MEGALAB

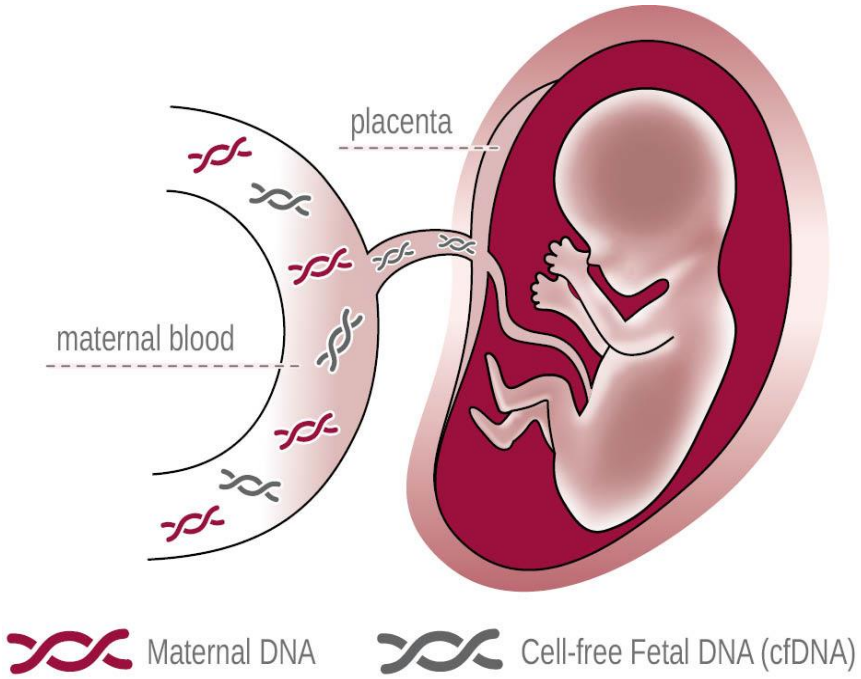
DIAGNÓSTICO MOLECUALR

CONGRESO SAMEM 2018

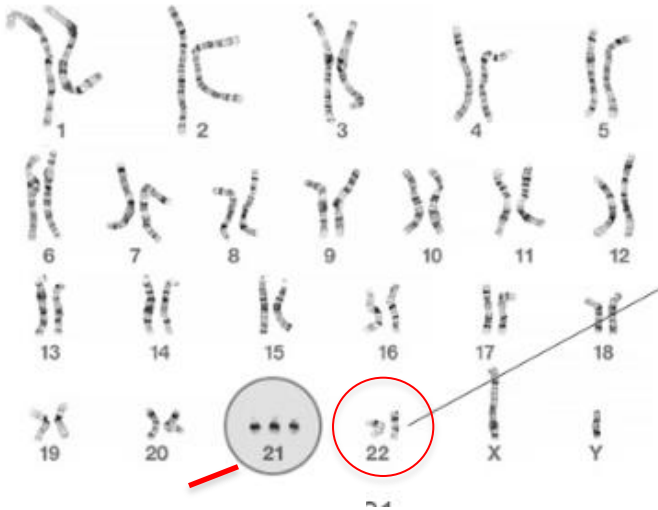
¿Qué es el cribado prenatal no invasivo?

El cribado prenatal no invasivo (NIPT) consiste en el análisis de ADN fetal presente en el plasma materno para detectar anomalías genéticas fetales sin riesgo para la gestación.

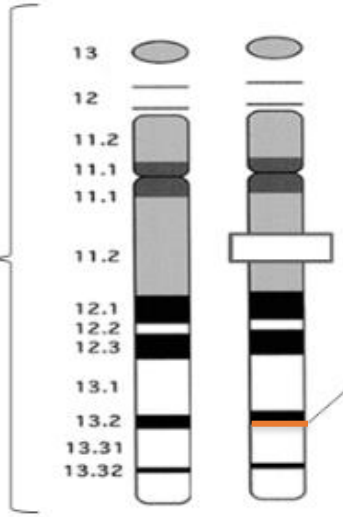
El cfDNA (DNA celular libre) fetal detectado en el plasma materno deriva de **la placenta.**



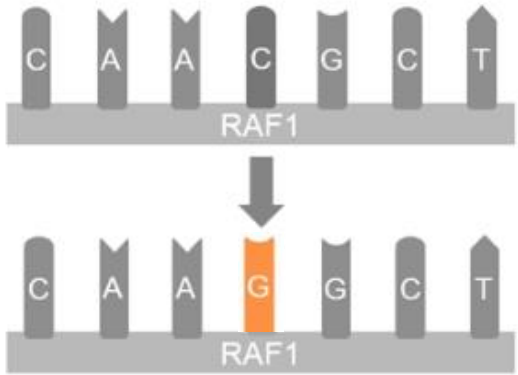
LA EVOLUCION DEL NIPT



trisomy 21



Del 22q11.2
DiGeorge syndrome



RAF1 Gene
Noonan syndrome

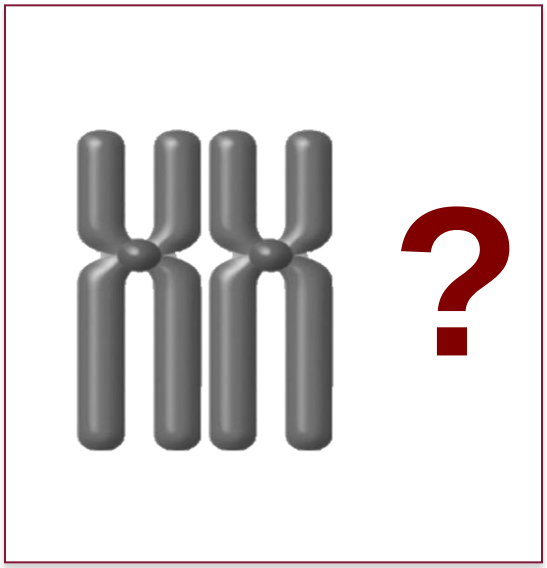
ANOMALÍAS DETECTABLES

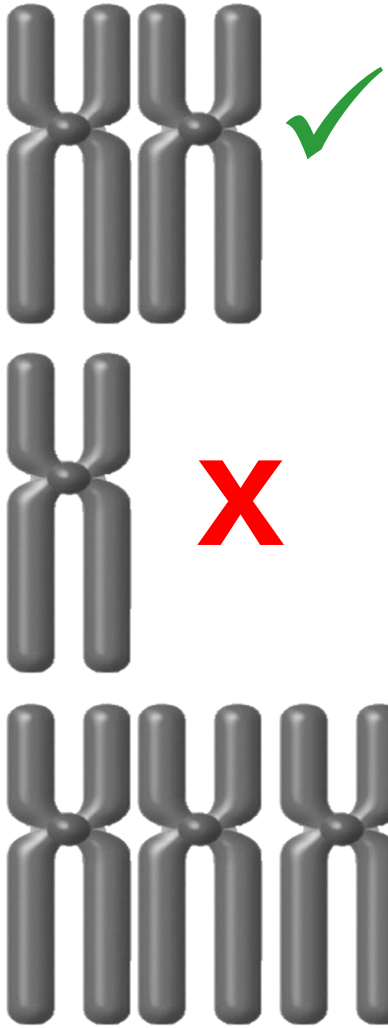
- **Aneuploidías** más frecuentes: **NIPT 3** **NIPT 5**
- Síndromes de **microdeleción** : **NIPT PLUS**
- Aneuploidias y **reordenamientos** de todos los cromosomas**:** **NIPT KARYO**
- **Aneuploidias** y **reordenamientos** de todos los cromosomas + síndromes de **microdelecion**: **NIPT KARYO PLUS**

- Enfermedades hereditarias **recesivas**: **NIPT INHERIT**
- Enfermedades genéticas ***de novo*****:** **NIPT *DE NOVO***

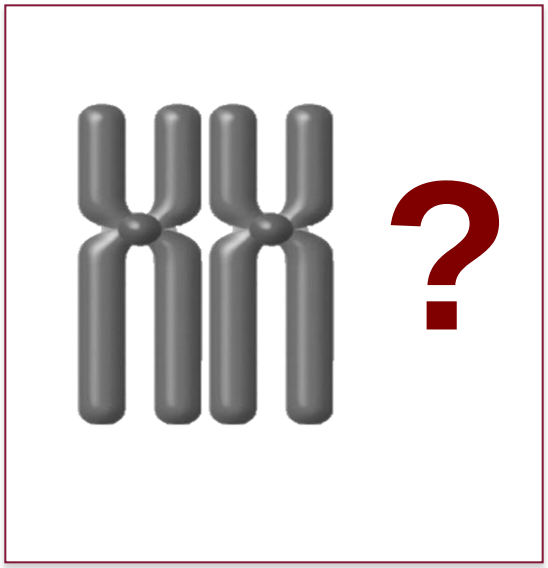
ANEUPLODÍAS: monosomías/trisomías

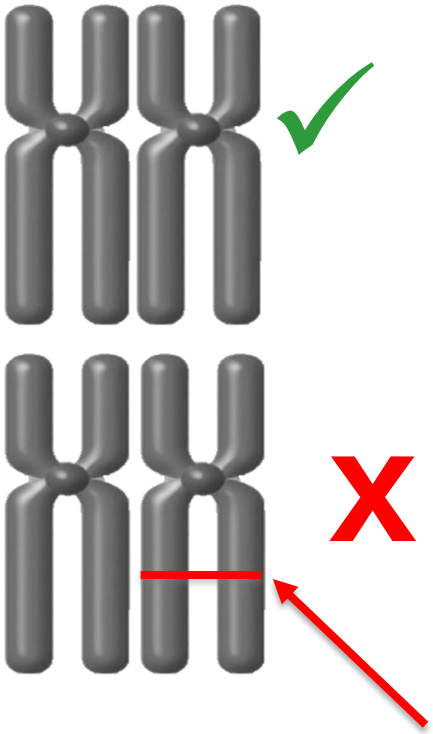
Cr.13
Cr.18
Cr.21
Cr. X
Cr. Y





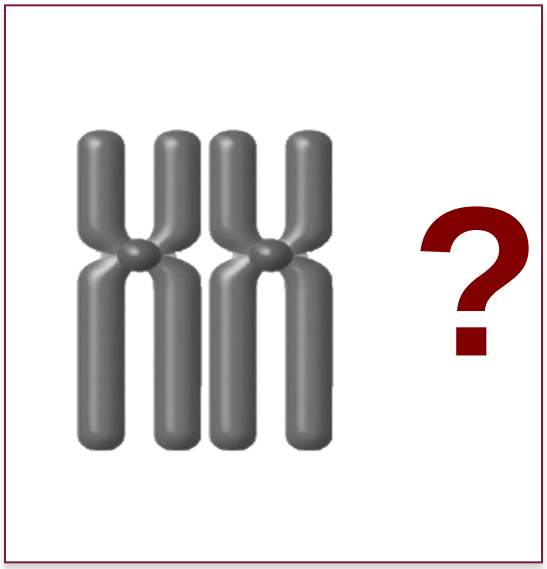
SÍNDROMES DE MICRODELECIÓN

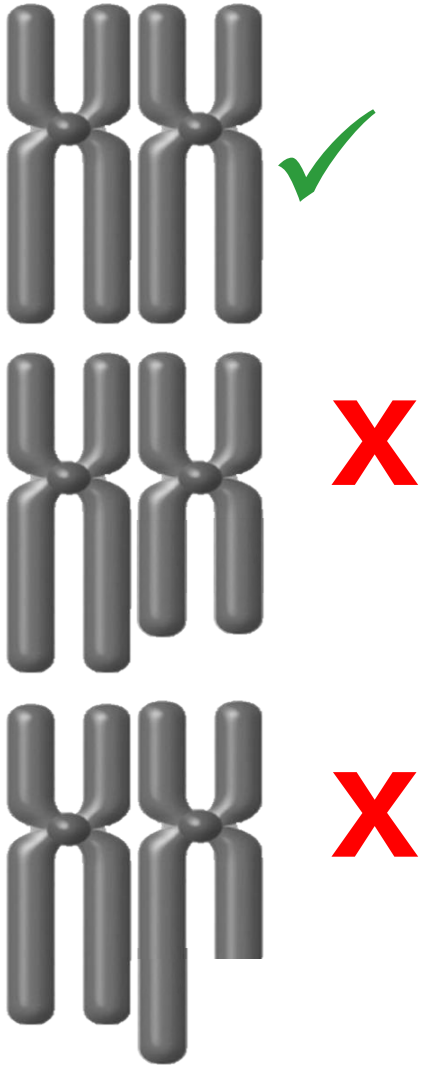




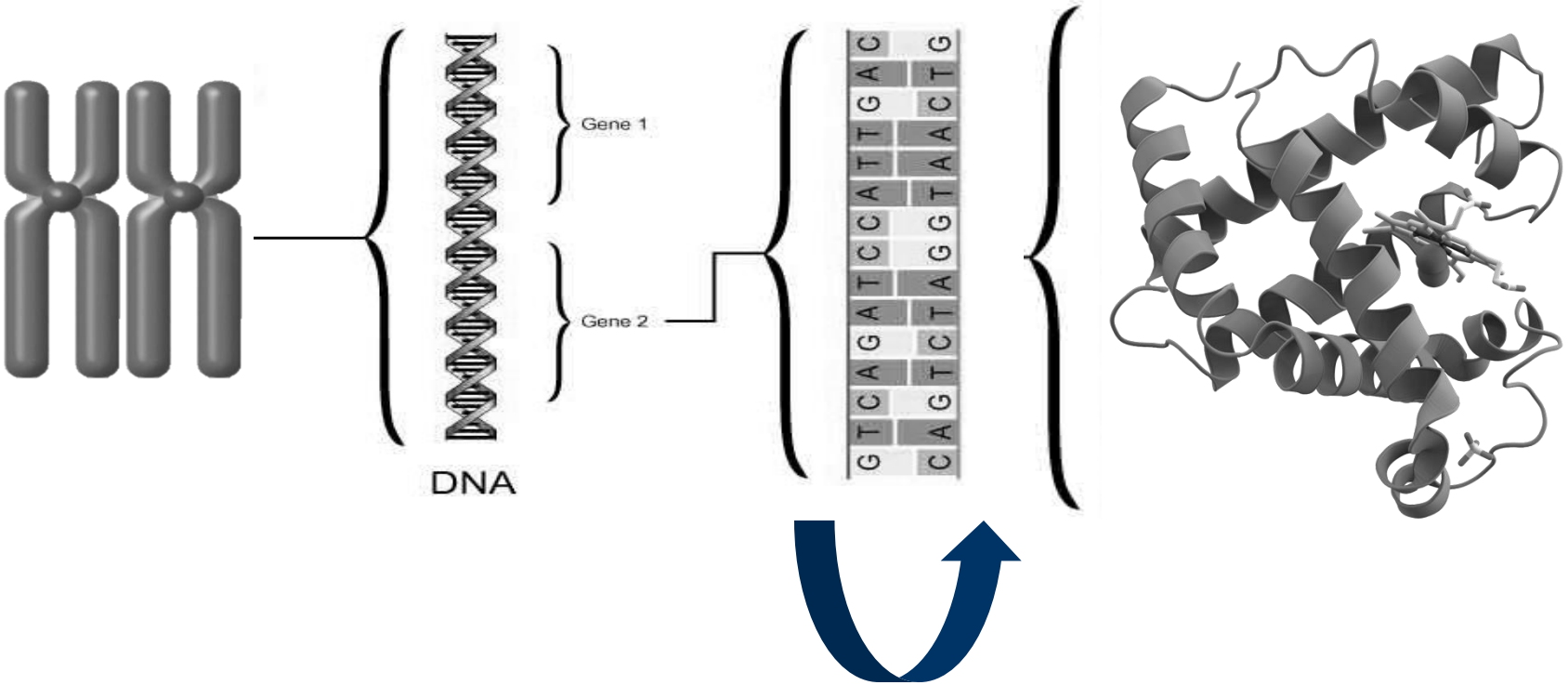
NUEVA GENERACIÓN DE NIPT: Patologías detectadas

ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS ESTRUCTURALES





Enfermedades genéticas



Desde lo más básico...

- Aneuploidías más frecuentes:

NIPT 3

NIPT 3
Aneuploidías:
Trisomía 21
Trisomía 18
Trisomía 13

NIPT 5

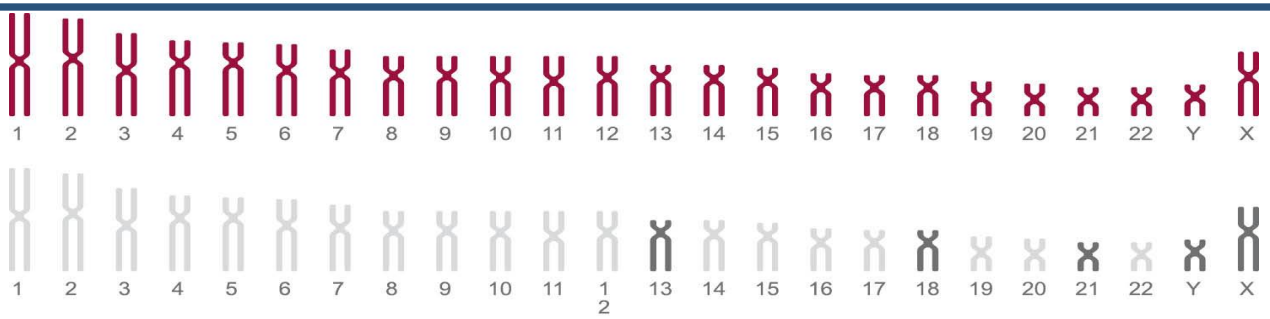
NIPT 5
Aneuploidías:
Trisomía 21
Trisomía 18
Trisomía 13
Aneuploidías X e Y

- Síndromes de microdeleción :

NIPT PLUS

NIPT PLUS	
Aneuploidías:	**Síndromes de Microdeleción:**
Trisomía 21	Síndrome de DiGeorge
Trisomía 18	Síndrome de Cri-Du-Chat
Trisomía 13	Síndrome de Prader-Willli
Aneuploidías X e Y	Síndrome de Angelman
Aneuploidía 9	Síndrome de Delecion 1p36
Aneuploidía 16	Síndrome de Wolf-Hirschhorn

... a lo más complejo...



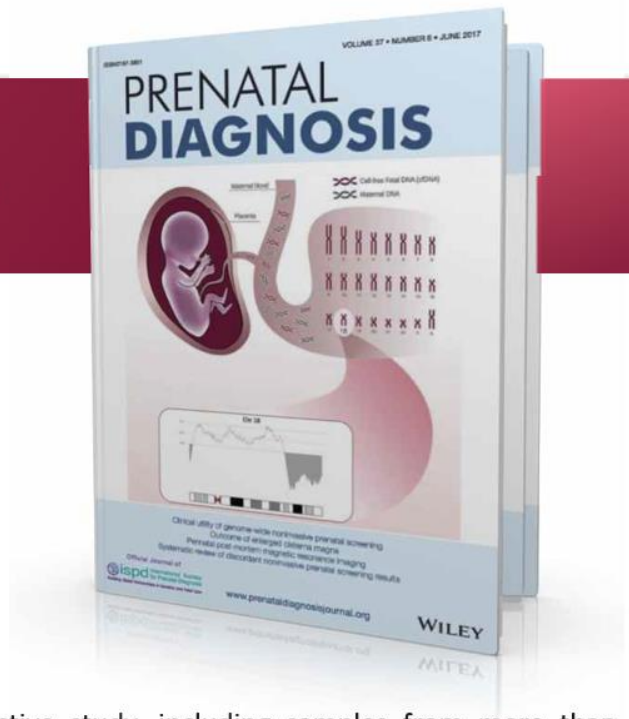
NIPT KARYO

NIPT KARYO			
Aneuploidías frecuentes :	**Aneuploidías menos frecuentes :**		
Trisomía 21	Trisomía 1	Trisomía 2	Trisomía 3
Trisomía 18	Trisomía 4	Trisomía 5	Trisomía 6
Trisomía 13	Trisomía 7	Trisomía 8	Trisomía 9
X0	Trisomía 10	Trisomía 11	Trisomía 12
XXX	Trisomía 14	Trisomía 15	Trisomía 16
XXY	Trisomía 17	Trisomía 19	Trisomía 20
XYY	Trisomía 22		

Estudios prospectivos 12.000 muestras: **EXPERIENCIA**

PrenatalSafe® KARYO

DEMONSTRATED CLINICAL UTILITY



Our latest prospective study, including samples from more than **12.000 pregnant women,** published in **Prenatal Diagnosis** journal, demonstrated the clinical utility of **PrenatalSAFE® Karyo** test, reporting a significantly **higher sensitivity** of **PrenatalSAFE® Karyo** test as compared with **standard cfDNA screening** for the detection of common aneuploidies **(100% vs 92.64%, p<0.001)**.

Fiorentino et al. (2017) Prenatal Diagnosis 37, 593–601

GENOMA® Molecular Genetics Laboratories Group

RENDIMIENTO CLÍNICO

Performance PrenatalSafe® KARYO : **pre-clinical validation data***

	Trisomy 21 (n=1419)	Trisomy 18 (n=1419)	Trisomy 13 (n=1419)	SCA (n=1419)	CNV (n=1419)
True Positive	100	31	14	36	37
False Positive	0	0	0	0	0
True Negative	1319	1388	1405	1383	1382
False Negative	0	0	0	0	0
Sensitivity (95% CI)	100,00% (96.38% - 100.00%)	100,00% (88.78% - 100.00%)	100,00% (76.84% - 100.00%)	100,00% (90.26% to 100.00%)	100,00% (90.51% to 100.00%)
Specificity (95% CI)	100,00% (99.72% - 100.00%)	100,00% (99.73% - 100.00%)	100,00% (99.74% - 100.00%)	100,00% (99.73% to 100.00%)	100,00% (99.73% to 100.00%)
PPV (95% CI)	100,00% (96.38% - 100.00%)	100,00% (88.78% - 100.00%)	100,00% (76.84% - 100.00%)	100,00% (90.26% to 100.00%)	100,00% (90.51% to 100.00%)
NPV (95% CI)	100,00% (99.72% - 100.00%)	100,00% (99.73% - 100.00%)	100,00% (99.74% - 100.00%)	100,00% (99.73% to 100.00%)	100,00% (99.73% to 100.00%)

* Fiorentino et al., ESHG conference 2016; ISPD Conference 2016

Performance PrenatalSafe® KARYO : **Clinical Cases with Follow-up** (update March 2016)

	Trisomy 21 (n=11.932)	Trisomy 18 (n=11.932)	Trisomy 13 (n=11.932)	SCA (n=11.932)	Rare Trisomies (n=11.932)	CNV (n=11.932)
True Positive	88	15	12	36	10	8
False Positive	1	1	1	12	7	5
True Negative	11.843	11.916	11.919	11.884	11.915	11.919
False Negative	0	0	0	0	0	0
Sensitivity (95% CI)	100.00% (95.89% - 100.00%)	100.00% (78.20% - 100.00%)	100.00% (73.54% - 100.00%)	100.00% (90.26% - 100.00%)	100.00% (69.15% - 100.00%)	100.00% (63.06% - 100.00%)
Specificity (95% CI)	99.99% (99.95% - 100.00%)	99.99% (99.95% - 100.00%)	99.99% (99.95% - 100.00%)	99.90% (99.82% - 99.95%)	99.94% (99.88% - 99.98%)	99.96% (99.90% - 99.99%)
PPV (95% CI)	98.88% (92.54% - 99.84%)	93.75% (67.88% - 99.07%)	92.31% (62.83% - 98.84%)	75.00% (63.02% - 84.08%)	58.82% (40.52% - 74.97%)	61.54% (39.98% - 79.35%)
NPV (95% CI)	100.00% (99.95% - 100.00%)	100.00% (99.95% - 100.00%)	100.00% (99.95% to 100.00%)	100,00% (99.95% - 100.00%)	100,00% (99.95% - 100.00%)	100,00% (99.95% - 100.00%)

PPV: Positive Predictive Value **NPV**: Negative Predictive Value **SCA**: Sex Chromosomes Aneuploidy **CNV**: Copy Number Variation

… ofreciendo lo más completo

NIPT KARYO PLUS

NIPT KARYO			
Aneuploidias frecuentes :	**Aneuploidias menos frecuentes :**		
Trisomia 21	Trisomia 1	Trisomia 2	Trisomia 3
Trisomia 18	Trisomia 4	Trisomia 5	Trisomia 6
Trisomia 13	Trisomia 7	Trisomia 8	Trisomia 9
X0	Trisomia 10	Trisomia 11	Trisomia 12
XXX	Trisomia 14	Trisomia 15	Trisomia 16
XXY	Trisomia 17	Trisomia 19	Trisomia 20
XYY	Trisomia 22		

+

Síndromes de microdeleción	
Sínd. de DiGeorge	Sínd. de Jacobsen
Sínd. de Cri-Du-Chat	Sínd. de Smith-Magenis
Sínd. de Prader-Willli	Sínd. de Langer-Gideon
Sínd. de Angelman	
Sínd. de delecion 1p36	
Sínd. de Wolf-Hirschhorn	

La mayoría de las microdeleciones se presentan de novo.

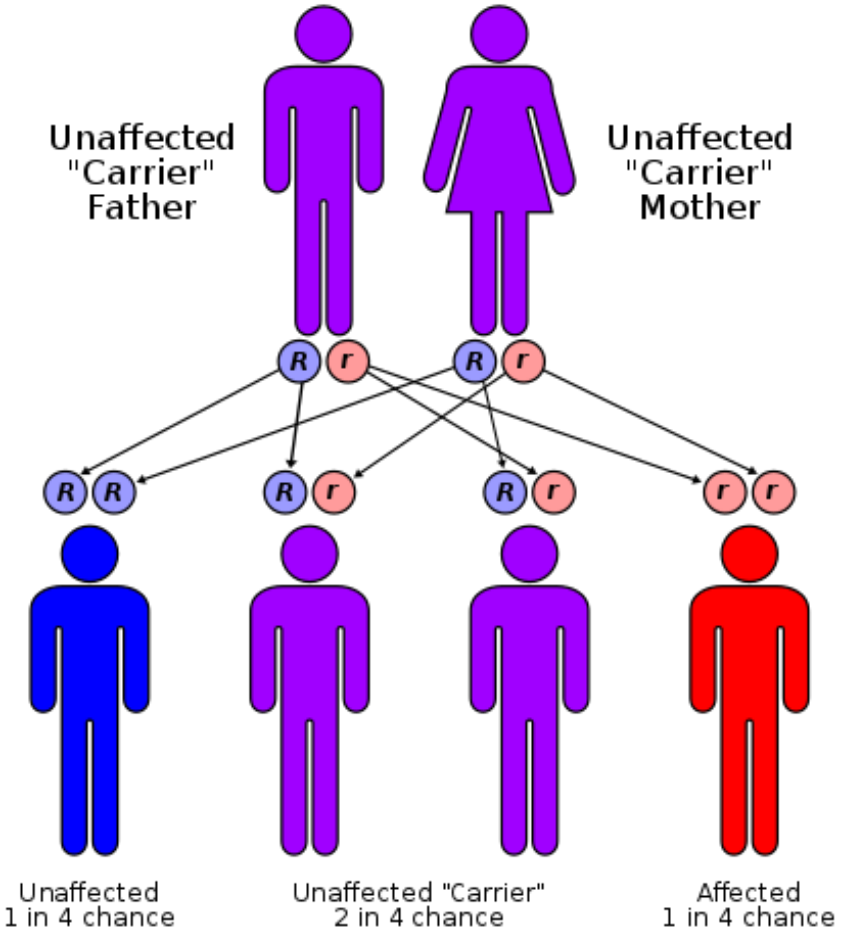
Enfermedades genéticas

- Enfermedades hereditarias **recesivas**: **NIPT INHERIT**
- Enfermedades genéticas ***de novo***: **NIPT *DE NOVO***

NIPT *INHERIT*:

NIPT *INHERIT* *:* análisis de los trastornos hereditarios recesivos con alta prevalencia en la población en general

Se necesitan las dos copias del gen mutadas



NIPT *INHERIT*: Enfermedades hereditarias mas comunes

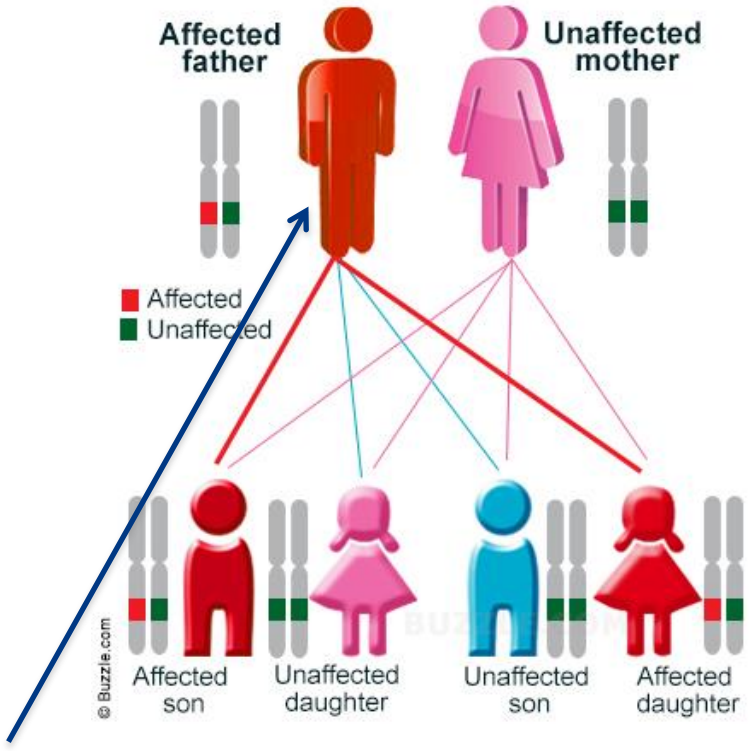
NIPT Gene Inherit	
Enfermedad genética	GEN
Fibrosis quística	CFTR
Hipoacusia autosómica recesiva tipo 1A	CX26 (GJB2)
Hipoacusia autosómica recesiva tipo 1B	CX30 (GJB6)
Beta Talasemia	HBB
Anemia falciforme	HBB

NIPT *De Novo*

NIPT *De Novo:* permite la detección de enfermedades genéticas dominantes en el feto (de novo)

Mutación de novo:

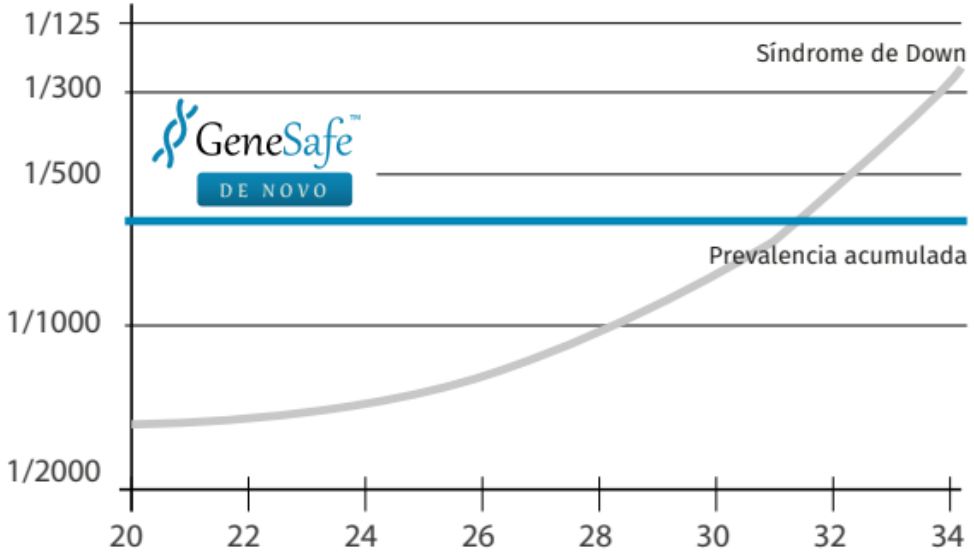
- alteración que aparece **por primera vez** en la familia
- ni padres ni abuelos presentan la alteración
- resultado de una **nueva mutación** en una **célula germinal o** en el zigoto.
- sucesos poco frecuentes
- mayor frecuencia en genes grandes y con zonas de alta tasa mutacional



Padre no afecto
Espermatozoides afectos

CARACTERÍSTICAS

El riesgo de encontrar alguna de las patologías genéticas detectadas por **NIPT D*e Novo***, son **independientes de la edad materna**.



Aunque la ocurrencia de cada trastorno es relativamente rara, la **prevalencia acumulada** de estas condiciones (~ 1 en 600) es **similar** a la del **Síndrome de Down**.

McRae J, et al.: ***Prevalence and architecture of de novo mutations in development disorders*** **Nature 2017: 542:433-438.**

CARACTERÍSTICAS

En NIPT tradicional analiza principalmente anomalías asociadadas a edad materna avanzada (ej. Síndrome de Down).

NIPT *De novo* analiza trastornos genéticos **asociados** a **edad paterna avanzada** (hombres >40 años), asegurando un **cribado más exhaustivo** en parejas de edad avanzada.

Kong A, et al.: *Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk*. Nature 2012, 488:471-475.

VENTAJAS: identificación precoz

Muchas de las enfermedades analizadas en el NIPT ***De Novo:***

- **No están típicamente asociadas con anomalías ecográficas prenatales** (especialmente en el primer trimestre)
- o **pueden no ser evidentes hasta finales del segundo/tercer trimestre**, cuando la confirmación mediante técnicas invasivas puede aumentar el riesgo de partos pretérmino.

Enfermedades estudiadas en el panel

Syndromic Disorders	Gene
Alagille syndrome	JAG1
CHARGE syndrome	CHD7
Cornelia de Lange syndrome 5	HDAC8
Cornelia de Lange syndrome 1	NIPBL
Rett syndrome	MECP2
Sotos syndrome 1	NSD1
Bohring-Opitz syndrome	ASXL1
Schinzel-Giedion syndrome	SETBP1
Holoprosencephaly	SIX3
Craniosynostosis Syndromes	
Antley-Bixler syndrome without genital anomalies or disordered steroidogenesis	FGFR2
Apert syndrome	
Crouzon syndrome	
Jackson-Weiss syndrome	
Pfeiffer syndrome type 1	
Pfeiffer syndrome type 2	
Pfeiffer syndrome type 3	
Noonan Spectrum Disorders	
Cardiofaciocutaneous syndrome 1	BRAF
Noonan syndrome-like disorder with or without juvenile myelomonocytic leukemia (NSLL)	CBL
Noonan syndrome/cancers	KRAS
Cardiofaciocutaneous syndrome 3	MAP2K1
Cardiofaciocutaneous syndrome 4	MAP2K2
Noonan syndrome 6/cancers	NRAS
Noonan syndrome 1/ LEOPARD syndrome/cancers	PTPN11

Noonan Spectrum Disorders	Gene
Juvenile myelomonocytic leukemia (JMML)	PTPN11
Noonan syndrome 5/LEOPARD syndrome 2	RAF1
Noonan syndrome 8	RIT1
Noonan syndrome-like disorder with loose anagen hair	SHOC2
Noonan syndrome 4	SOS1
Skeletal Disorders	
Achondrogenesis, type II or hypochondrogenesis	COL2A1
Achondroplasia	FGFR3
CATSHL syndrome	
Crouzon syndrome with acanthosis nigricans	
Hypochondroplasia	
Muenke syndrome	
Thanatophoric dysplasia, type I	
Thanatophoric dysplasia, type II	
Ehlers-Danlos syndrome, classic	COL1A1
Ehlers-Danlos syndrome, type VIIA	
Osteogenesis imperfecta, type I	
Osteogenesis imperfecta, type II	
Osteogenesis imperfecta, type III	
Osteogenesis imperfecta, type IV	
Ehlers-Danlos syndrome, cardiac valvular form	COL1A2
Ehlers-Danlos syndrome, type VIIB	
Osteogenesis imperfecta, type II	
Osteogenesis imperfecta, type III	
Osteogenesis imperfecta, type IV	

Mutaciones en dichos genes causan:

- **Displasias equeléticas**
- **Anomalías cardíacas**
- **Síndromes polimalformativos**
- **Trastornos del neurodesarrollo (ej. autismo, epilepsia, discapacidad intelectual)**
- **Casos esporádicos de síndromes poco frecuentes (ej. Síndrome de Schinzel-Giedion; Síndrome Bohring-Opitz).**

INDICACIONES

Indicado en pacientes:

- Con edad paterna avanzada (hombres >40 años)
- Con resultados anómalos en pruebas de ultrasonidos que sugieran enfermedades monogénicas.
- Que deseen evitar procedimientos diagnósticos invasivos.
- Con riesgo de las enfermedades genéticas a estudio.

El test puede realizarse:

- En embarazos simples y gemelares.
- En embarazos llevados mediante técnicas FIV, incluyendo embarazos con ovodonación

RESULTADOS REPORTADOS

POSITIVO

Se detectan mutaciones patogénicas/probablemente patogénicas

- Una paciente con resultado positivo debe ser derivada al especialista para ofrecerle el asesoramiento genético adecuado.
- Un resultado positivo debe ser confirmado mediante técnicas diagnósticas invasivas (cariotipo, array CGH y técnicas de diagnóstico molecular).
- Solo se reportaran las mutaciones conocidas.

NEGATIVO

No se han detectado mutaciones patogénicas/probablemente patogénicas

- Este resultado indica que no se han detectado mutaciones conocidas en los genes analizados.
- Un resultado negativo no excluye por completo la presencia de alteraciones genéticas

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Alta Resolución: *cobertura* **>550X**

Alta fiabilidad:
Sensibilidad y especificidad **>99%**

Medición adecuada de la Fracción Fetal (FF)

Límite de detección: altamente recomendado para **cantidades bajas de cfADN (FF 2%)**

Baja incidencia de resultados no concluyentes (<1%)

SIMPLE: una simple **muestra de sangre (8-10ml)** recogida **a partir de las 10 primeras semanas** de gestación

SEGURA: Se trata de un test **no invasivo** que no implica **ningún riesgo** ni para el feto ni para la madre

FIABLE:
Sensibilidad y **especifidad > 99%**

RÁPIDA:
Resultados en sólo **12 días**

Distintas opciones de cribado

5 enfermedades genéticas hereditarias recesivas

44 enfermedades dominantes ***de novo***

... NUESTRO SERVICIO

LA OFERTA MÁS COMPLETA EN DIAGNÓSTICO PRENATAL NO INVASIVO

POSIBILIDAD DE CONFIRMACIÓN DE TODAS LAS POSIBLES ANOMALÍAS :
cariotipo, estudio de microdeleciones , array cgh, diagnóstico molecular

ASESORAMIENTO GENÉTICO

RED DE LABORATORIOS EXTENSA

58 Hospitales Privados
60 Laboratorios
600 Centros de extracción