

	Sistema de Gestión de Calidad Registro	RG 55
		Rev. 02
Consentimiento informado para test prenatal no invasivo HÉRITAS PRENATAL VISIÓN		Sector: PGM

HÉRITAS PRENATAL VISIÓN¹ es un ensayo de screening no invasivo que permite detectar de forma segura, temprana y confiable aneuploidías cromosómicas en el feto².

A diferencia de la amniocentesis o la biopsia de vellosidades coriales (CVS, del inglés *Corionic Villus Sampling*) que son métodos invasivos, este test puede realizarse más tempranamente, a partir de la semana 9 de gestación desde ADN circulante libre en sangre materna y, por lo tanto, no conlleva riesgo alguno ni para la madre ni para el feto.

El ensayo **HÉRITAS PRENATAL VISIÓN** permite detectar:

- Las trisomías más frecuentes: **Trisomía 21 (Síndrome de Down)**, **Trisomía 18 (Síndrome de Edwards)** y **Trisomía 13 (Síndrome de Patau)**. En la Tabla 1 se detalla sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo.
- **Monosomía de X (Síndrome de Turner)**. En la Tabla 1 se detalla sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo.
- **El sexo fetal.**
- **Aneuploidías en los cromosomas 7, 9, 14, 15, 16 y 22**, asociados a retraso de crecimiento intrauterino (RCIU), pérdida de embarazo del primer trimestre, y algunos de ellos, asociados a trastorno de *imprinting* evidente luego de un rescate placentario trisómico anómalo. La evaluación de estos otros cromosomas si bien no está incluida como screening de rutina³ porque los tamaños muestrales reportados y confirmados son muy pequeños, y no permiten determinar el valor predictivo positivo (PPV) para dichas anomalías⁴, pueden asociarse a compromiso feto-placentario. Dichos hallazgos deberán correlacionarse con la evolución del embarazo, marcadores ecográficos fetales y bioquímicos de cada gestación.
- **Aneuploidías en los otros cromosomas diferentes a los descriptos previamente** que pudieran asociarse a screening combinado alterado, presencia de malformaciones fetales o gesta detenida.
- **Microdeleciones y/o Microduplicaciones patogénicas:** Se analizarán pérdidas o ganancias a lo largo de todo el genoma de más de 10 Mb y deleciones de menos de 10 Mb en regiones seleccionadas asociadas a los siguientes síndromes patogénicos conocidos: Síndrome de DiGeorge (22q11.2), Síndrome de Prader Willi/Angelman (15q11.2), Síndrome de Jacobsen (11q23), Síndrome de Langer-Giedion (8q24.11-q24.13), Síndrome de Cri-du-chat (5p15.3), Síndrome de Wolf-Hirschhorn (4p16.3) y Síndrome de deleción 1p36 (1p36). Estos hallazgos sólo podrán evaluarse en embarazos de gesta única o embarazo gemelar monocorial. Se debe tener en consideración que la sensibilidad en la detección de las variantes en número de copias varía en función del tamaño y del porcentaje de fracción fetal obtenido en el ensayo⁽⁵⁻¹⁰⁾. Asimismo, el valor predictivo positivo de estas anomalías es muy bajo o desconocido en algunos casos. Esto se traduce en un porcentaje elevado de falsos positivos, siendo la interpretación y correlación genotipo-fenotipo muy compleja, generando necesidad de confirmación por prueba invasiva ante un resultado detectado. En contraparte, si se trata de un caso con signos ecográficos de sospecha, screening combinado alterado, presencia de malformaciones fetales, antecedentes familiares relacionados o incluso una gesta detenida, es posible establecer una mejor correlación genotipo-fenotipo, disminuyendo así la tasa de falsos positivos. Es por ello que se recomienda la solicitud de análisis de estas microdeleciones ante embarazos con presencia de hallazgos clínicos de sospecha.

METODOLOGÍA

1. Extracción de ADN libre circulante a partir de una muestra de sangre materna colectada en tubos ROCHE (*Cell-Free DNA Collection Tube*)
2. Preparación y enriquecimiento de las bibliotecas de ADN libre circulante utilizando el kit Illumina Truseq® Nano
3. Secuenciación de genoma completo a baja cobertura de las bibliotecas usando tecnología Illumina NextSeq500/550 en modo 1x75 pb.
4. Análisis bioinformático de las secuencias obtenidas: Las lecturas se mapean contra genoma de referencia hg19 usando BWA. Lecturas duplicadas y de calidad de alineamiento menores a Q30 se eliminan del análisis posterior.
5. El porcentaje de fracción fetal se determina según la metodología descrita en *Kim S et al, Prenat Diagn 35:8, 810-815, 2015*.

RESULTADO DE LA PRUEBA E INTERPRETACIÓN

Los resultados de este estudio genético deberán ser evaluados por el médico solicitante en el contexto de sus antecedentes personales y estudios complementarios. Los resultados posibles son: DETECTADA, SOSPECHADA, NO DETECTADA o NO DETERMINADA según los valores arrojados por el sistema de cuádruple puntaje utilizado (Tabla 2). Los resultados asociados a Síndrome de Turner son calculados según *Mazloom et al., Prenatal Diagnosis 2013,33, 591-597*¹¹.

Documento confidencial . No se permite reproducir o ceder a terceros sin autorización de Héritas . Este documento deja de ser una copia controlada al imprimirse o cambiarse el formato de soporte digital.	Página 1 de 6
--	---------------

	Sistema de Gestión de Calidad Registro	RG 55
		Rev. 02
Consentimiento informado para test prenatal no invasivo HÉRITAS PRENATAL VISIÓN		Sector: PGM

Los mismos se informan de acuerdo a los 4 puntajes mencionados Z, ZZ, MAI y MAR de la siguiente forma (Tabla 2):

DETECTADA, los 4 puntajes coinciden en el rango de aneuploidía y un algoritmo de *back-up* confirma soporte. Existe un elevado riesgo que la paciente esté gestando un feto con alguna de las alteraciones cromosómicas reportadas por el ensayo. En este caso se sugiere confirmación por un método invasivo como CVS o amniocentesis.

SOSPECHADA, al menos uno de los puntajes se observa en la zona de trisomía o monosomía, pero el resto de los puntajes no da soporte. Aquí, los resultados del estudio indican sospecha de aneuploidía o presencia de CNV fetal o materno. Se recomienda evaluar en el contexto clínico, la necesidad de repetición del test en nueva muestra versus verificación por un método invasivo como CVS o amniocentesis.

NO-DETECTADA, los 4 puntajes indican valores normales. Existe un muy bajo riesgo que la paciente esté gestando un feto con alteraciones cromosómicas asociadas a alguna de las aneuploidías en estudio.

NO-DETERMINADA, no es posible realizar el análisis. El % de fracción fetal (%FF) es bajo (<3%), por lo que se recomendará una nueva toma de muestra a partir de semana 21. Se solicitará nueva muestra de sangre a partir de la semana 21, porque a partir de la semana 10 la fracción fetal aumenta solamente un 0,1% por semana, y a partir de la semana 21 tiene un aumento teórico más significativo de un 1% semanal.

Puede ocurrir que las métricas de calidad interna de nuestro ensayo no arrojen los valores establecidos (QS > 2,5 y MAPQ30 < 7 millones), por lo que se deberá repetir el ensayo sobre nueva muestra.

LIMITACIONES DE LA TÉCNICA

HÉRITAS PRENATAL VISIÓN es un método de *screening*. Este estudio puede producir resultados no concluyentes o anómalos en casos de mosaicismos en células de la madre, de la placenta o del feto, cuyos resultados deberán ser confirmados por otros ensayos diagnósticos como amniocentesis o biopsia corial.

Este test no detecta triploidía, ni poliploidías y no pueden detectarse otras alteraciones cromosómicas no incluidas en este estudio. La ausencia en el reporte de otros hallazgos adicionales no necesariamente representa ausencia de riesgo para los mismos.

Valores de índice de masa corporal materna significativamente elevados (>30), tratamiento con heparina de bajo peso molecular, así como también un porcentaje de fracción fetal de ADN menor a 3% pueden dar lugar a un resultado NO DETERMINADO.

EMBARAZOS GEMELARES, aunque la fracción fetal total de los embarazos gemelares podría ser mayor que la de los embarazos únicos, la contribución individual de cada gemelo es generalmente menor. Por este motivo, en los embarazos dicigóticos, en donde es más probable que un sólo feto tenga la aneuploidía, cuando ésta esté presente, cada feto puede contribuir con diferentes cantidades de ADN libre en la circulación materna, y es posible que, en esta discordancia fetal para la aneuploidía, la fracción fetal del feto afectado esté por debajo del umbral de FF esperado, y podría conducir a un falso negativo, debido a una elevada contribución de la disomía co-gemelo que podría dar lugar a una fracción fetal total satisfactoria. La tasa de gemelos desaparecidos (*vanishing twin*) detectados por NIPT varía de 0,42-0,6% y representa hasta el 42.1% de los resultados falsos positivos de NIPT¹².

El sexo fetal, análisis de CNVs y monosomía del X, serán informados en embarazos gemelares monocigóticos (fetos genéticamente idénticos).

En embarazos dicigóticos, el síndrome de Turner y CNVs no serán informados. En relación al sexo fetal, si hay ausencia del cromosoma Y, se informará el sexo fetal como femenino; si hay presencia del cromosoma Y, se informará que al menos uno de los fetos sería de sexo masculino.

EMBARAZO LOGRADO POR OVODONACIÓN En estos casos el riesgo *a priori* y *a posteriori* de aneuploidías, se determinará teniendo en cuenta la edad de la donante del óvulo. En caso de desconocerse dicha edad, este riesgo no se reportará (riesgo no disponible por falta de datos para dicho cálculo).

	Sistema de Gestión de Calidad Registro	RG 55
		Rev. 02
Consentimiento informado para test prenatal no invasivo HÉRITAS PRENATAL VISIÓN		Sector: PGM

ANEXO

Tabla 1: Especificidad, Sensibilidad y Valor Predictivo Positivo (VPP)

Anomalía cromosómica	Sensibilidad ²	Especificidad ²	VPP a los 35 años ³	VPP a los 40 años ³	VPP a los 45 años ³
Trisomía 21 (Síndrome de Down)	99,7% IC 95% [99,1-99,9%]	99,96% IC 95% [99,93-99,98%]	89%	97%	99%
Trisomía 18 (Síndrome de Edwards)	97,9% IC 95% [94,9-99,1%]	99,96% IC 95% [99,93-99,97%]	68%	88%	97%
Trisomía 13 (Síndrome de Patau)	99% IC 95% [65,8-100%]	99,96% IC 95% [99,93-99,98%]	49%	78%	>92%
Monosomía del X (Síndrome de Turner)	95,8% IC 95% [70,3-99,5%]	99,86% IC 95% [99,62-99,95%]	55%	55%	55%

³Calculado según: <https://www.perinatalquality.org/Vendors/NSGC/NIPT/> from *National Society of Genetic Counselors*.

Tabla 2. Valores de Referencia para aneuploidías en autosomas

Score	NO DETECTADO	DETECTADO TRISOMÍA	DETECTADO MONOSOMÍA
Z (Z-Score)	-3 < Z < 3	≥ 3	≤ -3
ZZ (ZZ-Score)	-3 < ZZ < 3	≥ 3	≤ -3
MAI (Mediana Autosoma Interés)	-1.5 < BM < 1.5	≥ 1.5	≤ -1.5
MAR (Mediana Resto Autosoma)	No	< 1	< 1

Adicionalmente se realiza una inspección visual (algoritmo Wisecondor⁴ y CBS⁵, *circular binary segmentation*) de los cromosomas estudiados, para correlacionar los valores arrojados por los scores arriba mencionados.

	Sistema de Gestión de Calidad Registro	RG 55
		Rev. 02
Consentimiento informado para test prenatal no invasivo HÉRITAS PRENATAL VISIÓN		Sector: PGM

Para completar por personal de Cibic S.A.

Código 2235	Nro. de ingreso Cibic:
--------------------	------------------------

Para completar por paciente y/o médico solicitante

Nombre y Apellido: _____

Fecha de nacimiento: _____

Edad materna: _____ DNI: _____

FUM: _____ Fecha última Ecografía fetal: _____

Semanas de gestación: _____ Altura: _____ Peso: _____

Embarazo gemelar (marque lo que corresponda) NO [] / SI [] Monocorial [] Bicorial [] No sabe []

Embarazo con gemelo reabsorbido o *vanishing twin* NO [] / SI []

Embarazo por tratamiento de fertilidad: SI [] / NO []

En caso afirmativo, ¿Cuál? Ovodonación [] Embriodonación [] Criopreservación de óvulo [] Otro [] _____

En caso que corresponda:

¿Edad de ovodonante? _____

¿Edad materna a la fecha de la criopreservación? _____

Indicación del estudio (completar por SI o por NO todas las indicaciones que se detallan a continuación, se debe indicar como afirmativa al menos una de las mismas. En caso de considerar que ninguna de las indicaciones cumple con los criterios de realización del estudio, marcar NO en todos los boxes e indicar detalladamente en observaciones la indicación del estudio):

Edad materna avanzada: SI [] NO []

Screening 1er trimestre alterado (en caso afirmativo adjuntar informe): SI [] NO []

Anomalías ecográficas fetales (en caso afirmativo adjuntar informe): SI [] NO []

Bajo riesgo/voluntad materna: SI [] NO []

Observaciones: _____

Antecedentes personales:

Refiere antecedentes de diagnóstico de algún tipo de cáncer previo a éste estudio: NO [] SI []

Recibió trasplante de algún órgano o tejido previo a este estudio: NO [] SI []

Refiere diagnóstico de alguna enfermedad crónica de base: NO [] SI [] Cuál: _____

Refiere ingesta de algún medicamento en forma crónica/o durante el embarazo: NO [] SI [] Cuál: _____

Al firmar abajo, yo, la paciente que se somete a la prueba, reconozco que:

Se me ha brindado la oportunidad de formular preguntas y conversar con mi médico sobre los beneficios y limitaciones de la(s) prueba(s) genética(s) que me realizarán según se indica en el formulario de prueba correspondiente.

He conversado con el médico que solicita la prueba acerca de la fiabilidad de los resultados DETECTADA, SOSPECHADA, NO-DETECTADA y NO-DETERMINADA y el nivel de certeza que ofrece cada uno de estos resultados. Se me ha informado acerca de la disponibilidad y la importancia del asesoramiento genético, he tenido al menos una consulta con personal médico entrenado en asesoramiento de riesgo genético.

	Sistema de Gestión de Calidad Registro	RG 55
		Rev. 02
Consentimiento informado para test prenatal no invasivo HÉRITAS PRENATAL VISIÓN		Sector: PGM

He leído este documento en su totalidad y habiendo entendido todo lo expuesto en el mismo, acepto expresamente someterme a la prueba genética por mi médico solicitada y conversaré sobre los resultados con un profesional médico.

Completar por SI o por NO los campos que se detallan a continuación:

Deseo saber aneuploidías en los cromosomas 21, 18, 13	SI []	NO []
Deseo saber aneuploidías en los cromosomas 7, 9, 14, 15, 16 y 22	SI []	NO []
Deseo saber el sexo fetal	SI []	NO []
Deseo saber monosomía del X*	SI []	NO []
Deseo saber aneuploidías en otros cromosomas	SI []	NO []
Deseo saber microdeleciones/microduplicaciones patogénicas (ver 'Microdeleciones y/o Microduplicaciones patogénicas, página 1)**	SI []	NO []

*Sólo para gesta única o embarazo gemelar monocorial

**Sólo para gesta única o embarazo gemelar monocorial. El VPP de las CNVs es muy bajo o desconocido, por lo que los hallazgos ecográficos son muy importantes para su interpretación y asesoramiento genético, para establecer el correlato clínico entre la variante hallada y el potencial compromiso fetal.

En este acto se me entrega una copia del presente documento.

Lugar y Fecha

Firma paciente

Firma y sello médico solicitante

Firma y sello bioquímico responsable

	Sistema de Gestión de Calidad Registro	RG 55
		Rev. 02
Consentimiento informado para test prenatal no invasivo HÉRITAS PRENATAL VISIÓN		Sector: PGM

Referencias:

1. Vázquez, Martín P; Rohr, Cristian O; Brun, Bianca; Grisolia, Mauricio J; Méjico, Guadalupe; et al.; Desarrollo del primer ensayo prenatal no invasivo (NIPT) en Argentina; Fundación A.L.A.C.; Informe ALAC; XXII; 1; 9-2017; 5-13.
2. Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017 Sep;50(3):302-314. doi: 10.1002/uog.17484. Epub 2017 Jul 27. Review. PubMed PMID: 28397325.
3. Gregg AR y cols. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *ACMG Statement, Genetics in Medicine on behalf of the ACMG Noninvasive Prenatal Screening Work Group.* *Genetics in Medicine* 1-10.
4. Petersen AK y cols. Positive predictive value estimates for cell-free noninvasive prenatal screening from data of a large referral genetic diagnostic laboratory. *Am J Obstetrics Gynecology.* 2017 217:691.e1-691.e6. Peters D, Chu T, Yatsenko SA, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of a fetal microdeletion syndrome. *N Engl J Med.* 2011;365(19):1847-1848.
5. Srinivasan A, Bianchi DW, Huang H, Sehnert AJ, Rava RP. Noninvasive detection of fetal subchromosome abnormalities via deep sequencing of maternal plasma. *Am J Hum Genet.* 2013 Feb 7;92(2):167-76.
6. Stokowski R, Wang E, White K, Batey A, Jacobsson B, Brar H, Balanarasimha M, Hollemon D, Sparks A, Nicolaides K, Musci TJ. Clinical performance of non-invasive prenatal testing (NIPT) using targeted cell-free DNA analysis in maternal plasma with microarrays or next generation sequencing (NGS) is consistent across multiple controlled clinical studies. *Prenat Diagn.* 2015 Dec;35(12):1243-6.
7. Straver R, Sistermans EA, Reinders MJ. Introducing WISECONDOR for noninvasive prenatal diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn.* 2014; 14(5):513-5
8. Venkatraman, ES and AB Olshen. A faster circular binary segmentation algorithm for the analysis of array CGH data. In: *Bioinformatics* 2007; 23.6, pp. 657-663.
9. Zhao C, Tynan J, Ehrich M, Hannum G, McCullough R, Saldivar JS, Oeth P, vanden Boom D, Deciu C. Detection of fetal subchromosomal abnormalities by sequencing circulating cell-free DNA from maternal plasma. *Clin Chem.* 2015 Apr;61(4):608-16.
10. Mazloom AR et al., Noninvasive prenatal detection of sex chromosomal aneuploidies by sequencing circulating cell-free DNA from maternal plasma. *Prenatal Diagnosis* 2013,33, 591-597.
11. Curnow, K.J., L. Wilkins-Haug, A. Ryan, E. Kirkizlar, M. Stosic, M.P. Hall, S. Sigurjonsson, Z. Demko, M. Rabinowitz, and S.J. Gross, Detection of triploid, molar, and vanishing twin pregnancies by a single-nucleotide polymorphism based noninvasive prenatal test. *Am J Obstet Gynecol*, 2015. 212(1): p. 79 e1-9.