

ANEUPLOIDIA, PCR FLUORESCENTE DE LOS CROMOSOMAS 13,18, 21, X e Y

Actualizado en mayo 2024 por BQ Constanza Ley

Revisado por TM Ligia Valdivia y Aprobado por Dra. Marcela Lagos

Código del Examen : 2328

Nombres del Examen : Estudio de aneuploidía de los cromosomas 13, 18, 21, X e Y por PCR fluorescente
Estudio genético molecular de aneuploidía de los cromosomas 13, 18, 21, X e Y
Screening de aneuploidía de los cromosomas 13, 18, 21, X e Y por PCR fluorescente

Laboratorios de Procesamiento :

Laboratorio	Días de Procesamiento	Plazo de Entrega de Resultados
Biología Molecular	Lunes a viernes	1-2 días hábiles*

NOTA 1: Para informe de resultado en el día de recepción de la muestra debe coordinar con el laboratorio que procesa. La muestra debe llegar al Laboratorio en CMSJ antes de las 12:00 hrs.

NOTA 2: El informe de resultado de muestras recibidas después de las 12:00 hrs. de un viernes o del último día hábil de la semana estará disponible al mediodía del lunes siguiente o el primer día hábil de la semana.

NOTA 3: Se requiere envío de copia de la orden médica. En caso de estudio prenatal debe indicar las semanas de gestación.

- Se debe avisar al Laboratorio (fono 223548515 o vía mail a ggaloso@ucchristus.cl y mbalcazar@ucchristus.cl) el envío y/o recepción de muestras.

Preparación del Paciente : No requiere

Muestra Requerida : Sangre total
Recolectar un tubo de tapa lila con EDTA, volumen mínimo 0.5 mL, sangre de cordón o de recién nacido.
 Líquido amniótico
Recolectar en jeringa estéril, volumen mínimo 2 mL
 Muestra opcional: consultar al laboratorio, fono 22 3548515

Las muestras fetales tienen riesgo de presentar contaminación con células maternas cuando entran en contacto con sangre o tejido maternos. Si esta contaminación está presente, el ADN materno puede enmascarar el ADN fetal, por lo que los resultados pueden verse comprometidos. Puesto que la contaminación de un líquido amniótico con sangre es visible, mientras que con tejido no lo es, cuando se reciban muestras de líquido amniótico muy sanguinolentas se contactará al médico a cargo para que autorice su procesamiento (ver Nota 2 en Información Clínica).

El método no está validado para otro tipo de muestra como líquido de quiste fetal (punción de higroma) u orina fetal (punción de vejiga), entre otras.

IMPORTANTE: Para la confirmación final de los resultados de una muestra de

líquido amniótico se recomienda que esta prestación sea solicitada en conjunto con la prestación 1861: Cariotipo en líquido amniótico.

Estabilidad de la Muestra^{1,2}

Muestra	T° Ambiente (20 - 25 °C)	Refrigerada (2 - 8 °C)	Congelada (-20°C)
Sangre Total con EDTA	3 días	1 mes	No aplica
Líquido amniótico	*1 día	No aplica	No aplica

***Si es compartida con cariotipo nunca refrigerar (ver Sinfex 1861)**

Condiciones de Envío al Laboratorio

- : *Dentro de Santiago y en el día
Sangre Total con EDTA: Ambiente SI/ Refrigerada SI/ Congelada NO
Líquido Amniótico: Ambiente SI/ Refrigerada NO/ Congelada NO
- : *Desde fuera de Santiago
Sangre Total con EDTA: Ambiente SI/ Refrigerada SI/ Congelada NO
Líquido Amniótico: Ambiente SI/ Refrigerada NO/ Congelada NO
- : *Sólo si el tiempo de traslado cumple con la estabilidad de la muestra.

Método Utilizado

- : PCR fluorescente cuantitativo o QF-PCR (QST*R Base Kit IVD-CE, Yourgene® Health) basado en la amplificación de STR (Short Tandem Repeats) altamente polimórficos ubicados en los cromosomas 13, 18, 21 y sexuales X e Y. El producto obtenido con partidores fluorescentes es detectado por electroforesis capilar en un analizador genético.

Intervalos de Referencia

- : Sujetos 46,XX o 46,XY no presentan alteraciones en el número de cromosomas

Valor Crítico

- : No aplica

Parámetros de Desempeño⁴

- : De acuerdo con estudios realizados en nuestra institución, este método tuvo un 100% de concordancia con el cariotipo en 50 muestras analizadas.
Este método solo es capaz de identificar mosaicos mayores al 30%.

Información Clínica³

- : El cariotipo es el método “gold standard” en el diagnóstico de alteraciones numéricas de los cromosomas, sin embargo, el tiempo de respuesta puede resultar prolongado en situaciones clínicas como en el diagnóstico neonatal de trisomías 13 y 18, en que se requiere obtener resultados con rapidez. Hoy están disponibles metodologías rápidas para el diagnóstico molecular como la hibridación in situ fluorescente (FISH) y el PCR cuantitativo fluorescente (QF-PCR). Esta última técnica utiliza partidores fluorescentes para amplificar regiones polimórficas del genoma, llamadas repeticiones en tándem cortas o STR (*short tandem repeats*) de un largo de 3, 4 o 5 pb por repetición. Dado que son secuencias de DNA polimórficas, existe una alta probabilidad de encontrar individuos heterocigotos para cada STR, donde el número de repeticiones para cada unidad puede variar en cada cromosoma homólogo, siendo posible determinar el número de cromosomas del paciente en base al tamaño de los STR amplificados por cada cromosoma.

Los STR analizados son:
 Cromosoma 13: D13S252, D13S305, D13S634, D13S800 y D13S628
 Cromosoma 18: D18S819, D18S535, D18S978, D18S386 y D18S390
 Cromosoma 21: D21S11, D21S1437, D21S1409, D21S1442, D21S1435 y D21S1446.

Sistema de Información de Exámenes, SINFEX

Cromosomas X e Y: AMEL, TAF9L, DXS6803, XHPRT, DXS1187 y SRY.

Indicaciones:

Pacientes con sospecha de aneuploidías de los cromosomas 13, 18, 21 o sexuales

Interpretación de resultados:

Resultados:

Cromosoma	Marcadores Analizados	Marcadores Informativos	Marcadores Consistentes con Trisomía
13	5		
18	5		
21	6		

Cromosomas sexuales:

Conclusión:

Sujetos sin alteraciones: El patrón de los STR analizados no presenta evidencia de trisomías de los cromosomas analizados.

Sujetos con alteraciones: El patrón de los STR analizados es consistente con una trisomía del cromosoma ... y con la presencia de los cromosomas ... (sexuales).

NOTA 1: De acuerdo al fabricante del kit, es necesaria la presencia de al menos dos marcadores informativos por cromosoma autosómico para poder informar el resultado.

NOTA 2: Si se detecta contaminación con células maternas el laboratorio indicará en el informe que el resultado es “No concluyente”. Si al procesar una muestra de líquido amniótico sanguinolenta se obtiene un perfil con sexo femenino, no se puede descartar que el resultado corresponda a la madre en vez del feto. En algunos casos se recurre al uso de kits específicos para los cromosomas 13, 18 o 21, por lo que el tiempo de entrega de los resultados podría extenderse.

NOTA3: El envío de una nueva muestra corresponde a un nuevo estudio con costo.

Factores Interferentes:

Células maternas en muestras de líquido amniótico.

Sangre tomada con Heparina inhibe la PCR.

Referencias

1. Richardson A, Narendran N, Guymer R, Vu H, Baird P. (2006) *Blood storage at 4°C - factors involved in DNA yield and quality. Journal of laboratory and clinical medicine 147: 290-294.*
2. Sotoudeh M. et al (2021) Pre-analytical practices in the molecular diagnostic test, a concise review. *Iran J Pathol. 16(1):1-19.*
3. Donaghue C, Roberts A, Mann K and Mackie Ogilvie C. *Development and targeted application of a rapid QF-PCR test for sex chromosome imbalance. Prenat Diagn 2003; 23: 201-210.*
4. Nicolini U, Lalatta F, Natacci F, Curcio C and Bui TH. (2004) *The introduction of QF-PCR in prenatal diagnosis of fetal aneuploidies: time for reconsideration. Human Reproduction Update, vol 10, n°6:541-548*