

PROTOCOLO DE DIAGNÓSTICO PRENATAL

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

Dr. Parra

Dr. Dosouto

Febrero de 2015

1. INTRODUCCIÓN

Se entiende como Diagnóstico Prenatal a todas aquellas acciones diagnósticas que pretenden objetivar durante el embarazo un defecto congénito (anomalía del desarrollo morfológico, estructural, funcional o genético presente en el nacimiento (aunque puede manifestarse mas tarde). Se pretende confirmar la ausencia o presencia de tal defecto con la mayor precocidad y certezas posibles.

1.1. Ámbitos que engloba el diagnóstico prenatal

Alrededor del 3% de nacidos vivos presentan alguna anomalía (incrementándose hasta el 4-7% al año de vida). Dependiendo de la causa, se pueden distinguir:

Anomalías cromosómicas:

Detectables en alrededor del 0.5-0.7% de los fetos y responsables del 12-14% de los defectos congénitos. Pueden ser numéricas o estructurales y afectar a los autosomas o a los cromosomas sexuales.

Se distinguen dos subgrupos de riesgo para anomalías cromosómicas:

- 1) Factores de riesgo preconceptionales: hijo previo con cromosomopatía, progenitor portador de una anomalía cromosómica (translocaciones equilibradas, translocaciones pericéntricas, fragilidad cromosómica, inversiones, etc), edad materna ≥ 40 años. El aborto de repetición puede considerarse indicación de prueba invasiva cuando el estudio del material abortivo muestre la existencia de una anomalía cromosómica o cuando existan pérdidas fetales recurrentes (> 3).
- 2) Factores de riesgo intragestacionales: sospecha de la existencia de una cromosomopatía fetal a partir de la aplicación de un programa de cribado prenatal de alteraciones cromosómicas.

Enfermedades hereditarias monogénicas (mendelianas):

Presentes en el 1-1.5% de nacidos y responsables de alrededor del 25% del total de anomalías. Se transmite según la herencia mendeliana clásica

(dominante o recesivo, autosómico o ligado a cromosomas sexuales). En nuestro medio se dan con mayor frecuencia la fibrosis quística, distrofia miotónica, riñón poliquístico y neurofibromatosis. El riesgo de recurrencia oscila entre el 25-50%.

Son población de riesgo aquellas mujeres con historia familiar compatible.

Enfermedades multifactoriales:

Se combinan factores genéticos y ambientales. Son las más frecuentes y responsables de buen número de las malformaciones. El riesgo de recurrencia es bajo. Entre ellas están los defectos del tubo neural.

Son población de riesgo el 100% de las gestantes.

Malformaciones por efecto ambiental teratogénico:

Participan distintos factores (infecciones, tóxicos ambientales, fármacos, radiaciones ionizantes). Son población de riesgo aquellas mujeres con historia de exposición a un elemento teratogénico.

En el presente Protocolo se van a tratar la anomalías de origen cromosómico y monogénico.

2. CRIBADO PRENATAL DE ANEUPLOIDIAS

Se acepta que una prueba de cribado debe tener como mínimo una tasa de detección del 75% para una tasa de falsos positivos (TFP) del 5%.

Aquí se incluyen las trisomías de los pares 21, 18 y 13. La trisomía 21 o síndrome de Down ha sido uno de los objetivos prioritarios por tratarse de la aneuploidía más frecuente en recién nacidos vivos y la causa más frecuente de retraso mental severo. En la actualidad se observa un incremento de su prevalencia (aproximadamente 1.8‰) a causa, sobretodo, del incremento de la edad de las gestantes.

En este Protocolo se utiliza un método de cribado que calcula el riesgo de T21, T13 i T18, teniendo en cuenta no solo la edad de la gestante, sino también las características ecográficas del feto (marcadores ecográficos) y los marcadores bioquímicos de cromosopatía en sangre materna. Se calcula un riesgo específico para cada gestante en función de los valores obtenidos para dichos

marcadores. Un riesgo $> 1/250$ se considerará elevado y se ofrecerá una técnica invasiva de diagnóstico prenatal.

2.1. Marcadores ecográficos

El marcador que se tomará como referencia es la translucencia nucal (TN), o grosor de la zona econegativa de la nuca del feto. La TN debe ser medida utilizando los criterios de la Fetal Medicine Foundation. Un incremento del grosor de la TN, medida entre las semanas 11 y 14, se correlaciona con la presencia de aneuploidías y sobretodo con la trisomía 21 aunque también para trisomía 13 (síndrome de Patau) y trisomía 18 (síndrome de Edwards). Es el marcador ecográfico que presenta mayor efectividad. Se asocia asimismo a otras afecciones fetales (por ejemplo cardiopatías).

Una TN superior al p99 o $> 3.5\text{mm}$ es indicación directa de prueba invasiva. En caso de cariotipo normal se deberá realizar ecografía morfológica precoz y ecocardiografía.

2.2. Marcadores bioquímicos

Proteínas detectadas en la sangre materna y cuyo aumento o disminución según el marcador, se correlaciona con la presencia de trisomía 21.

Marcadores bioquímicos del I trimestre:

- Proteína plasmática asociada al embarazo (PAPP-A), disminuida en la T-21.
- Fracción β libre de la gonadotropina coriónica ($f\beta$ -HCG), (elevada en la T-21).

Marcadores bioquímicos del II trimestre:

- Alfa feto-proteína (AFP), disminuida en la T-21.
- Fracción β libre de la gonadotropina coriónica ($f\beta$ -HCG), aumentada en la T-21.
- Estriol no conjugado ($uE3$), disminuido en la T-21.
- Inhibina A, aumentada en la T-21.

La estimación del riesgo se calcula con un software específico que combina marcadores ecográficos y bioquímicos.

El cálculo del riesgo se basa en la modificación del riesgo “a priori” de una determinada trisomía definido por la edad materna, así como los ratios de verosimilitud (likelihood ratios) derivados de los valores de los marcadores empleados, obteniéndose un riesgo “a posteriori”.

Existen otros factores contemplados en el cálculo del riesgo:

Factores que afectan al valor atribuido al riesgo “a priori”: Edad materna, edad gestacional, gestación previa afecta y la edad de la donante de ovocitos en las técnicas de reproducción asistida.

Factores de corrección que se contemplan porque pueden afectar a los niveles de los marcadores: Peso materno, grupo racial o étnico, consumo de tabaco, diabetes insulino-dependiente, gestación gemelar, etc.)

3. CRIBADO COMBINADO DE 1r TRIMESTRE

Es el método de elección en la actualidad con una tasa de detección para T21 del 85-95% para una TFP del 5%.

Consiste en la estimación del riesgo de que el feto esté afecto de S. Down, S. Edwards o Patau a partir del riesgo inherente a la edad materna modificado por los marcadores ecográficos y bioquímicos del 1rT.

Se realiza de rutina a todas las gestantes que no tengan constancia de riesgo aumentado de anomalía cromosómica i que conusltan antes de las 13+6 semanas. El proceso se realiza preferentemente en 2 períodos:

- a) Extracción de sangre materna entre las 7+6 i las 13+6 semanas de amenorrea (preferentemente entre las 8 i las 10 semanas). Se determinan la PAPP-A y la f β -HCG.
- b) La ecografía se practica cuando el feto tiene un CRL entre 45-80mm. Se puede incluir un CRL de hasta 84mm si la extracción de sangre materna se realiza antes de las 14+0 semanas (equivalente a un CRL de 80mm).

La paciente será informada del resultado del test preferentemente de forma inmediata tras la medida de la TN o en un plazo máximo de 48 horas si el resultado del test es de alto riesgo. Por el contrario, si el riesgo es menor, se

ofrecerá a la gestante el seguimiento ecográfico habitual y no se recomendará la realización de ninguna prueba invasiva.

3.1. Sonograma genético de 1r trimestre

Consiste en el recálculo de riesgo del cribado combinado con la valoración de los marcadores ecográficos: Hueso nasal ausente, ductus venoso con flujo ausente o reverso durante la contracción atrial y regurgitación tricuspídea (Tabla 1). Alcanza una tasa de detección para T21 del 93-96% con una reducción de la TFP al 2,5%.

La valoración de estos marcadores es dificultosa, requiere de clínicos experimentados y utillaje adecuado, por lo que no se realizará de forma sistemática sino que se contemplará su realización preferentemente en casos seleccionados de pacientes con riesgo intermedio (1:250 a 1:1000).

Tabla 1.

	Detection rate	False positive rate	PLR	NLR	iLR
Nuchal translucency					
Rate	69% (68/99)	5.0% (549/11,014)	-	-	-
95% CI	60-78	4.6-5.4			
Nasal bone					
Rate	20% (15/77)	1.3% (108/8,506)	15	0.82	3.9
95% CI	11-28	10.5-14.9			
Ductus venosus					
Rate	54% (50/93)	5.3% (572/10,830)	10.2	0.49	4.4
95% CI	44-64	4.9-5.7			
Tricuspid flow					
Rate	49% (17/35)	3.4% (37/1,078)	14.3	0.53	5.8
95% CI	32-65	2.4-4.5			

PLR = Positive likelihood ratio; NLR = negative likelihood ratios; iLR = isolated likelihood ratio.

Si todos los marcadores son negativos: LR 0,21

Likelihood Ratios obtenidos en los marcadores ecográficos secundarios (Illa, Fetal Diagn Ther 2013; 34:116-120) -

3.2. Cribado combinado de 1r trimestre en gestaciones gemelares

En este caso se valorará la TN de cada uno de los embriones. En las gestaciones bicoriales se establecerá un riesgo para cada embrión, mientras que en las monocoriales se calculará un solo riesgo (ya que se trata de gemelos monozigóticos), teniendo en cuenta la TN media y el CRL del feto mayor.

En caso de TN aumentada(>p95), o con discordancia >20% con cariotipo normal en una gestación monocorial, debe pensarse en un signo precoz de transfusión feto-fetal (TFF).

En caso de un segundo gemelo no viable no se realizará la corrección por embarazo gemelar y el rendimiento del cribado en estos casos es limitado.

4. CRIBADO COMBINADO DEL SEGUNDO TRIMESTRE

Se considera un método de cribado de segunda elección.

Si la gestante consulta a partir de la semana 14 y hasta la semana 19+6, puede realizarse, un cribado bioquímico del II trimestre, que preferentemente está constituido por **el test cuádruple**, dada su mayor eficacia: f β -HCG, AFP, uE3, inhibina A.

Tasa de detección Sd. Down: 51%.

Eficacia menor que test combinado de 1r trimestre. Tasa de detección mayor que si se utiliza sólo la edad materna. Experiencia limitada. Utilizarlo únicamente como técnica de recurso tras explicar las limitaciones a la paciente. No aplicable en >2 fetos.

Cribado ecográfico con TN + edad materna: en gestaciones de tres fetos o más.

4.1 RECÁLCULO DEL RIESGO EN SEGUNDO TRIMESTRE

El riesgo de aneuploidía fetal para cada gestante será reevaluado en el segundo trimestre, al realizar la ecografía morfológica de la semana 20:

- **Hallazgo de una malformación estructural y/o CIR precoz severo inexplicado:** Son indicación de realización de una técnica invasiva para estudio genético con cariotipo y/o array CGH, independientemente del resultado del programa de cribado de 1r trimestre.
- **Hallazgo aislado de marcadores ecográficos de cromosomopatía:** Se recomienda tener en cuenta el riesgo estimado previamente y recalcularlo según los likelihood ratios de cada uno de los marcadores (utilizar la tabla de Agathokleous et al 2013, con libro excel de cálculo disponible en la unidad G, o las tablas del programa de cálculo de riesgo SSLAB6 utilizadas habitualmente en nuestro Servicio). Los marcadores a valorar serán los siguientes:
 - Hueso nasal hipoplásico ($\leq 2,5\text{mm}$) o ausente
 - ARSA.
 - Ventriculomegalia ($\geq 10\text{mm}$).
 - Pliegue nuchal $\geq 6\text{mm}$.
 - Hiperecogenicidad intestinal (igual al hueso).
 - Ectasia piélica $\geq 4\text{mm}$.
 - Foco hiperecogénico intracardiaco.
 - Húmero acortado ($< p5$).
 - Fémur acortado ($< -2\text{DS}$ de las tablas del HSP).

Tabla 2

Table 11 Pooled estimates of detection rate (DR), false positive rate (FPR) and positive and negative likelihood ratios (LR+ and LR-) of sonographic markers for trisomy 21 and estimated likelihood ratio (LR) of individual isolated markers

Marker	DR (95% CI) (%)	FPR (95% CI) (%)	LR+ (95% CI)	LR- (95% CI)	LR isolated marker ^c
Intracardiac echogenic focus	24.4 (20.9–28.2)	3.9 (3.4–4.5)	5.85 (5.04–6.80)	0.80 (0.75–0.86)	0.95
Ventriculomegaly	7.5 (4.2–12.9)	0.3 (0.2–0.4)	25.78 (12.85–51.73)	0.94 (0.91–0.98)	3.57
Increased nuchal fold	26.2 (20.3–33.0)	1.2 (0.7–2.2)	19.18 (11.55–31.84)	0.80 (0.75–0.86)	3.12
Echogenic bowel	16.7 (13.4–20.7)	1.1 (0.8–1.5)	11.44 (9.05–14.47)	0.90 (0.86–0.94)	1.65
Mild hydronephrosis	13.7 (11.1–17.0)	1.4 (1.2–1.8)	7.77 (6.22–9.71)	0.92 (0.89–0.96)	1.10
Short humerus	30.3 (17.1–47.9)	4.6 (2.8–7.4)	4.81 (3.49–6.62)	0.74 (0.63–0.88)	0.78
Short femur	27.7 (19.3–38.1)	6.4 (4.7–8.8)	3.72 (2.79–4.97)	0.80 (0.73–0.88)	0.61
ARSA	30.7 (17.8–47.4)	1.5 (1.0–2.1)	21.48 (11.48–40.19)	0.71 (0.57–0.88)	3.94
Absent or hypoplastic NB	59.8 (48.9–69.9)	2.8 (1.9–4.0)	23.26 (14.23–38.03)	0.46 (0.36–0.58)	6.58

^cDerived by multiplying the positive LR for the given marker by the negative LR of each of all other markers, except for short humerus. ARSA, aberrant right subclavian artery; NB, nasal bone.

Likelihood ratios (LR) positivos, negativos y aislados de los marcadores de T21 de segundo trimestre (Agathokleous, *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 41:247-261)

Su aplicación incrementa la tasa de detección de T21 en un 6% con 1'2% adicional de FP. No está indicada su aplicación si la paciente se ha realizado previamente un Test Prenatal No Invasivo (TPNI) dada la alta sensibilidad y especificidad de la prueba para T21.

Los quistes de plexo coroideo cuando se evidencian de forma aislada en una exploración ecográfica no modifican el riesgo de T21, pero sí el de T-18 con una LR de 7.

6. TÉCNICAS INVASIVAS

6.1 BIOPSIA CORIAL

Consiste en la extracción de una muestra de trofoblasto por vía transabdominal (preferente en nuestro centro) (BC-TA) o transcervical si la primera opción no es posible (BC-TC). Permite estudios citogenéticos, moleculares y bioquímicos. Se considera que es la técnica de elección para el cariotipo fetal antes de la semana 15 de gestación.

Técnica. Sus aspectos principales están resumidos en el anexo 1 de este protocolo (tabla 1).

Ventajas. Las más importantes aparecen reflejadas en el anexo 1 (tabla 2)

Indicaciones:

Cariotipo:

- Cribado cominado de 1r trimestre con resultado $> 1:250$ para T-21 o T-18/13
- TN $> p99$
- Recálculo ecográfico del riesgo en primer trimestre con un resultado $\geq 1/250$ para T21 o T18/13
- Anomalía cromosómica en gestación previa

- Anomalía cromosómica en uno de los progenitores
- Pérdida gestacional precoz de repetición (2 abortos consecutivos o 3 alternos).
- Confirmación de un diagnóstico pre-implantacional
- Confirmación del resultado positivo en un test prenatal no invasivo (NIPT) mediante estudio del DNA fetal libre en sangre materna.

Array CGH:

- Anomalía morfológica fetal ecográfica
- TN > percentil 99

Estudio de enfermedad monogénica

(En los casos que tenga diagnóstico específico molecular o bioquímico).

El estudio realizado a partir de las vellosidades coriales proporciona un resultado válido en el 99% de los casos y tiene un elevado grado de precisión, especialmente para el diagnóstico de las aneuploidías mas comunes. Solamente es preciso recurrir a otra técnica invasiva en el 1% de las BC, bien por contaminación materna, por fracaso del cultivo o por tener resultados citogenéticos ambiguos (existencia de un mosaicismo confinado a la placenta). Esta discordancia es poco frecuente observándose en 1-2% de cultivos cortos y 0.1% de cultivos largos. Los mosaicismos encontrados al analizar tejido mesenquimal cultivado de las BC (cultivo largo) tienen más probabilidades de ser un mosaicismo verdadero en el feto que los obtenidos en cultivo corto (directo o semidirecto).

En cualquier caso, cuando se diagnostique un mosaicismo, debe ofrecerse una AC que, en la mayoría de los casos informará del cariotipo real del feto. No obstante, con la AC también cabe la posibilidad de encontrar resultados falsos positivos y falsos negativos. Dadas estas limitaciones, en todos estos casos debe realizarse una ecografía detallada, que puede avalar el diagnóstico del mosaicismo al revelar anomalías compatibles con la cromosomopatía detectada. En última instancia, puede ofrecerse la posibilidad de analizar la sangre fetal obtenida por cordocentesis.

Riesgos: El riesgo de pérdida fetal probablemente es inferior al estimado clásicamente del 1-2%. Según estudios recientes (Akolekar et al, Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45:16-26) se estima que el riesgo de pérdida fetal atribuible a la técnica, siempre y cuando la BC la realice un experto estaría alrededor del 0,22% (IC 95% entre -0,71 y 1,16). En nuestro centro, y en línea con este estudio, el riesgo calculado de pérdida gestacional a las 48h post-procedimiento y atribuible a la técnica es del 0,46% (2 pérdidas fetales en 433 en el periodo de 2010 a 2014) .

Situaciones especiales en la BC:

Gestantes con infección crónica como hepatitis B, hepatitis C o VIH:

Se debe conocer el estado serológico de la paciente antes de realizar cualquier técnica invasiva.

No hay suficiente información referente al riesgo de transmisión vertical al feto tras una BC cuando la madre es portadora VHB , VIH o en mujeres positivas para la hepatitis C. Aunque no existe una contraindicación absoluta para la BC en estas pacientes, cuya eventual realización se valorará de forma individual, se preferirá en general la indicación de una amniocentesis evitando la vía transplacentaria, según se comenta en el apartado 6.4 .

Se evitará especialmente la realización cuando la madre sea portadora del VHB con el Hbe Ag positivo o el ADN-VHB sea detectable; o en el caso del HIV, si la madre tiene alta carga viral y no realiza TAR.

6.2 AMNIOCENTESIS

Consiste en la obtención de líquido amniótico por punción transabdominal, a partir de las 15 semanas de gestación.

Técnica. Sus aspectos principales están resumidos en el anexo 1 de este protocolo (tabla 1).

Ventajas. Las más importantes aparecen reflejadas en el anexo 1 (tabla 2)

Indicaciones:

Cariotipo convencional +/- QF-PCR

- Cribado bioquímico con riesgo $\geq 1/250$ para T21 o T18/T13
- Anomalía cromosómica en uno de los progenitores.
- Anomalía cromosómica en gestación previa.
- Recálculo del riesgo de segundo trimestre con riesgo $\geq 1/250$ para T21 o T18
- Confirmación de resultado citogenético no concluyente en vellosidad corial
- Anomalía discordante en gemelos monocoriales biamnióticos.
- Riesgo de infección congénita fetal. PCR para CMV, Toxoplasma, Parvovirus B19, Varicela, Rubeola, Herpesvirus 1-2.
- Riesgo de corioamionitis o inflamación intraamniótica.

Array-CGH

- Anomalía morfológica fetal
- CIR precoz severo inexplicado

Estudio de enfermedad monogénica

(En los casos que tenga diagnóstico específico molecular o bioquímico).

Riesgos:

Son raros los fracasos de cultivo, complicación cuya frecuencia se sitúa en la mayoría de los laboratorios con experiencia por debajo del 1%. La tasa de mosaicismos es menor que para la BC y se sitúa alrededor del 0.25%, pero la mayoría (70%) se confirman en el feto.

El riesgo de pérdida fetal probablemente es inferior al estimado clásicamente del 1%. Según estudios recientes (Akolekar et al, Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45:16-26) se estima que el riesgo de pérdida fetal atribuible a la técnica, siempre y cuando la AC la realice un experto, estaría alrededor del 0,11% (IC 95% entre -0,04 y 0,26).

Contraindicaciones relativas:

- Gestantes seropositivas para VHB, VHC o VIH con carga viral alta (ver apartado 6.4).
- Isoinmunización.
- Fiebre o infección materna intercurrente.
- Sangrado vaginal no filiado (< 1 semana)
- Gran hematoma intracavitario.

Actitud ante tratamiento anticoagulante materno para las técnicas invasivas:

Anticoagulante	Suspensión pre-prueba	Reinicio post-prueba
AAS (75-300)	Ninguna	
HBPM Profiláctica	10-12h	6-8h
HBPM Terapéutica	24h	24h
Dicumarínicos	INR < 1,4	Inmediata

Butwick Aj, J Perinatal 2011; 31:73-84

6.3 CORDOCENTESIS

Consiste en la obtención de sangre fetal, que se realiza a partir de las 20 semanas de gestación.

Técnica. Sus aspectos principales están resumidos en el anexo 1 (tabla 1).

Ventajas. Permite estudiar de forma directa la sangre fetal, y con ello, algunos parámetros no abarcables con las otras técnicas.

Indicaciones:

Cariotipo (QF-PCR +/- Cariotipo convencional)

- Confirmación de resultado citogenético no conclusivo (mosaico) en líquido amniótico
- Estudio de hídrops fetal.

- Cariotipado rápido en anomalía estructural fetal no detectada previamente

Array-CGH

- Anomalía morfológica fetal
- CIR precoz severo inexplicado

Marcadores de infección fetal

Sospecha de anemia de origen no inmunológico (Anemia de Fanconi, alfa talasemia, etc.).

Riesgo de enfermedad monogénica que se ha consultado tardíamente.

Riesgos:

La situación fetal pre-cordocentesis es muy importante, de modo que cuanto más precario sea el grado de bienestar fetal mayor es la probabilidad de pérdida fetal. El riesgo aproximado de pérdida fetal es del 1,7% (siempre se asume que es mayor al de la BC y la AC).

Es muy común (>80%) que se produzca una hemorragia en la zona de punción cuya duración por lo general oscila entre 15 y 120 segundos. La hemorragia cede prácticamente siempre espontáneamente y son excepcionales las muertes producidas por la misma.

La bradicardia es también frecuente, puede llegar a ser inferior a 50 latidos por minuto y suele ceder de forma espontánea.

6.4 Procedimientos invasivos en pacientes VHB

Se valorará la administración de inmunoglobulina específica (HBIG) 600UI /IM antes de 24h post-procedimiento si:

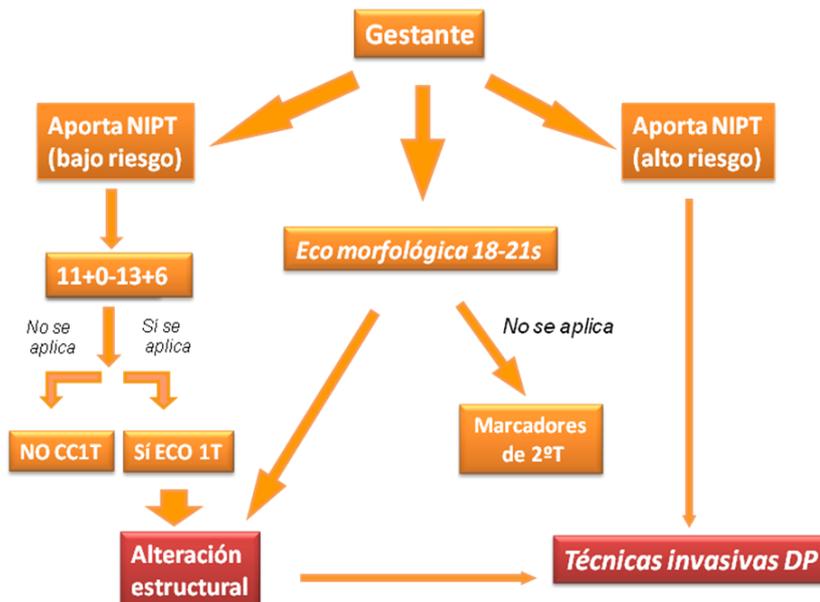
- ADN-VHB o Hbe Ag positivos.
- AC transplacentaria y/o de 3t.
- Cordocentesis o procedimientos de cirugía fetal.

7. TEST PRENATAL NO INVASIVO (NIPT): DNA FETAL LIBRE (cf DNA) EN SANGRE MATERNA

Aunque no disponible en la Medicina pública actualmente, el NIPT para el cribado de las aneuploidias más frecuentes es una realidad clínica que reflejamos en el Anexo 2 de este documento y que deberemos de tener en cuenta a la hora de informar a las pacientes.

En el caso que la paciente aporte a la consulta un resultado de un NIPT lo valoraremos según el siguiente esquema:

Manejo clínico de la paciente que aporta NIPT.



ANEXO 1

Tabla1. Aspectos principales de las técnicas invasivas.

	BIOPSIA CORIAL	AMNIOCENTESIS	CORDOCENTESIS
Edad gestacional	10+0 - 14+6. Nunca antes de las 10+0	≥ 15+0. Nunca antes de las 14+0	≥ 20+0. En casos favorables ≥ 18+0
Examen ecográfico previo	Localizar el máximo grosor corial, diseñando la estrategia de la BC.	Localizar la placenta y las lagunas mayores y/o más accesibles de líquido amniótico y decidir la trayectoria de la punción.	Localizar la inserción placentaria del cordón y decidir la trayectoria de la punción.
Vía de acceso	Preferentemente transabdominal en nuestro centro. Depende de la localización y accesibilidad del corion.	Intentar evitar punción tranplacentaria (aunque no se ha demostrado una tasa aumentada de pérdidas fetales si esto ocurre).	Dependiendo de la ubicación de la placenta y de la inserción del cordón, la punción puede ser trans- o extraplacentaria. El lugar ideal de punción es la vena umbilical, a 1 cm de la inserción placentaria.
Control	Ecográfico transabdominal continuo. (Grado de recomendación B).	Ecográfico transabdominal continuo. (Grado de recomendación B).	Ecográfico transabdominal continuo. (Grado de recomendación B).
Técnica	El operador maneja el transductor y la aguja, y bajo control ecoguiado. Un ayudante realiza la aspiración de las vellosidades.	El operador maneja el transductor y la aguja y un ayudante aspira el líquido amniótico.	- El operador realiza la punción y aspiración de la sangre mientras que otro ecografista guía el procedimiento con la ecografía. - El que realiza la punción mantiene el transductor coordinando los movimientos tanto de este como de la aguja y un ayudante realiza la aspiración de la sangre.
Material	Preferentemente aguja de 20G y sistemas de aspiración de las vellosidades mediante presión negativa con jeringa.	Aguja del calibre 22 G y entre 8-15 cm de longitud. Jeringas de 20 cc para aspiración.	Aguja del calibre 20 . 22 G y entre 8-15 cm de longitud. Jeringas de 2-10 cc para aspiración.
Volumen de la muestra	Comprobar in-situ que hay suficientes vellosidades en el material extraído.	15 - 20 cc de líquido amniótico.	2-4 cc. Comprobar que es sangre fetal (test de Kleihauer-Betke, hemograma, VCM).
Tasa de éxito	99% en manos expertas.	~100% en manos expertas.	~97% en manos expertas.
Precaución	No repetir >3 veces la introducción de la aguja.	No repetir >3 veces la introducción de la aguja.	Monitorizar el lugar de punción hasta constatar el cese del sangrado.

Los tres procedimientos precisan antisepsia (no es necesaria antibioticoterapia profiláctica) y son de carácter ambulatorio. No se precisa anestesia para su ejecución.

En las 3 técnicas es recomendable mantener reposo relativo las primeras 24-48 horas.

En caso de gestantes Rh negativas con test de Coombs indirecto negativo se administrará gammaglobulina anti-D.

Tabla 2. Principales ventajas de la Biopsia corial y la Amniocentesis

BIOPSA CORIAL	AMNIOCENTESIS
Se complementa perfectamente con el cribado combinado del 1r trimestre.	Gran experiencia en la práctica clínica.
Puede realizarse desde etapas muy precoces del embarazo. Esto permite una interrupción más precoz y segura del embarazo en caso de anomalía fetal.	Mayor sencillez técnica.
Proporciona con gran rapidez los resultados	Gran fiabilidad diagnóstica (gran experiencia en los laboratorios de genética).
Puede realizarse tanto transabdominal como transcervical, lo cual le proporciona una gran versatilidad.	Es útil para el diagnóstico de un espectro más amplio de enfermedades fetales.
Es superior a la amniocentesis para análisis de ADN y estudios bioquímicos.	Proporciona cariotipos de más fácil interpretación.

ANEXO 2

NUEVAS TÉCNICAS DE LABORATORIO EN DP

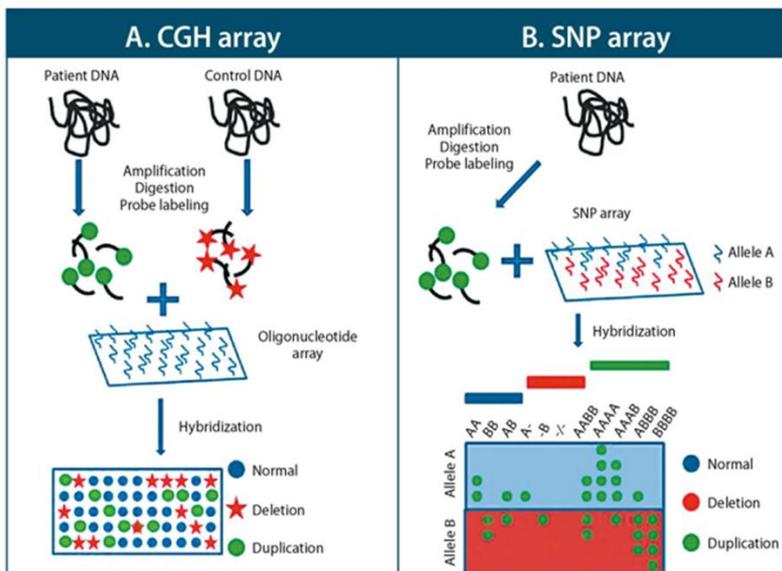
- 1) MICROARRAYS
- 2) TEST PRENATAL NO INVASIVO (NIPT) MEDIANTE ESTUDIO DEL ADN FETAL LIBRE EN SANGRE MATERNA

1) Los microarrays

Permiten la detección de anomalías cromosómicas de muy pequeño tamaño, invisibles con las técnicas de citogenética convencionales.

Existen 2 tipos de microarray que se utilizan en DP: Hibridación genómica comparativa (CGH-arrays) y el SNP array (polimorfismo de oligonucleótidos)

Fundamento: Se hibrida una muestra de DNA fetal con una matriz o soporte sólido de DNA que contiene fragmentos de DNA identificados de todo el genoma (sondas con secuencias conocidas)



Aunque las diferencias entre los diversos estudios son notables, probablemente debido a distintos criterios de selección de las pacientes, puede decirse que en gestaciones con un estudio cromosómico normal los arrays CGH detectan un 1,0% adicional de anomalías en casos de edad materna avanzada, un 0,6% en casos de ansiedad materna, un 1,6% si el cribado bioquímico ha sido positivo y de un 4% a 10% tras observar una anomalía ecográfica . De acuerdo con estos resultados, existe un creciente consenso en que los arrays CGH son la técnica de diagnóstico de anomalías cromosómicas de elección en gestaciones con anomalías ecográficas.

Indicaciones para realizar array CGH (tanto en muestra de biopsia corial, líquido amniótico como sangre fetal por cordocentesis):

- Anomalía morfológica fetal.
- CIR precoz severo inexplicado

ARRAY-CGH (CMA)

VENTAJAS	INCONVENIENTES
<ul style="list-style-type: none"> • Identificación completa de todas las alteraciones presentes (sin sesgos) • NO requiere cultivo celular • Mayor sensibilidad, rapidez y resolución (x100) que el cariotipo. • Análisis objetivo (automatización) • Resultado rápido 	<ul style="list-style-type: none"> • NO detecta anomalías equilibradas (translocaciones recíprocas o inversiones) ni triploidias. • NO detecta mosaicismos < 40% • Arrays globales, caros. Detectan VOUS que pueden hacer confuso el asesoramiento genético.

Recomendaciones para el uso clínico de microarrays según ACOG (Committee Opinion, 2013)

- *En fetos con una o más anomalías estructurales mayores identificadas por eco que se sometan a TI el CMA sustituye al cariotipo*
- *En fetos normales que se someten a TI se puede realizar cariotipo convencional o CMA.*
- *La mayoría de alteraciones detectadas con CMA no se relacionan con la edad materna, por tanto no debe restringirse a mujeres >35años.*
- *En caso de éxitus fetal se recomienda CMA.*
- *En pérdidas gestacionales de 1º y 2º trimestre no existen evidencias sobre su utilización clínica.*
- *Las parejas que realizan CMA deben recibir consejo genético pre y post-test y deberían firmar consentimiento informado.*

2) Test prenatal no invasivo (NIPT) a partir de DNA fetal libre en plasma materno.

2.1 Cribado de aneuploidias

En 1977 se descubrió que del 4% al 10% del DNA libre en el plasma materno es de origen fetal, probablemente placentario. El DNA fetal puede detectarse en plasma materno a partir de la quinta semana de gestación, y es un material mucho más abundante que las células fetales, con una vida media muy corta (16 minutos) y que desaparece de la circulación materna algunas horas después del parto.

Por tanto, es un material mucho más apto que las células fetales para el diagnóstico prenatal genético.

Las estrategias más exitosas no tratan de diferenciar el DNA fetal del materno, sino que se centran en detectar las sutiles diferencias en la cantidad de DNA en sangre materna que se producen en una gestación aneuploide (por ejemplo, con una trisomía del cromosoma 21) (Fig 1).

Hoy en día, el uso de las plataformas de secuenciación de próxima generación (NGS, next generation sequencing) permite que millones de fragmentos genéticos amplificados pueden secuenciarse en paralelo (secuenciación masiva en paralelo), logrando secuenciar un genoma humano completo en 27 horas. La nueva tecnología de secuenciación masiva tiene una alta tasa de error, problema que se resuelve con la secuenciación repetida de un mismo fragmento. Como el número de secuenciaciones es proporcional al número de copias iniciales, las nuevas técnicas de NIPT utilizan esta característica para detectar las pequeñísimas diferencias en la cantidad de DNA circulante en sangre materna que produce una trisomía fetal (Fig. 2). La secuenciación de sólo una parte del genoma (en los cromosomas 21, 13, 18, X e Y) abarata costes y permite aumentar el número de secuenciaciones en las regiones de interés, aumentando la sensibilidad de la técnica.

Fig. 1

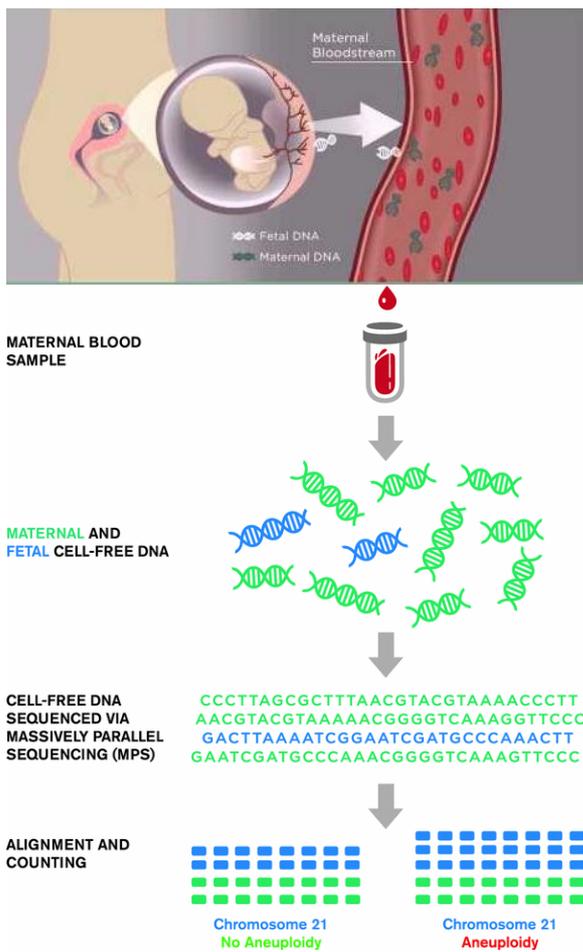
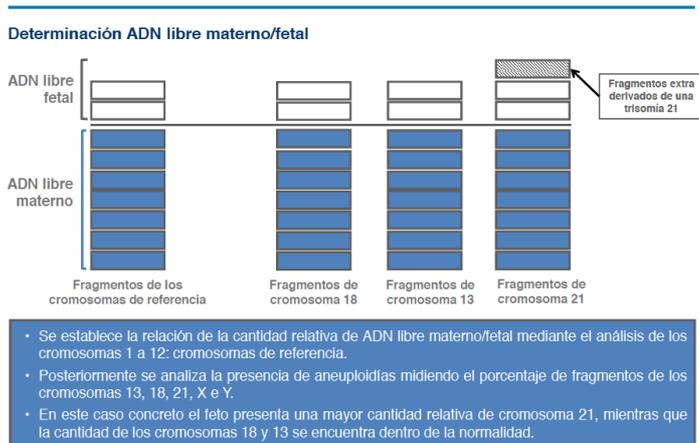


Fig 2.



En estos momentos se dispone de cuatro kits comerciales con la acreditación CAP (College of American Pathologists) y la certificación CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments):

- MaterniT21 Plus (Sequenon),
- Verifi (Verinata Health),
- Harmony Prenatal Test (Ariosa diagnostics)
- Panorama Prenatal Test (Natera).

Los cuatro permiten detectar trisomías de los cromosomas 13, 18 y 21, y cromosomas sexuales, en unos 10 días como máximo.

La precisión en la detección de fetos con síndrome de Down es alta, con una sensibilidad del 99% y una tasa de falsos positivos del 0,08%. También funcionan con otras aneuploidías como las trisomías 18 y 13, con sensibilidades del 96,8% y del 92,1% respectivamente con tasas de falsos positivos del 0,15% y 0,20% (Gil MM, Fethal Diag Therapy, 2014; 35:156-173). Sin embargo, la mayoría de los ensayos clínicos se han realizado en grupos de gestantes de alto riesgo y existe un activo debate sobre su efectividad en gestaciones de bajo riesgo .

2.2 Diagnóstico prenatal no invasivo de deleciones y duplicaciones de pequeño tamaño

Si bien las aneuploidías de los cromosomas son frecuentes, las anomalías estructurales desequilibradas suponen un 6% a un 10% del total de las anomalías detectadas mediante citogenética convencional. La frecuencia real en las gestaciones con anomalías ecográficas es aún mayor, ya que las técnicas de array detectan un 4% a un 10% adicional de anomalías clínicamente relevantes en gestaciones con un estudio de cariotipo normal .

Algunos trabajos muy recientes ya han comprobado la posibilidad de detectar este tipo de anomalías submicroscópicas mediante NIPT. Muy recientemente se han comenzado a comercializar ensayos que cubren algunas

microdeleciones frecuentes, y es de esperar la progresiva generalización de este tipo de aplicaciones en un futuro muy cercano. El inconveniente es que se incrementará la tasa de falsos positivos de la prueba, una de sus grandes ventajas en el cribado de las aneuploidias.

Documentos de consenso sobre el NIPT:

Recomendaciones del NIPT para la práctica clínica.

**ACOG and The Society for Maternal-Fetal Medicine
(Committee opinion. Number 545. December 2012)**

- *En pacientes con riesgo aumentado de aneuploidia se puede ofrecer cfDNA . Identificará el 98% de t-21 con <0,5% de FP*
- *El cfDNA test no debe realizarse de rutina, pero puede ser una opción después de informar a la paciente.*
- *No debe ofrecerse a pacientes de bajo riesgo ni en gemelares, por no haber sido suficientemente evaluado*
- *Si se identifica malformación por ECO se recomienda TI de DP.*
- *Un resultado negativo no asegura un feto no afecto.*
- *Los resultados + deben confirmarse con TI de DP.*
- *El test no reemplaza la precisión del diagnóstico por BC o AC, que deben seguir siendo una opción para la paciente.*

Recomendaciones para la práctica clínica.

ISUOG consensus statement on NIPT. June 2014

- ***NIPT no se ha validado extensamente en población de bajo riesgo donde su VPP será menor.***
- ***El test combinado de 1t no se utiliza en pacientes con NIPT***
- ***NIPT puede ser una alternativa para pacientes con riesgo intermedio en TC1T***
- ***No parece conveniente utilizar NIPT en pacientes con riesgo combinado >1:10***
- ***En presencia de anomalía estructural la indicación de cariotipo y/o microarray no se modifica por tener un NIPT previo.***
- ***No hay suficientes estudios en gestaciones gemelares.***
- ***El sonograma genético de 2t no aplica a pacientes con resultado previo de NIPT.***
- ***Se pueden estudiar además de trisomías otros síndromes genéticos, pero se ha de informar de su exactitud y del incremento de FP.***