

JUNO

GENETICS

MANUAL USUARIO

1. Localización y datos de contacto	4
2. Quiénes somos	4
3. Horarios de apertura	5
4. Procedimiento de reclamación	5
5. Compromiso del laboratorio sobre la privacidad de los datos personales	5
6. Envío de muestras al laboratorio JUNO GENETICS ESPAÑA	6
6.1 Información pertinente para los casos remitidos	6
6.2 Información pertinente para la recogida y aceptación de muestras	6
6.3 Información pertinente para solicitar una prueba	8
6.4 Asesoramiento clínico	9
6.5 Plazos de entrega	9
7. Cartera de servicios	10
7.1. PRUEBA GENÉTICA DE ANEUPLOIDÍA PREIMPLANTACIÓN (PGT-A)	10
7.1.1. PGT-A Información general	10
7.1.2. Métodos utilizados para el PGT-A en JUNO GENETICS	11
7.1.3. Requisitos para aceptar un caso	11
7.1.4. PGT-A Preparación del paciente y de la muestra	11
7.1.5. Pruebas de validación (Dry Run)	13
7.2. PRUEBA GENÉTICA PREIMPLANTACIÓN PARA REORDENAMIENTOS ESTRUCTURALES (PGT-SR)	14
7.2.1. PGT-SR Información general	14
7.2.2. Métodos utilizados para el PGT-SR en JUNO GENETICS	14
7.2.3. Requisitos para aceptar un caso	15
7.2.4. Preparación del paciente PGT-SR	15
7.2.5. Pruebas de validación (Dry Run)	17
7.3. ANÁLISIS DE ANEUPLOIDÍAS DE PRODUCTOS DE LA CONCEPCIÓN (POC)	18
7.3.1. Pruebas POC Información general	18
7.3.2. Métodos utilizados para las pruebas POC en JUNO GENETICS	18
7.3.3. Requisitos para aceptar un caso POC	18
7.3.4. Preparación del paciente POC	19
7.4. PRUEBAS GENÉTICAS DE PREIMPLANTACIÓN PARA TRASTORNOS MONOGÉNICOS (PGT-M)	20
7.4.1. PGT-M Información general	20
7.4.2. Preparación del paciente PGT-M	21
7.4.3. Preparación de muestras para PGT-M	23
7.4.4. Instrucciones para el envío de muestras para el PGT-M	24
7.4.5. Pruebas de validación (Dry Run)	24
7.4.6. Muestras suministradas para PGT-M	25
7.5. Prueba CARRIER™ (cribado genético de portadores)	26
7.5.1. Información general sobre la prueba CARRIER™	26
7.5.2. Requisitos para aceptar un caso CARRIER™	27
7.5.3. Preparación del paciente para CARRIER™	28
7.5.4. Preparación de muestras CARRIER™	28
7.6. NEO TEST para pruebas prenatales no invasivas (NIPT)	29
7.6.1. Preparación de muestras NEO	29
7.6.2. Métodos utilizados para prueba NEO en Juno Genetics	29
7.6.3. Preparación del paciente prueba NEO	29
7.6.4. Preparación de muestras para prueba NEO	30

1. LOCALIZACIÓN Y DATOS DE CONTACTO

Las oficinas y el laboratorio de JUNO GENETICS se encuentran en:

Parque Tecnológico Paterna
Ronda de Guglielmo Marconi, 11-A, 2º, A1-2, A2-2.
46980 Paterna, VALENCIA

NÚMEROS DE TELÉFONO PRINCIPALES

Teléfono de contacto general:
(+34) 96.069.48.00

PRINCIPALES DIRECCIONES DE CORREO ELECTRÓNICO

1. Dirección general de contacto

por correo electrónico:

supportspain@junogenetics.com
kit.es@junogenetics.com

2. Documentación asociada a la muestra:

samplereception.es@junogenetics.com

3. Consultas específicas sobre las pruebas PGTseq (PGT-A, PGT-SR y POC):

pgtseq.es@junogenetics.com

Para consultas específicas sobre casos de PGTseq de clínicas en ITALIA (GENERA) por favor use la siguiente dirección de correo electrónico:

pgtseq.ita@junogenetics.com

4. Consultas específicas para la prueba PGT-M:

genetica.es@junogenetics.com

Para consultas específicas sobre casos de PGT-M de clínicas en ITALIA (GENERA) por favor use la siguiente dirección de correo electrónico:

pgtseq.ita@junogenetics.com

5. Consultas específicas sobre pruebas

relacionadas con CARRIER™

carrier.es@junogenetics.com

6. Consultas específicas sobre pruebas

relacionadas con NEO:

neo.es@junogenetics.com

2. QUIÉNES SOMOS

JUNO GENETICS es un laboratorio privado especializado en genética reproductiva. Nuestros servicios incluyen pruebas genéticas preimplantacionales para anomalías cromosómicas (PGT-A) y reordenamientos cromosómicos estructurales (PGT-SR), trastornos monogénicos (PGT-M), análisis de productos de la concepción (POC) y cribado genético de portadores (CARRIER™).

Nuestro equipo especializado cuenta con algunos de los científicos más experimentados en el campo de la genética reproductiva. Invertimos continuamente en investigación para mejorar los análisis genéticos de embriones y otros tejidos humanos. Nuestros científicos han estado siempre a la vanguardia de los avances en tecnología y precisión. La investigación dirigida por los científicos de **JUNO GENETICS** ha dado lugar a la publicación de más de 500 artículos científicos y ha sido reconocida con la recepción de múltiples premios. El enfoque en la innovación y la mejora continua ha ayudado a **JUNO GENETICS** a lograr tasas de precisión publicadas para la evaluación de embriones que se encuentran entre las más altas del mundo. **JUNO GENETICS** hace especial hincapié en la calidad, como demuestra el trabajo del laboratorio para obtener acreditaciones/certificaciones reconocidas de las normas de calidad de los laboratorios. Un objetivo clave de la empresa es ser accesible a sus clientes, proporcionando una respuesta rápida a las consultas y prestando apoyo siempre que sea necesario. Encontrará más información sobre la empresa en el sitio web de **JUNO GENETICS**.

DIRECCIONES WEB

www.junogenetics.es (información disponible en español)

www.junogenetics.eu (información disponible en inglés)

www.junogenetics.it (información disponible en italiano)

3. HORARIOS DE APERTURA

El horario de apertura de JUNO GENETICS ESPAÑA es el siguiente:

De lunes a viernes: de 8.00 a 17.30 horas.

JUNO GENETICS España opera durante todo el año excepto todos los días festivos españoles y locales asociados a Valencia.

Se recomienda que las muestras se envíen de LUNES a JUEVES.

4. PROCE- DIMIENTO DE RECLAMACIÓN

En JUNO GENETICS entendemos que a veces pueda sentir que podríamos hacer algo mejor, que no estamos satisfaciendo sus necesidades y expectativas, o que incluso nos hemos equivocado.

Queremos saber si cree que no somos estupendos, si hemos hecho algo mal o si podemos mejorar algo.

Para tramitar formalmente una reclamación, sólo le pedimos que nos la haga llegar a través del canal que hemos habilitado en nuestra web para atender mejor estas cuestiones. Para ello, debe pinchar en el enlace disponible en nuestra web y rellenar el formulario disponible a tal efecto (<https://www.junogenetics.es/contactenos/>).

En caso de que tengas alguna duda sobre dónde encontrar el formulario puedes ponerte en contacto con nosotros a través del correo electrónico **supportspain@junogenetics.com** para que te ayudemos.

NOTA: No olvide indicar qué espera de JUNO para poder resolver su consulta.

Una vez recibidas, las reclamaciones serán revisadas. Haremos todo lo posible por intentar darle una respuesta en un plazo máximo de 3 días laborables. Tenga en cuenta que, en algunos casos, la resolución efectiva de una queja puede requerir de plazos más largos.

5. COMPROMISO DEL LABORATORIO SOBRE LA PRIVACIDAD DE LOS DATOS PERSONALES

El laboratorio sigue estrictas políticas de Gobierno de la Información y mantiene una infraestructura de protección de datos en línea con el REGLAMENTO EUROPEO (UE) 2016/679 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO ('GDPR') y la regulación española además de las leyes españolas de protección de datos, como la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales aplicables en España.

Encontrará más información sobre la protección de datos en la página web de JUNO.

6. ENVÍO DE MUESTRAS AL LABORATORIO JUNO GENETICS ESPAÑA

6.1 INFORMACIÓN PERTINENTE PARA LOS CASOS REMITIDOS

Debido a la complejidad de las pruebas genéticas y a que estas pruebas sólo se realizan dentro de un contexto médico, la prueba sólo puede ser solicitada por un profesional sanitario autorizado. Esta función puede variar en función de la normativa local, pero por lo general se asigna a médicos colegiados.

JUNO GENETICS España no ofrece ningún tipo de servicio médico y no ofrece servicios como producto de autodiagnóstico. No se aceptarán solicitudes de pacientes directos, ni de usuarios no profesionales.

Los profesionales sanitarios autorizados no pueden solicitar pruebas para sí mismos, como en el caso anterior, sólo se aceptarán pruebas remitidas por otro profesional sanitario autorizado.

JUNO GENETICS España no ofrece ningún tipo de servicio médico, por este motivo sólo se aceptarán solicitudes remitidas por profesionales sanitarios externos autorizados a JUNO.

6.2 INFORMACIÓN PERTINENTE PARA LA RECOGIDA Y ACEPTACIÓN DE MUESTRAS

JUNO GENETICS pone a su disposición kits de recogida de muestras para garantizar que la muestra se recoja y conserve en condiciones óptimas hasta su llegada al laboratorio. Junto con los kits de recogida también se proporcionan instrucciones para garantizar una recogida y un envío óptimos de las muestras. Puede solicitar las instrucciones de recogida y envío de muestras a nuestro servicio de atención al cliente. Consulte la sección de datos de contacto para obtener más información.

Para garantizar la exactitud de los resultados y un funcionamiento adecuado de las pruebas, se comprueba previamente las muestras

recibidas. Todas las muestras que puedan llegarse a rechazar se ponen en conocimiento del director del laboratorio (o, si no está disponible, del miembro más veterano del personal), quien decidirá si la muestra puede recuperarse, teniendo en cuenta las dificultades para obtener una muestra de sustitución. Se contactará con la clínica remitente lo antes posible para informarle del rechazo de una muestra y, si es necesario, se solicitará una repetición de la muestra. Si se recibe una muestra en un envase mal etiquetado, se contactará con la clínica para que facilite la información faltante o bien que proporcione una nueva muestra.

Los siguientes acontecimientos pueden dar lugar a que se considere el rechazo de una muestra:

- El recipiente de muestras recibido está roto.
- Muestras mezcladas o con posibilidad de encontrarse contaminadas que pueden afectar a los resultados del examen.
- Contenedor de muestras incorrecto (por ejemplo, la sangre no está en un tubo EDTA tal como requiere el test).
- Existe una fuga de muestra del recipiente de muestras primario.
- Volumen o cantidad de muestra insuficiente.
- Contenedor de muestras etiquetado inadecuadamente (esto incluye escritura ilegible).
- Recepción de un tipo de muestra no validado para la realización del test (por ejemplo, recibir una gota de sangre en "tarjetas de sangre" en lugar de sangre total en un tubo EDTA).
- Muestra recibida a temperatura inadecuada (por ejemplo, muestra recibida a temperatura ambiente cuando son obligatorias condiciones de temperatura controlada durante el envío).
- Falta información obligatoria en el formulario de solicitud.
- Se remiten formularios de solicitud NO aprobados por Juno junto con la muestra.
- La muestra parece estar en un estado inadecuado (por ejemplo, turbia o coagulada).

- Etiquetado de muestras que no corresponden a los que figuran en el formulario de solicitud.
- Muestras recibidas sin identificador de paciente.
- Sangre recibida en tubos caducados.
- La muestra/paciente no cumple ningún requisito previo al examen necesario para garantizar el correcto funcionamiento de la prueba (estado de medicación de la paciente, semana gestacional mínima...).

Muy importante:

Cualquier espécimen recibido debe ser etiquetado con al menos dos identificadores únicos y un documento asociado con los mismos identificadores. Eso garantiza la trazabilidad del espécimen con los datos apropiados del paciente.

Para los casos de PGT que envíen muestras de embriones, se incluyen etiquetas Juno ID dentro de los kits de recogida de muestras proporcionados por JUNO. Una copia de estas etiquetas QR debe pegarse en el tubo de PCR y la otra en el formulario de recogida de biopsias.

6.3 INFORMACIÓN PERTINENTE PARA SOLICITAR UNA PRUEBA

JUNO GENETICS sólo acepta solicitudes de pruebas de clínicas y profesionales autorizados de la salud. Aunque se pueden aceptar formularios en papel para solicitar una prueba, JUNO suele operar preferentemente a través de medios electrónicos integrados con el sistema de información de laboratorio (LIMS). Esto garantiza que JUNO GENETICS reciba los datos de las pruebas, los pacientes y las clínicas de forma segura y fiable.

El nivel de integración del LIMS puede variar de una clínica a otra en uno de los siguientes niveles:

- **Nivel 1:** El LIMS de la clínica está totalmente integrado con el LIMS de JUNO. El cliente solicita las pruebas utilizando su propia plataforma y éste recibe los resultados de las pruebas y cualquier otra información asociada del mismo modo.
- **Nivel 2:** Se utiliza una plataforma intermedia para solicitar y recibir los resultados de las pruebas. Este software intermedio es ofrecido por JUNO GENETICS ([PORTAL DE CLÍNICAS](#)). Esta plataforma ofrece funcionalidades adicionales a los usuarios como: 1) posibilidad de solicitar kits de recogida de muestras y otros consumibles, 2) acceso a la documentación más actualizada relacionada con la prueba (consentimientos informados, formularios de solicitud, instrucciones...) y 3) descarga de indicadores clave de rendimiento relevantes sobre los servicios prestados.

- **Nivel 3:** Las solicitudes no se transmiten directamente al LIMS de JUNO GENETICS. Las copias impresas de la solicitud de prueba junto con la propia muestra se remiten y la información se registra posteriormente en el LIMS de JUNO GENETICS durante la fase de recepción de la muestra por parte del personal de JUNO.

Independientemente del nivel de integración, es obligatorio enviar una copia impresa de la solicitud junto con la muestra. No enviar esta documentación puede llevar a rechazar la muestra en la recepción, o retrasar los resultados de la prueba.

Muy importante:

JUNO GENETICS no acepta la solicitud verbal de una prueba.

6.4 ASESORAMIENTO CLÍNICO

Aunque intentamos explicar los procedimientos y sus limitaciones de la forma más concisa posible en nuestros formularios de consentimiento, aconsejamos encarecidamente que todos los pacientes que se sometan a una prueba genética reciban asesoramiento genético. Debe obtenerse el consentimiento informado del paciente para realizar cualquier prueba genética. Lo ideal es que todos los pacientes hablen con un asesor genético con experiencia previa en la prueba que se solicita para comentar con el paciente los riesgos asociados, las limitaciones y los posibles resultados. Póngase en contacto con JUNO GENETICS si necesita ayuda sobre la búsqueda de un asesor genético o si desea más información sobre la prueba seleccionada.

6.5 PLAZOS DE ENTREGA

Los plazos de entrega de las pruebas ofrecidas por JUNO GENETICS son los siguientes:

- **PGT-A** – 7 días laborables desde la recepción de las muestras de biopsia embrionaria y documentación asociada del test (solicitud test y consentimiento informado pacientes).
- **PGT-SR** – 7 días laborables desde la recepción de las muestras de biopsia embrionaria y de la documentación asociada. (solicitud test, consentimiento informado pacientes e informes genéticos pacientes)
- **POC** – 7 días laborables a partir de la recepción de las muestras maternas y fetales, así como la documentación asociada. (solicitud test y consentimiento informado pacientes).
- **PrePGT-M (diseño de la prueba)** – 40 días laborables a partir del momento en que JUNO GENETICS haya recibido toda la información y las muestras (solicitud test, consentimiento informado pacientes e informes genéticos pacientes)
- **PGT-M (análisis de muestras de biopsia embrionaria)** – 10 días laborables desde la recepción de las muestras de biopsia embrionaria y documentación asociada. (solicitud test y consentimiento informado pacientes).
- **CARRIER™** - Aproximadamente 25 días laborables a partir de la recepción de las muestras biológicas, así como la documentación asociada (solicitud test y consentimiento informado pacientes).

7. CARTERA DE SERVICIOS

Los servicios de genética reproductiva ofrecidos por JUNO GENETICS España incluyen:

7.1 PRUEBA GENÉTICA DE ANEUPLOIDÍA PREIMPLANTACIÓN (PGT-A)

7.1.1 PGT-A Información general

La principal utilidad del PGT-A para las pacientes que se someten a un tratamiento de FIV es aumentar la probabilidad de que los embriones elegidos para la transferencia al útero tengan el número correcto de cromosomas en sus células. En teoría, la transferencia de embriones cromosómicamente normales debería asociarse a una mayor probabilidad de embarazo viable y sano, en comparación con los embriones aneuploides. Los datos publicados confirman que los embriones clasificados como “anormales” mediante el método PGT-A de JUNO GENETICS tienen un potencial extremadamente bajo de llevar un embarazo a término. Se espera que la transferencia de embriones cromosómicamente normales reduzca significativamente la frecuencia de abortos espontáneos y embarazos aneuploides, aunque sigue existiendo cierto riesgo de que se produzcan.

Tradicionalmente, las principales indicaciones del PGT-A han sido:

- Edad materna avanzada (35 años o más).
- Implantación repetida/fracaso de FIV (3 o más ciclos fallidos).
- Abortos de repetición (3 o más abortos).
- Factor masculino severo.

Sin embargo, cualquier paciente puede considerar la posibilidad de someterse a PGT-A, especialmente si desea reducir al mínimo el número de transferencias de embriones necesarias para conseguir un embarazo viable, o si le preocupan especialmente los riesgos de aborto espontáneo y de concepción aneuploide. Es importante que todas las pacientes comprendan que, aunque pueden reducirse riesgos como un aborto espontáneo precoz

o una concepción aneuploide, no pueden eliminarse por completo. Además, es importante que las pacientes comprendan que el PGT-A no sustituye a las pruebas prenatales rutinarias. Se recomienda seguir realizando pruebas prenatales cuando estén indicadas.

7.1.2 Métodos utilizados para el PGT-A en JUNO GENETICS

La secuenciación de nueva generación (NGS) es el principal método utilizado para PGT-A en JUNO GENETICS. Consiste en la lisis de las células biopsiadas de embriones de preimplantación, que han sido colocadas en tubos de PCR (suministrados por JUNO GENETICS) por embriólogos de las clínicas de fertilidad de referencia. A continuación se amplifica el ADN (de todos los cromosomas) que se ha liberado de las células, con lo que se generan grandes cantidades de ADN de cada muestra analizada. Los productos amplificados se etiquetan con códigos de barras moleculares únicos y, a continuación, se someten a secuenciación, con lo que se obtienen cientos de miles de fragmentos de secuencias de ADN de cada muestra analizada. Estas secuencias, conocidas como “lecturas”, se comparan con la secuencia del genoma humano de referencia, lo que permite identificar el cromosoma del que procede cada lectura. La evaluación estadística del número relativo de lecturas de cada parte del genoma permite determinar con gran precisión el número de copias de cada cromosoma. Por ejemplo, la presencia de una trisomía se asocia a un aumento relativo del número de lecturas del cromosoma afectado, mientras que una monosomía se asocia a un número de lecturas inferior al esperado. Además, durante el proceso de secuenciación, se detectan miles de polimorfismos (variaciones en la secuencia de ADN que existen en la población). Estos polimorfismos tienen el potencial de proporcionar una verificación adicional del número de copias de cada cromosoma. La tasa de precisión de la NGS es superior al 95%.

7.1.3 Requisitos para aceptar un caso

Los pacientes no deben cumplir ningún requisito específico para garantizar un rendimiento adecuado de la prueba PGT-A.

7.1.4 PGT-A Preparación del paciente y de la muestra

Asesoramiento:

Se recomienda encarecidamente un asesoramiento adecuado a todas las pacientes que se sometan a pruebas genéticas de sus embriones. Es responsabilidad de la clínica de FIV garantizar que todos los pacientes reciban el asesoramiento necesario. Puede ponerse en contacto con JUNO GENETICS si necesita asesoramiento.

Formulario de consentimiento:

Tras recibir el asesoramiento adecuado sobre el procedimiento, las pacientes que se sometan a PGT-A deberán firmar un formulario de consentimiento apropiado. JUNO GENETICS puede proporcionar este formulario de consentimiento, o bien puede ser preparado por la clínica de FIV remitente, previa consulta con JUNO GENETICS. El Formulario de Consentimiento firmado confirma que los pacientes dan su permiso para que se realice la prueba en sus muestras y comprenden todos los beneficios y limitaciones asociados. Una copia del formulario cumplimentado deberá enviarse a JUNO GENETICS junto con el Formulario de Solicitud cumplimentado. Estos documentos suelen enviarse transfiriéndolos a la base de datos de JUNO GENETICS, aunque también puede enviarse por correo electrónico a pgtseq.es@junogenetics.com o incluso puede enviarse una copia impresa junto con la muestra.

Formulario de biopsia:

Deberá enviarse a JUNO GENETICS un Formulario de Biopsia cumplimentado junto con las muestras o por correo electrónico a pgtseq.es@junogenetics.com. Este formulario será utilizado por JUNO GENETICS para confirmar la prueba específica que debe realizarse para cada paciente y para confirmar que las muestras recibidas pertenecen al caso estudiado.

Relaciones sexuales:

Se recomienda encarecidamente que las parejas se abstengan de mantener relaciones sexuales sin protección durante el tratamiento para evitar cualquier posibilidad de embarazo natural. Los embriones resultantes de la concepción natural no se habrán sometido a pruebas genéticas y, por lo tanto, ninguno de los beneficios potenciales del ensayo PGT se aplicará en tales casos.

Kit de biopsia

JUNO GENETICS proporciona a las clínicas de FIV kits de biopsia que contienen tubos de PCR estériles colocados en una gradilla de biopsia y tampón de lavado etiquetados con el número de lote y la fecha de caducidad. Se suministran en una bolsa de plástico que se envía en una caja de poliestireno que también contiene acumuladores de frío. El kit de biopsia puede almacenarse en la bolsa de plástico suministrada, lejos de cualquier posible contaminación, a temperatura ambiente. El tampón de lavado debe guardarse en el frigorífico (2-8°C) a su llegada. Los acumuladores de frío deben colocarse en el congelador más frío disponible (se utilizarán para mantener frías las muestras cuando se envíen a JUNO GENETICS).

Biopsia embrionaria

Cada centro de FIV debe seguir su propio procedimiento establecido para la biopsia embrionaria. La mayoría de las estrategias de biopsia de blastocisto implican la toma de muestras de aproximadamente cinco células. El método estándar PGT-A empleado por JUNO GENETICS requiere un mínimo de tres células intactas en un volumen máximo de tampón de lavado de 2,5 µl. Tener menos células o un volumen superior a éste aumenta las posibilidades de no obtener un resultado y podría reducir potencialmente la precisión. Si el número de células obtenidas de un blastocisto es inferior a las tres células requeridas, JUNO GENETICS debe ser notificado para que se puedan emplear técnicas alternativas.

Lavado y carga en tubo (tubing) de las células:

Una vez extraídas las células del embrión, se recomienda lavarlas con tres microgotas de tampón de lavado (consumible suministrado por JUNO GENETICS como parte del kit de biopsia), pipeteadas en una placa de Petri limpia. Es muy importante que las gotas no estén cubiertas de aceite, ya que éste suele contener moléculas que inhiben la amplificación del ADN, que es una parte esencial de todos los métodos de PGT. El lavado de la muestra ayudará a eliminar los contaminantes del ADN, como los derivados de espermatozoides o de células del cúmulo. Incluso cuando se utiliza la ICSI para la fecundación y se eliminan cuidadosamente todas las células del cúmulo, sigue existiendo la posibilidad de que haya ADN procedente de estas células, así como de otras fuentes de contaminación. Al pasar la muestra de la biopsia de una gota a la siguiente, se diluirá cualquier contaminante. La pipeta utilizada para mover la muestra debe limpiarse enjuagándola con unos pocos microlitros de tampón de lavado limpio entre cada una de las diferentes microgotas utilizadas para el lavado. El lavado de las células debe hacerse a fondo pero al mismo tiempo con suavidad para evitar dañar las células biopsiadas. Si las células se lisan, es menos probable que den un resultado PGT.

Después del tercer lavado, la muestra de biopsia debe colocarse en uno de los tubos de PCR estériles suministrados en los kits de biopsia de JUNO GENETICS. Es extremadamente importante que el volumen total de tampón en el tubo de PCR (que contiene las células biopsiadas) esté en el rango de 1-2,5 µl. Si la cantidad de líquido en el tubo supera los 2,5 µl la amplificación del ADN será menos eficiente, produciendo resultados de baja calidad o provocando un fracaso total de la prueba. Los tubos de PCR deben mantenerse cerrados en la medida de lo posible y la transferencia de la muestra de biopsia debe realizarse en un entorno estéril. En algunos casos, es posible confirmar que

las células biopsiadas se han transferido correctamente al tubo, mediante observación al microscopio. Si se intenta visualizar las células, se recomienda pipetear la muestra de biopsia en el lateral del tubo, a 2-3 mm del fondo del tubo. Los tubos deben etiquetarse con las iniciales del paciente y el número de embrión. Además, las etiquetas QR únicas proporcionadas por JUNO GENETICS se pegarán en la pared del tubo PCR. La segunda copia de esta etiqueta QR deberá adjuntarse en el documento del “Formulario de biopsia embrionaria”.

Los tubos que contienen células biopsiadas deben conservarse a baja temperatura.

Envío de muestras a JUNO GENETICS ESPAÑA

No es necesario informar a JUNO GENETICS ESPAÑA del envío de muestras a su laboratorio. La clínica de FIV sólo tiene que solicitar al mensajero proporcionado la orden de recogida con los datos del cliente facilitados por el área de Atención al Cliente de JUNO GENETICS.

Las células biopsiadas de embriones deben enviarse en el kit proporcionado por JUNO GENETICS. Las muestras de diferentes pacientes no deben almacenarse en la misma “caja de recogida de biopsias”, pero para optimizar el envío, pueden incluirse diferentes cajas de biopsias en la misma nevera de envío.

Debe añadirse a la caja un mínimo de 2 paquetes refrigerantes congelados y cerrar la tapa 30 minutos antes de introducir las muestras para enfriar el interior de la caja. Una vez finalizada la biopsia y la caja esté lista para ser recogida, la caja de cartón debe cerrarse y sellarse con cinta adhesiva. Se recomienda el envío nocturno con entrega garantizada al día siguiente.

7.1.5 Pruebas de validación (Dry Run)

Antes de iniciar un servicio clínico, todos los embriólogos de la nueva clínica de FIV de referencia que participen habitualmente en la biopsia y carga de embriones deberán enviar 10 muestras de validación (dry run) a JUNO GENETICS. Estas muestras validación (dry run) deben ser células (idealmente TE) biopsiadas de embriones que no son aptos para la transferencia, y/o que han sido donados para investigación. No es necesario enviar controles negativos, ya que se puede detectar la presencia o ausencia de cualquier ADN extraño contaminante. Las muestras deben etiquetarse con la inicial del embriólogo y el número de embrión/muestra seca. El esquema de etiquetado elegido debe explicarse claramente en el formulario de biopsia.

7.2 PRUEBA GENÉTICA PREIMPLANTACIONAL PARA REORDENAMIENTO ESTRUCTURALES (PGT-SR)

7.2.1 PGT-SR Información general

La prueba PGT-SR se utiliza en parejas en las que uno o ambos miembros son portadores de una reordenación cromosómica estructural (por ejemplo, una translocación o una inversión). Estas parejas tienen muchas probabilidades de producir gametos (espermatozoides u óvulos) en los que algunas de las regiones situadas en los cromosomas reordenados se han perdido o duplicado. Los embriones producidos a partir de gametos cromosómicamente anormales pueden dar lugar a embarazos, pero éstos abortan con frecuencia o producen niños afectados por anomalías congénitas y/o discapacidad mental. El objetivo del PGT-SR es examinar las células de los embriones producidos mediante FIV y distinguir los embriones anormales que han perdido o ganado fragmentos de cromosomas de los que tienen una cantidad normal de material cromosómico (con un conjunto de cromosomas completamente normal o con una forma equilibrada de reordenación cromosómica, esencialmente igual a la del progenitor portador). La intención es que sólo los embriones clasificados por el PGT-SR como cromosómicamente normales o portadores de una reordenación equilibrada sean considerados para su transferencia al útero. Los embriones portadores de una forma equilibrada de reordenación no pueden distinguirse de los que no son portadores de la translocación. Normalmente, el procedimiento PGT-SR requiere la biopsia de aproximadamente cinco células del trofotodermo de embriones en la fase de blastocisto del desarrollo. Las células se colocan en pequeños tubos de ensayo y se envían a JUNO GENETICS para su análisis.

Es importante tener en cuenta que, aunque PGT-SR reduce el riesgo de un embarazo afectado por anomalías cromosómicas, ninguna prueba realizada en pequeñas cantidades de células de embriones

preimplantatorios puede ser exacta al 100%. Sigue existiendo la posibilidad de que un embrión clasificado como “normal/ equilibrado” contenga cromosomas suprimidos o duplicados, o sufra otras formas de anomalía cromosómica que pueden ser indetectables con el método PGT-SR. Por este motivo, PGT-SR no debe considerarse una alternativa al cribado prenatal, y se recomienda encarecidamente que se realicen pruebas prenatales rutinarias (pruebas prenatales no invasivas, amniocentesis o muestreo de vellosidades coriónicas) si se produce un embarazo, para confirmar que el feto es cromosómicamente normal.

7.2.2 Métodos utilizados para el PGT-SR en JUNO GENETICS

La secuenciación de próxima generación (NGS) es el principal método utilizado para PGT-SR en JUNO GENETICS. Consiste en la lisis de células biopsiadas de embriones de preimplantación, que han sido colocadas en tubos de PCR de 0,2 ml (suministrados por JUNO GENETICS) por embriólogos de las clínicas de fertilidad de referencia. A continuación se amplifica el ADN (de todos los cromosomas) que se ha liberado de las células, con lo que se generan grandes cantidades de ADN de cada muestra analizada. Los productos amplificados se etiquetan con códigos de barras moleculares únicos y, a continuación, se someten a secuenciación de ADN, con lo que se obtienen cientos de miles de fragmentos de secuencias de ADN de cada muestra analizada. Estas secuencias, conocidas como “lecturas”, se comparan con la secuencia del genoma humano, lo que permite identificar el cromosoma del que procede cada lectura. La evaluación estadística del número relativo de lecturas de cada parte del genoma permite determinar con gran precisión el número de copias de cada cromosoma. Por ejemplo, si se duplica parte de un cromosoma, se producirá un aumento relativo del número de lecturas derivadas de la región afectada del genoma. Por el contrario, la pérdida de parte de un cromosoma se asocia a un número de lecturas para esa zona inferior al esperado. Además, durante el proceso de secuenciación,

se detectan miles de polimorfismos (variaciones en la secuencia de ADN que existen en la población). Estos polimorfismos tienen el potencial de proporcionar una verificación adicional del número de copias de cada cromosoma. Se espera que la tasa de precisión de la NGS sea superior al 95% para la detección de pérdidas y ganancias que afecten a cromosomas enteros y debería ser similar para trozos de cromosoma mayores de 10Mb.

7.2.3 Requisitos para aceptar un caso

En el caso de los pacientes, los requisitos no específicos deben ser cumplidos por los pacientes o embriones para garantizar un rendimiento adecuado de la prueba PGT-A.

Antes de ofrecer PGT-SR a los pacientes, deben enviarse a JUNO GENETICS informes genéticos que describan la reordenación cromosómica de la que es portador el paciente. Un miembro del personal revisará el informe y decidirá si la prueba es técnicamente viable o no. Esta decisión se comunicará al asesor genético o al coordinador PGT de la clínica de FIV. JUNO GENETICS puede declinar el ofrecer el PGT-SR si la naturaleza de la reordenación cromosómica no está clara o si, tras la revisión, se prevé que la precisión de la prueba sea baja. Esto es especialmente probable si los trozos de cromosoma implicados en la reordenación son de tamaño muy pequeño. Es esencial que los pacientes no inicien su tratamiento de FIV hasta que JUNO GENETICS se haya puesto en contacto con la clínica y haya confirmado que la prueba puede ofrecerse a los pacientes.

7.2.4 Preparación del paciente PGT-SR

Asesoramiento:

El asesoramiento adecuado de todas las pacientes a las que se les realiza una prueba de embriones mediante PGT-SR es extremadamente importante. Es responsabilidad de la clínica de FIV

garantizar que todos los pacientes reciban el asesoramiento necesario. Puede ponerse en contacto con JUNO GENETICS si necesita asesoramiento.

Muestras necesarias:

En la mayoría de los casos de PGT-SR remitidos a JUNO GENETICS, los fragmentos cromosómicos implicados en las reordenaciones tienen un tamaño suficiente para ser detectados por la plataforma NGS utilizada. En el caso de translocaciones recíprocas, tres de los cuatro fragmentos cromosómicos deberían estar dentro de los límites de detección del método NGS. En estos casos, no se requieren muestras de sangre del paciente y no hay que realizar ningún estudio preliminar antes de iniciar un ciclo. Sin embargo, en algunos casos en los que es necesaria una investigación adicional para evaluar si los fragmentos son detectables, es posible que haya que analizar muestras de ADN del paciente y/o de un miembro de la familia afectado (muestra prenatal, muestra de aborto espontáneo, hijo o padre) antes de tomar una decisión final sobre si se puede ofrecer PGT-SR a la pareja.

Formulario de consentimiento:

Tras recibir el asesoramiento adecuado sobre el procedimiento, las pacientes que se sometan a una PGT-SR deberán firmar un formulario de consentimiento apropiado. JUNO GENETICS puede proporcionar este Formulario de Consentimiento, o puede ser preparado por la clínica de FIV remitente, previa consulta con JUNO GENETICS. El Formulario de Consentimiento firmado confirma que los pacientes dan su permiso para que se realice la prueba en sus muestras y comprenden todos los beneficios y limitaciones asociados. Una copia del formulario cumplimentado deberá enviarse a JUNO GENETICS junto con el Formulario de Solicitud cumplimentado. Estos documentos suelen enviarse por correo electrónico a pgtseq.es@junogenetics.com o, alternativamente, puede enviarse una copia impresa junto con la muestra.

Formulario de biopsia:

Deberá enviarse a JUNO GENETICS un Formulario de Biopsia cumplimentado junto con las muestras o por correo electrónico a pgtseq.es@junogenetics.com. Este formulario será utilizado por JUNO GENETICS para confirmar la prueba específica que debe realizarse para cada paciente y para confirmar que las muestras recibidas pertenecen al caso estudiado.

Relaciones sexuales:

Se recomienda encarecidamente que las parejas se abstengan de mantener relaciones sexuales sin protección durante el tratamiento para evitar cualquier posibilidad de embarazo natural. Los embriones resultantes de la concepción natural no se habrán sometido a pruebas genéticas y, por lo tanto, ninguno de los beneficios potenciales de PGT se aplicará en tales casos.

Kit de biopsia

JUNO GENETICS proporciona a las clínicas de FIV kits de biopsia que contienen tubos de PCR estériles colocados en una gradilla de biopsia y tampón de lavado etiquetados con el número de lote y la fecha de caducidad. Se suministran en una bolsa de plástico que se envía en una caja de poliestireno que también contiene paquetes refrigerantes. El kit de biopsia puede almacenarse en la bolsa de plástico suministrada, lejos de cualquier posible contaminación, a temperatura ambiente. El tampón de lavado debe guardarse en el frigorífico a su llegada (2-8°C). Los acumuladores de frío deben colocarse en el congelador más frío disponible (se utilizarán para mantener frías las muestras cuando se envíen a JUNO GENETICS).

Biopsia embrionaria

Cada centro de FIV debe seguir su propio procedimiento establecido para la biopsia embrionaria. La mayoría de las estrategias de biopsia de blastocisto implican la toma de muestras de aproximadamente cinco células.

Los métodos estándar PGT-A y PGT-SR empleados por JUNO GENETICS requieren un mínimo de tres células intactas en un volumen máximo de tampón de lavado de 2,5 µl. Tener menos células o un volumen superior a éste aumenta las posibilidades de no obtener un resultado y podría reducir potencialmente la precisión. Entonces, si el número de células obtenidas de un blastocisto es inferior a las tres células requeridas, JUNO GENETICS debe ser notificado para que se puedan emplear técnicas alternativas.

Lavado y carga en tubo (tubing) de las células

Una vez extraídas las células del embrión, se recomienda lavarlas con tres microgotas del tampón de lavado (suministrado por JUNO GENETICS en el kit de biopsia), pipeteadas sobre una placa de Petri limpia. Es muy importante que las gotas no estén cubiertas de aceite, ya que éste suele contener moléculas que inhiben la amplificación del ADN, que es una parte esencial de todos los métodos de PGT. El lavado de la muestra ayudará a eliminar los contaminantes del ADN, como los derivados de espermatozoides o de células del cúmulo. Incluso cuando se utiliza la ICSI para la fecundación y se eliminan cuidadosamente todas las células del cúmulo, sigue existiendo la posibilidad de que haya ADN procedente de estas células, así como de otras fuentes de contaminación. Al pasar la muestra de la biopsia de una gota a la siguiente, se diluirá cualquier contaminante. La pipeta utilizada para mover la muestra debe limpiarse enjuagándola con unos pocos microlitros de tampón de lavado limpio entre cada una de las diferentes microgotas utilizadas para el lavado. El lavado de las células debe hacerse a fondo pero al mismo tiempo con suavidad para evitar dañar las células biopsiadas. Si las células se lisan, es menos probable que den un resultado PGT.

Después del tercer lavado, la muestra de biopsia debe colocarse en uno de los tubos de PCR estériles suministrados en

los kits de biopsia de JUNO GENETICS. Es extremadamente importante que el volumen total de tampón en el tubo de PCR (que contiene las células biopsiadas) esté en el rango de 1-2,5 µl. Si la cantidad de líquido en el tubo supera los 2,5 µl la amplificación del ADN será menos eficiente, produciendo resultados de baja calidad o causando un fracaso total de la prueba. Los tubos de PCR deben mantenerse cerrados en la medida de lo posible y la transferencia de la muestra de biopsia debe realizarse en un entorno estéril. En algunos casos, es posible confirmar que las células biopsiadas se han transferido correctamente al tubo, mediante observación al microscopio. Si se intenta visualizar las células, se recomienda pipetear la muestra de biopsia en el lateral del tubo, a 2-3 mm del fondo del tubo. Los tubos deben etiquetarse con las iniciales del paciente y el número de embrión. Además, las etiquetas QR únicas proporcionadas por JUNO GENETICS se pegarán en la pared del tubo PCR. La segunda copia de esta etiqueta QR deberá adjuntarse en el documento del “Formulario de biopsia embrionaria”.

Los tubos que contienen células biopsiadas deben conservarse a baja temperatura.

Envío de muestras a JUNO GENETICS

No es necesario informar a JUNO GENETICS del envío de muestras a su laboratorio. La clínica de FIV sólo tiene que solicitar al mensajero proporcionado la orden de recogida con los datos del cliente facilitados por el área de Atención al Cliente de JUNO GENETICS.

Las células biopsiadas de embriones deben enviarse en el kit proporcionado por JUNO GENETICS. Las muestras de diferentes pacientes no deben almacenarse en la misma “Biopsy collection box”, pero para optimizar el envío, pueden incluirse diferentes cajas de Biopsia en la misma nevera de envío.

Debe añadirse a la caja un mínimo de 2 paquetes refrigerantes congelados y cerrar

la tapa 30 minutos antes de introducir las muestras, con el fin de enfriar el interior de la caja. Una vez finalizada la biopsia y la caja esté lista para ser recogida, deberá cerrarse la caja de cartón y precintarse con cinta adhesiva. Se recomienda el envío nocturno con entrega garantizada al día siguiente.

7.2.5 Pruebas de validación (Dry Run)

Antes de iniciar un servicio clínico, todos los embriólogos de la nueva clínica de FIV de referencia que participen habitualmente en la biopsia y carga de embriones deberán enviar 10 muestras de validación (dry run) a JUNO GENETICS. Estas muestras validación (dry run) deben ser células (idealmente TE) biopsiadas de embriones que no son aptos para la transferencia, y/o que han sido donados para investigación. No es necesario enviar controles negativos, ya que se puede detectar la presencia o ausencia de cualquier ADN extraño contaminante. Las muestras deben etiquetarse con la inicial del embriólogo y el número de embrión/muestra seca. El esquema de etiquetado elegido debe explicarse claramente en el formulario de biopsia.

7.3 ANÁLISIS DE ANEUPLOIDÍAS DE PRODUCTOS DE LA CONCEPCIÓN (POC)

7.3.1 Pruebas POC Información general

Dependiendo de la edad de la madre, el aborto espontáneo se produce en el 10-40% de los embarazos. Un número incorrecto de cromosomas (aneuploidía) es la causa más común de aborto espontáneo, ya que está implicada en ~65% de todas las pérdidas. Sin embargo, es aún más común en los abortos espontáneos de madres de edad avanzada y menos frecuente entre las mujeres más jóvenes. Para ayudar a aclarar si la aneuploidía puede haber contribuido a un aborto espontáneo, JUNO GENETICS ofrece una prueba que evalúa las células del embrión/feto o de los tejidos extraembrionarios asociados (por ejemplo, la placenta). Este material se denomina colectivamente productos de la concepción (POC).

Los métodos tradicionales para comprobar la aneuploidía de los POC han consistido en el cariotipado. Sin embargo, esta técnica requiere el cultivo de células, lo que lleva tiempo y retrasa los resultados. Además, hasta una cuarta parte de las muestras de POC no crecen en cultivo y, por tanto, no aportan datos sobre la causa del aborto espontáneo. Otro problema es que algunas muestras están contaminadas con células maternas, que tienden a crecer mejor que las del embrión/feto, lo que significa que los cariotipos obtenidos podrían proceder de la madre y no del POC.

JUNO GENETICS ha desarrollado una prueba que supera muchas de estas limitaciones al evitar la necesidad de cultivar células del POC. En consecuencia, se obtienen resultados de la gran mayoría de las muestras analizadas y con mayor rapidez. La prueba también evalúa cientos de polimorfismos de ADN en el POC y en una muestra de ADN de la madre para revelar si existe contaminación materna.

Tradicionalmente, las principales indicaciones de la POC han sido:

- Pérdida gestacional sin indicación clara de la pérdida del embarazo.

7.3.2 Métodos utilizados para las pruebas POC en JUNO GENETICS

Se recogen una muestra POC y una muestra de sangre materna utilizando el kit suministrado por JUNO GENETICS. El material genético se extrae de cada una de estas muestras y se somete a la secuenciación de nueva generación (NGS), que produce cientos de miles de fragmentos de secuencias de ADN. Estas secuencias, conocidas como “lecturas”, se comparan con la secuencia del genoma humano, lo que permite identificar el cromosoma del que procede cada lectura. La evaluación estadística del número relativo de lecturas de cada parte del genoma permite determinar con gran precisión el número de copias de cada cromosoma. Por ejemplo, la presencia de una trisomía se asocia a un aumento relativo del número de lecturas del cromosoma afectado, mientras que una monosomía se asocia a un número de lecturas inferior al esperado. Además, durante el proceso de secuenciación se detectan miles de polimorfismos (variaciones en la secuencia de ADN que existen en la población). Estos polimorfismos son esenciales para revelar algunos tipos de anomalías que implican la duplicación o pérdida de un conjunto completo de cromosomas (por ejemplo, la triploidía). Además, los polimorfismos analizados pueden revelar si la muestra de POC es genéticamente idéntica a la muestra de sangre de la madre (indicativo de contaminación) o genéticamente distinta (libre de contaminación).

7.3.3 Requisitos para aceptar un caso POC

Los pacientes no deben cumplir ningún requisito específico para aceptar un caso POC.

7.3.4 Preparación del paciente POC

Asesoramiento:

Se recomienda encarecidamente un asesoramiento adecuado a todos los pacientes que se sometan a pruebas genéticas de POC. Es responsabilidad de la clínica de FIV garantizar que todos los pacientes reciban el asesoramiento necesario. Puede ponerse en contacto con JUNO GENETICS si necesita asesoramiento.

Muestras necesarias:

Se requiere una muestra del feto y una muestra de sangre materna para descartar la contaminación de la muestra y garantizar que la muestra analizada pertenece al feto y no a la madre.

Los tipos de muestras que pueden someterse a ensayo son los siguientes:

- Muestra de feto obtenida tras un legrado por aspiración al vacío. Este es el tipo de muestra preferido.
- Saco gestacional vacío.
- Abortos espontáneos tardíos (más de 2 - 4 semanas).
- Restos fetales expulsados espontáneamente y recogidos en el domicilio.
- En los casos de embarazos múltiples, los restos de cada feto deben recogerse en envases separados.

Formulario de consentimiento:

Después de recibir el asesoramiento adecuado sobre el procedimiento, el paciente que realiza la prueba POC debe firmar un Formulario de Consentimiento adecuado. Este Formulario de Consentimiento puede ser proporcionado por JUNO GENETICS, o puede ser preparado por la clínica de FIV remitente, previa consulta con JUNO GENETICS. El formulario de consentimiento firmado confirma que el paciente autoriza la realización de la prueba con sus muestras y comprende todas las ventajas y limitaciones asociadas. Una copia del formulario cumplimentado deberá enviarse a JUNO GENETICS junto con el Formulario de Solicitud de Pruebas cumplimentado. Estos documentos se envían normalmente transfiriéndolo en la base de datos de JUNO

GENETICS, aunque alternativamente puede enviarse por correo electrónico a pgtseq.es@junogenetics.com o se puede enviar una copia impresa junto con la muestra.

Formulario de solicitud:

Debe enviarse a JUNO GENETICS un formulario de solicitud de pruebas cumplimentado junto con las muestras o por correo electrónico a pgtseq.es@junogenetics.com. Este formulario será utilizado por JUNO GENETICS para confirmar la prueba específica que debe realizarse para cada paciente y para confirmar que las muestras recibidas pertenecen al caso estudiado.

Kit de recogida de muestras:

JUNO GENETICS proporciona a las clínicas de FIV kits de biopsia de recogida de muestras que contiene un bote de recogida de muestras estéril y un tubo de sangre EDTA. El kit POC de JUNO GENETICS puede conservarse a temperatura ambiente, alejado de cualquier posible contaminación.

En caso de que no se disponga de un kit de extracción POC de JUNO GENETICS, utilice cualquier recipiente estéril (de tamaño razonable) y un tubo EDTA no caducado para extraer la sangre de la madre.

Manipulación de muestras POC:

Asegúrese de que la decidua materna está correctamente separada del tejido fetal. En la parte inferior del formulario de consentimiento adjunto debe incluirse una descripción del tejido recogido. Será útil mencionar si se encontró alguna dificultad al localizar el tejido fetal. En JUNO GENETICS se tomarán medidas adicionales para maximizar la probabilidad de que sólo se analice tejido fetal.

El tejido POC recogido debe colocarse en el recipiente estéril suministrado en el kit de recogida POC de JUNO GENETICS. El tejido debe sumergirse en solución salina estéril (solución salina o PBS) o en medio de cultivo FIV.

En caso de no disponer de un kit de recogida POC de JUNO GENETICS, utilice cualquier recipiente estéril (de tamaño razonable).

Para evitar cualquier posible fuga, es muy importante que la tapa del envase esté bien cerrada y después bien sellada con cinta.

adhesiva o parafilm.

El recipiente con la muestra POC junto con el tubo de sangre deben estar claramente etiquetados con los datos de identificación del paciente (nombre, fecha de nacimiento y número de paciente). A continuación, las muestras deben colocarse en el kit suministrado junto con el **“FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO DE PRODUCTOS DE LA CONCEPCIÓN (POC)”** cumplimentado y firmado.

Las muestras de POC y de sangre recogidas deben enviarse el mismo día de la recogida. Si esto no es posible, las muestras deben almacenarse en un frigorífico (2-8° C) durante la noche y enviarse al día siguiente.

Envío de muestras a JUNO GENETICS

El kit debe estar debidamente precintado y enviarse a temperatura ambiente utilizando un servicio postal de primera clase o a través de una empresa de mensajería.

Póngase en contacto por correo electrónico o teléfono para notificar al laboratorio el envío del POC y la muestra de sangre. El servicio de atención al cliente organizará la recogida por parte del servicio de mensajería del POC y las muestras de sangre.

7.4 PRUEBAS GENÉTICAS DE PREIMPLANTACIÓN PARA TRASTORNOS MONOGÉNICOS (PGT-M)

7.4.1 PGT-M Información general

El objetivo principal de PGT-M es ayudar a las parejas afectadas por un trastorno genético o portadoras de una mutación a reducir el riesgo de tener un hijo afectado por la enfermedad. Para ello se recogen pequeñas cantidades de células de embriones producidos durante un ciclo de tratamiento de FIV, se someten las células a pruebas genéticas y sólo se transfieren al útero los embriones que se estima que tienen un riesgo bajo de padecer la enfermedad hereditaria analizada. Es muy importante tener en cuenta que, aunque PGT-M intenta reducir la probabilidad de tener un embarazo o un hijo afectado, no puede eliminar por completo esta posibilidad. PGT-M no es precisa al 100% y, por este motivo, se recomienda encarecidamente que cualquier embarazo establecido después de las pruebas PGT-M, se someta a pruebas prenatales para confirmar que el feto no está afectado.

El PGT-M consta de dos etapas

1. Diseño de la prueba.
2. Prueba.

El diseño de las pruebas se lleva a cabo en JUNO GENETICS y comienza una vez que se han recibido todos los datos que se indican a continuación:

- Formulario de solicitud.
- Informes genéticos de la pareja y de cualquier otro miembro de la familia cuyas muestras se estén utilizando durante el desarrollo de la prueba, en los que se especifique su estado de enfermedad y qué mutaciones (si las hay) portan.
- Formularios de consentimiento de la pareja y de cualquier otro miembro de la familia que haya proporcionado muestras.
- Muestras de sangre o ADN de la pareja.

- Cuando sea posible, muestra de sangre/saliva/ADN de uno o más miembros adicionales de la familia que puedan actuar como “referencia” (véase más abajo).

La(s) mutación(es) responsable(s) del trastorno debe(n) haber sido identificada(s) antes de realizar el test a los pacientes, ya que el conocimiento de la causa subyacente de la enfermedad es esencial para que JUNO GENETICS pueda evaluar la viabilidad del PGT-M y diseñar una prueba. JUNO GENETICS no ofrece un servicio para identificar mutaciones en los pacientes, por lo que es necesario que esto haya sido realizado por un laboratorio especializado en la caracterización de mutaciones. Los informes genéticos de dichos laboratorios, que confirman la mutación exacta en cada paciente, son un requisito para que se acepte un caso de PGT-M. En la mayoría de los casos, JUNO GENETICS llevará a cabo pruebas de confirmación como parte del desarrollo de pruebas para familias específicas. Sin embargo, esto no siempre es posible y, en consecuencia, es muy importante que los pacientes hayan sido evaluados exhaustivamente antes de la derivación del caso, recibiendo un diagnóstico médico preciso y una evaluación genética para determinar si son portadores de una mutación y caracterizar la naturaleza de la alteración genética.

JUNO GENETICS recomienda que la biopsia embrionaria se realice en el estadio de desarrollo de blastocisto (lo que implica la extracción de 3-10 células del trofotodermo). Es importante que se notifique a JUNO GENETICS si la biopsia contiene menos células de trofotodermo que el mínimo recomendado (por ejemplo, menos de tres). Cada muestra de biopsia se coloca en un tubo PCR individual (suministrado por JUNO), que se envía a JUNO GENETICS para su análisis. Los embriones permanecen en todo momento en la clínica de FIV.

7.4.2 Preparación del paciente PGT-M

Asesoramiento:

Un asesoramiento adecuado para todos los pacientes que se someten a pruebas de embriones mediante PGT-M es extremadamente importante. JUNO GENETICS recomienda encarecidamente que las clínicas de FIV hagan obligatorio el asesoramiento para todos los pacientes que soliciten PGT-M. Es responsabilidad de la clínica de FIV asegurarse de que los pacientes reciben el asesoramiento adecuado. Puede ponerse en contacto con JUNO GENETICS si necesita asesoramiento.

Informe(s) genético(s):

Antes de ofrecer el PGT-M a los pacientes, deben enviarse a JUNO GENETICS informes genéticos que describan la mutación o mutaciones responsables del trastorno que se va a analizar. Un miembro senior del personal revisará los informes y decidirá si una prueba es técnicamente viable o no. Esta decisión se comunicará al asesor genético o al coordinador PGT de la clínica de FIV. JUNO GENETICS podrá rechazar ofrecer PGT-M si la naturaleza de la mutación no está clara o si, tras la revisión, se prevé que la precisión de la prueba sea baja.

Muestras requeridas:

En todos los casos, se requerirá una muestra de sangre, saliva o ADN de los pacientes masculinos y femeninos. Se necesita una muestra de ambos pacientes aunque sólo uno de ellos sea portador de la mutación. Además, suele ser necesario recoger muestras de ADN de uno o más miembros adicionales de la familia (además de la pareja que solicita la prueba). Lo ideal es que esta persona, denominada “referencia”, sea un pariente cercano (por ejemplo, hijos de la pareja; padres o hermanos de los pacientes; muestras de embarazos anteriores). Para determinar qué miembros de la familia serían los más útiles para obtener una muestra, debe facilitarse información sobre qué individuos se han sometido a pruebas, su diagnóstico clínico, su relación con los pacientes y su disponibilidad y voluntad de proporcionar una muestra. Deben facilitarse los informes genéticos de la pareja y del familiar o familiares que sirvan de referencia. Una vez revisados los informes genéticos, JUNO

GENETICS informará a la clínica de FIV de qué muestras individuales serán necesarias para diseñar una prueba. Por favor, tenga en cuenta que es esencial que los pacientes no comiencen su tratamiento de FIV hasta que JUNO GENETICS se haya puesto en contacto con la clínica y haya confirmado que se puede ofrecer una prueba al paciente.

Formulario de consentimiento:

Tras recibir el asesoramiento adecuado sobre el procedimiento, las pacientes que se sometan a PGT-M deberán firmar un formulario de consentimiento apropiado. JUNO GENETICS puede proporcionar este formulario de consentimiento, o bien puede prepararlo la clínica de FIV remitente, previa consulta con JUNO GENETICS. El formulario de consentimiento firmado confirma que los pacientes autorizan la realización de la prueba con sus muestras. Una copia del formulario cumplimentado deberá enviarse a JUNO GENETICS junto con el formulario de solicitud de prueba cumplimentado, ya sea por correo electrónico o cargándolo en la base de datos de JUNO GENETICS. Además, cualquier familiar cuya muestra vaya a utilizarse para la verificación de la prueba deberá cumplimentar un formulario de consentimiento o hacer que una persona adecuada lo cumplimente en su nombre (por ejemplo, los padres pueden firmar en nombre de sus hijos menores de edad).

Formularios de solicitud y biopsia:

Debe enviarse a JUNO GENETICS un formulario de solicitud cumplimentado en el que se indique el tipo de prueba necesaria para cada paciente antes de que éste inicie su ciclo de tratamiento. Además, debe enviarse a JUNO GENETICS un formulario de biopsia cumplimentado antes o junto con las muestras. Este formulario es utilizado por JUNO GENETICS para confirmar la prueba específica que debe realizarse a cada paciente.

Técnica de fecundación

El uso de la FIV convencional para la fecundación de ovocitos a menudo da lugar a un exceso de espermatozoides adheridos a la zona pelúcida, así como a la persistencia de un pequeño número de células del cumulus. Durante la biopsia embrionaria, existe el riesgo de que algunas de estas células, o su material genético, se recojan junto con la(s) célula(s) biopsiada(s). Esto puede provocar una contaminación del ADN y un error en la determinación del estado genético del embrión correspondiente. Por lo tanto, se recomienda encarecidamente extraer cuidadosamente todas las células del cúmulo y utilizar la ICSI para la fecundación (incluso en ausencia de factor masculino).

Relaciones sexuales:

Se recomienda encarecidamente que las parejas se abstengan de mantener relaciones sexuales durante el tratamiento para evitar cualquier posibilidad de embarazo natural. Los embriones resultantes de la concepción natural no se habrán sometido a pruebas genéticas y, por lo tanto, ninguno de los beneficios potenciales de PGT se aplicará en tales casos.

7.4.3 Preparación de muestras para PGT-M

Muestras necesarias para el diseño del protocolo PGT-M (prePGT-M)

Para el diseño de la prueba se necesitan muestras de sangre de la pareja (recogidos en tubos EDTA con tapón de color morado). Además, también pueden ser necesarias muestras de sangre de familiares (hijos/ padres/hermanos de la pareja) que hayan sido identificados por los científicos de JUNO GENETICS como “referencia” para maximizar la precisión de la prueba. Si no es posible recoger una muestra de sangre de un individuo que sirva de referencia, JUNO GENETICS puede proporcionar un kit de recogida de saliva a la clínica o directamente al paciente. A petición, JUNO GENETICS también puede proporcionar un tipo especial de kit de recogida de saliva con aplicadores esponjosos para absorber la saliva de la bolsa de la mejilla (hisopos bucales). Estos kits pueden ser útiles cuando se debe obtener ADN de bebés, ancianos o personas con problemas para obtener muestras de sangre de ellas.

Es importante notificar a JUNO GENETICS si los pacientes y otras personas que proporcionan muestras han recibido un trasplante de médula ósea o una transfusión de sangre reciente (menos de 60 días), ya que esto puede afectar a los resultados obtenidos de sus muestras de sangre pudiendo conducir a un diagnóstico erróneo. En tales casos, JUNO GENETICS podrá solicitar específicamente muestras de saliva de los individuos en cuestión.

Todas las muestras de pacientes recogidas deben estar claramente etiquetadas con su nombre completo, fecha de nacimiento, número de paciente y fecha de recogida. Las muestras de familiares también deben incluir el nombre completo, la fecha de nacimiento y la fecha de recogida. Además, es muy importante indicar la relación con el paciente que recibe PGT-M.

Las muestras recogidas (sangre, saliva, hisopo bucal o ADN) deben enviarse al laboratorio de JUNO GENETICS a temperatura ambiente utilizando un servicio postal/paquetería que garantice la entrega en un plazo de dos días laborables. Tenga en cuenta que deben respetarse cuidadosamente las condiciones del servicio postal/de mensajería para el envío de muestras biológicas, incluidos los requisitos de embalaje y etiquetado.

Kit de biopsia

JUNO GENETICS proporciona a las clínicas de FIV kits de biopsia que contienen tubos de PCR estériles colocados en una gradilla de plástico y tampón de lavado etiquetados con el número de lote y la fecha de caducidad. Estos se suministran en una bolsa de plástico que se envía en una caja de transporte con aislamiento térmico que también contiene acumuladores de frío. El kit de biopsia puede almacenarse en la bolsa de plástico suministrada, lejos de cualquier posible contaminación, a temperatura ambiente. El tampón de lavado debe guardarse en el frigorífico (2-8°C) a su llegada. Los acumuladores de frío deben colocarse en el congelador más frío disponible (se utilizarán para mantener frías las muestras cuando se envíen a JUNO GENETICS).

7.4.4 Instrucciones para el envío de muestras para el PGT-M

JUNO GENETICS deberá ser informada por correo electrónico del envío de muestras a su laboratorio.

Biopsia embrionaria

Cada centro de FIV debe seguir su propio procedimiento establecido para la biopsia embrionaria (véanse las secciones sobre PGT-A y PGT-SR para obtener información sobre cómo JUNO GENETICS puede ayudar en la evaluación de los procedimientos de biopsia y la carga en tubo de las células (tubing). La mayoría de las estrategias de biopsia de blastocisto implican el muestreo de aproximadamente cinco células. El método estándar PGT-M empleado por JUNO GENETICS requiere de al menos tres células intactas. Tener menos células aumenta las posibilidades de no obtener un resultado y podría reducir potencialmente la precisión. Es importante que se notifique a JUNO GENETICS si la biopsia contiene menos células de trofotodermo que este número el mínimo recomendado (tres células).

Lavado y carga en tubo (tubing) de células

Una vez extraídas las células del embrión, se recomienda lavarlas con tres microgotas del tampón de lavado (suministrado por JUNO GENETICS en el kit de biopsia), pipeteadas sobre una placa de Petri limpia. Es muy importante que las gotas no estén cubiertas de aceite, ya que éste suele contener sustancias que inhiben la amplificación del ADN, que es una parte esencial de todos los métodos de PGT. El lavado de la muestra ayudará a eliminar los contaminantes del ADN, como los derivados de espermatozoides o de células del cúmulo. Incluso cuando se utiliza la ICSI para la fecundación y se eliminan cuidadosamente todas las células del cúmulo, sigue existiendo la posibilidad de que haya ADN procedente de estas células, así como de otras fuentes de contaminación. Al pasar la muestra de la biopsia de una gota a la siguiente, se diluirá cualquier contaminante. La pipeta utilizada para mover la muestra debe limpiarse enjuagándola con unos pocos microlitros de tampón de lavado limpio entre cada una de las diferentes microgotas utilizadas para el lavado. El lavado de las células debe hacerse

a fondo, pero al mismo tiempo con la suavidad suficiente para no dañar las células biopsiadas. Si las células se lisan, es menos probable que den un resultado PGT.

Después del tercer lavado, la muestra de biopsia debe colocarse en uno de los tubos de PCR estériles suministrados en los kits de biopsia de JUNO GENETICS. Es extremadamente importante que el volumen total de tampón en el tubo de PCR (que contiene las células biopsiadas) esté en el rango de 1-2,5 µl. Si la cantidad de líquido en el tubo supera los 2,5 µl la amplificación del ADN será menos eficiente, produciendo resultados de baja calidad o causando que no se pueda obtener un resultado clínico para el embrión biopsiado. Los tubos de PCR deben mantenerse cerrados en la medida de lo posible y la transferencia de la muestra de biopsia debe realizarse en un entorno estéril. En algunos casos, es posible confirmar que las células biopsiadas se han transferido correctamente al tubo, mediante observación al microscopio. Si se intenta visualizar las células, se recomienda pipetear la muestra de biopsia en el lateral del tubo, a 2-3 mm del fondo del tubo.

Los tubos deben etiquetarse con las iniciales del paciente y el número de embrión. Además, las etiquetas QR únicas proporcionadas por JUNO GENETICS deberán pegarse en la pared del tubo PCR. La segunda copia de esta etiqueta QR deberá adjuntarse en el campo establecido del "Formulario de biopsia embrionaria".

Los tubos que contengan células biopsiadas deben conservarse en hielo o en una nevera especial (por ejemplo, Eppendorf® PCR Cooler, sistema de almacenamiento en frío sin hielo para placas de 96 pocillos y tubos PCR).

7.4.5 Pruebas de Validación (Dry Run)

Antes de iniciar un servicio clínico, todos los embriólogos de la nueva clínica de FIV de referencia que participen habitualmente en la biopsia y carga de embriones deberán enviar 10 muestras de validación (dry run) a JUNO GENETICS. Estas muestras de validación (dry run) deben ser células (idealmente TE) biopsiadas de embriones que no son aptos para la transferencia, y/o que han sido donados para investigación. No es necesario enviar controles negativos, ya que se puede detectar la presencia o ausencia de cualquier ADN

extraño contaminante. Las muestras deben etiquetarse con la inicial del embriólogo y el número de embrión/muestra seca. El esquema de etiquetado elegido debe explicarse claramente en el formulario de biopsia.

7.4.6 Muestras suministradas para PGT-M

Muestras de sangre o saliva utilizadas para el diseño de las pruebas

La extracción de sangre debe realizarse en la clínica de FIV o en un centro sanitario adecuado, donde un flebotomista formado podrá realizar la toma de muestras.

Los kits de recogida de saliva pueden enviarse directamente al paciente o a cualquier familiar desde JUNO GENETICS. También pueden facilitarse al centro de FIV para que los entreguen a los pacientes. Los kits de recogida van siempre acompañados de instrucciones de uso.

Muestras de ADN

En algunos casos, puede disponerse de muestras de ADN archivadas, extraídas de los pacientes, de sus familiares o de embarazos anteriores (por ejemplo, muestras prenatales). Estas muestras suelen obrar en poder de terceros centros sanitarios (hospitales, laboratorios de genética donde se realizó el diagnóstico previo, etc.). Cuando dichas muestras estén potencialmente disponibles, JUNO GENETICS acordará con el centro de FIV y/o el paciente la forma de obtenerlas.

Muestras embrionarias

Las muestras de biopsia (células de trofotodermo) son proporcionadas por el centro de FIV y enviadas a JUNO GENETICS. Las células biopsiadas de embriones deben enviarse en el kit proporcionado por JUNO GENETICS en la caja de envío. Para enfriar el interior de la caja, debería añadirse un mínimo de 2 acumuladores de frío congelados y cerrar la tapa 30 minutos antes de introducir las muestras. Una vez finalizada la biopsia y la caja esté lista para ser recogida, la caja de cartón exterior debe cerrarse y sellarse con cinta adhesiva. Se recomienda el envío nocturno con entrega garantizada al día siguiente.

7.5 PRUEBA CARRIER™ (CRIBADO GENÉTICO DE PORTADORES)

7.5.1 Información general sobre la prueba CARRIER™

La prueba CARRIER™ realizada a partir de una muestra de sangre, examina un gran número de genes en busca de alteraciones en el ADN (mutaciones). La prueba puede realizarse en parejas para revelar si tienen un alto riesgo de transmitir determinadas mutaciones graves asociadas a trastornos genéticos autosómicos recesivos o ligados al cromosoma X. La prueba también puede ser útil para los pacientes de FIV que utilizan gametos de donantes, como se explica con más detalle a continuación.

Algunas de las enfermedades que pueden afectar al feto durante el embarazo, o que se diagnostican tras el nacimiento del niño, no son hereditarias, mientras que otras pueden tener una base genética que no se conoce del todo. Sin embargo, se sabe que muchas enfermedades están causadas por mutaciones específicas. Hay unos 5.000 trastornos asociados a la herencia de mutaciones en genes individuales. Las parejas que tienen tales mutaciones en sus genes pueden tener un alto riesgo de tener hijos afectados por enfermedades hereditarias graves.

Cada individuo tiene dos copias de cada gen, excepto los genes situados en los cromosomas sexuales (X e Y). Los hombres sólo tienen una copia de los genes que se encuentran en el cromosoma X, mientras que las mujeres tienen dos copias de esos genes. En muchos casos, tener una sola copia defectuosa de un gen no causa problemas médicos graves porque la segunda copia del gen es capaz de compensarlo. Una persona que tiene un gen con una mutación y una copia normal, y no presenta síntomas de enfermedad, se denomina “portadora”. Cuando se producen óvulos o espermatozoides, sólo reciben una de las dos copias de cada gen. Esto significa que un óvulo o un espermatozoide producido por un portador de la mutación podría heredar su copia normal del gen o su copia defectuosa. Si un portador tiene hijos con otra persona portadora de una mutación

en el mismo gen, existe el riesgo de que el niño herede una copia defectuosa del gen de cada uno de los progenitores y, por tanto, no tenga copias funcionales del gen. Por término medio, se espera que esto ocurra en el 25% de los hijos de padres con mutaciones en el mismo gen. Esto puede hacer que el niño desarrolle un trastorno hereditario grave. Las enfermedades que requieren la herencia de dos copias defectuosas del gen y causan poco o ningún daño mientras el individuo tenga al menos una copia normal, se conocen como enfermedades “recesivas”. Se conocen unas 2.000 enfermedades recesivas.

Ser portador de un gen mutante no es algo inesperado. De hecho, se estima que todos somos portadores de mutaciones genéticas recesivas. Los datos de los estudios científicos han demostrado que la mayoría de las personas sanas son portadoras de una media de 1 ó 2 mutaciones que podrían causar enfermedades genéticas graves en su descendencia si tuvieran hijos con alguien portador de una copia defectuosa del mismo gen. Sin embargo, estas mutaciones rara vez causan problemas de salud a la persona que las porta porque son recesivas y siguen teniendo una copia totalmente funcional del gen.

Hay que tener en cuenta que las mutaciones que afectan a genes del cromosoma X suelen comportarse de forma recesiva en las mujeres (porque las mujeres tienen dos copias del cromosoma X y, por tanto, dos copias de cada gen). Sin embargo, los hombres sólo tienen una copia del cromosoma X y, en consecuencia, si heredan un gen defectuoso en ese cromosoma, no tendrán ninguna copia del gen que funcione correctamente y, por tanto, pueden presentar síntomas de un trastorno hereditario. Cuando una mujer es portadora de una mutación en el cromosoma X, por término medio el 50% de sus hijos varones padecerán una enfermedad hereditaria.

En muchos casos, la presencia de una mutación recesiva puede identificarse en el ADN de un individuo antes de que tenga familia. Si su pareja también se somete a la prueba, es posible que no tenga ninguna mutación o, lo que es más probable, que también tenga mutaciones pero en genes diferentes. Estas parejas tienen un riesgo bajo

de tener un hijo afectado por una enfermedad recesiva hereditaria. Sin embargo, si ambos miembros de la pareja presentan una mutación en el mismo gen, el riesgo es alto.

La prueba CARRIER™ permite detectar miles de mutaciones responsables de enfermedades hereditarias graves. Cuando se aplica a hombres y mujeres que planean fundar una familia, CARRIER™ puede ayudar a descubrir las parejas que corren un riesgo especialmente alto de tener un hijo afectado por un trastorno genético. Estas parejas pueden considerar varias opciones para minimizar la posibilidad de tener un hijo afectado, como las pruebas genéticas preimplantacionales (PGT), las pruebas prenatales u otras estrategias destinadas a reducir el riesgo.

En el caso de pacientes de FIV que utilizan donantes de esperma u óvulos, es posible examinar al paciente que utiliza sus propios gametos para identificar las mutaciones recesivas de las que es portador y, a continuación, examinar también a los posibles donantes. El donante elegido para el paciente puede seleccionarse cuidadosamente, evitando cualquiera que tenga mutaciones detectadas en el mismo gen (o genes) que el paciente. Esto ayuda a reducir el riesgo de combinaciones de gametos (espermatozoides y óvulos) que tienen un riesgo especialmente alto de producir un niño afectado.

Tradicionalmente, las principales indicaciones de CARRIER™ han sido

- Embarazo previo con un niño afectado.
- Pacientes de una etnia con mayor riesgo de ser portadores de algunas mutaciones (por ejemplo, judíos ashkenazi).
- Pacientes (que también utilizan donante de gametos) que desean asegurarse de que son genéticamente compatibles (es decir, que no son portadores de las mismas mutaciones recesivas) disminuyendo el riesgo de tener un hijo afectado asociado a esas mutaciones.

Debido a que el conocimiento sobre los genes y sus variantes está en constante crecimiento y expansión, el test CARRIER™ y sus paneles asociados se actualizan constantemente con la información clínica más actualizada.

Si está interesado en nuestra prueba, le animamos a que visite nuestra página web para ver las pruebas CARRIER™ que se ofrecen actualmente y los genes y variantes incluidos que se pueden identificar.

<https://www.junogenetics.es/junoseq/carrier/>
<https://junogenetics.eu/junoseq/carrier/>
(información en inglés)

Si tiene alguna duda sobre la información incluida, no dude en ponerse en contacto con nuestro equipo de especialistas de CARRIER™: correo electrónico de contacto: carrier.es@junogenetics.com

Proporcionarán información de primera mano sobre los genes y variantes incluidos en nuestras pruebas.

7.5.2 Requisitos para aceptar un caso CARRIER™

Aunque no se necesitan requisitos específicos del paciente para aceptar un caso de CARRIER™ es importante notificar a JUNO GENETICS si el paciente que proporciona las muestras:

- ha tenido una transfusión de sangre reciente, menos de 60 días, o
- se ha sometido alguna vez a un trasplante de médula ósea.

Todas estas condiciones pueden afectar a los resultados obtenidos de sus muestras de sangre, pudiendo conducir a un diagnóstico erróneo. En tales casos, JUNO GENETICS puede solicitar específicamente muestras de saliva o bucales de los individuos en cuestión.

7.5.3 Preparación del paciente para CARRIER™

Asesoramiento:

Es extremadamente importante que todos los pacientes que se sometan a la prueba CARRIER™ reciban un asesoramiento adecuado. JUNO GENETICS recomienda encarecidamente que las clínicas de FIV que puedan ofrecer esta prueba genética ofrezcan asesoramiento obligatorio a todos los pacientes que soliciten CARRIER™. Es responsabilidad de la clínica de FIV asegurarse de que los pacientes reciben el asesoramiento adecuado. Puede ponerse en contacto con JUNO GENETICS si necesita asesoramiento.

Muestras necesarias:

Normalmente se necesita una muestra de sangre completa del paciente para realizar la prueba CARRIER™. En caso de que adicionalmente una pareja quiera realizar un estudio de compatibilidad, se necesitan muestras de ambos pacientes.

Formulario de consentimiento:

Tras recibir el asesoramiento adecuado sobre el procedimiento, los pacientes que se sometan a CARRIER™ deberán firmar un formulario de consentimiento apropiado. JUNO GENETICS puede proporcionar este formulario de consentimiento o puede prepararlo la clínica de FIV remitente, previa consulta con JUNO GENETICS. El formulario de consentimiento firmado confirma que los pacientes autorizan la realización de la prueba con sus muestras. Una copia del formulario cumplimentado deberá enviarse a JUNO GENETICS junto con el formulario de solicitud de prueba cumplimentado, ya sea por correo electrónico o cargándolo en la base de datos de JUNO GENETICS.

Formularios de solicitud de pruebas:

Se debe enviar a JUNO GENETICS un formulario de Solicitud de Prueba, individual o de pareja, debidamente cumplimentado, indicando el panel de la prueba a realizar. Esta información es utilizada por JUNO GENETICS para confirmar la prueba específica que debe realizarse a cada paciente.

Relaciones sexuales:

Para maximizar los beneficios de la prueba CARRIER™ se recomienda encarecidamente que las parejas que pretendan quedarse embarazadas se abstengan de mantener relaciones sexuales sin protección hasta obtener los resultados de la prueba CARRIER™ y recibir el asesoramiento adecuado sobre las implicaciones que puede tener para su descendencia.

7.5.4 Preparación de muestras CARRIER™

Debe extraerse una muestra de sangre de 3-5 ml en un tubo con EDTA. Esta extracción de sangre debe realizarse en la clínica de FIV o en un centro sanitario adecuado donde un flebotomista capacitado pueda realizar la extracción de la muestra.

Los kits de recogida de saliva y bucal pueden enviarse directamente al paciente o a cualquier familiar desde JUNO GENETICS o pueden facilitarse al centro de FIV. Los kits de recogida van siempre acompañados de instrucciones de uso.

El recipiente de recogida de muestras (tubo de sangre, hisopo bucal, recipiente de saliva...) debe estar claramente etiquetado con los datos de identificación del paciente (nombre, fecha de nacimiento y número de paciente). A continuación, las muestras deben introducirse en el kit suministrado junto con el formulario de solicitud de la prueba CARRIER™ y/o el consentimiento informado cumplimentados y firmados.

La muestra recogida debe enviarse el mismo día de la recogida. Si esto no es posible, las muestras deben almacenarse en un frigorífico (2-8°C) y enviarse en un plazo de 2-3 días.

El kit debe sellarse adecuadamente y enviarse a temperatura ambiente utilizando el servicio postal o a través de una empresa de mensajería JUNO GENETICS

7.6 NEO TEST PARA PRUEBAS PRENATALES NO INVASIVAS (NIPT)

7.6.1 Preparación de muestras NEO

Las pruebas prenatales no invasivas (NIPT) permiten evaluar los embarazos (a partir de las 10 semanas de gestación) para detectar determinadas anomalías cromosómicas que pueden dar lugar al nacimiento de un niño con anomalías congénitas. A diferencia de otros métodos prenatales más invasivos, como la biopsia de vellosidades coriónicas (CVS) o la amniocentesis, la prueba se basa en una muestra de sangre tomada a la madre. Por lo tanto, no supone ningún riesgo para el feto ni aumenta la probabilidad de que se produzca un aborto espontáneo. Las pruebas prenatales no invasivas ofrecen una alta tasa de detección de las anomalías cromosómicas específicas analizadas y una baja tasa de falsos positivos. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la prueba prenatal no invasiva se considera una prueba de cribado y no puede detectar todas las formas de anomalía. Por consiguiente, en los casos en que es esencial una prueba genética definitiva, sigue siendo necesaria una prueba prenatal invasiva convencional.

Las pruebas prenatales no invasivas funcionan analizando el ADN libre de células (cfADN) presente en el torrente sanguíneo materno. El cfADN está compuesto por material genético tanto de la madre como del feto. La NIPT puede identificar pequeños cambios en la cantidad de ADN derivado de cromosomas individuales, que se producen cuando el feto tiene un número anormal de cromosomas (aneuploidía). Las anomalías cromosómicas que afectan al feto se asocian a un riesgo mucho mayor de que el niño nazca con anomalías congénitas, así como a una mayor probabilidad de aborto espontáneo. Si se solicita, la NIPT también puede proporcionar información sobre el número de copias de los cromosomas sexuales (X e Y), revelando así el sexo del feto.

Juno Genetics ofrece dos tipos de servicios para el test NEO:

1. **Prueba Neo5** Análisis de los cromosomas 13, 18, 21, X e Y.
2. **Prueba Neo24** Análisis de los 24 cromosomas, incluida la pérdida o duplicación de trozos de cromosoma de más de 7 Mb de tamaño.

7.6.2 Métodos utilizados para NEO en Juno Genetics

Juno Genetics utiliza un método CE-IVD basado en la secuenciación de próxima generación (NGS) (VeriSeq NIPT v2, Illumina), para realizar las pruebas Neo. La prueba se realiza en una muestra de sangre de la madre embarazada a partir de las 10 semanas de gestación. Se aísla plasma de la muestra y se extrae cfADN. A continuación, se preparan bibliotecas de secuenciación a partir de las muestras de cfADN, tras lo cual se realiza la secuenciación de nueva generación. El sofisticado análisis de datos del ADN secuenciado permite diferenciar el material genético derivado de la madre y del feto, lo que permite estimar la proporción de cfADN de origen fetal (conocida como “fracción fetal”) y predecir el número de copias de los cromosomas analizados.

7.6.3 Preparación del paciente NEO

Para una correcta realización de la prueba se tendrán en cuenta los siguientes elementos antes de ordenar la prueba:

1. Esta prueba sólo puede realizarse si el embarazo ha alcanzado la décima semana. Las muestras de sangre que no cumplan este requisito serán rechazadas, ya que no se obtendrá ningún resultado de la prueba.
2. Además de lo anterior, es importante tener en cuenta que la prueba NEO tiene ciertas limitaciones asociadas con el estado previo del paciente que son esenciales para su correcto funcionamiento. Para obtener información detallada sobre estas limitaciones, consulte el consentimiento informado. Si tiene alguna pregunta o inquietud relacionada con estas limitaciones, comuníquese con JUNO.

7.6.4 Preparación de muestras para NIPT

Asesoramiento:

Se recomienda encarecidamente un asesoramiento adecuado a todos los pacientes que se sometan a la prueba NIPT. Es obligación de las clínicas garantizar que todos los pacientes reciban el asesoramiento adecuado. Puede ponerse en contacto con Juno Genetics si necesita asesoramiento.

Formulario de consentimiento:

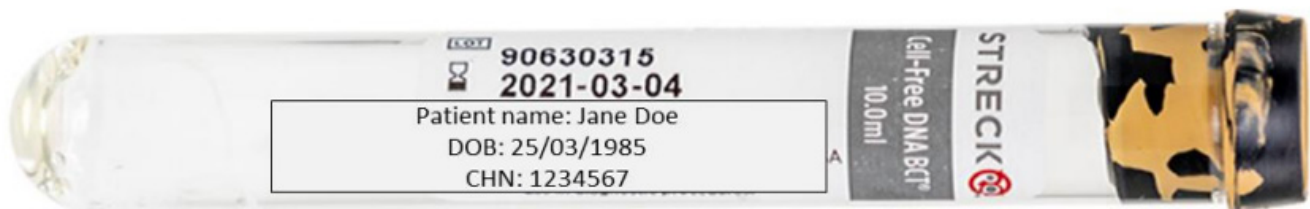
Los pacientes que se sometan a una NIPT deben firmar un formulario que demuestre que se ha dado el consentimiento informado adecuado. Dicho formulario de consentimiento puede ser proporcionado por Juno Genetics o por la clínica remitente. Juno Genetics puede ayudar a las clínicas remitentes a preparar un formulario de consentimiento para la NIPT. Deberá enviarse a Juno Genetics una copia del formulario de consentimiento cumplimentado junto con la muestra de sangre materna (se aceptan copias electrónicas o impresas).

Kit de recogida de muestras

La muestra de sangre debe recogerse en los tubos especiales STRECK (tapón con dibujo camuflaje; suministrados por Juno Genetics). Los kits de recogida de muestras del Neo test pueden solicitarse por correo electrónico a neo.es@junogenetics.com.

Recogida de muestras

- Se puede recoger una muestra de sangre materna para la NIPT a partir de la décima semana de embarazo (no hay suficiente ADN fetal en la sangre materna antes de las 10 semanas).
- Debe extraerse un mínimo de 7 ml (7ml-10ml) de muestra de sangre de la madre utilizando los tubos STRECK proporcionados por Juno Genetics. La extracción de sangre debe realizarla un flebotomista capacitado.
- El tubo que contiene la muestra de sangre debe invertirse suavemente entre 8 y 10 veces después de la extracción. De este modo se garantiza que el tampón estabilizador del tubo se mezcla correctamente con la muestra. No agite el tubo.
- Etiquete el tubo con al menos dos de los siguientes datos: nombre completo del paciente; número único de paciente/hospital; fecha de nacimiento. Si pega una etiqueta con los datos del paciente, asegúrese de no tapar la fecha de caducidad del tubo STRECK.



Almacenamiento de muestras

La muestra debe enviarse a Juno Genetics el mismo día o, como muy tarde, al día siguiente de la extracción de sangre. Guarde la muestra en el frigorífico o a temperatura ambiente antes de enviarla. La muestra no debe exponerse a temperaturas fuera del rango de 4 °C a 37 °C. Si va a guardar la muestra durante la noche, se recomienda refrigerarla, pero asegúrese de que el tubo de la muestra no entre en contacto directo con la parte trasera o los laterales del frigorífico (pueden estar por debajo de los 4 °C).

Transporte de muestras

El tubo de muestra etiquetado debe colocarse de nuevo en la funda de plástico suministrada y, a continuación, en la caja del kit de prueba. El formulario de solicitud de prueba Neo cumplimentado y el formulario de consentimiento firmado (si no se envían electrónicamente), también deben colocarse en la misma caja y enviarse a la siguiente dirección: «Juno Genetics Spain, Parque Tecnológico Paterna. Ronda de Guglielmo Marconi, 11-A, 2º, A1-2, A2-2. (46980 Paterna. VALENCIA)

Las muestras pueden enviarse a temperatura ambiente. Se recomienda utilizar el servicio de mensajería de muestras ofrecido por JUNO Genetics para el envío. Este servicio se ofrece todos los días de la semana, a excepción de los viernes y el día anterior a los festivos. Tenga esto en cuenta a la hora de programar la extracción de sangre.

JUNO

GENETICS

Juno Genetics Spain,
Ronda de Guglielmo Marconi, 11-A, 2º, A1-2, A2-2.
46980 Paterna, VALENCIA
supportspain@junogenetics.com
