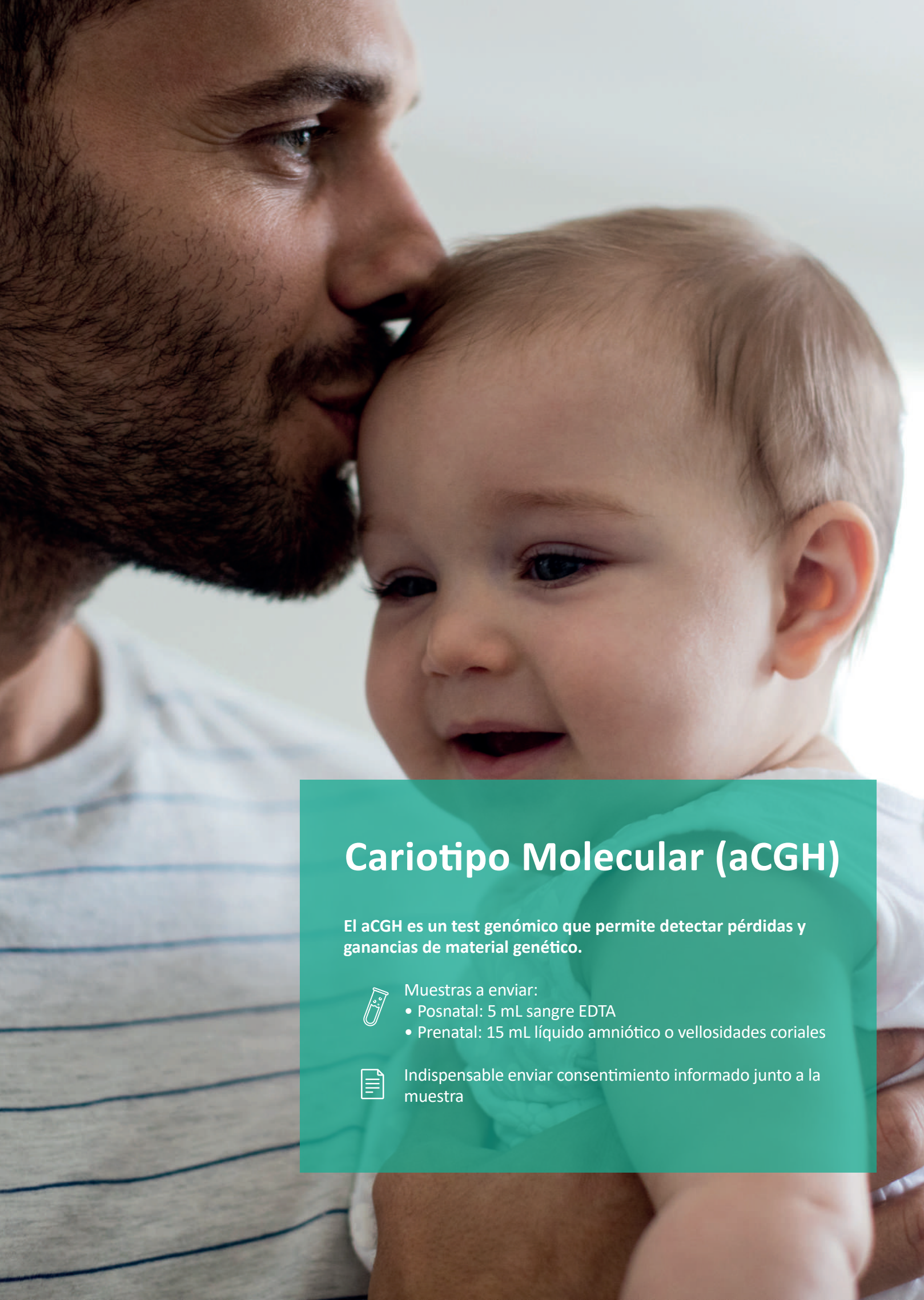
REFERENCE LABORATORY
GENETICS

Cariotipo Molecular (aCGH)

Identificación rápida y fiable de alteraciones invisibles al cariotipo convencional

EMQN
The European Molecular Genetics Quality Network

CEQAS
Cytogenomic External Quality Assessment Service



Cariotipo Molecular (aCGH)

El aCGH es un test genómico que permite detectar pérdidas y ganancias de material genético.

Muestras a enviar:
- Posnatal: 5 mL sangre EDTA
- Prenatal: 15 mL líquido amniótico o vellosidades coriales

Indispensable enviar consentimiento informado junto a la muestra

El aCGH, una mayor eficiencia diagnóstica

El cariotipo molecular o aCGH es una potente herramienta diagnóstica citogenética que permite detectar pérdidas y ganancias de material genético. Gracias a su alta resolución, presenta una eficiencia diagnóstica hasta 100 veces mayor que el cariotipo convencional, dependiendo del diseño y de la elección. Este notable incremento en el rendimiento diagnóstico hace de los aCGH una herramienta diagnóstica de primera opción en pacientes con autismo, trastornos del desarrollo, discapacidad intelectual y anomalías congénitas múltiples, patologías relacionadas con un elevado número de reordenamientos cromosómicos y CNVs[1,2].

Una potente prueba diagnóstica prenatal

La aplicación de los aCGH en el diagnóstico genético prenatal permite una identificación rápida y fiable de alteraciones crípticas para el cariotipo convencional. Por ello, también se recomienda el empleo de los aCGH como prueba diagnóstica de primera elección en embarazos en los que exista una indicación médica precisa que justifique un procedimiento invasivo, principalmente cuando se observan alteraciones ecográficas.

Los aCGH empleados en el diagnóstico genético prenatal están diseñados con una mayor resolución en las regiones genómicas asociadas a enfermedades conocidas, reduciendo los hallazgos sin significación clínica conocida[3].

Ventajas frente al cariotipo convencional

- **Elimina la subjetividad** en la interpretación del cariotipo convencional.
- **Alta resolución,** hace visibles alteraciones crípticas para las técnicas convencionales.
- **Tiempos de respuesta muy reducidos**.

Principales indicaciones

Los aCGH están indicados en la mayoría de pacientes con:

- Autismo
- Discapacidad intelectual
- Trastornos del desarrollo
- Anomalías congénitas múltiples o rasgos dismórficos
- Embarazos de alto riesgo que requieran un diagnóstico prenatal invasivo

Nuestros aCGH para el diagnóstico genético ofrecen

- **Más de 200 síndromes analizados**.
- **Alta resolución** a lo largo del genoma y ampliada en las regiones sindrómicas.
- **Detección de mosaicismos** en bajos porcentajes (>20%).
- **Máxima calidad**, reconocida con la más alta puntuación en la **certificación de EMQN y CEQAS-UK NEQAS**.
- **Dos plataformas disponibles** según las necesidades de nuestros clientes.
- **Resultados fiables y rápidos (<15 días laborables)**.

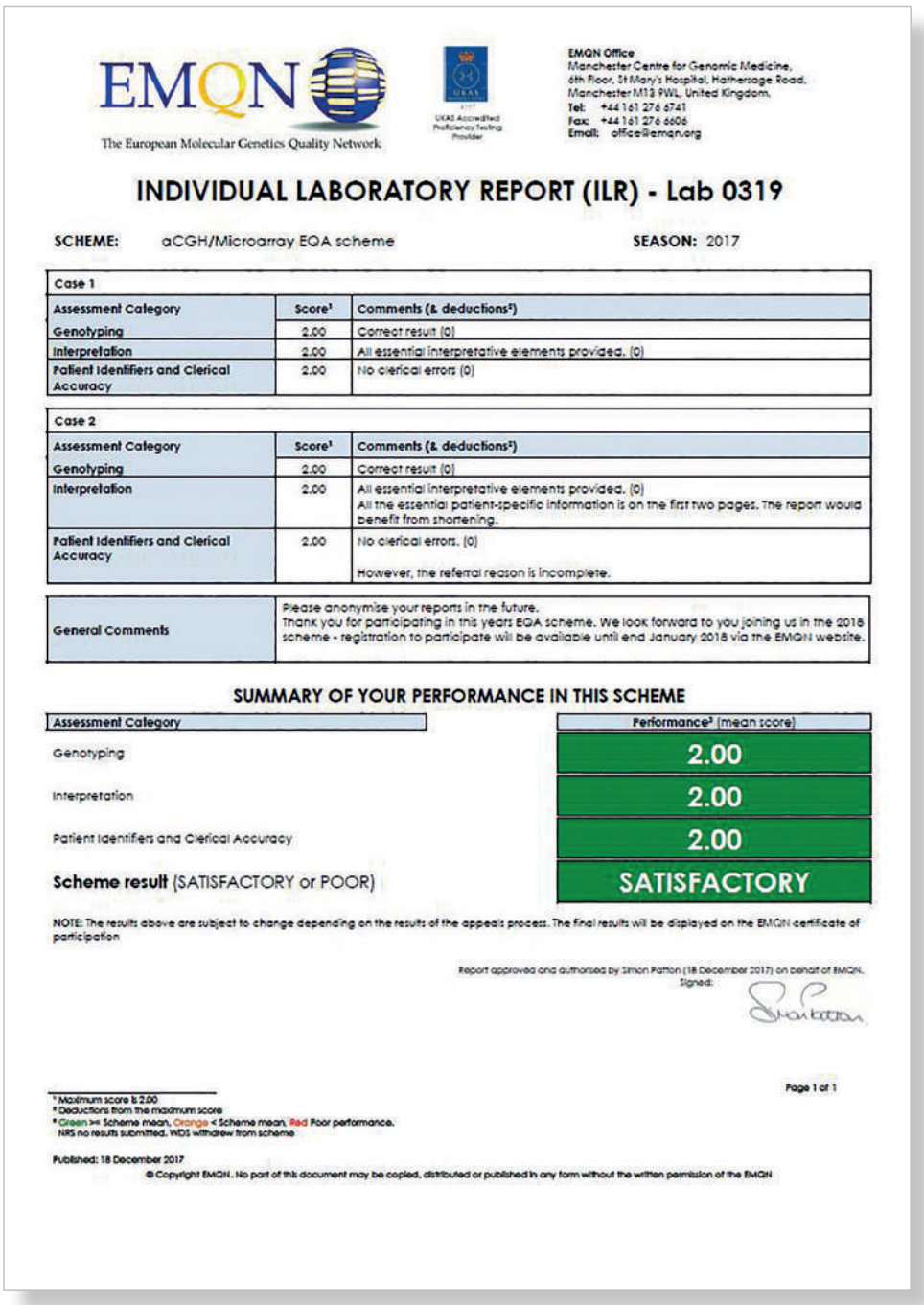
Principales características de nuestras plataformas de aCGH

Ofrecemos a nuestros clientes dos plataformas de cariotipo molecular para diagnóstico constitucional y prenatal.

Plataforma	Array	Referencia RefLab	Tipo de prueba	# sondas	Resolución media	Detección CNVs	Detección UPD y consanguinidad	Detección mosaicos
Agilent CGH-array	CGH array 60K sangre total	14650	CNV	60.000	50-100 Kb	✓		> 20%
	CGH array 180K sangre total	14654	CNV	180.000	< 50 Kb	✓		> 20%
	CGH array 60K Dx Prenatal	14651	CNV	60.000	50-100 Kb	✓		> 20%
Affymetrix Genomic Array	CGH array 750K sangre total	14658	CNV + SNP	750.000	25 Kb	✓	✓	> 20%
	CGH array CYTOSCAN-HD sangre total	14659	CNV + SNP	2.700.000	10 Kb	✓	✓	> 20%

Aseguramos la máxima calidad en nuestros análisis

Estamos certificados por el CEQAS (Cytogenetic External Quality Assessment Service) y la EMQN.
(European Molecular Genetics Quality Network) para el análisis mediante aCGH con la máxima puntuación.



EMQN
The European Molecular Genetics Quality Network

UKAS Accredited Proficiency Testing Provider

EMQN Office
Manchester Centre for Genomic Medicine,
6th Floor, St Mary's Hospital, Hathersage Road,
Manchester M13 9WL, United Kingdom.
Tel: +44 161 276 6741
Fax: +44 161 276 6606
Email: office@emqn.org

INDIVIDUAL LABORATORY REPORT (ILR) - Lab 0319

SCHEME: aCGH/Microarray EQA scheme **SEASON:** 2017

Case 1		
Assessment Category	**Score[1]**	**Comments (& deductions[2])**
Genotyping	2.00	Correct result (0)
Interpretation	2.00	All essential interpretative elements provided. (0)
Patient Identifiers and Clerical Accuracy	2.00	No clerical errors (0)

Case 2		
Assessment Category	**Score[1]**	**Comments (& deductions[2])**
Genotyping	2.00	Correct result (0)
Interpretation	2.00	All essential interpretative elements provided. (0) All the essential patient-specific information is on the first two pages. The report would benefit from shortening.
Patient Identifiers and Clerical Accuracy	2.00	No clerical errors. (0) However, the referral reason is incomplete.

General Comments	Please anonymise your reports in the future. Thank you for participating in this years EQA scheme. We look forward to you joining us in the 2018 scheme - registration to participate will be available until end January 2018 via the EMQN website.

SUMMARY OF YOUR PERFORMANCE IN THIS SCHEME

Assessment Category	Performance[3] (mean score)
Genotyping	2.00
Interpretation	2.00
Patient Identifiers and Clerical Accuracy	2.00
Scheme result (SATISFACTORY or POOR)	SATISFACTORY

NOTE: The results above are subject to change depending on the results of the appeals process. The final results will be displayed on the EMQN certificate of participation

Report approved and authorised by Simon Patton (18 December 2017) on behalf of EMQN.
Signed:

Page 1 of 1

[1] Maximum score is 2.00
[2] Deductions from the maximum score
[3] Green >= Scheme mean, Orange < Scheme mean, Red Poor performance.
NRS no results submitted, WDS withdrew from scheme

Published: 18 December 2017

© Copyright EMQN. No part of this document may be copied, distributed or published in any form without the written permission of the EMQN

Los informes de resultados más completos

REFERENCE LABORATORY GENETICS

Pablo Iglesias, 57 – Polígono Gran Vía Sur
08908 L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)
Tel. 932 593 700 – Fax. 932 645 000

INFORME ESTUDIO MOLECULAR
Hibridación genómica comparada mediante array 60K (aCGH)

Nº Petición | Código cliente
Nombre paciente | Cliente
Fecha nacimiento | Ref. paciente
Tipo muestra | Servicio
Orientación diagnóstica: Alteraciones ecográficas
Código análisis | Fecha extracción
Fecha recepción | Fecha resultado

FÓRMULA:

arr[GRCh37] 3p26.3p23(93949_31950798)x3	PATOGÉNICA
arr[GRCh37] 4p16.3p15.31(72447_18895167)x1	PATOGÉNICA

RESULTADO E INTERPRETACIÓN:

- **arr[GRCh37] 3p26.3p23(93949_31950798)x3**. Amplificación terminal de aproximadamente ~31,8Mb en el brazo corto del cromosoma 3, afectando a la región del genoma 3p26.3p23 (fig. 1), que altera la estructura y/o dosis de varios genes de referencia RefSeq (ver tabla).
- **arr[GRCh37] 4p16.3p15.31(72447_18895167)x1**. Deleción terminal de aproximadamente ~18,8Mb en el brazo corto del cromosoma 4, afectando a la región del genoma 4p16.3p15.31 (fig. 2), que altera la estructura y/o dosis de varios genes de referencia RefSeq (ver tabla). Este hallazgo esta relacionado con el síndrome Wolf-Hirschhorn, con número OMIM #194190.

En la revisión bibliográfica realizada, existen muy pocos trabajos relacionados con estas dos anomalías conjuntamente, si de cada una de ellas de forma aislada. (ver bibliografía adjunta, 7, 8, 9, 10, 11, 12 , 13 y 14).

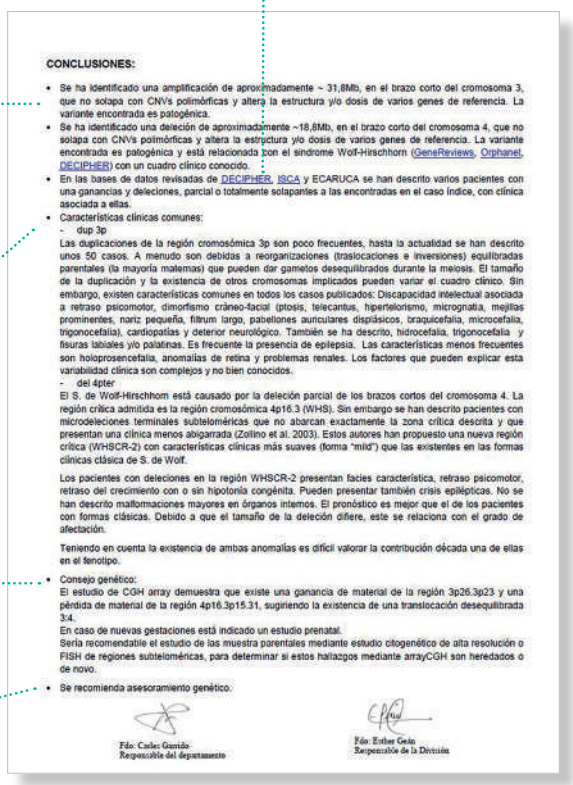
- Dosis normal en los cromosomas sexuales correspondiente con una muestra de sexo masculino.

Resultado genético

Interpreta-ciones

Hipervínculos a bibliografía

Hipervínculos a bases de datos



CONCLUSIONES:

- Se ha identificado una amplificación de aproximadamente ~ 31,8Mb, en el brazo corto del cromosoma 3, que no solapa con CNVs polimórficas y altera la estructura y/o dosis de varios genes de referencia. La variante encontrada es patogénica.
- Se ha identificado una deleción de aproximadamente ~18,8Mb, en el brazo corto del cromosoma 4, que no solapa con CNVs polimórficas y altera la estructura y/o dosis de varios genes de referencia. La variante encontrada es patogénica y está relacionada con el síndrome Wolf-Hirschhorn (GeneReviews, Orphanet, DECIPHER) con un cuadro clínico conocido.
- En las bases de datos revisadas de DECIPHER, ISCA y ECARUCA se han descrito varios pacientes con una ganancias y deleciones, parcial o totalmente solapantes a las encontradas en el caso índice, con clínica asociada a ellas.
- Características clínicas comunes:
  - dup 3p

Las duplicaciones de la región cromosómica 3p son poco frecuentes, hasta la actualidad se han descrito unos 50 casos. A menudo son debidas a reorganizaciones (traslocaciones e inversiones) equilibradas parentales (la mayoría maternas) que pueden dar gametos desequilibrados durante la meiosis. El tamaño de la duplicación y la existencia de otros cromosomas implicados pueden variar el cuadro clínico. Sin embargo, existen características comunes en todos los casos publicados: Discapacidad intelectual asociada a retraso psicomotor, dimorfismo cráneo-facial (ptosis, telecantus, hipertelorismo, micrognatia, mejillas prominentes, nariz pequeña, filtrum largo, pabellones auriculares displásicos, braquicefalia, microcefalia, trigonocefalia), cardiopatías y deterior neurológico. También se ha descrito, hidrocefalia, trigonocefalia y fisuras labiales y/o palatinas. Es frecuente la presencia de epilepsia. Las características menos frecuentes son holoprosencefalia, anomalías de retina y problemas renales. Los factores que pueden explicar esta variabilidad clínica son complejos y no bien conocidos.

  - del 4pter

El S. de Wolf-Hirschhorn está causado por la deleción parcial de los brazos cortos del cromosoma 4. La región crítica admitida es la región cromosómica 4p16.3 (WHS). Sin embargo se han descrito pacientes con microdeleciones terminales subteloméricas que no abarcan exactamente la zona crítica descrita y que presentan una clínica menos abigarrada (Zollino et al. 2003). Estos autores han propuesto una nueva región crítica (WHSCR-2) con características clínicas más suaves (forma "mild") que las existentes en las formas clínicas clásica de S. de Wolf.

Los pacientes con deleciones en la región WHSCR-2 presentan facies característica, retraso psicomotor, retraso del crecimiento con o sin hipotonía congénita. Pueden presentar también crisis epilépticas. No se han descrito malformaciones mayores en órganos internos. El pronóstico es mejor que el de los pacientes con formas clásicas. Debido a que el tamaño de la deleción difiere, este se relaciona con el grado de afectación.

Teniendo en cuenta la existencia de ambas anomalías es difícil valorar la contribución década una de ellas en el fenotipo.

- Consejo genético:

El estudio de CGH array demuestra que existe una ganancia de material de la región 3p26.3p23 y una pérdida de material de la región 4p16.3p15.31, sugiriendo la existencia de una translocación desequilibrada 3:4.
En caso de nuevas gestaciones está indicado un estudio prenatal.
Sería recomendable el estudio de las muestra parentales mediante estudio citogenético de alta resolución o FISH de regiones subteloméricas, para determinar si estos hallazgos mediante arrayCGH son heredados o de novo.

- Se recomienda asesoramiento genético.

Fdo: Carlos Garrido
Responsable del departamento

Fdo: Esther Gean
Responsable de la División

Conclusiones

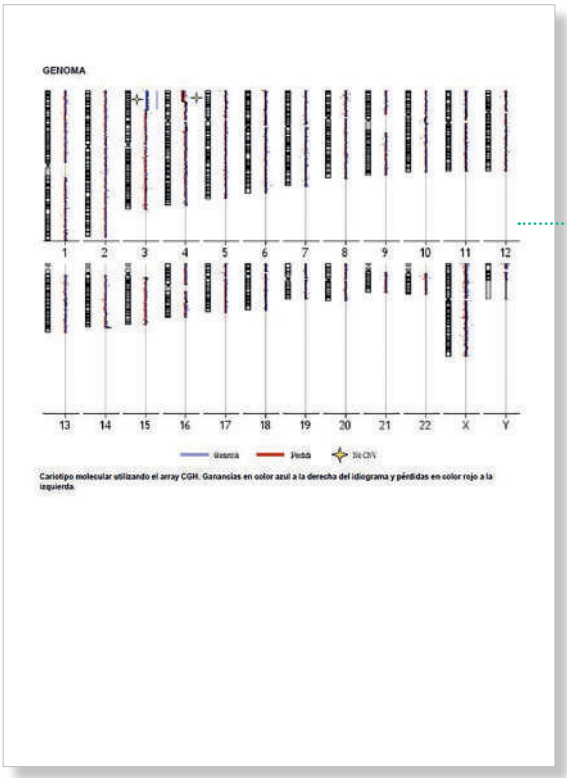
Nota clínica base

Consejo genético

Recomen-daciones

Nuestros informes de resultados:

- Reflejan nuestros **>40 años de experiencia en interpretación clínica**
- Los más **completos, concluyentes y transparentes**
- Redactados por nuestros expertos para su utilización clínica **según las guías del ACMG y del ESHG/EMQN**
- Se entregan como **pdf con hipervínculos a bibliografía**



En el ideograma se muestra una **representación del cariotipo molecular**, indicando las alteraciones.

Ideograma con alteraciones

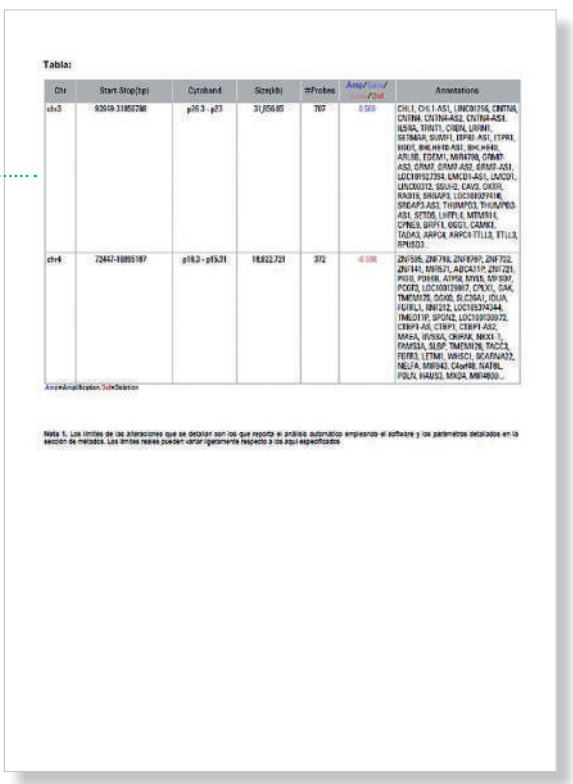
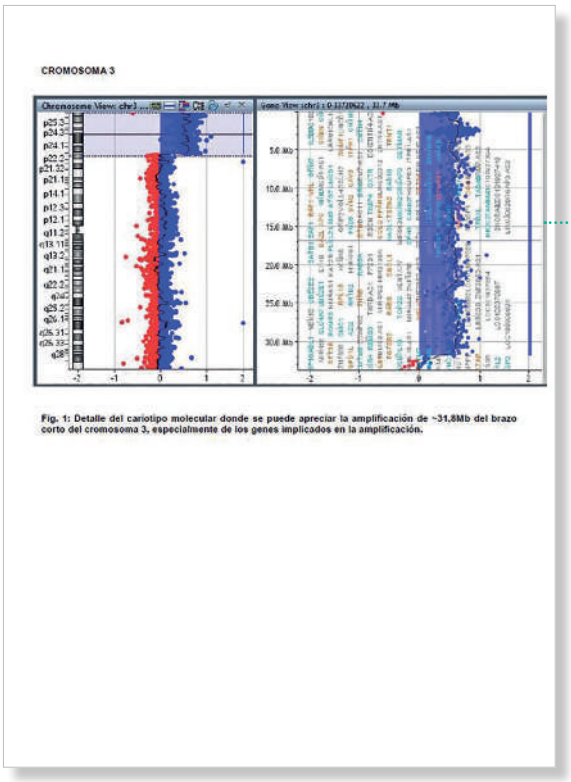


Tabla con genes incluidos en las alteraciones

La fiabilidad de nuestros resultados nos consolida como el laboratorio de referencia en análisis especiales

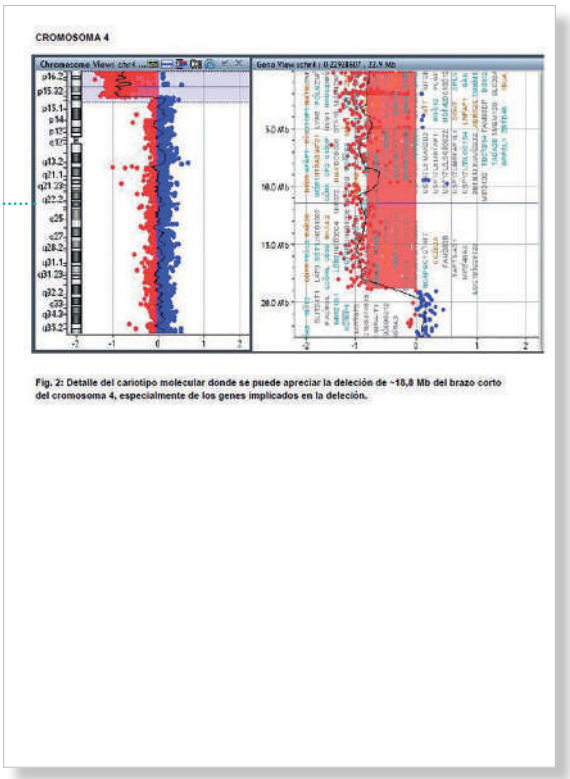
Los informes de resultados más completos

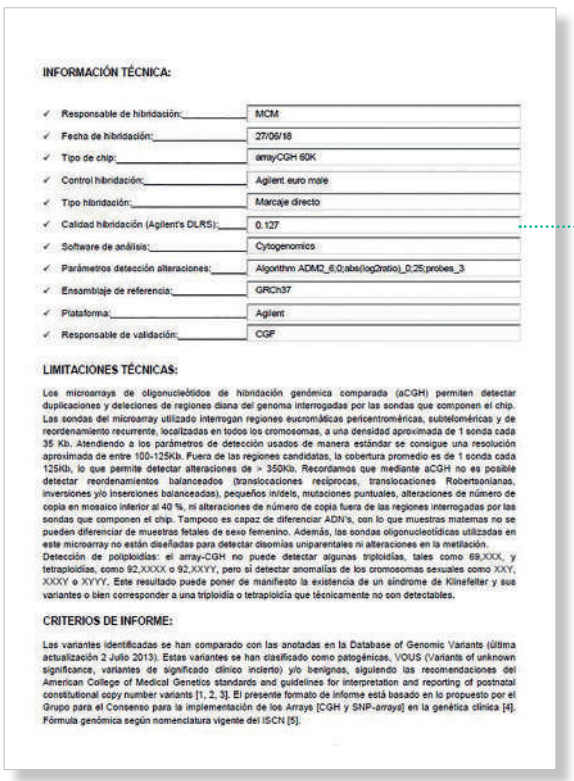


Se muestran **detalles del cariotipo molecular,** donde **se aprecian las alteraciones**.

Detalle de un cariotipo molecular donde se aprecia una amplificación de ~31,8Mb del brazo corto del cromosoma 3

Detalle de un cariotipo molecular donde se aprecia una deleción de ~18,8Mb del brazo corto del cromosoma 4





INFORMACIÓN TÉCNICA:

Responsable de hibridación:	MCM
Fecha de hibridación:	27/06/18
Tipo de chip:	arrayCGH 60K
Control hibridación:	Agilent euro male
Tipo hibridación:	Marcaje directo
Calidad hibridación (Agilent's DLRS):	0.127
Software de análisis:	Cytogenomics
Parámetros detección alteraciones:	Algorithm ADM2_6,0;abs(log2ratio)_0,25;probes_3
Ensamblaje de referencia:	GRCh37
Plataforma:	Agilent
Responsable de validación:	CGF

LIMITACIONES TÉCNICAS:

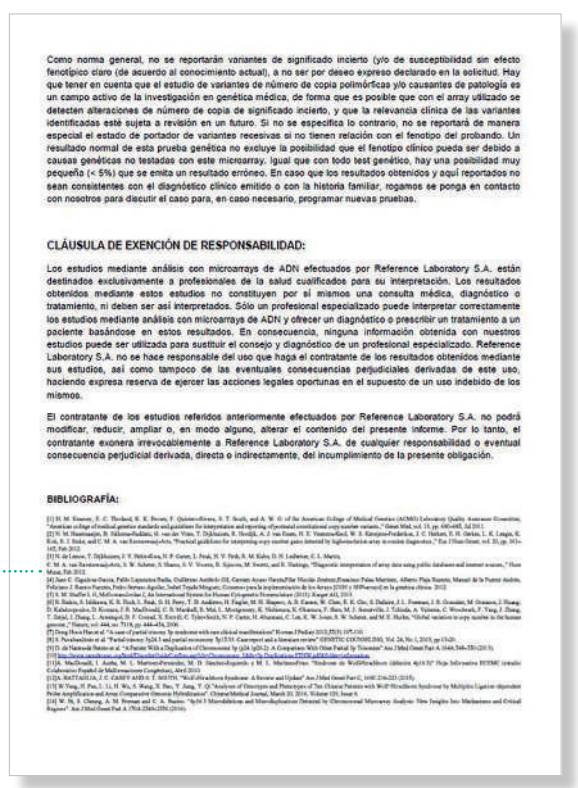
Los microarrays de oligonucleótidos de hibridación genómica comparada (aCGH) permiten detectar duplicaciones y deleciones de regiones diana del genoma interrogadas por las sondas que componen el chip. Las sondas del microarray utilizado interrogan regiones eucromáticas pericentroméricas, subteloméricas y de reordenamiento recurrente, localizadas en todos los cromosomas, a una densidad aproximada de 1 sonda cada 35 Kb. Atendiendo a los parámetros de detección usados de manera estándar se consigue una resolución aproximada de entre 100-125Kb. Fuera de las regiones candidatas, la cobertura promedio es de 1 sonda cada 125Kb, lo que permite detectar alteraciones de > 350Kb. Recordamos que mediante aCGH no es posible detectar reordenamientos balanceados (translocaciones recíprocas, translocaciones Robertsonianas, inversiones y/o inserciones balanceadas), pequeños indels, mutaciones puntuales, alteraciones de número de copia en mosaico inferior al 40 %, ni alteraciones de número de copia fuera de las regiones interrogadas por las sondas que componen el chip. Tampoco es capaz de diferenciar ADN's, con lo que muestras maternas no se pueden diferenciar de muestras fetales de sexo femenino. Además, las sondas oligonucleotídicas utilizadas en este microarray no están diseñadas para detectar disomías uniparentales ni alteraciones en la metilación.
Detección de poliploidías: el array-CGH no puede detectar algunas triploidías, tales como 69,XXX, y tetraploidías, como 92,XXXX o 92,XXYY, pero sí detectar anomalías de los cromosomas sexuales como XXY, XXXY o XYYY. Este resultado puede poner de manifiesto la existencia de un síndrome de Klinefelter y sus variantes o bien corresponder a una triploidía o tetraploidía que técnicamente no son detectables.

CRITERIOS DE INFORME:

Las variantes identificadas se han comparado con las anotadas en la Database of Genomic Variants (última actualización 2 Julio 2013). Estas variantes se han clasificado como patogénicas, VOUS (Variants of unknown significance, variantes de significado clínico incierto) y/o benignas, siguiendo las recomendaciones del American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants [1, 2, 3]. El presente formato de informe está basado en lo propuesto por el Grupo para el Consenso para la implementación de los Arrays [CGH y SNP-arrays] en la genética clínica [4]. Fórmula genómica según nomenclatura vigente del ISCN [5].

Para ofrecer la **máxima transparencia**, se indican la **información y las limitaciones técnicas**, los criterios del informe así como la bibliografía consultada.

Información técnica



Como norma general, no se reportarán variantes de significado incierto (y/o de susceptibilidad sin efecto fenotípico claro (de acuerdo al conocimiento actual), a no ser por deseo expreso declarado en la solicitud. Hay que tener en cuenta que el estudio de variantes de número de copia polimórficas y/o causantes de patología es un campo activo de la investigación en genética médica, de forma que es posible que con el array utilizado se detecten alteraciones de número de copia de significado incierto, y que la relevancia clínica de las variantes identificadas esté sujeta a revisión en un futuro. Si no se especifica lo contrario, no se reportará de manera especial el estado de portador de variantes recesivas si no tienen relación con el fenotipo del probando. Un resultado normal de esta prueba genética no excluye la posibilidad que el fenotipo clínico pueda ser debido a causas genéticas no testadas con este microarray. Igual que con todo test genético, hay una posibilidad muy pequeña (< 5%) que se emita un resultado erróneo. En caso que los resultados obtenidos y aquí reportados no sean consistentes con el diagnóstico clínico emitido o con la historia familiar, rogamos se ponga en contacto con nosotros para discutir el caso para, en caso necesario, programar nuevas pruebas.

CLÁUSULA DE EXENCIÓN DE RESPONSABILIDAD:

Los estudios mediante análisis con microarrays de ADN efectuados por Reference Laboratory S.A. están destinados exclusivamente a profesionales de la salud cualificados para su interpretación. Los resultados obtenidos mediante estos estudios no constituyen por sí mismos una consulta médica, diagnóstico o tratamiento, ni deben ser así interpretados. Sólo un profesional especializado puede interpretar correctamente los estudios mediante análisis con microarrays de ADN y ofrecer un diagnóstico o prescribir un tratamiento a un paciente basándose en estos resultados. En consecuencia, ninguna información obtenida con nuestros estudios puede ser utilizada para sustituir el consejo y diagnóstico de un profesional especializado. Reference Laboratory S.A. no se hace responsable del uso que haga el contratante de los resultados obtenidos mediante sus estudios, así como tampoco de las eventuales consecuencias perjudiciales derivadas de este uso, haciendo expresa reserva de ejercer las acciones legales oportunas en el supuesto de un uso indebido de los mismos.

El contratante de los estudios referidos anteriormente efectuados por Reference Laboratory S.A. no podrá modificar, reducir, ampliar o, en modo alguno, alterar el contenido del presente informe. Por lo tanto, el contratante exonera irrevocablemente a Reference Laboratory S.A. de cualquier responsabilidad o eventual consecuencia perjudicial derivada, directa o indirectamente, del incumplimiento de la presente obligación.

BIBLIOGRAFÍA:

Bibliografía resumida

Añadimos valor al diagnóstico genético

En Reference Laboratory Genetics llevamos más de 40 años dedicados a ofrecer a nuestros clientes **el catálogo más completo de pruebas de genética molecular** para cubrir las necesidades de cada paciente.

- Enfermedades genéticas hereditarias
- Estudio de tumores sólidos y biopsia líquida
- Oncohematología
- Farmacogenética

Ofrecemos un servicio integral para **cualquier especialidad médica**, de la muestra al informe de resultados, facilitando nuestro apoyo en cualquier punto del proceso diagnóstico: recogida y transporte de muestras, consejo genético, herramientas bioinformáticas e interpretación clínica.

Nuestro equipo está formado por profesionales altamente cualificados con más de 15 años de experiencia en genética clínica, consejo genético, genética molecular, bioinformática, citogenética, FISH y otros campos relevantes. Gracias a su experiencia y al uso de las tecnologías más avanzadas, **aseguramos la máxima fiabilidad, calidad y utilidad clínica en todos nuestros servicios.**

Cuando nuestros clientes nos solicitan un análisis genético, obtienen algo más que simples resultados, nos ayudan a incrementar el conocimiento colectivo de las enfermedades hereditarias (todas las mutaciones que encontramos se reportan a nuestra base de datos **RefLab Database®** y a las principales bases de datos públicas).

El servicio más completo

- **Todo tipo de estudios genéticos:** NGS, WES, MLPA, FISH, aCGH, Sanger, PCR, Citogenética.
- **Todas las especialidades médicas.**
- **Soluciones logísticas avanzadas**: desde la recogida de la muestra hasta la distribución de resultados.
- **Apoyo en cualquier punto del proceso diagnóstico**.
- **Informes fiables y concluyentes,** con menor número de VOUS gracias a **RefLab Database®.**
- **Consejo genético** pre y postest con nuestros expertos.
- **La más alta calidad** en todos nuestros servicios.
- El **menor plazo de entrega de resultados (<30 días)**.

1. Miller D.T. et all. (2010) Consensus Statement: Chromosomal Microarray Is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies. The American Journal of Human Genetics. 2010. Vol. 86, no. 5, p. 749-764. DOI 10.1016/j.ajhg.2010.04.006. Elsevier BV.

2. Srebniak M.I. (2012) Genomic SNP array as a gold standard for prenatal diagnosis of foetal ultrasound abnormalities. Molecular Cytogenetics. 2012. Vol. 5, no.1, p. 14. DOI 10.1186/1755-8166-5-14. Springer Nature.

3. Committee Opinion No. 581, 2013. Obstetrics & Gynecology, Vol. 122, no. 6, p. 1374-1377. DOI 10.1097/01.aog.0000438962.16108.d1. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).

C/ Pablo Iglesias 57
08908 Hospitalet de Llobregat · Barcelona
Tel 93 259 37 00 · genetics@referencelaboratory.es
www.referencelaboratory.es

aCGH.ESC0119.2