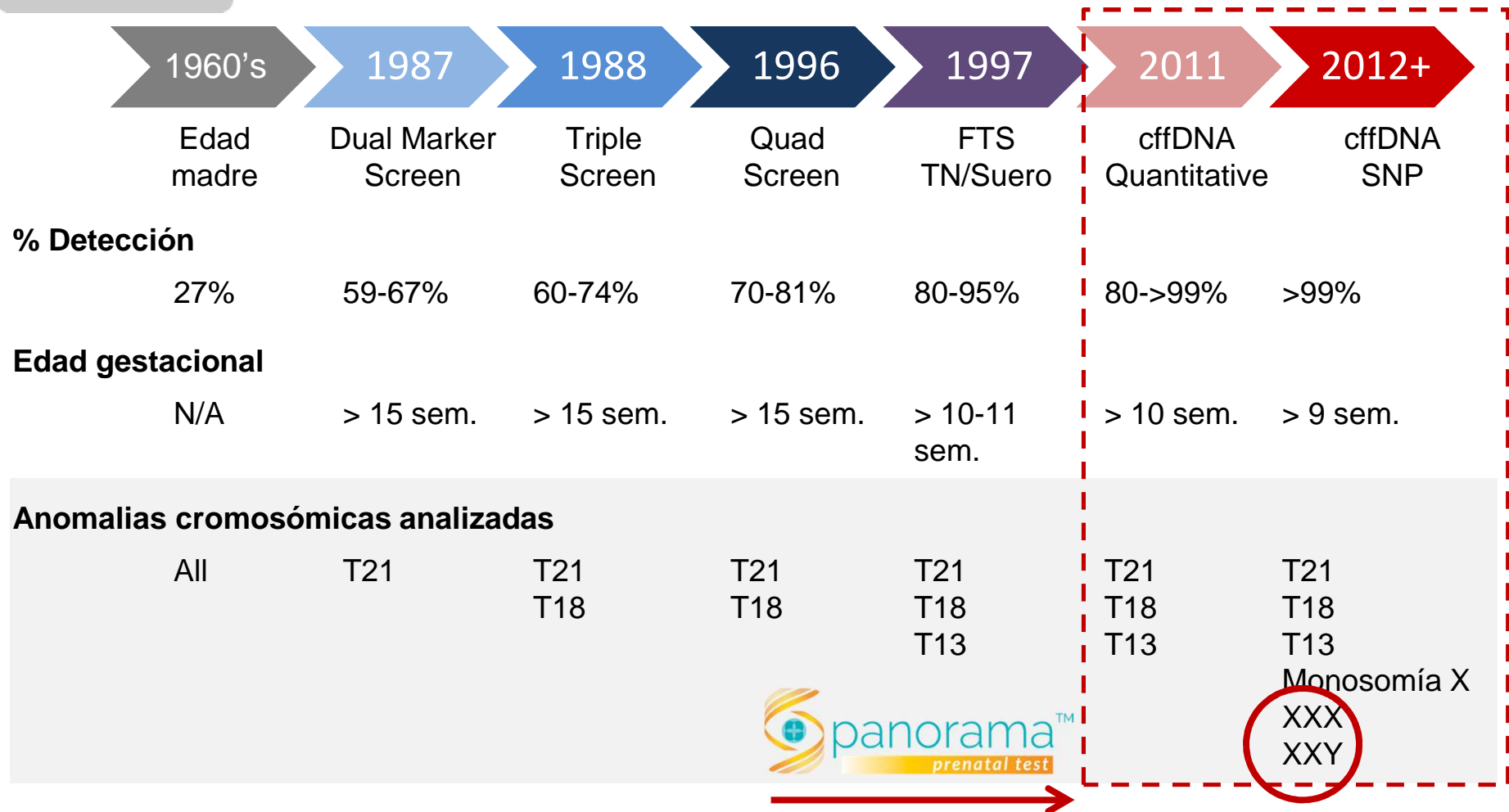


# Cribado prenatal no invasivo

Detección T13, T18, T21, monosomía X y sexo fetal en sangre materna.



# Evolución del cribado prenatal





# Cribado prenatal no invasivo



The American College of  
Obstetricians and Gynecologists  
WOMEN'S HEALTH CARE PHYSICIANS



The Society for  
Maternal-Fetal Medicine

## COMMITTEE OPINION

### Noninvasive Prenatal Testing for Fetal Aneuploidy

ABSTRACT: Noninvasive prenatal testing that uses cell free fetal DNA from the plasma of pregnant women offers tremendous potential as a screening tool for fetal aneuploidy. Cell free fetal DNA testing should be an informed patient choice after pretest counseling and should not be part of routine prenatal laboratory assessment. Cell free fetal DNA testing should not be offered to low-risk women or women with multiple gestations because it has not been sufficiently evaluated in these groups. A negative cell free fetal DNA test result does not ensure an unaffected pregnancy. A patient with a positive test result should be referred for genetic counseling and should be offered invasive prenatal diagnosis for confirmation of test results.

[Obstet Gynecol.](#) 2012 Dec;120(6):1532-4. doi: 10.1097/01.AOG.0000423819.85283.f4.



## Indicaciones para prueba prenatal no invasivo de aneuploidías fetales

ACOG Committee Opinion Número 545, Diciembre 2012

- La edad materna 35 años o más al momento del parto
- Hallazgos ecográficos fetales que indican un aumento del riesgo de aneuploidía
- Historia de embarazo previo con una trisomía
- Resultado positivo en test de aneuploidías, incluyendo el primer trimestre, secuencial o pantalla integrada o una pantalla cuádruple. (Datos ecográficos)
- Translocación parental balanceada Robertsoniana con un mayor riesgo de trisomía 13 fetal o trisomía 21.

**Casos de bajo riesgo: Ansiedad materna/ recomendación por ginecólogo**



# Cribado prenatal no invasivo: Requisitos

- Análisis de cromosomas 13, 18, 21, X, e Y
- Detección de todos los cromosomas por igual
- Sensibilidad y especificidad >99%
- Resultados exactos y fiables con fracciones bajas de ADN fetal, a partir de semana 9 de gestación.
- Eficiencia en los resultados (5-6% probabilidad de no obtener resultados en muestra inicial, y con una segunda muestra <1%)



# Detección DNA fetal (cffDNA) en sangre materna

✓ Método de contaje:

Secuenciación de regiones no polimórficas.

- Secuenciación masiva (MPSS Massively Parallel Shotgun Sequencing)
- Secuenciación dirigida

✓ Análisis SNPs (Polimorfismos):

Secuenciación de regiones polimórficas.



# Impacto concentración de cffDNA en sangre materna

- En la semana 13 , más del 20% de las embarazadas tienen una fracción de cffDNA <10% <sup>1</sup>
- Con una fracción baja de cffDNA disminuye el % de detección en la técnica de conteo

% Fracción cffDNA	% Detección T 21 Metodo de conteo <sup>2</sup>	% Detección T 21 Análisis SNPs <sup>3</sup>
>10%	>99%	>99%
<10%	91%	>99%
<8%	<b>75%</b>	>99%

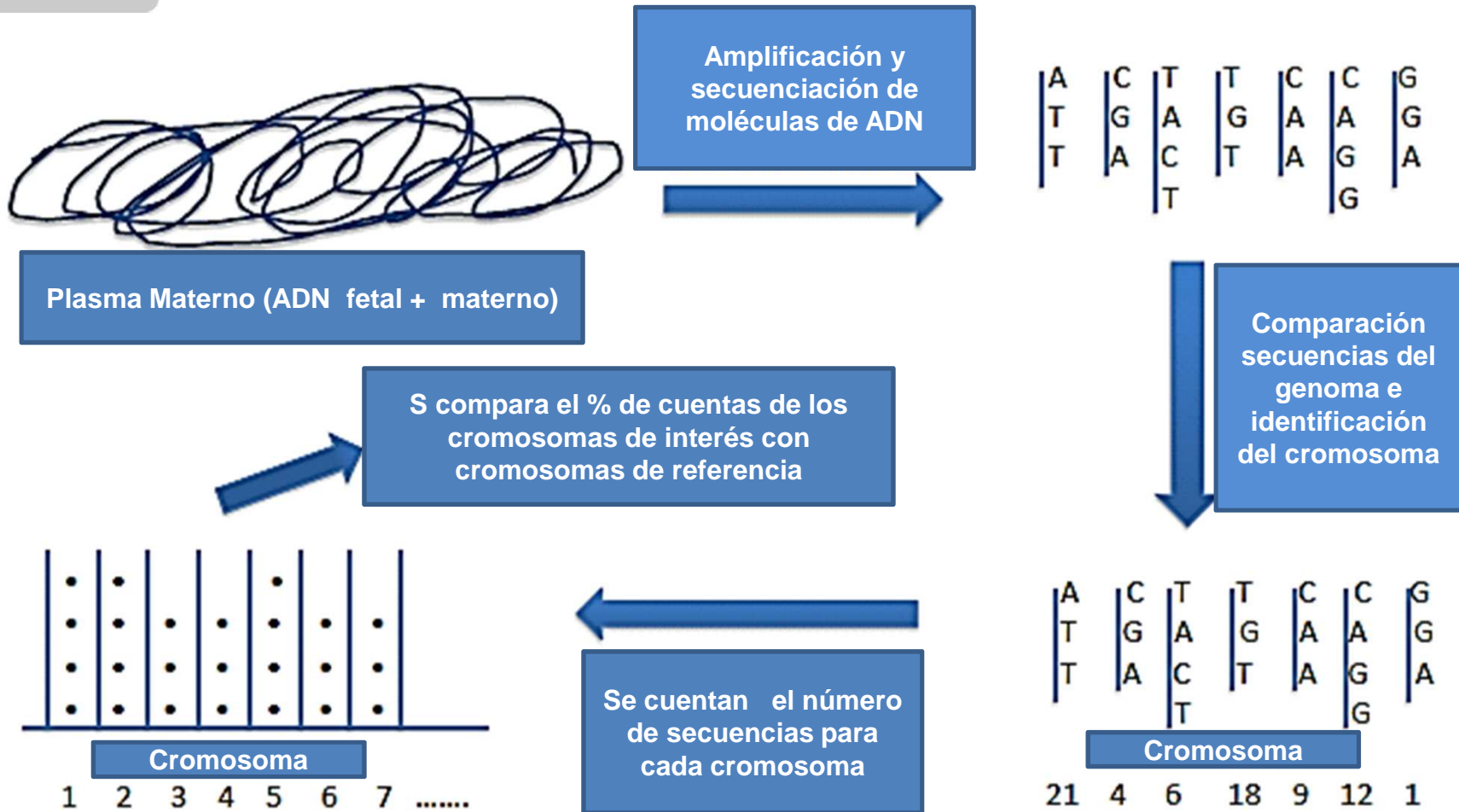
<sup>1</sup> Lo et al. BMJ, Fetal DNA concentration found in maternal plasma among 314 pregnancies with euploid male fetuses. 2011;342:c7401

<sup>2</sup> Palomaki GE et al. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. *Genet Med.* 2011 Nov; 13(11):913-20.

<sup>3</sup> Zimmermann, et al. "Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y using targeted sequencing at polymorphic loci." *Prenatal Diagnosis*, 2012.



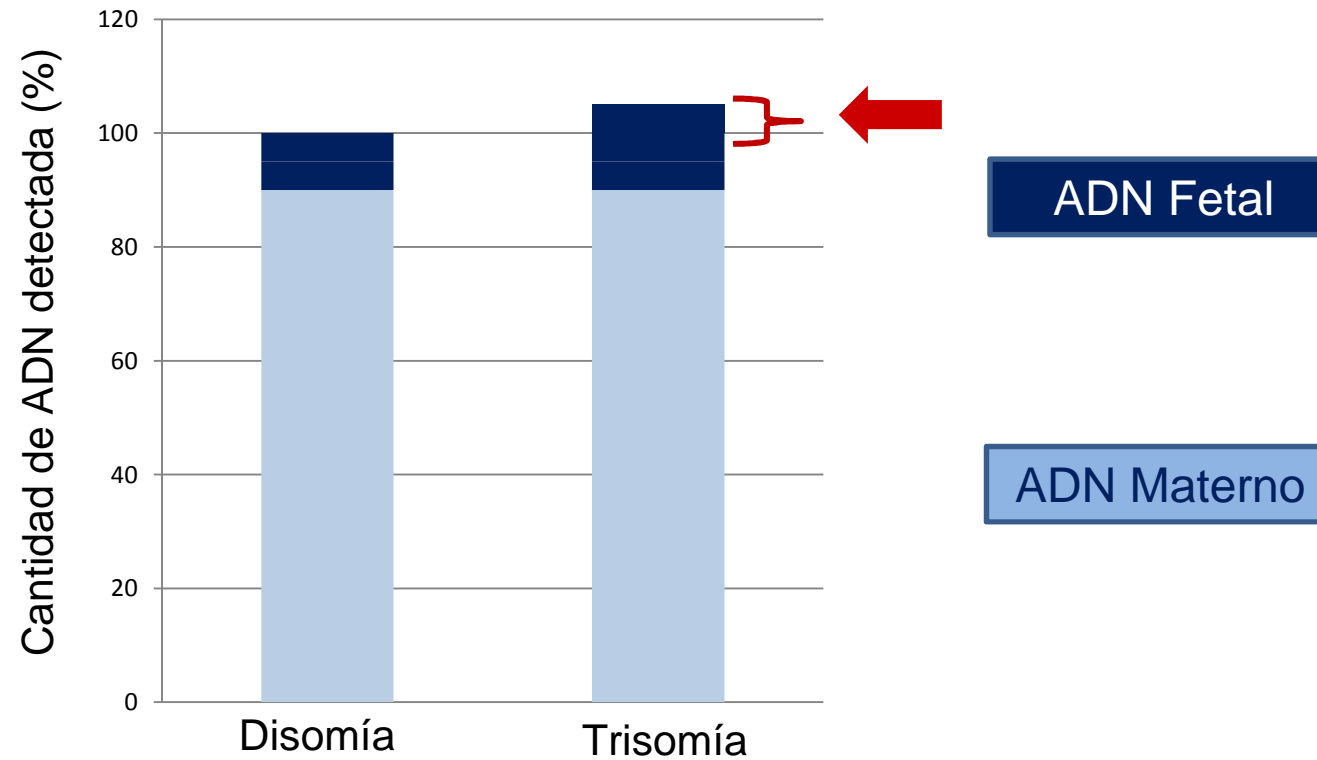
# Método de contaje







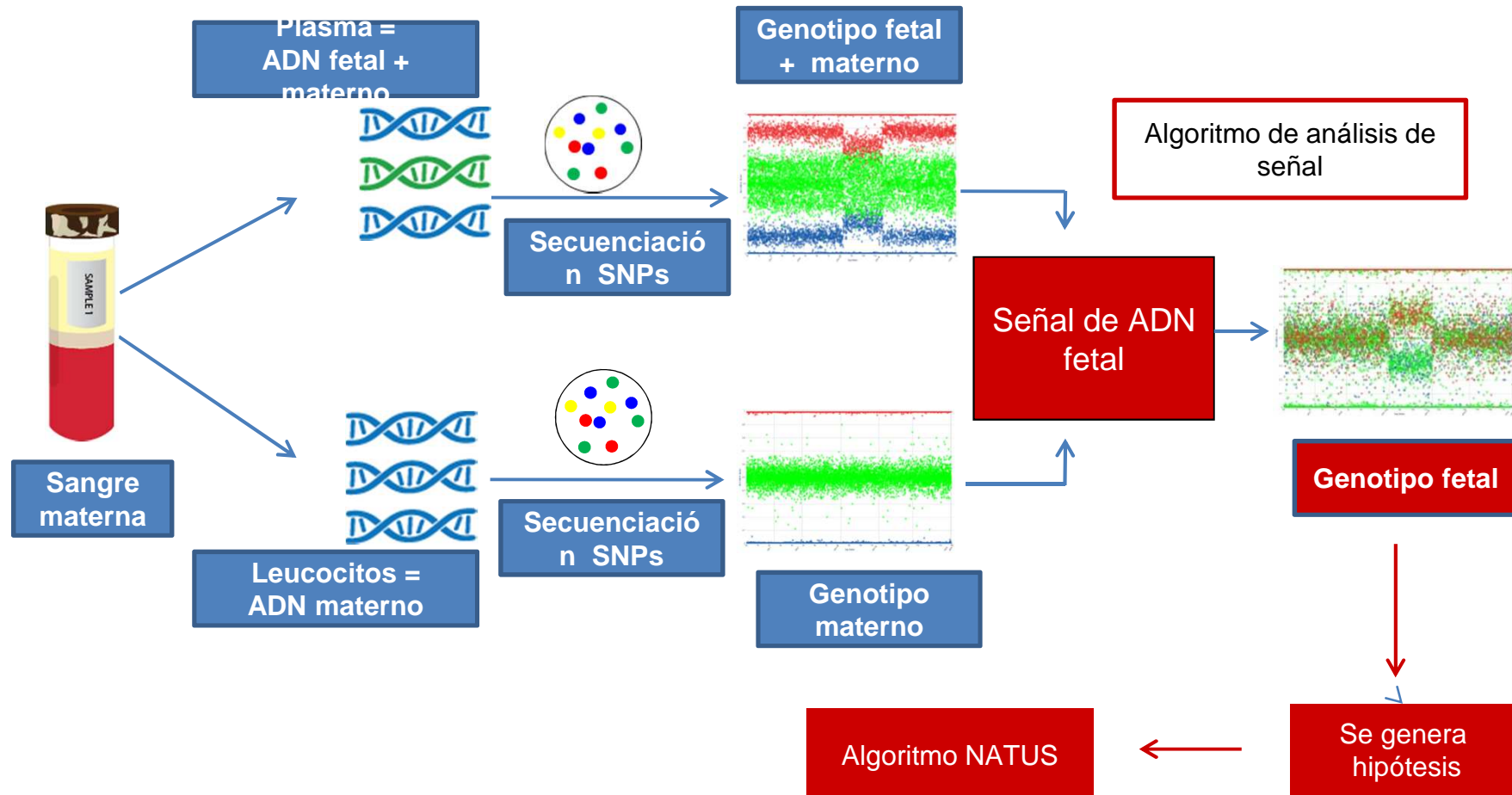
## El método de contaje no puede distinguir ADN fetal y materno



Cantidad relativa de ADN asignada al cromosoma estudiado

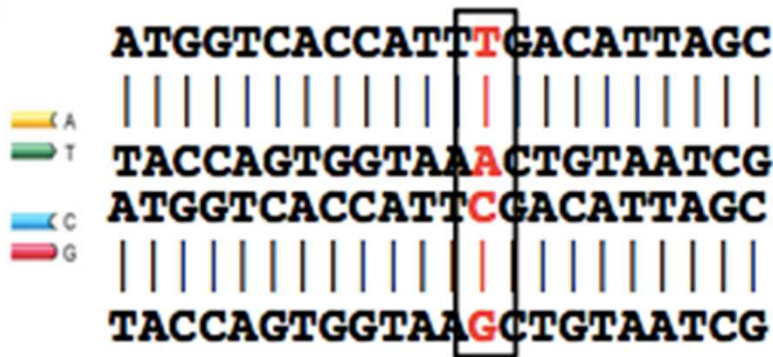


# Método análisis de SNPs



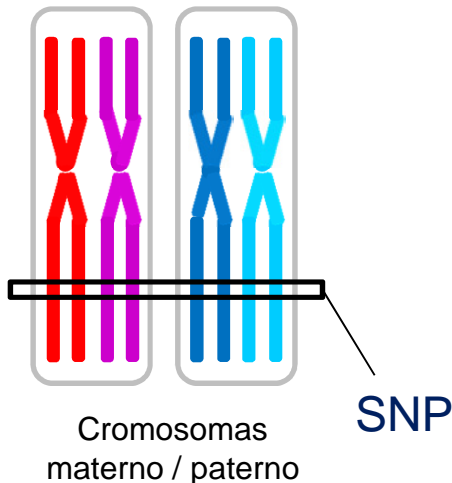


# Ventajas análisis de SNPs



- Detección de todos los cromosomas por igual
- No se necesita cromosoma referencia
- PCR multiplex con 19,5k sondas
- Resultados exactos y fiables con fracciones bajas de ADN fetal.
- Realizar a partir de la semana 9 de gestación

Células progenitoras





# Validación clínica

## Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci

Bernhard Zimmermann<sup>1†</sup>, Matthew Hill<sup>1†</sup>, George Gemelas<sup>1†</sup>, Zachary Demko<sup>1†</sup>, Milena Banjevic<sup>1†</sup>, Johan Baner<sup>1</sup>, Allison Ryan<sup>1</sup>, Strymir Sigurjonsson<sup>1</sup>, Nikhil Chopra<sup>1</sup>, Michael Dodd<sup>1</sup>, Brynn Levy<sup>2</sup> and Matthew Rabinowitz<sup>1\*</sup>

**Conclusions** This informatics-based method noninvasively detected fetuses with trisomy 13, 18, and 21, 45,X, and 47, XXY with high sample-specific calculated accuracies for each individual chromosome and across all five chromosomes. © 2012 John Wiley & Sons, Ltd.

## **Natera's Non-Invasive Prenatal Testing Technology Shows Unparalleled Specificity, Sensitivity in Clinical Data Presented at American Society of Human Genetics**

### ***Data from Additional Patients Confirms High Accuracy in Detection of Trisomy 13, Trisomy 18, Trisomy 21, Sex Chromosome Abnormalities***

407 maternal blood samples, demonstrated 100 percent specificity and sensitivity when detecting aneuploidies of five specific chromosomes

American Society of Human Genetics 2012. November 09, 2012 08:00 AM Eastern Time



# Validación clínica. Estudio ciego independiente

Independent, Blinded Study of Panorama

Researcher:

Dr. Kypros Nicolaides, Director of the Fetal Medicine Center

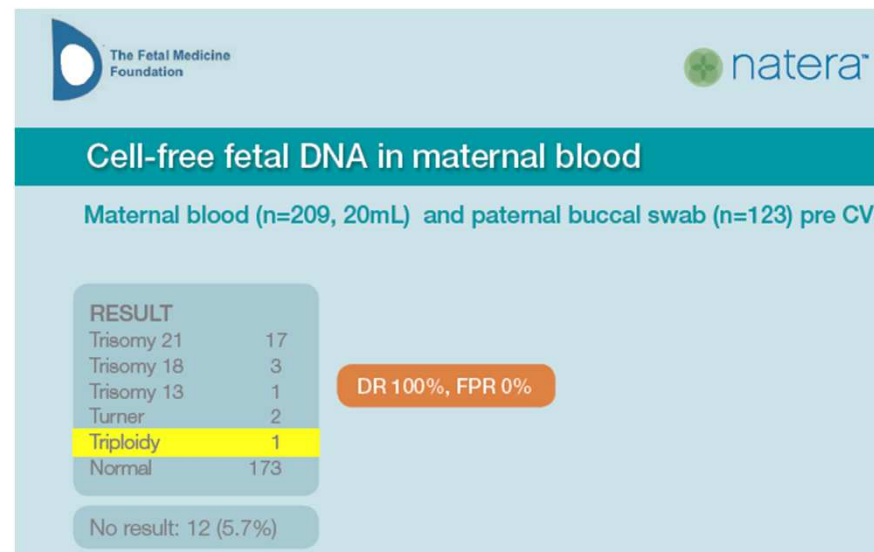
Data Presented:

Advances in Fetal Medicine Course, London, December 1, 2012

Samples were blinded by external researcher and results confirmed via CVS or Amnio.

## Results:

- **100% Accuracy on all Called Cases**
- **100% Detection Rate**
- **No False Positives**





# Validación clínica. Reunión anual de Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM). Febrero 2013



**Use of targeted sequencing of SNPs to achieve a highly accurate non-invasive detection of fetal aneuploidy of 13, 18, 21, and sex chromosomes.**

*Brynn Levy<sup>1</sup>, Zachary Demko<sup>2</sup>, Sallie McAdoo<sup>2</sup>, Bernhard Zimmermann<sup>2</sup>, Matthew Hill<sup>2</sup>, Matthew Rablnowitz<sup>2</sup>*  
<sup>1</sup>Department of Pathology and Cell Biology, Columbia University, New York, NY <sup>2</sup>Natera Inc., San Carlos, CA.


- 763 muestras (111 nuevas muestras de un estudio a ciegas con grupo líder de opinión en los EE.UU, similar al estudio a ciegas de Kypros).
- Trisomías 13, 18 y 21: Sensibilidad y especificidad > 99%.
- Monosomía 45,X: Sensibilidad 92% y especificidad > 99%. (1 caso fallido)
- Falsos positivos 0% hasta el momento.
- Otros test solo reportan 45,X si es positivo, no si el riesgo es bajo o negativo
- La ventaja en fracciones fetales bajas vs método MPSS





# Ratios de detección en diferentes estudios

% Detección

	Secuenciación masiva y método de contaje				Secuenciación dirigida análisis SNP's 
	BGI	SEQUENOM	VERINATA	ARIOSA	
Semana de gestación	≥13	≥10	≥10	≥10	≥9
Trisomía 21 (S. Down)	>99%	99%	99.9%	100%	>99%
Trisomía 18 (S. Edwards)	91,9%	100%	97.4%	98%	>99%
Trisomía 13 (S. Patau)	>99%	91.7%	87.5%	80%	>99%
45 X (S. Turner)	No	Informa si identifica	95% Informa si identifica	No	>91.7% Siempre aporta resultados
Sexo fetal	No	99.4% (Cromosoma Y)	97.5-99.1%	No	>99%





# Cribado prenatal no invasivo



## Cribado prenatal no invasivo en sangre materna

El Test de Cribado prenatal no invasivo permite evaluar alteraciones en los cromosomas 13, 18, 21 y X con el fin de descartar el Síndrome de Batau, Edwards, Down y Turner, respectivamente, además de hallar el sexo fetal mediante la detección del cromosoma Y.

### ¿Cómo funciona?

Esta prueba analítica no invasiva se realiza a partir de ADN fetal libre presente en el plasma materno con una alta especificidad y sensibilidad a partir de las 9 semanas de gestación, confirmadas ecográficamente.

Este cribado se basa en la secuenciación dirigida y análisis de SNPs con herramientas bioinformáticas de última generación.

### Prevalencias

Trisomía 21: 1 de cada 660 nacimientos

Trisomía 18: 1 de cada 6.000 nacimientos

Trisomía 13: 1 de cada 10.000 nacimientos

Monosomía X: 1 de cada 2.500 niñas

### Interpretación de resultados

#### ALTO RIESGO

En caso de resultado con probabilidad de alto riesgo, se recomienda la realización de una prueba diagnóstica definitiva en líquido amniótico (cariotipo convencional o técnica molecular).

#### BAJO RIESGO

No descarta la posibilidad de alteración cromosómica fetal, pero los estudios realizados muestran que este cribado puede excluir en más de un 99% la probabilidad de estos síndromes.

Instrucciones

**Cribado prenatal no invasivo en sangre materna**

LABORATORIO DE ANÁLISIS E. ECHEVARNE

**Material**

- 2 Tubos STRECK CELL-FREE DNA
- 1 Bolsa de transporte de muestras biológicas
- 1 Paquete de gel
- 1 Sobre metálico con sensores de temperatura
- 1 Documento de consentimiento informado

**Instrucciones**

- 1 Obtener la muestra por venopunción, siguiendo los procedimientos estándar, y llenar los tubos por completo. (Mínimo de 15 mL por tubo)
- 2 Tras la extracción, introducir los tubos en la bolsa de transporte de muestras biológicas y envolverla con el paquete de gel. Es imprescindible etiquetar correctamente los tubos y detallar fecha y hora de extracción de la muestra.
- 3 Introducir el paquete en el sobre metálico proporcionado. Activar el control de temperatura pulsando el botón de cada sensor.
- 4 Mantener a temperatura ambiente (entre 15y 30°C). No congelar ni refrigerar.
- 5 Adjuntar el documento de consentimiento informado debidamente relleno y firmado.

Laboratorio Echevarne - 902 525 500 - www.echevarne.com

LABORATORIO DE ANÁLISIS E. ECHEVARNE natera

Please place collection kit barcode here

**Requisition Form**

**1 PATIENT INFORMATION Información del paciente**

Patient Name (Last Name, First Name) \_\_\_\_\_  
Nombre y apellidos del paciente SÓLOMENTE LAS INICIALES

Patient DOB(MM/DD/YYYY) \_\_\_\_\_  
Fecha de nacimiento del paciente (Mes/Día/Año)

Patient Street Address \_\_\_\_\_  
Dirección postal

City \_\_\_\_\_ Country \_\_\_\_\_  
Ciudad País

Postal Code \_\_\_\_\_  
Código Postal

Patient Telephone \_\_\_\_\_  
Teléfono

Patient Email Address \_\_\_\_\_  
E-mail

Natera is not able to run this test for patients that have used an egg donor or surrogate, or have a confirmed multiple gestation pregnancy.

Will you be submitting a father sample with this case?  Y  N  Unsure

If yes, please provide name of father: \_\_\_\_\_

Gestational Age \_\_\_\_\_ weeks Edad gestacional

Due Date(MM/DD/YYYY) \_\_\_\_\_ Fecha prevista del parto (Mes/Día/Año)

Date of Blood Draw(MM/DD/YYYY) \_\_\_\_\_ Fecha de la extracción (Mes/Día/Año)

Mother's Weight \_\_\_\_\_ kg Peso de la madre

**2 ORDERING CLINICIAN Clínico solicitante**

Organization (Clinic, Hospital, or Laboratory) LABORATORIO ECHEVARNE  
Organización (Clínica, Hospital, o Laboratorio)

Telephone: +34 935 040 116  
Teléfono

Ordering Clinician: RAUL SANTAMARIA  
Clínico solicitante

If applicable, please complete the following

Patient ID: NIF: A-08829648  
ID paciente

Accessioning ID \_\_\_\_\_  
Medical Record #

If you want the results of this specific case to be sent to a different fax or email than what you indicated on your account setup form, please write those destinations below.

Fax \_\_\_\_\_  
Email rsantamaria@echevarne.com

**3 TEST(S) REQUESTED Test solicitado**

The Panorama Prenatal Test (Testing for Trisomy 21, 18, 13, and Monosomy X) **Detección Trisomía 21, 18, 13 y monosomía X**  
I want gender results included in this report. (If the box is not marked, gender will not be included on the report, see chromosome abnormalities will still be tested for)

Please select clinical indications

<input type="checkbox"/> Advanced maternal age, 35+ pregnancy	<input type="checkbox"/> Family history
<input type="checkbox"/> Ectopic pregnancy, prior abortion	<input type="checkbox"/> History of fetal loss
<input type="checkbox"/> Gestational diabetes, 1st or 2nd pregnancy	<input type="checkbox"/> Other identified prenatal screening
<input type="checkbox"/> Gestational diabetes, 3rd or 4th pregnancy	<input type="checkbox"/> One or more previous reproductive outcome
<input type="checkbox"/> Abnormal serum screening	<input type="checkbox"/> One or more previous reproductive outcome
<input type="checkbox"/> Fetal growth abnormal	<input type="checkbox"/> History of stillbirth, abortion or stillborn reproductive
<input type="checkbox"/> Chromosomal abnormality suspected in fetus	<input type="checkbox"/> Other
<input type="checkbox"/> Maternal chromosomal abnormality	<input type="checkbox"/> Other
<input type="checkbox"/> Maternal history of miscarriage	

MD-REG-REV1 Panorama Prenatal Test - Cribado Prenatal no invasivo - Laboratorio Echevarne - Tel. 902 525 500 - www.echevarne.com





# Cribado prenatal no invasivo: Resultado

	Riesgo general basado en edad materna y semana gestacional	Riesgo personal derivado del cribado prenatal no invasivo	RESULTADO
TRISOMIA 13 Síndrome de Patau	(%)	(%)	Alto/bajo
TRISOMIA 18 Síndrome de Edwards	(%)	(%)	Alto/bajo
TRISOMIA 21 Síndrome de Down	(%)	(%)	Alto/bajo
MONOSOMIA X Síndrome de Turner	(%)	(%)	Alto/bajo
Sexo fetal			M/F



# Cribado prenatal no invasivo: Interpretación

