

Reporte de Resultados - Prueba de Tamizaje Cromosómico Preimplantacional para Aneuploidías (PGT-A).**DATOS GENERALES**

Nombre de la paciente:		Fecha:	
Clínica responsable:		ID lote:	
Médico tratante:		No. muestras:	
Correo electrónico:		Teléfono(s):	

El siguiente reporte lista los resultados de las biopsias embrionarias de la paciente indicada en los Datos Generales. No representa ningún diagnóstico o sugerencia, únicamente informa los hallazgos obtenidos a partir del procesamiento por secuenciación masiva de nueva generación (NGS) de cada muestra.

ESTUDIO SOLICITADO

Normalmente existen 23 pares de cromosomas en cada célula humana; un cambio en el número de cromosomas recibe el nombre de aneuploidía. EmbrioTest Plus™ (ETP) analiza los 46 cromosomas de embriones humanos para detectar posibles ganancias o pérdidas de material genético (aneuploidías) durante su división celular. Se emplea la técnica de secuenciación masiva de nueva generación para el escaneo (tamizaje) de los cromosomas y representa una prueba muy útil de apoyo en tratamientos de reproducción asistida y medicina reproductiva.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Dado que las alteraciones en la dotación cromosómica pueden producir fallos de implantación en ciclos de reproducción asistida, abortos espontáneos y cromosomopatías en recién nacidos, el EmbrioTest Plus™ permite seleccionar aquellos embriones cromosómicamente normales de entre todos los embriones evolutivos de una paciente, lo que incrementa sus posibilidades reproductivas y aumenta las probabilidades de evolucionar adecuadamente para dar lugar a un hijo(a) sano(a).

EmbrioTest Plus™ aumenta las probabilidades de transferir a la madre los embriones que se encuentran libres de alteraciones cromosómicas. Las aneuploidías pueden causar en gran medida los abortos espontáneos y pueden dar lugar a defectos congénitos y discapacidad intelectual en recién nacidos, o bien, no son compatibles con la vida. Sin embargo, dentro de las aneuploidías cromosómicas viables que se pueden detectar se encuentran los síndromes más comunes no sexuales como el Síndrome de Down (trisomía 21), Síndrome de Edwards (trisomía 18) y Síndrome de Patau (trisomía 13).

METODOLOGÍA

EmbrioTest Plus™ consiste en una serie de pasos con controles de calidad específicos en cada uno de ellos.

1. Biopsia del embrión: consiste en la extracción de algunas células del embrión para su estudio genético; se evalúan de acuerdo con criterios internacionalmente establecidos para determinar la viabilidad del embrión.
2. Amplificación de genoma completo (WGA): consiste en realizar copias del material genético (o genoma) de las células del embrión para contar con mayor cantidad de material de trabajo para la prueba.
3. Control de calidad de WGA: se realiza mediante la técnica de electroforesis que permite visualizar la calidad del material genético amplificado en el paso anterior. De igual manera, se usa un método fluorométrico para cuantificar el genoma amplificado para continuar el proceso.
4. Generación de genotecas: síntesis de fragmentos compatibles con la celda de flujo a partir de WGA.
5. Generación de clústeres: proceso de "amplificación en puente" que genera copias de cada uno de los fragmentos unidos a la celda de flujo, formando así los clústeres.
6. Secuenciación masiva de nueva generación: proceso de secuenciación por síntesis.
7. Generación de archivos: proceso por el cual la secuenciación genera archivos de lectura de bases (FASTQ) y ensamblaje del genoma (BAM).
8. Análisis de resultados: mediante algoritmos matemáticos se analizan los archivos FASTQ y BAM para generar gráficas que permiten el análisis semicuantitativo y cualitativo de las aneuploidías. Todo lo anterior se resume en la tabla de resultados.
9. Control de calidad de resultados: durante el análisis se revisa la cantidad de lecturas y el ruido de la muestra.

LIMITACIONES DE LA TÉCNICA

EmbrioTest Plus™ no es una prueba para detectar enfermedades monogénicas o mutaciones puntuales y se limita a aquellas muestras que cumplen con los criterios de calidad necesarios para un resultado informativo. Tampoco es posible detectar rearrreglos cromosómicos estructurales, ni mosaicismos específicos.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN DE MUESTRAS

El documento "Orden de Servicio e Información al Cliente" proporcionado enumera los motivos por los cuales una muestra puede ser rechazada al arribar al laboratorio de servicio de Semper Genomics, como lo es:

1. NO concordancia en el número y el código de identificación de las muestras con los datos registrados en el Formato de Recolección, Identificación y Transporte de Muestras para EmbrioTest Plus™.
2. Descongelación de las muestras: se solicita que estas permanezcan congeladas (-20°C) para mantener la integridad del material genético antes de su recolección. De ser posible, centrifugarlas previo a su congelación.
3. Ausencia de muestra: que el microtubo no contenga la muestra.

Aunado a estos criterios y después de realizar la amplificación de genoma completo (WGA), el primer punto en el control de la calidad es realizar una electroforesis en gel de agarosa para verificar si la muestra amplificó o no. Si la muestra no es visible en el gel, es descartada y no continúa con el proceso.

A continuación, las muestras con gel positivo son cuantificadas por método fluorométrico para determinar la cantidad resultante del DNA amplificado. Si la muestra obtiene un resultado muy bajo (menor a 1ng/uL) también es descartada, ya que la secuenciación no arroja resultados una muestra de mala calidad y consume lecturas que podrían afectar el resultado del resto de las muestras. Una vez secuenciadas para el análisis de control de calidad de datos, verificamos que las gráficas de número de copias (CNVs) sean informativas e interpretables haciendo énfasis en la cantidad de lecturas obtenidas por cada muestra (>250,000) y el ruido (<0.4) obtenido en la corrida. Los controles de calidad de las muestras no informativas se resumen en la "Tabla de Valores de Calidad" en el anexo CONTROL DE CALIDAD.

Nota: Las muestras no serán secuenciadas si no pasan el filtro de control de calidad de la WGA y cuantificación. Estas exclusiones se notifican por correo electrónico a la dirección registrada en este formato.

RESULTADOS

El software de análisis genera una gráfica que representa el número de copias de cada cromosoma del embrión analizado y lo compara con un genoma humano normal de referencia. Un embrión es considerado normal cuando ningún cromosoma presenta diferencias con el genoma de referencia. Un embrión es considerado anormal cuando existe la presencia de una aneuploidía en alguno de los cromosomas, ya sea pérdida (-) o ganancia (+) en la gráfica. La presencia de más de cinco (5) aneuploidías es considerada como aneuploidía compleja. Un embrión que no fue detectado no ofrece información.

Términos en la Tabla de Resultados

- Normal o euploide: no se detectaron alteraciones cromosómicas; el resultado del número de copias de cromosomas autosómicos es 1.8-2.2x
- Anormal o aneuploide: se detectaron alteraciones cromosómicas, si el resultado del número de cromosomas autosómicos es de 2.8x o mayor se declara ganancia, y si es 1.2x o menor se declara pérdida del cromosoma completo.
- Anormal complejo (AC): se detectaron 5 o más alteraciones cromosómicas
- No informativa: no se derivaron datos informativos de esta muestra

TABLA DE RESULTADOS

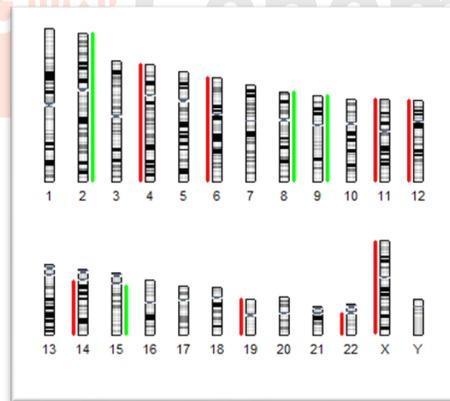
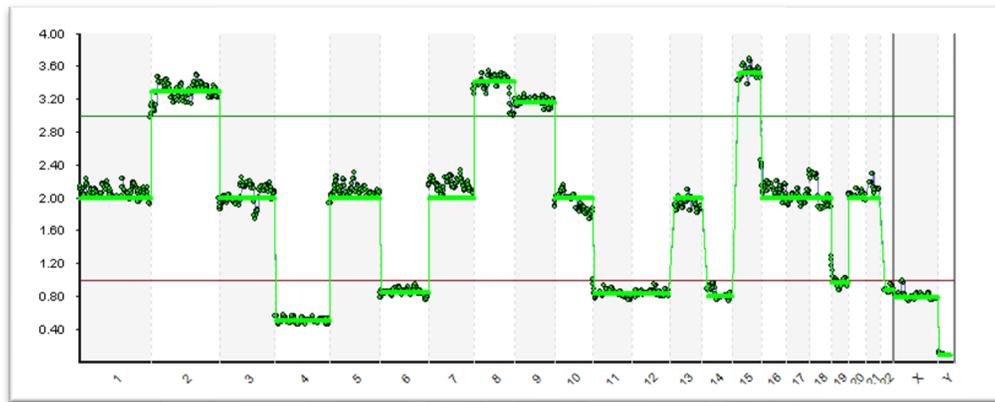
No.	NIP	Embrión	Control de Calidad	Sexo	Resultado
1					
2					
3					
4					

NIP = Número Identificador del paciente, AC = Anormal Complejo, NI = No Informativa, NA = No Aplica



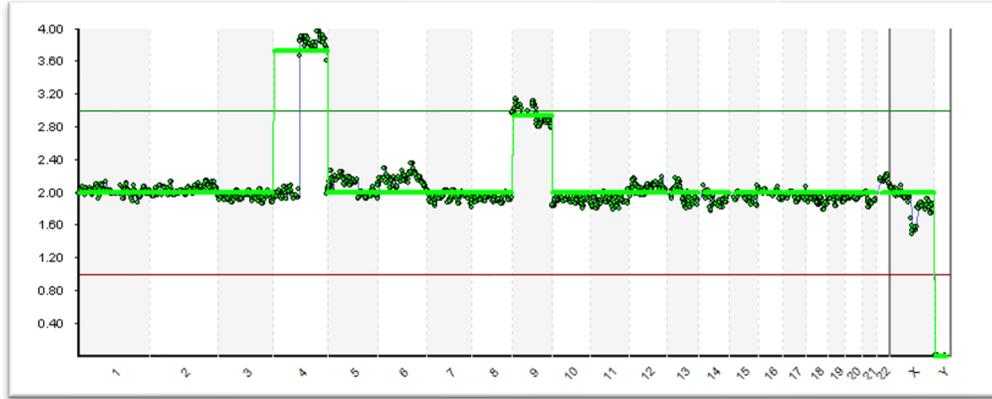
GRÁFICAS

No.	NIP	Embrión	Control de calidad	Sexo	Resultado
1					



Observaciones:

No.	NIP	Embrión	Control de calidad	Sexo	Resultado
2					



Observaciones:

ANEXO DE CONTROL DE CALIDAD

Existen casos donde las muestras pueden ser determinadas como "no informativas" y puede ser por alguno de los siguientes motivos: por la alta cantidad de ruido que presentan al momento de realizar el análisis de datos de la secuenciación, principalmente debido a baja calidad de la muestra o artefactos de la PCR generados durante la amplificación de genoma completo. Así mismo, existen varios factores que pueden generar artefactos durante la PCR de la WGA, incluyendo una biopsia subóptima, degradación del DNA, lisis celular incompleta, células en proceso de apoptosis y la presencia de inhibidores de la PCR presentes en el medio de cultivo. Durante el análisis, si hubiese ruido presente debido a los motivos antes mencionados o una baja cantidad de lecturas, este impacta la interpretabilidad y confianza de los resultados observados en las gráficas, por lo tanto, se considera que esa muestra es "no informativa" y NO SE RECOMIENDA TRANSFERIR ESE EMBRIÓN. Se sugiere repetir el análisis con una nueva biopsia.

Este tipo de pruebas conllevan un riesgo de resultados positivos/negativos erróneos. Dichos resultados ocurren comúnmente por causas biológicas llamadas "mosaicismos", presentes en aproximadamente el 5% de las biopsias embrionarias. El mosaicismo se refiere a que el embrión puede tener células con diferente número de cromosomas (ploidía), tanto el número normal (euploidía) como el anormal (aneuploidía). Otros factores importantes que conllevan a resultados incorrectos son la contaminación de las muestras, problemas de codificación, variantes genéticas raras que interfieran con el análisis, complicaciones técnicas y error humano. Entre todos estos factores, la probabilidad de un resultado incorrecto no asociado a mosaicismo es de aproximadamente el 2%.

VALORES DE CALIDAD (SOLO PARA MUESTRAS NO INFORMATIVAS)

No.	NIP	Embrión	Banda WGA en Gel	Cuantificación ng/uL	Lecturas (PF)	Ruido	Gráfica Informativa
REF	Valores de referencia	-	Sí	Mayor a 1	Mayor a 250,000	Menor a 0.40	Sí
1							
2							
3							
4							

NIP = Número Identificador de Paciente, WGA = amplificación de genoma completo, ng/uL = Nanogramos por microlitro, PF = Pasando filtro, REF = Valores de referencia de control de calidad internos para el criterio de exclusión de muestras,

CONFIDENCIALIDAD DE LOS DATOS

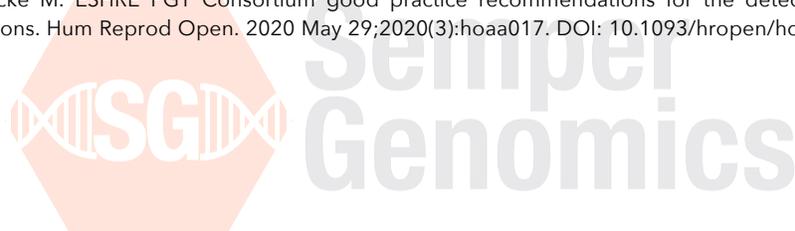
Los resultados de la prueba serán resguardados bajo estricta confidencialidad y podrán proporcionarse por medio electrónico solamente a las personas asignadas en el presente documento. El resguardo de las muestras, datos y reportes será de 90 días naturales a partir del envío de resultados al cliente.

TÉRMINO DE SERVICIO

Semper Genomics dará por terminado el servicio y entenderá la conformidad de los resultados 72 horas posteriores al envío del archivo si no se recibe ninguna notificación por parte del cliente.

REFERENCIAS

- o Fiorentino F, Bono S, Biricik A, et al. Application of next-generation sequencing technology for comprehensive aneuploidy screening of blastocysts in clinical preimplantation genetic screening cycles. Hum Reprod. 2014;29(12):2802-2813.
- o Yang Z, Liu J, Collins GS, Salem SA, et al. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis patients: results from a randomized pilot study. Mol Cytogenetic. 2012;5: 24.
- o ESHRE PGT-SR/PGT-A Working Group; Coonen E, Rubio C, Christopikou D, Dimitriadou E, Gontar J, Goossens V, Maurer M, Spinella F, Vermeulen N, De Rycke M. ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the detection of structural and numerical chromosomal aberrations. Hum Reprod Open. 2020 May 29;2020(3):hoaa017. DOI: 10.1093/hropen/hoaa017. PMID: 32500102; PMCID: PMC7257111.

**ELABORÓ**

FIRMA

Bárbara Verduzco Garza
Responsable Técnico**REVISÓ**

FIRMA

QFB Fabiola Morales Mandujano
Responsable Sanitario**APROBÓ**

FIRMA

Saúl Karr de León
Responsable de Calidad

***Este documento NO representa un diagnóstico. Es necesario asesorarse con su profesional de la salud para la toma de decisiones en base a su historial clínico personal.**