica sobre el análisis de ADN fetal en sangre materna para la detección de T21, T18 y T13, que estudia su precisión y su coste-efectividad.

Las conclusiones obtenidas en este informe son las siguientes:

-La sensibilidad del TFNI para la detección de T21 en población general es 94,5% y aumenta a un 99,67% en la población de alto riesgo.

-La sensibilidad para la detección de T18 en población general es de 89,77%, y aumenta a 96,26% en población de alto riesgo.

-La sensibilidad para la detección de T13 en la población general es de 61,47% y aumenta a 96,59% en población de alto riesgo.

-La especificidad del TFNI para la detección de T21, T18 o T13 en población general y en alto riesgo es superior al 99%.

-Las evaluaciones económicas realizadas en varios países, incluido España, presentan resultados heterogéneos, puesto que el impacto presupuestario de la introducción del TFNI en el SNS depende de factores como el precio del TFNI y el número de cribados realizados.

-Un estudio realizado en España dentro de la RedETS evalúa TFNI como prueba contingente en comparación con el cribado combinado habitual en España, concluyendo que el cribado con TFNI tiene un menor coste para el SNS y una menor efectividad para la detección de casos con T21, T18 y T13, pero reduce el número de pérdidas fetales asociadas a técnica invasiva.

Por lo tanto, recomienda la introducción del TFNI como prueba contingente, realizándose únicamente a los embarazos únicos de alto riesgo de trisomías 21, 18 o 13.

Según la revisión bibliográfica Kagan K.O. et al., 2017, el cribado de T21 basado en el TFNI identifica aproximadamente el 99% de los fetos afectados con una tasa de falsos positivos del 0,1%, con una tasa de fallo del 2%.

Concluye que el mejor enfoque es la combinación del CCPT con el análisis de ADN fetal (contingente). Este se realizaría a las embarazadas que obtuviesen un riesgo intermedio en el CCPT, entre 1:50-1:100.

Si el coste del examen de ADN fetal disminuyera lo suficiente, se podría ofertar de manera universal (incluyendo la ecografía del primer trimestre). Comparte esta opinión con el informe de García Pérez L, et al., 2016. Es probable que este enfoque produzca una reducción de la tasa de falsos positivos comparado con el CCPT.

En el estudio caso-control anidado Glenn E. Palomaki. et al., 2012, se evalúan principalmente las trisomías 18 y 13 en embarazos únicos y la trisomía 21 se agrupa con controles. El TFNI se realiza de forma contingente, si sale riesgo alto en el cribado habitual en Estados Unidos.

La tasa de detección de trisomía 18 fue de casi el 100% y la tasa de falsos positivos de 0,28%. Las tasas de detección de trisomía 13 observadas son del 91,7% con un 0,97% de falsos positivos.

Dicho estudio concluye, que el TFNI detecta casi todos los casos de T21 y además proporciona evidencia de que el cribado contingente en embarazo de alto riesgo, identifica también casi todos los casos de T18 y T13, siendo baja la tasa de falsos positivos. Apoya el análisis de ADN como prueba contingente.

En el meta análisis de Gil M.M. et al., 2015 las tasas de detección (TD) y las tasas de falsos positivos (TFP) en los embarazos individuales son 99,2% y 0,09%, respectivamente, para la trisomía 21; 96,3% y 0,13% para la trisomía 18, 91,0% y 0,13% para trisomía 13. Para los embarazos gemelares, la TD para la trisomía 21 es inferior a los embarazos individuales, del 93,7% y la TFP del 0,23%, como concluye el informe de García Pérez L, et al., 2016. Las tasas de fallo oscilan entre 0,5% y 6,1%. Gil M.M et al., 2017 en su meta análisis concluye que la TD para embarazos únicos con trisomía 21 fue 99,7% y la TFP fue de 0,04%. La TD para trisomía 18 fue de 97,9% con un 0,04% de TFP y la TD para trisomía 13 fue del 99% y del 0,04%.

Concluye que el cribado de la trisomía 21 mediante el TFNI es superior a todos los demás, con mayor tasa de detección y menor tasa de falsos positivos. El rendimiento del cribado para trisomías 18 y 13 es peor que el de la trisomía 21, a diferencia del estudio anterior que concluye que aplicándolo en alto riesgo detectaría casi todos los casos. En embarazos gemelares tiene sus limitaciones y requiere una evaluación adicional.

Este meta-análisis se inclina por la utilización del TFNI contingente como en estudios anteriores. Puesto que la detección sería alta, con las ventajas del cribado combinado y a un coste menor que como primera línea.

En el estudio de Guanciali Franchi P. et al., 2017; se evalúa de forma prospectiva la eficacia del cribado contingente de T21 en mujeres con embarazos únicos.

Para ello se analiza el periodo de 2013 a 2016, en el cual se les realizó el CCPT a las mujeres embarazadas. Este clasifica a las gestantes en tres grupos; basándose en los valores de  $\geq 1: 30$  (se indicó técnica invasiva),  $1:31$  a  $1: 899$  (se indicó cribado en el segundo trimestre) y  $\leq 1: 900$  (no se realizaron más acciones). A las que se les realizó el cribado del segundo trimestre se estableció el punto de corte de alto riesgo en  $\geq 1: 250$

(indicada prueba invasiva). A partir de enero de 2014, también se ofreció el TFNI a todos los grupos de primer trimestre de alto riesgo ( $> 1:30$ ), además de la prueba invasiva.

El estudio concluye que, aunque el rendimiento del CCPT es muy bueno, tiene limitaciones como que el 12% de las mujeres requieren una evaluación del segundo trimestre. Por lo tanto, el TFNI empleado de manera contingente, podría mejorar la eficacia y el alcance de las anomalías detectables en la detección prenatal. Aun así, tiene inconvenientes como el coste elevado o la tasa de fallos.

La revisión bibliográfica Amorim Costa C., 2016 concluye que el TFNI tiene el mejor rendimiento comparado con otras pruebas de cribado igual que Guanciali Franchi P. et al., 2017. Pero debido a su elevado coste y a que tiene una tasa de fracaso no despreciable, no es recomendable actualmente emplearlo de forma universal. Sin embargo, emplearlo como estrategia contingente puede ser una alternativa rentable.

El estudio de cohortes Norton M. E., 2015 compara el TFNI empleado de forma universal con las pruebas de cribado estándar del primer trimestre. Principalmente se centra en la trisomía 21, aunque también evalúa la T18 y T13.

El estudio concluye que, en el cribado prenatal universal, el TFNI para la trisomía 21 tiene una sensibilidad y una especificidad más alta, una tasa de falsos positivos más baja y un valor predictivo positivo más alto que el cribado actual, con un 3% de fallos.

En cuanto a las trisomías 18 y 13, la menor tasa de falsos positivos y el mayor valor predictivo positivo respaldan el uso de las pruebas de TFNI en la evaluación de riesgos para estas, igual que Glenn E. Palomaki. et al., 2012.

Las limitaciones de este estudio es que solo se ha comparado con el CCPT, con el TFNI de manera contingente y que no tiene en cuenta los costes.

La revisión bibliográfica Smith M., 2013 se inclina por el uso del TFNI combinado con el CCPT. De modo que se realizaría el TFNI al grupo de riesgo intermedio, al igual que Gil MM et al., 2016.

Nshimyumukiza L., 2017 en su estudio económico apoya también el uso del TFNI de manera contingente, puesto que proporciona la mejor relación calidad-precio, especialmente para los programas financiados de manera pública.

#### **6.4. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PRENATAL DE CROMOSOMOPATIAS: BIOPSIA CORIAL Y AMNIOCENTESIS.**

Las dos técnicas principales son la biopsia corial (BC) y la amniocentesis (AC). Mediante ellas se obtienen células fetales para poder estudiar los cromosomas y el ADN fetal. (1)

Su principal inconveniente es que incrementan ligeramente el riesgo de pérdida fetal. Por ello se recomiendan solo a las gestantes con riesgo elevado de tener un feto con una anomalía (cromosómica, genética, monogénica...). (1)

El riesgo de pérdida fetal es del 0,5-1% de los casos o según el ACOG entre 1/100 y 1/1000 procedimientos. Pero según evidencias recientes el riesgo real atribuible descendería a 0,1-0,2% dado que el resto de pérdidas serían consecuencia de la afectación por la que se realizó la prueba. (2)

Este riesgo es similar en la BC y la AC puesto que tras amplios estudios no se han encontrado diferencias significativas entre las pérdidas en una o la otra, siempre que sean realizadas por personal experimentado. (2, 8)

##### **-BIOPSIA CORIAL:**

Consiste en extraer una muestra de las vellosidades coriales por vía transcervical (BC-TC) o transabdominal (BC-TA). Tienen una tasa de éxito de un 99% pero en un 1% es necesario realizar una AC (fracaso del cultivo, contaminación, resultados no concluyentes por sospecha de mosaicismo) (2, 4, 8)

Es el método de elección tras un cribado de alto riesgo en el primer trimestre, no es recomendable realizarla después de este. Se realiza después de la semana 10 de gestación y hasta la 14 (momento ideal 12-13). No se recomienda hacerla antes porque ha asociado a defectos fetales (micrognatia, microglosia, de extremidades) (1, 2, 8)

A partir de la muestra se pueden realizar estudios citogenéticos, moleculares y bioquímicos. Proporciona una cantidad superior de ADN que la AC, por lo tanto, es preferible cuando se requiere un estudio molecular. (2)

**-AMNIOCENTESIS:**

Se realiza mediante la punción, guiada por ecografía, de la cavidad amniótica por vía abdominal para obtener líquido amniótico. (2, 8). Su precisión diagnóstica supera el 99% dado que los fracasos de cultivo (<1%) o de contaminación son muy pocos.

Los cariotipos se interpretan más fácilmente y la tasa de mosaicismos es menor que la obtenida con BC. Además, se pueden diagnosticar más enfermedades como infecciones fetales o enfermedades metabólicas. (2)

Debe realizarse a partir de la semana 15 (ideal 15-16), no antes. (1, 2, 8)

En la guía de la SEGO de 2012 se mencionaba la posibilidad de una AC precoz antes de la semana 14, pero este uso se ha rechazado puesto que diversos estudios han concluido que aumenta el riesgo de malformaciones músculo-esqueléticas, respiratorias y mayor número de pérdidas fetales. (1, 2, 4, 8)

**-INDICACIONES DE TECNICA INVASIVA EN EL PROTOCOLO DE ARAGON: (1)**

- Progenitor (es) portadores/ afectados de enfermedades genéticas o alteraciones cromosómicas.
- Antecedente de nacido, aborto o IVE con cromosomopatía. Si el antecedente es de T21, T13 o T18, puede indicarse TFNI si el resultado del cribado es < 1/50.
- Riesgo  $\geq$  1/50 en el CCPT o en cribado bioquímico del segundo trimestre.
- TFNI de alto riesgo para T21, T18 o T13.
- Hallazgos ecográficos: TNI  $\geq$  P99 en la ecografía del primer trimestre y/o existencia de defecto/s congénito/s.
- Sonograma genético de riesgo (> 1/300) en la ecografía de la semana 20.

**6.5. REVISIÓN DE ANÁLISIS GENÉTICOS DISPONIBLES. ANÁLISIS GENÉTICOS EMPLEADOS EN EL HUMS.****-TIPOS DE ANALISIS GENÉTICOS DISPONIBLES:**

Una vez extraída la muestra de ADN mediante BC o AC, hay distintos tipos de estudios genéticos que se pueden realizar individualmente o en combinación dependiendo de la indicación. (2)

**-FISH (hibridación fluorescente in situ):**

Realiza el recuento de cromosomas y los localiza de manera sencilla y rápida (no precisa cultivo). Identifica determinadas deleciones, duplicaciones y traslocaciones, así como aneuploidías frecuentes (cromosomas 21, 13, 18, X e Y). No identifica pequeñas mutaciones, microdeleciones o inserciones, ni la monosomía uniparental. Su uso debería ser casi exclusivamente el estudio de aneuploidías prenatales, aunque le está ganando el terreno la QF-PCR. (2, 21)

**-QF-PCR:** permite detectar las anomalías cromosómicas numéricas más frecuentes analizando los marcadores polimórficos de los cromosomas 21, 18, 13, X e Y, siendo esta su principal indicación. Es rápida (menos de 24 horas, como FISH), precisa y su coste es menor que el del cariotipo. Su desventaja es que un pequeño porcentaje de casos con anomalía cromosómica puede pasar desapercibido. (2, 8)

Está especialmente indicada en el grupo de alto riesgo en el CCPT sin anomalía estructural y con TN < o percentil 99. En caso de TN > o igual al percentil 99 o reordenación cromosómica familiar debe acompañarse de microarray (o cariotipo si este no estuviese disponible).

Si se detecta una T13 o T21 en la QF-PCR hay que realizar un cariotipo que descarte que uno de los progenitores sea portador sano de una traslocación robertsoniana. (2)

Estas dos técnicas no permiten conocer la arquitectura cromosómica, como sí lo permite el cariotipo, pero son muy rápidas. Por ello son técnicas de elección de entrada (aisladas o en paralelo), especialmente en casos con sospecha sindrómica clara. (8, 21)

**-Cariotipo:** es el patrón de oro para el diagnóstico prenatal de anomalías cromosómicas. (2, 8, 22)

Consiste en el análisis microscópico de los cromosomas obtenidos a partir del cultivo de las células fetales donde se estimula la división y se detiene en metafase. (2, 8)

Se pueden detectar traslocaciones, deleciones o alteraciones del número de cromosomas enteros. Una ventaja es que muestra la localización del material genómico del genoma completo. El inconveniente es que no detecta el origen de la alteración, ni tampoco pequeñas ganancias o pérdidas de ADN (resolución genómica limitada) además de que depende del cultivo (contaminación, crecimiento lento) (2, 8, 28)

**-Microarray:**

En los últimos 10 años se han publicado numerosos estudios sobre su uso en diagnóstico prenatal, incorporándose recientemente al grupo de herramientas para el diagnóstico genético. (21, 22)

Es un método basado en el análisis molecular realizado con una pequeña cantidad de ADN (no requiere cromosomas en metafase como el cariotipo). Puede medir las ganancias y pérdidas del ADN en todo el genoma con mayor resolución (10-300 Kb) que los métodos anteriores (mayor capacidad diagnóstica). Es automatizable, robusto y reproducible (fiabilidad) (2, 27)

El análisis de microarrays cromosómicos (CMA) examina todo el genoma enriqueciendo las regiones de interés. Hay dos tipos, la CGH (hibridación genómica comparativa de matriz) y la SNP (matriz de polimorfismos de un solo nucleótido). No requiere cultivo, y los resultados pueden estar disponibles en una o dos semanas. (2, 22, 24)

El CMA puede detectar aneuploidías cromosómicas y grandes reordenamientos cromosómicos como el cariotipo. Y ofrece beneficios adicionales al revelar anomalías submicroscópicas como microdeleciones y microduplicaciones, no detectadas por el cariotipo. Estas anomalías, se llaman “variantes del número de copias”, que son una variación del número esperado de copias de un segmento de ADN. No todas estas alteraciones microscópicas están asociadas con fenotipos clínicos adversos (aunque están altamente correlacionadas con la presencia de anomalías fetales estructurales), en muchos casos se encuentran en fetos normales. Esto supone un desafío para el diagnóstico prenatal y el asesoramiento genético para informar resultados complejos. (2, 8, 24, 25, 27, 28)

Diversos estudios han demostrado que la mayoría de alteraciones (99,5%) detectadas por cariotipo lo serían también por microarrays, observándose un diagnóstico incremental de alrededor del 3-8% cuando hay malformaciones en ecografía y el cariotipo es normal. No obstante, su rendimiento varía en función de la indicación: (8, 16, 21, 22)

- Fetos con malformaciones identificadas por ecografía: 4-10% (Cardiopatías: 7%, si esta se asocia a otra malformación 12%). Así pues, el mayor valor añadido del microarray se produce en fetos con resultados anormales en la ecografía. (26)
- Cribado positivo y/o edad materna avanzada: 1-1,5%.

Aun así, presenta limitaciones, siendo las principales: (8, 22, 27, 28)

- No es capaz de detectar alteraciones estructurales equilibradas (sin cambio neto en el número de copias, translocaciones, inversiones, mutaciones puntuales)
- No detecta mosaicismos de bajo grado (por debajo de 20-30%) ni diferencia la población clonal (problema en mosaicos completos).
- No detecta triploidías completas, ni poliploidías (ejemplo: 69 XXX)
- No puede detectar expansiones de tripletes ni secuencias repetitivas (ejemplo: corea de Huntington).
- No detecta regiones de homocigosidad como en la disomía uniparental (ejemplos: Síndrome de Angelman con dos alelos paternos o Síndrome de Prader-Willi con dos alelos maternos)
- Coste elevado. A medida que el poder de diagnóstico del microarray ha aumentado, se han considerado enfoques nuevos de coste-beneficio. En nuestro caso, el coste en 2017 de cada prueba de microarray solicitada desde el HUMS fue de 365 euros.
- Otro inconveniente es el hallazgo de variables de significado incierto (VOUS), hallazgos no relacionados o indicadores de enfermedad de inicio en la edad adulta.

Aunque, el estudio Hay SB., 2018 ha comprobado que la tecnología de microarrays basada en SNP puede detectar triploidías y homocigosidad.

Es necesario realizar un asesoramiento genético completo pretest y postest a la paciente por parte de un profesional con conocimientos genéticos sobre los beneficios, limitaciones y resultados del análisis de microarrays (genetista, obstetra). La finalidad del asesoramiento es dar la información lo más completa y comprensible para que la madre o la pareja decida con libertad si continuar con la gestación o interrumpirla, de acuerdo con la ley. En ningún caso debe tener una naturaleza directiva (30)

Es imprescindible que la paciente firme el consentimiento informado, que debe incluir información sobre la posibilidad de identificar VOUS, de no paternidad, de consanguinidad y enfermedad de inicio en el adulto. (22, 24, 27, 28)

La inclusión de la información sobre las VOUS está en debate, puesto que estos resultados inciertos no se pueden catalogar con seguridad en patológicos o normales. (8, 22, 29)

Según Suela J. et al, 2016, debe establecerse una estrategia para informar de las VOUS antes de realizar el estudio de microarray. La estrategia puede ser informar de todos los hallazgos, informar solo los hallazgos compatibles con antecedentes/hallazgos ecográficos o no informar de estos hallazgos. Esto debe de ser especificado en el consentimiento informado para que la gestante conozca claramente lo que se le va a reportar.

En el HUMS se informan los resultados de VOUS recogidos en las indicaciones de las guías y aquellos que por el gen o región a la que afectan pudieran tener repercusiones patológicas en el feto. En todos los casos, se explica la situación a los padres, haciéndoles saber que no es clara la repercusión que estos resultados tienen. Además, se hace un estudio genético a los padres (o a los familiares que sea necesario) para buscar la misma alteración, viendo si tiene repercusiones o no, para determinar si es una alteración de novo o hereditaria, dado que el asesoramiento genético cambia.

En la **TABLA IV** se exponen las recomendaciones de uso recogidas en diferentes guías.

En España no hay todavía una guía de recomendaciones consensuada, se están intentando definir las recomendaciones, pero son bastante generales. Actualmente, hay centros que usan el microarrays con todas las embarazadas a las que se les realiza una técnica invasiva, otros tienen indicaciones específicas y hay centros que aún no lo emplean ni en las situaciones recomendadas internacionalmente. (22)

### **-DIAGNÓSTICO PRENATAL EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO MIGUEL SERVET:**

En el HUMS el tipo de pruebas genéticas varía según las indicaciones por las que se han pedido. Las estrategias de diagnóstico que se siguen son las siguientes: **ANEXO I**

- Si la indicación ha sido por hallazgo ecográfico (malformación y/o  $TN \geq p99$ ) y la edad gestacional es menor a 18 semanas se hace primero una prueba rápida QF-PCR o FISH, y además el cariotipo. Si el resultado del Cariotipo es normal se realizaría un estudio de microarray.
- Si la indicación ha sido por hallazgo ecográfico (malformación y/o  $TN \geq p99$ ) y la edad gestacional es mayor a 18 semanas se hace primero una prueba rápida QF-

PCR o FISH y si este resultado es normal sin esperar al resultado del cariotipo se envía a analizar el microarray.

- Si existe riesgo elevado de cromosomopatía (T21, T13 o T18) en el CCPT (incluyendo el alto riesgo en el TFNI) o del segundo trimestre: Primero se hace QF-PCR como prueba rápida (si este resultado es patológico ya se informa a la gestante inmediatamente) y otra parte de la muestra se cultiva para realizar el cariotipo.
- Si  $TN < p99$  y no tiene marcadores ecográficos: QF-PCR junto a cariotipo serían suficientes.

El microarray se emplea en el HUMS desde 2014. Actualmente se emplea en las siguientes indicaciones:

- Malformaciones detectadas por ecografía.
- $TN \geq p99$ .
- Otras indicaciones: antecedentes de riesgo, tras cariotipo si en este salen translocaciones “de novo”, cromosoma marcador...
- En caso de muerte fetal, se realiza microarray si esta se ha producido a partir del segundo trimestre.

Antes de realizar el microarray, se realiza una prueba rápida, QF-PCR habitualmente (permite conocer el sexo para interpretar el microarray) y además parte de la muestra se cultiva para el análisis citogenético mediante el cariotipo, realizado simultáneamente a todas las muestras, disponiendo de esta forma de una mayor cantidad de material genético.

## **6.6. ANALISIS DE LOS RESULTADOS DEL CRIBADO Y DIAGNÓSTICO DE CROMOSOMOPATÍAS OBTENIDOS EN EL HUMS DURANTE EL AÑO 2017.**

Durante 2017 se registraron en el HUMS 3761 partos con 3919 nacidos.

En el periodo referido el **total de casos con cribado** fue de 3837 (97,9%) sobre el total de nacidos.

De estos, a 3389 se les realizaron cribados del primer trimestre (86,4%) y a 448 cribados del segundo trimestre (11,47%).

-Se calculó el porcentaje de **población con riesgos de 0-50, de 50-1000 y de 51-1000 en el cribado combinado y el cribado del segundo trimestre:**

- a. 3389 cribados del primer trimestre. En la **TABLA V** se presentan estratificados los casos según el riesgo de trisomía 21.
- b. 448 cribados del segundo trimestre. En la **TABLA VI** se presentan estratificados los casos según el riesgo de trisomía 21.

-A continuación, se expone el porcentaje de **gestantes a las que se les solicita el test fetal no invasivo (TFNI):**

Se solicitaron 541 procedimientos (13,4% del total de cribados realizados)

-502 fueron solicitados por tener un riesgo intermedio el cribado del 1º o 2º trimestre. Resultando un 93% de todos los TFNI solicitados.

-39 de test fueron indicados fuera de dicho cribado combinado o 2º trimestre (primera visita mayor a semana 19, edad materna y segundo trimestre, mujeres de alto riesgo que no quisieron hacerse TI y se les hizo TFNI...). Fueron un 7% de los TFNI.

**-Porcentaje de gestantes con técnica invasiva (TI):**

En 2017 se efectuaron 214 procedimientos invasivos de diagnóstico prenatal: 57 biopsias coriales (26,6%) y 157 amniocentesis (73,4%). Con una tasa de TI sobre el número de nacidos en el mismo periodo (3919) de 5,4%. No se produjo ninguna pérdida fetal por la realización de TI.

**Según el tipo de prueba de análisis genético empleada se obtuvieron los siguientes resultados: TABLA VII**

-De las 57 (26,6%) biopsias coriales realizadas:

- En 56 casos (98,25% de biopsias coriales) se analizó el cariotipo obteniendo resultados. En 1 de los casos (1,8%) no fue posible obtener resultados porque no hubo crecimiento.
- En 34 casos (59,7%) se realizó QF-PCR.
- En 15 casos (26,3%) se realizó FISH.
- En 28 casos (49,1%) se realizó microarray.
- En 4 casos (7%) se realizaron otros estudios.

-De las 157 (73,4%) amniocentesis realizadas:

- En 150 casos (95,5% de amniocentesis) se analizó el cariotipo con éxito. En 2 casos (1,3%) no se obtuvo crecimiento y en 3 casos (1,9%) la muestra estaba contaminada.
- En 109 casos (69,4%) se realizó QF-PCR.
- En 35 casos (22,2%) se realizó FISH.
- En 107 casos (68%) se realizó microarray.
- En 9 (5,7%) se realizaron otros estudios.

-De las 214 técnicas invasivas realizadas:

- En 206 casos (96,3% del total TI) se realizó cariotipo con éxito. En 5 casos no se obtuvo crecimiento (2%) y 1 caso estaba contaminado (0,47%)
- En 143 casos se realizó QF-PCR (66,8%).
- En 50 casos (35%) se realizó FISH.
- En 135 casos (63%) se realizó microarray.
- En 13 casos (6%) se realizaron otras técnicas.

Concluimos que se realizaron más amniocentesis que biopsias coriales y que la técnica más empleada fue el cariotipo en ambos casos, seguida del QF-PCR (muchas veces se realizan juntas).

Señalar que las pruebas no se realizan de forma exclusiva, es decir, hay pacientes a las que se les ha realizado más de una de las pruebas.

#### **-Según los resultados obtenidos en las técnicas invasivas: TABLA VIII**

De las 57 BC realizadas:

- 37 han sido normales (65%)
- En 19 se han obtenido resultados patológicos (33%)
- En 1 no se ha podido obtener crecimiento en el cariotipo por muestra insuficiente y en otra el resultado obtenido en el microarray no era concordante con el del cariotipo.

De las 157 AC realizadas:

- 137 han sido normales (87%)
- En 18 se han obtenido resultados patológicos (11%)

- 2 casos han sido VOUS en el microarray (1,3%)

Del total de pruebas invasivas realizadas (214):

- 147 (81%) han sido normales.
- En 37 (17%) se han obtenido resultados patológicos.
- En 2 casos (0,9%) ha salido VOUS en el microarray.
- En 2 casos (0,9%) no se ha podido obtener crecimiento o el resultado de microarray no era concordante con cariotipo.

La tasa detección por TI fue: 1/5,9

### **-Según los resultados patológicos obtenidos:**

-De los resultados patológicos obtenidos en las biopsias coriales realizadas: 19 casos patológicos de 57 BC:

- Detectados por cariotipo: 15 (79% de los 19 casos patológicos):  
-5 fueron Síndrome de Edwards, 5 fueron Síndrome de Down, 3 fueron Síndrome de Patau, 2 fueron 47 XY/ 46XX y 1 fue 70 XXX.
- Detectados por microarray (con cariotipo y QF-PCR normal): 1 (5% de los 19 casos patológicos): 1 microdelección 22q11.2.
- Detectados por otras técnicas: 3 (15,8% de los 19 casos patológicos)  
-1 Inmunodeficiencia combinada ORA/1 (con cariotipo normal)  
-1 Mutación en MFN2 (con cariotipo y QF-PCR normales)  
-1 X frágil premutación (con cariotipo y QF-PCR normales)

-Se detectó por Array 1 caso patológico que el cariotipo no habría detectado, una microdelección en este caso.

-De los resultados patológicos obtenidos en las amniocentesis realizadas: 18 casos patológicos de 157 amniocentesis:

- Detectados por cariotipo: 15 (83% de los 18 casos patológicos)  
-3 fueron Síndrome de Edwards, 5 fueron Síndrome de Down, 1 fue 47 XXX, 1 fue 69 XXY, 1 fue 46 XX det (7) (q35), 1 fue XY del (15), 1 fue 46 XY del (18), 1 fue Síndrome de Turner y 1 fue 45XX.
- Detectados por microarray (con cariotipo normal): 1 (5,6% de los 18 casos patológicos)

-47 XXY en mosaico 20%. Después se realizaron FISH y otras pruebas y no se confirma el resultado obtenido en microarray y CF-PCR.

- Detectados por otras técnicas: 2 (11%)
  - 1 fue AFP= 31968.
  - 1 fue AFP mayor de 80000.

-Se detectó por microarray 1 caso patológico, no obstante, no concuerda el resultado obtenido con las demás pruebas realizadas (FISH + otras)

### **Según las indicaciones por las que se realizó la técnica invasiva:**

\*Los datos no son exactos porque hay pacientes a las que se les realizó la técnica invasiva por varias indicaciones a la vez. Por lo tanto, dichas pacientes estarán dentro de grupos diferentes de indicaciones.

-Indicaciones de biopsias coriales: 57. Desglosadas en la **TABLA IX.**

Dentro de las malformaciones congénitas se dividen en: 7 cardíacas, 4 del sistema nervioso y 1 urológica.

El mayor porcentaje de biopsias coriales se ha realizado por la obtención de un riesgo alto en el cribado prenatal de cromosomopatías, seguido de las malformaciones congénitas (dentro de las cuales predominan las cardíacas).

-Indicaciones amniocentesis: 157. Desglosadas en la **TABLA X.**

Dentro de las malformaciones congénitas se dividen en: 32 cardíacas, 20 del sistema nervioso, 15 urológicas, 6 de manos y pies, 3 de tórax, 2 de abdomen, 2 acondroplasias, 2 polimalformaciones.

El mayor porcentaje de amniocentesis se han realizado con la indicación de malformaciones congénitas, siendo también en este caso las malformaciones cardíacas las más numerosas, seguidas de las del sistema nervioso. El segundo mayor número de indicaciones son el cribado de alto riesgo de cromosomopatías.

## **7. DISCUSIÓN**

La incidencia de cromosomopatías está aumentando debido principalmente al aumento en la edad a la que se quedan embarazadas las mujeres.

En los últimos años se han producido avances en el diagnóstico prenatal de cromosomopatías como son el test fetal no invasivo, como forma de cribado, y el microarray, como técnica de diagnóstico genético. Aunque todavía es necesario seguir estudiándolos en mayor profundidad, es ineludible replantearse modificaciones en el cribado establecido, de manera que los incluya.

Todavía no se ha establecido una pauta común de cribado en toda España. Aragón ha sido una de las comunidades autónomas pioneras en unificar las pautas para la realización del cribado, mediante la elaboración de un protocolo común para todos sus hospitales en el cual incluye las indicaciones de test fetal no invasivo como las de microarray.

El objetivo de las pruebas de cribado es detectar los casos de alto riesgo que se pueden beneficiar de una técnica invasiva para el diagnóstico, siendo el test fetal no invasivo la mejor prueba para esto.

La forma de introducir el TFNI al cribado empleado, que principalmente es el cribado combinado del primer trimestre como punto de partida y el cuádruple test en el segundo cuatrimestre, todavía está sometido a debate. Los estudios comparan su introducción como cribado de forma universal o contingente (combinado con el CCPT), siendo el cribado contingente el que apoyan la mayoría de ellos, el recomendado por la SEGO y empleado en Aragón. El apoyo a realizarlo de forma contingente viene dado por su mejor coste-efectividad, su mayor sensibilidad en los casos de alto riesgo y el beneficio de seguir realizándose el CCPT que aporta información adicional y necesaria como son las anomalías estructurales detectadas en la ecografía.

Otro aspecto debatido es el punto de corte establecido en el CCPT a partir del cual realizar el TFNI.

El estudio de Bayón Yusta JC et al., 2016 concluye que el TFNI empleado como prueba contingente para las pacientes con riesgo intermedio, con punto de corte  $\geq 1:270$  (el punto de corte recomendado por la SEGO) no es coste-efectivo, porque detecta menos casos que el cribado habitual y el coste es ligeramente menor. No obstante, si el punto de corte disminuye a 1:500 o 1:1.000, que es el establecido en el nuevo protocolo de Aragón,

el número de casos de T21 detectados aumentaría, a un precio un 4% superior, lo que puede ser una alternativa coste-efectiva. Emplear el TFNI en el grupo de riesgo intermedio, también es apoyado en el estudio Kagan K.O. et al., 2017, en la revisión bibliográfica Smith M., 2013 y en el estudio Gil M.M et al., 2016, con diferentes puntos de corte.

Por otro lado, García Pérez L, et al., 2016 y Guanciali Franchi P. et al., 2017, respaldan la decisión de introducir el TFNI como prueba contingente, pero recomiendan emplearla en los embarazos con alto riesgo de trisomías 21, 18 y 13, a diferencia de la SEGO y Aragón que lo recomiendan en riesgo intermedio.

Valorar el coste-efectividad del TFNI es una tarea compleja porque depende de diversos factores, principalmente del precio del mismo (el cual es diferente en los distintos países y en las clínicas privadas), de la cantidad de embarazadas a las que se les realiza y del dinero que se incrementaría/ ahorraría por hacer/ dejar de hacer otras técnicas como las técnicas invasivas o el cribado actual si se sustituyese por el TFNI de forma universal. Algunos estudios apuntan a que si se disminuye el precio del TFNI quizá podría ser coste-efectivo el TFNI como cribado universal, acompañado por la ecografía del primer trimestre. Por lo tanto, del estudio económico podemos saber estimaciones que deben ser estudiadas en mayor profundidad.

En el HUMS el coste del TFNI es de 280 euros. En el 2017 se realizaron en el HUMS 541 TFNI, por lo que el coste anual del TFNI fue de 151.480 euros. A un 13,4% del total de gestantes sometidas a cribado, se les realizó el TFNI, siendo el indicador estándar era 10-12%. El mayor porcentaje obtenido puede ser debido a los TFNI que se realizaron fuera de protocolo, entre los cuales un número considerable de mujeres rechazó la TI y por ello se les realizó TFNI.

Tanto la SEGO como el protocolo de Aragón como todos los estudios mencionados, coinciden en que el TFNI es un método exclusivamente de cribado y puesto que no es 100% específico y pueden existir falsos positivos, todos los resultados de alto riesgo en el TFNI deben ser confirmados con una técnica invasiva (biopsia corial o amniocentesis). Puesto que solo se debe realizar técnica invasiva en los casos de alto riesgo, el uso del TFNI, disminuye el número de las mismas, siendo menores, por tanto, las pérdidas fetales asociadas a las mismas. En el HUMS en 2017 la tasa de TI fue de 5,4%, siendo el indicador estándar 3-5%.

En el ámbito de los análisis realizados a partir del material genético obtenido en las TI, se ha introducido una nueva técnica en los últimos años llamada microarray, el cual se realiza de manera complementaria al FISH, Qf-PCR y al cariotipo. En España y en concreto en Aragón ya se está realizando el análisis mediante microarray en indicaciones establecidas desde 2014.

En el HUMS en 2017, se realizaron 214 TI. De ellas se detectaron por microarray 2 casos patológicos (una microdelección y un resultado no concordante con FISH) adicionales que no fueron detectados por cariotipo (un 1% extra frente a cariotipo), en 2 casos se obtuvieron VOUS en el microarray y en 2 casos no se pudo obtener crecimiento o no concordaba el resultado del array con el cariotipo.

De los resultados patológicos que se obtuvieron, 3 fueron detectados tras la indicación de TI por alto riesgo en el TFNI. Uno fue 47 XY/46 XX, otro una microdelección y una trisomía 21. Las cromosomopatías detectadas por alto riesgo en el CCPT (1/50) sin tener en cuenta la TN fueron cuatro: dos T.21 (riesgo para T21, 1/5 y 1/7), un Síndrome de Patau (riesgo 1/7 para T21, riesgo 1/8 para T18) y un 47XY (+22) (riesgo para T21, 1/5)

Por lo tanto, todas las cromosomopatías detectadas por alto riesgo en el CCPT en el HUMS en 2017 estuvieron en el rango de  $\geq 1/10$ . En el 8º curso de formación continuada de la AGOA (Asociación de Obstetras y Ginecólogos de Aragón), que tuvo lugar en mayo de 2018 en Zaragoza, se realizó una ponencia donde se expusieron los datos del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Entre estos datos, destaca que tampoco hubo casos de T21 entre 1/10 y 1/50, todos tenían un riesgo de  $\geq 1/10$ . Una futura posible modificación del protocolo sería restringir las pruebas invasivas al riesgo  $\geq 1/10$  y TFNI a 1/10-1000. Para ello habría que realizar un periodo de seguimiento más amplio y ver los resultados obtenidos en el resto de hospitales de Aragón.

La finalidad tanto del cribado como del diagnóstico de anomalías cromosómicas es proporcionar toda la información de manera clara para que la madre o la pareja, según los resultados, decida libremente si seguir con la gestación o poner fin a esta legalmente. Para todas las pruebas es necesario firmar un consentimiento informado.

A las pacientes que se les va a realizar pruebas de análisis genético tras realizar la técnica invasiva es necesario que un experto (genetista, obstetra) les proporcione un asesoramiento genético completo tanto pretest como postest, para que decida con libertad y en ningún caso de forma directiva.

## **8. CONCLUSIONES.**

- El cribado prenatal de cromosomopatías se debe ofrecer a todas las embarazadas con el fin de detectar los embarazos con alto riesgo, los cuales se beneficiarían de una prueba invasiva.
- Es necesario realizar una técnica invasiva (BC o AC) para confirmar que existe una anomalía genética.
- La Comunidad de Aragón es pionera a nivel nacional en la creación y utilización de un protocolo común de diagnóstico prenatal que integra a todos sus hospitales públicos.
- El CCPT es el punto de partida del cribado de cromosomopatías en prácticamente toda España.
- El TFNI es el método de cribado más eficiente. La mayoría de estudios apoya su introducción de manera contingente (combinado con CCPT)
- Respecto al TFNI:
  - La sensibilidad y tasa de detección es mayor para la detección de T21 que para T18 y T13. La sensibilidad aumenta en los grupos de alto riesgo y en embarazos únicos comparados con gemelares. La especificidad es elevada en las tres trisomías.
  - La tasa de falsos positivos es baja, pero no se puede despreciar.
  - La tasa de fallos del test tiene un rango amplio y debe de tenerse en cuenta, es debida sobre todo a una baja cantidad de fracción fetal (< 4%)
  - Disminuye el número de TI y de pérdidas fetales relacionadas con las mismas.
- FISH y QF-PCR son pruebas genéticas que permiten tener los resultados rápidamente para aneuploidías frecuentes, por lo tanto, se suelen realizar inicialmente en todos los casos que se les ha realizado TI.
- El cariotipo es el patrón de oro para la detección de anomalías cromosómicas, permitiendo ver dónde se localizan las mismas.
- El microarray proporciona el diagnóstico adicional de microdelecciones y microduplicaciones que no pueden ser detectadas por el cariotipo. No obstante, tiene limitaciones de diagnóstico, entre ellas el hallazgo de VOUS.

## **9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. González de Agüero R, Lerma D, Corbacho M, Revilla C. Protocolo regional de diagnóstico prenatal de defectos congénitos. Nueva estrategia para la detección de aneuploidías fetales. 2016.
2. Adiego B, Antolin E, Arenas J, Carreras E, Comas C, Delgado J.L, et al. Guía de práctica clínica: Cribado y diagnóstico precoz de anomalías genéticas. SEGO. 2017: 1-43. Disponible en: [https://sego.es/GAP\\_SEGO](https://sego.es/GAP_SEGO)
3. Alldred SK, Takwoingi Y, Guo B, Pennant M, Deeks JJ, Neilson JP, Alfirevic Z. First trimester ultrasound tests alone or in combination with first trimester serum tests for Down's syndrome screening. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017. 3. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28295158>
4. Grupo de trabajo de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. Guía de práctica clínica: diagnóstico prenatal de los defectos congénitos. cribado de anomalías cromosómicas. *Diagn prenatal [Internet].* 2013 [citado 10 Mar 2018]; 24 (2): 57-72. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-diagnostico-prenatal-327-articulo-guia-practica-clinica-diagnostico-prenatal-S2173412712001059>
5. García Pérez L, Ferrer Rodríguez J, Pino Sedeño T, Álvarez de la Rosa Rodríguez M, Imaz Iglesia I, Toledo Chávarri A, et al. Análisis de ADN fetal en sangre materna para la detección de trisomías 21, 18 y 13. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud; 2016. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Disponible en: [http://www.redets.msssi.gob.es/documentos/SESCS\\_2016\\_CPNI\\_trisomias21\\_18\\_13.pdf](http://www.redets.msssi.gob.es/documentos/SESCS_2016_CPNI_trisomias21_18_13.pdf)
6. EUROCAT (2010), EUROCAT Special Report: Prenatal Screening Policies in Europe 2010", EUROCAT Central Registry, University of Ulster. Disponible en: <http://www.eurocat-network.eu/content/Special-Report-Prenatal-Screening-Policies.pdf>
7. Alldred SK, Deeks JJ, Guo B, Neilson JP, Alfirevic Z. Second trimester serum tests for Down's Syndrome screening. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012. 6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22696388>.
8. Bayón Yusta JC, Orruño Aguado E, Portillo Villares MI, Asua Batarrita J. Cribado prenatal para la detección del síndrome de Down mediante el análisis de ADN fetal en sangre materna. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación de Tecnologías Sanitarias del País Vasco; 2016. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias: OSTEBA. Disponible en: [http://www.ogasun.ejgv.euskadi.eus/r51-catpub/es/k75aWebPublicacionesWar/k75aObtenerPublicacionDigitalServlet?R01HNoPortal=true&N\\_LIBR=051918&N\\_EDIC=0001&C\\_IDIOM=es&FORMATO=.pdf](http://www.ogasun.ejgv.euskadi.eus/r51-catpub/es/k75aWebPublicacionesWar/k75aObtenerPublicacionDigitalServlet?R01HNoPortal=true&N_LIBR=051918&N_EDIC=0001&C_IDIOM=es&FORMATO=.pdf)
9. Gil MM, Revello R, Poon LC, Akolekar R, Nicolaidis KH. Clinical implementation of routine screening for fetal trisomies in the UK NHS: cell-free DNA test contingent on results from first-trimester combined test. *Ultrasound Obstet Gynecol [Internet].* 2016 [citado 16 Mar 2018]; 47: 45–52. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26498918>.
10. Kagan KO, Sonek J, Wagner P, Hoopmann M. Principles of first trimester screening in the age of non-invasive prenatal diagnosis: screening for chromosomal abnormalities. *Arch Gynecol Obstet [Internet].* 2017 [citado 16 Mar 2018]; 296(4):645-651. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28702698>
11. Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J, Agbebiyi A, Uthman OA, Madan J, et al. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open [Internet].* 2016 [citado 20 Mar 2018]; 6 (1). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4735304/>

12. 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* [Internet]. 2015 [citado 20 Mar 2018]; 45: 249–266. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25639627>
13. Palomaki GE, Deciu C, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Neveux LM, et al. DNA sequencing of maternal plasma reliably identifies trisomy 18 and trisomy 13 as well as down syndrome: an international collaborative study. *Genet Med* [Internet]. 2012 [citado 21 Mar 2018]; 14(3):296–30. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3938175/>
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* [Internet]. 2017 [citado 21 Mar 2018]; 50: 302–314. Disponible en: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/uog.17484>
15. Guanciali Franchi P, Palka C, Morizio E, Sabbatinelli G, Alfonsi M, Fantasia D, et al. Sequential combined test, second trimester maternal serum markers, and circulating fetal cells to select women for invasive prenatal diagnosis. *PLoS One* [Internet]. 2017 [citado 24 Mar 2018]; 12(12): e0189235. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5720779/>
16. Amorim Costa C. Non-invasive prenatal screening for chromosomal abnormalities using circulating cell-free fetal DNA in maternal plasma: Current applications, limitations and prospects. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics* [Internet]. 2017 [citado 24 Mar 2018]; 18 (1): 1-104. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/journal/egyptian-journal-of-medical-human-genetics/vol/18/issue/1>
17. Badeau M, Lindsay C, Blais J, Nshimyumukiza L, Takwoingi Y, Langlois S, et al. Genomics-based non-invasive prenatal testing for detection of fetal chromosomal aneuploidy in pregnant women. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017. Disponible en: <http://cochranelibrary-wiley.com/wol1/doi/10.1002/14651858.CD011767.pub2/full>
18. Norton ME, Jacobsson B, Swamy GK, Laurent LC, Ranzini AC, Brar H, et al. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy. *N Engl J Med* [Internet]. 2015 [citado 24 Mar 2018]; 372 (17):1589-1597. Disponible en: [http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1407349?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%3dwww.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1407349?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dwww.ncbi.nlm.nih.gov)
19. Smith M, Visootsak J. Noninvasive screening tools for Down syndrome: a review. *International Journal of Women's Health* [Internet]. 2013 [Citado 5 Abr 2018];5: 125-131. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3655554/>
20. Nshimyumukiza L, Menon S, Hina H, Rousseau F, Reinharz D. Cell-free DNA noninvasive prenatal screening for aneuploidy versus conventional screening: a systematic review of economic evaluations. *Clin Genet* [Internet]. 2017 [Citado 12 Abr 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29030960>
21. Bornstein E, Berger S, Cheung SW, Maliszewski KT, Patel A, Pursley AN, Lenchner E, Bacino C, Beaudet AL, Divon MY. Universal Prenatal Chromosomal Microarray Analysis: Additive Value and Clinical Dilemmas in Fetuses with a Normal Karyotype. *Am J Perinatol* [Internet]. 2017 [Citado 12 Abr 2018]; 34 (4):340-348. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27533100>
22. Suela J, et al. Recomendaciones para el uso de microarrays en el diagnóstico prenatal. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2017 [citado 13 Abr 2018]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2016.12.028>
23. Allyse M, Minear MA, Berson E, Sridhar S, Rote M, Hung A, Chandrasekharan S. Non-invasive prenatal testing: a review of international implementation and challenges. *Int J Womens*

- Health [Internet]. 2015 [citado 13 Abr 2018]; 7:113-26. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4303457/>.
24. Levy B, Wapner R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis. *Fertnstert* [Internet]. 2018 [citado 16 Abr 2018]; 109 (2): 201-212. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.01.005>
25. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, et al. Chromosomal Microarray versus Karyotyping for Prenatal Diagnosis. *The New England journal of medicine* [Internet]. 2012 [Citado 16 Abr 2017];367(23):2175-2184. Disponible en: doi:10.1056/NEJMoa1203382.
26. Swedish Council on Health Technology Assessment. Prenatal Diagnosis Through Chromosomal Microarray Analysis (CMA). SBU Assessments No. 246. 2016. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448035/>
27. American College of Obstetricians and Gynecologists. Microarrays and next-generation sequencing technology: the use of advanced genetic diagnostic tools in obstetrics and gynecology. Committee Opinion No. 682. *Obstet Gynecol* [Internet]. 2016 [Citado 18 Abr 2017]; 128: 262-268.
28. Armour CM, Dougan SD, Brock JA, Chari R, Chodirker BN, Debie I, et al. Practice guideline: joint CCMG-SOGC recommendations for the use of chromosomal microarray analysis for prenatal diagnosis and assessment of fetal loss in Canada. *J Med Genet* [Internet]. 2018 [Citado 18 Abr 2017]; 55:215–221.
29. Gardiner C, Wellesley D, Kilby MD, Kerr B. Recommendations for the use of chromosome microarray in pregnancy. *The Royal College of Pathologists* [Internet]. 2015 [citado 18 Abr 2018]. Disponible en: [http://www.bsgm.org.uk/media/956141/g144\\_useofcmapregnancy\\_jun15.pdf](http://www.bsgm.org.uk/media/956141/g144_useofcmapregnancy_jun15.pdf)
30. Informe del Comité de Bioética de España sobre el consejo genético prenatal.
31. Hay SB, Sahoo T, Travis MK, Hovanes K, Dzidic N, Doherty C, et al. ACOG and SMFM guidelines for prenatal diagnosis: Is karyotyping really sufficient?. *Prenatal diagnosis* [Internet]. 2018 [citado 20 Abr 2018]; 1-6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29315677>
31. Lovrecic L, Remec ZI, Volk M, Rudolf G, Writzl K, Peterlin B. Clinical utility of array comparative genomic hybridisation in prenatal setting. *BMC Med Genet* [Internet]. 2016 [citado 20 Abr 2018]; 17(1):81. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5111187/>
32. GAP SEGO. Control prenatal del embarazo normal. 2017.

**10. ANEXOS****TABLA I:** Rendimiento de los diferentes métodos de cribado. (2)

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

**TABLA II:** Objetivos de exploración de la ecografía en cada trimestre. (32)

Edad Gestacional	Ecografía del primer trimestre: 11-13 + 6 semanas
Objetivos	<ol style="list-style-type: none"> <li>1- Identificar el número de embriones.</li> <li>2- En el caso de gestación múltiple, diagnóstico de cigosidad.</li> <li>3- Identificación latido cardíaco embrionario.</li> <li>4- Estimación de edad gestacional según LCN.</li> <li>5- Medida TN (marcador cromosomopatía fetal)</li> <li>6- Observación morfología embrionaria.</li> <li>7- Identificar la existencia de patología uterina y anejos.</li> </ol>
Edad Gestacional	Ecografía del segundo trimestre: 18-21 + 6 semanas
Objetivos	<ol style="list-style-type: none"> <li>1-Diagnóstico de anomalías estructurales y marcadores de cromosomopatías.</li> <li>2-Si no se ha realizado ecografía de nivel básico del primer trimestre, incluye sus objetivos.</li> </ol>
Edad gestacional	Ecografía del tercer trimestre: 34-36 + 6 semanas
Objetivos	<ol style="list-style-type: none"> <li>1-Identificar la vitalidad y estática fetal.</li> <li>2-Estimar el crecimiento fetal.</li> <li>3-Diagnóstico de anomalías de localización placentaria (placenta previa).</li> <li>4-Diagnosticar anomalías del volumen del líquido amniótico.</li> <li>5-En casos indicados, estudios de flujos feto-placentarios con Doppler.</li> </ol>

**TABLA III:** Actuación en función de la cifra de riesgo y tipo de cribado. (1)

	ALTO RIESGO	RIESGO INTERMEDIO	BAJO RIESGO
	>1/50	1/50 a 1/1000	<1/1000
CCPT	Biopsia corial/ Amniocentesis	TFNI (*)	Ecografía semana 20
Cribado segundo trimestre	Amniocentesis	TFNI (*)	Ecografía semana 20
Sonograma genético	Amniocentesis	TFNI (< semana 20) Amniocentesis (> semana 20)	Control habitual

(\*) Cuando TN es > P99 y/o cuando exista algún defecto congénito, siempre TÉCNICA INVASIVA, independientemente del valor del cribado, para cariotipo y CGH-Arrays. A las gestantes que no se les ha podido realizar el CCPT y llegan a nuestra consulta antes de la semana 19, se les ofrece la realización del cribado bioquímico del 2º trimestre.

**TABLA IV:** Recomendaciones de uso de microarray según las siguientes guías:

Microarray en diagnóstico prenatal	RECOMENDACIONES DE USO
Guía Británica 2015 (The Royal College of Pathologists) (29)	Microarray tras QF-PCR normal:  1-Una o más anomalías estructurales en la ecografía.  2-Translucencia nucal aislada ( $\geq$ p99) en primer trimestre.  3-Aneuploidía cromosómica sexual que no explica la alteración ecográfica (ej: XXX, XXY y XYY).

<p>Suela J. et al, 2016 (22)</p>	<p>1-Embarazo con antecedentes personales/familiares o hallazgos ecográficos sugerentes de anomalía fetal asociada a una alteración genética o un síndrome concreto.</p> <p>2-Traslucencia nucal incrementada en el primer trimestre (<math>\geq</math> p99) con cariotipo previo normal.</p> <p>3-Cardiopatía congénita en 2º trimestre.</p> <p>Si después de realizar cariotipo/QF-PCR se descarta la presencia de las aneuploidías más frecuentes, se recomienda el uso de microarrays para el estudio de otros síndromes cromosómicos no detectables por cariotipo/QF-PCR.</p> <p>4-Ecografía con anomalía fetal inespecífica: procedimiento de primera línea microarrays para descartar cromosomopatías y otras alteraciones submicrosómicas o CIR grave y precoz. El cariotipo/QF-PCR se recomienda como 2º paso (o en paralelo) para descartar reordenamientos, cromosomas marcadores supernumerarios o triploidías.</p> <p>-Si la muestra ha sido obtenida con biopsia corial, dado que puede presentar mosaicismos (microarray no puede detectar dos linajes diferentes) o contaminación materna, se recomienda hacer QF-PCR previa y cultivo.</p> <p>-Si la muestra proviene de una amniocentesis, puede tener contaminación materna y por lo tanto se recomienda hacer cultivo confluyente.</p>
<p>Guía Canadiense 2017 (28)</p>	<p>1-Anomalías fetales múltiples identificadas por ecografía o translucencia nucal <math>\geq</math> p99.</p> <p>2-Defectos estructurales únicos en asociación con otros hallazgos ecográficos anormales (Ej: CIR, oligohidramnios).</p>

	<p>3-Para una sola anomalía fetal, debe considerarse para las malformaciones asociadas con una alta frecuencia de resultados anormales.</p> <p>4-Muerte fetal intrauterina (si tras realizar QF-PCR y cariotipo no se ha obtenido diagnóstico)</p>
<p>ACOG 2016 (27)</p>	<p>Microarray como primera línea en:</p> <p>1-Feto con una o más anomalías estructurales importantes identificadas en el examen ecográfico.</p> <p>2-Muerte fetal intrauterina (pero no en abortos de 1er o 2º trimestre)</p> <p>3-En ecografía fetal normal, elegir entre microarray o cariotipo. Nuevo estudio: Hay SB., 2018.</p>
<p>Hay SB., 2018 (Nuevo estudio realizado por ACOG y SMFM) (31)</p>	<p>-El 2.5% de los pacientes tendrán una anomalía cromosómica clínicamente significativa (CSCA) que puede pasar desapercibida si las guías continúan dando la opción de elegir entre microarray o cariotipo en los pacientes sin anomalía estructural en la ecografía.</p> <p>-Las pacientes a las que se les realiza una biopsia corial, son más propensas a tener anomalías cromosómicas detectables por microarrays que han sido omitidas por el cariotipo; dado que son a las que más frecuentemente se les oferta elegir entre microarray o cariotipo porque suelen tener una ecografía fetal normal.</p> <p>-Dado lo expuesto en este estudio, es importante volver a evaluar las recomendaciones publicadas sobre el uso de microarray en el diagnóstico prenatal.</p>

**TABLA V:** Cribados del primer trimestre realizados en el HUMS estratificados por riesgo.

Riesgo T21	Casos	Porcentaje
0-50	41	1,2%
51-1000	441	13%
Mayor de 1000	2937	86,6%

**TABLA VI:** Cribados del segundo trimestre realizados en el HUMS estratificados por el riesgo.

Riesgo T21	Casos	Porcentaje
0-50	5	1,1%
51-1000	61	13,6%
Mayor de 1000	382	85,2%

**TABLA VII:** Tipos de pruebas genéticas realizadas en el HUMS en 2017.

	CARIOTIPO	QF-PCR	FISH	ARRAY	OTROS
BIOPSIA CORIAL (57)	56 (98,25%) -sin crecimiento: 1 (1,8%)	34 (59,7%)	15 (26,3%)	28 (49,1%)	4 (7%)
AMNIOCENTESIS (157)	150 (95,5%) -sin crecimiento.: 2 (1,3%) -contaminada: 3 (1,9%)	109 (69,4%)	35 (22,2%)	107 (68%)	9 (5,7%)
TOTAL (214)	206 (96,3%) -sin crecimiento: 3 (1,4%) -contaminada: 3 (1,4%)	143 (66,8%)	50 (35%)	135 (63%)	13 (6%)

**TABLA VIII:** Resultados obtenidos en las pruebas invasivas en el HUMS en 2017

	NORMAL	PATOLÓGICO	VOUS EN ARRAY	NO RESULTADO/NO CONCORDANTE
BIOPSIA CORIAL (57)	37 (65%)	19 (33%)	0	1 (sin crecimiento en cariotipo) 1 (resultado no concordante en Array)
AMNIOCENTESIS (157)	137 (87%)	18 (11%)	2 (1,3%)	0
TOTAL (214)	174 (81%)	37 (17%)	2 (0,9%)	2 (0,9%)

**TABLA IX:** Indicaciones por las que se realizó biopsia corial en el HUMS en 2017

CRIBADO DE ALTO RIESGO	ABORTO	ANTECEDENTES DE RIESGO	PROGENITOR/ES PORTADORES DE RIESGO	EXITUS FETAL	MALFORMACIONES CONGÉNITAS
36	4 (7%)	2 (5,6%)	4 (11%)	3 (5,3%)	12 (21%)

**TABLA X:** Indicaciones por las que se realizaron amniocentesis en el HUMS en 2017.

CRIBADO DE ALTO RIESGO	ABORTO	ANTECED. DE RIESGO	PROGENIT. PORTAD. DE RIESGO	EXITUS FETAL	MALFORM. CONGENITAS	CIR	INFECCIONES	APP	ILE
47 (29,9%)	2 (0,12%)	12 (7,6%)	6 (3,8%)	5 (3,2%)	80 (51%)	10 (6,4%)	3 (2%)	1 (0,6%)	1 (0,6%)

**ANEXO I:** Estrategia de diagnóstico prenatal empleada en el HUMS.

