

Cien cariotipos fetales acreditados en Costa Rica, años 2009 y 2010

(One Hundred Accredited Fetal Karyotypes in Costa Rica During 2009 and 2010)

Isabel Castro-Volio, Fernando Ortiz-Morales, Luisa Valle-Bourrouet.

Resumen

Objetivo: La identificación de cromosopatía fetal es un factor importante para el mejor manejo perinatal y pediátrico en los embarazos de alto riesgo. El objetivo de esta publicación es mostrar al personal de salud, los resultados de nuestros ensayos de cariotipo en líquido amniótico, obtenidos desde el momento en que han sido acreditados por el Ente Costarricense de Acreditación y compararlos con los estándares internacionales.

Métodos: Se realizó cultivo abierto de 100 muestras recibidas desde enero del 2009 hasta diciembre 2010, provenientes de hospitales de la seguridad social y de servicios de salud privados y la cosecha de los "amniocitos" mediante suspensión enzimática. La indicación de amniocentesis en el 65% de los casos fue por ecografía anormal y el 28% de las veces por edad materna avanzada.

Resultados: La cromosopatía fetal encontrada fue de 35%. Para muestras en cantidad y calidad aceptables, el éxito de los cultivos fue 100% y el tiempo de respuesta fue de 13 días promedio. Estos datos concuerdan con las normas internacionales en esta materia. Además, anualmente participamos satisfactoriamente en rondas de evaluación externa de la calidad organizados por la Cytogenetic European Quality Assessment.

Conclusión: En Costa Rica contamos con servicios de perinatología con equipos ecográficos muy sofisticados y con personal altamente especializado, de manera que los defectos anatómicos fetales y otras patologías rara vez pasan desapercibidas. El cariotipo fetal es el complemento indispensable para el abordaje clínico óptimo de estos casos, sobre todo, cuando se cuenta con la calidad que garantizan los ensayos acreditados.

Descriptores: acreditación, diagnóstico prenatal, citogenética, amniocentesis, Costa Rica.

Abstract

Aims: The identification of fetal abnormal chromosomes in high risk pregnancies, allows proper pediatric and obstetric management of the cases as well as genetic counseling. The results of 100 genetic amniocentesis from January 2009 to December 2010, since the accreditation of these laboratory tests, are reported.

Methods: Amniocentesis were performed in hospitals of the social security system and in private facilities. There were two main reasons for referral: abnormal ultrasound assessment (65% of cases) and advanced maternal age (28%). Fetal cells were flask open cultured and suspension harvested.

Laboratorio de Citogenética, INISA, Universidad de Costa Rica.

Correspondencia: Isabel Castro-Volio

Correo electrónico: isabel.castro@ucr.ac.cr,

Fuentes de apoyo: Proyecto de cooperación para la acreditación (PROCOA), Vicerrectoría de Investigación y Rectoría de la Universidad de Costa Rica.

Results: Abnormal fetal karyotypes were 35%. Success rate for samples of acceptable quality was 100%. Turn around time was 13 days average. This data is in accordance with American and European requirements for quality and competence. The laboratory also participates annually in Cytogenetic European Quality Assessment rounds with achievements of satisfactory performance.

Conclusion: In Costa Rica we have skilled and experienced perinatologists as well as highly sophisticated ultrasonographic equipment, so that many fetal and pregnancy abnormalities are routinely detected. In these cases, the fetal karyotype of guaranteed quality is a very useful tool in their adequate clinical management.

Keywords: accreditation, prenatal diagnosis, cytogenetics, amniocentesis, Costa Rica

Recibido: 20 de mayo de 2011

Aceptado: 14 de julio de 2011

Desde hace 40 años, el diagnóstico fetal citogenético se considera un procedimiento de rutina, en la atención prenatal de los embarazos de alto riesgo genético, en los países desarrollados. Las metas del diagnóstico prenatal son a) la detección de anomalías fetales incompatibles con la vida o discapacitantes, para preparar a los padres para recibir de la mejor manera a un bebé afectado, o para ofrecer la opción de aborto (en los países donde esto es legalmente posible), b) la identificación de condiciones que pueden influenciar el momento, el lugar y el tipo de parto más apropiados para minimizar el daño al producto, c) la individualización de los fetos que se pueden ver beneficiados de la intervención pediátrica temprana y d) la identificación de los fetos que se pueden beneficiar del tratamiento *in utero*.

En Costa Rica, específicamente en el INISA, tenemos 24 años de experiencia con diagnósticos cromosómicos fetales, obtenidos a partir de muestras de líquido amniótico y 18 años ensayando muestras de sangre fetal obtenidas mediante cordocentesis, con el fin de obtener el cariotipo¹. Trabajamos habitualmente con los hospitales R. A. Calderón Guardia y México, ocasionalmente con los hospitales Max Peralta Jiménez, Hospital de las Mujeres Adolfo Carit y Dr. Tony Facio Castro. Además recibimos muestras biológicas de diversos hospitales privados, clínicas y consultorios particulares.

Nuestros ensayos diagnósticos se encuentran dentro del alcance de nuestro Sistema de Gestión de la Calidad y están acreditados a partir del 09 de diciembre del 2008, de conformidad con los requisitos de la Norma INTE-ISO/IEC 17025:2005 “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”. La acreditación es un proceso mediante el cual una tercera parte autorizada otorga el reconocimiento formal de la competencia técnica de una entidad (en nuestro caso de un laboratorio de ensayo) para la realización de una actividad determinada y perfectamente definida. Es el mecanismo que proporciona la confianza necesaria en los certificados, informes de inspección, actas de ensayo, certificados de calibración y validaciones medioambientales emitidos por las entidades

de certificación de diferentes países.² La vigencia de la acreditación de nuestros ensayos es por tiempo indefinido y está sujeta a las evaluaciones anuales de seguimiento y reevaluación cada 4 años hasta un máximo de 4 años y tres meses, según lo establecido por los procedimientos de evaluación y acreditación del Ente Costarricense de Acreditación (ver alcance de acreditación número LE-059 en la página web del Ente Costarricense de Acreditación).

El trabajar bajo un sistema de gestión, aseguramiento y mejora continua de la calidad confiere muchas ventajas al usuario de nuestros servicios diagnósticos, entre otras, la confianza en que se van a satisfacer todas sus necesidades en esta materia. Nuestra política de calidad dice así: “La Alta Dirección del INISA se compromete a garantizar que los ensayos que forman parte del Sistema de Gestión de la Calidad se realizan apegándose a las buenas prácticas de laboratorio, empleando metodologías de ensayo confiables y reproducibles, utilizando en todo momento equipo y material de calidad comprobada, así como asegurando la idoneidad de todo su personal, requiriendo que el personal clave se familiarice con la documentación de la calidad y brindándole entrenamiento, capacitación y actualización en los temas de su competencia, para garantizar que los resultados obtenidos son válidos y fiables. Se compromete además a mantener el Sistema de Gestión de la Calidad en un proceso de mejora continua. Por lo tanto, se compromete a seguir los lineamientos de la Norma INTE-ISO/IEC 17025:2005 “Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y/o calibración” y los de la norma INTE/ISO 15189:2008 “Laboratorios de análisis clínicos – requisitos particulares para la calidad y la competencia” y a cumplir con los requisitos legales que le permiten y obligan a prestar servicios de calidad a sus clientes”.

El objetivo de esta publicación es mostrar al personal de salud, los resultados de nuestros ensayos de cariotipo en líquido amniótico, obtenidos desde el momento en que han sido acreditados y compararlos con los estándares internacionales.

Materiales y métodos

En el transcurso de los años 2009 y 2010 recibimos 100 muestras de líquido amniótico recolectadas en los hospitales México (n = 33), Calderón Guardia (n = 29), Max Peralta (n = 12), Enrique Baltodano (n = 1) y sector privado (n = 25). La amniocentesis para realizar el cariotipo fetal es un procedimiento voluntario, al cual las pacientes consienten de manera oral. Las indicaciones para realizar las amniocentesis fueron: la ecografía mostró algún tipo de malformación fetal (n = 33), edad de la embarazada igual o mayor que 35 años (n = 28), higroma quístico fetal (n = 11), presencia de marcadores sonográficos de aneuploidía fetal (n = 7), hidropesía fetal (n = 6), oligohidramnios o polihidramnios (n = 4), tamizaje positivo con marcadores séricos (n = 2) y 9 casos de indicaciones menos frecuentes. La edad gestacional calculada mediante ecografía se informó para todas las amniocentesis excepto una, la más temprana se realizó en la semana 14 y la más tardía en la semana 37 de gestación. Hasta la semana 20 inclusive se tomaron 54 muestras de líquido amniótico, después de la vigésima semana la cifra fue de 46 amniocentesis. Todas las muestras que recibimos en el laboratorio fueron satisfactorias en cantidad y calidad excepto en seis casos: dos muestras provenían de fluidos de productos obitados, otras dos eran de edades gestacionales muy avanzadas y las siguientes dos muestras eran muy escasas. De todas maneras, el laboratorio no rechaza ninguna muestra y todas se ingresan a la fase analítica. Los cultivos de “amniocitos” se realizaron en frascos T25, en incubadoras de CO₂ y fueron cosechados mediante suspensión enzimática. Las preparaciones cromosómicas se bandearon con bandas G, a un nivel de resolución de entre 400 y 550 bandas, según el caso, y se analizaron células provenientes de al menos dos cultivos independientes, excepto en los casos en que el cariotipo fetal resultó ser masculino normal, en los cuales basta con el análisis de las células de un solo frasco T25. Se tomaron al menos dos fotografías por cada caso.

Resultados

Todos los cultivos fueron exitosos, excepto en tres casos no hubo crecimiento celular: un líquido de 35 semanas, otro líquido color casi negro de un producto obitado y otro caso de escaso líquido proveniente del hidrotórax de otro producto obitado. Por lo tanto, el éxito del cultivo fue de 100% para las muestras de calidad y en cantidad aceptables. El cariotipo fetal se obtuvo en todas las 97 muestras que crecieron, en 30 casos fue femenino normal, en 33 casos fue masculino normal, y fue anormal en 34 estudios. Las características de los cariotipos fetales anormales se muestran en el Cuadro 1.

Para las 94 muestras que cumplieron los requisitos de calidad del laboratorio, los tiempos de respuesta (en días naturales, desde que la muestra ingresa al laboratorio hasta que se emite el informe final) oscilaron entre los 9 días (8 casos) hasta los 35 días (un caso). El tiempo de respuesta promedio fue de 13 días.

Discusión

Los estándares europeos exigen un mínimo de 98% de cultivos exitosos en muestras de buena calidad³ y el Colegio Americano de Genética Humana admite un mínimo de 99 % de éxito⁴ lo mismo que la Asociación de Citogenetistas Clínicos (inglesa)⁵ La Asociación de Citogenetistas Clínicos propone que el resultado en el 95% de los casos debe estar listo dentro de 14 días calendario,⁵ el estándar europeo es de 21 días para el 90% de las muestras³ y el del Colegio Americano de Genética Médica es de 14 días para el 90% de los casos,⁴ a menos que sea necesario hacer estudios adicionales.

El laboratorio de citogenética cumple en todo su alcance con los estándares y lineamientos internacionales en materia de calidad, no solamente en lo concerniente al tiempo de respuesta y al éxito de los cultivos, sino también en cuanto a todos los procesos pre-analíticos, analíticos y post-analíticos. Por ejemplo, el nivel de bandeado necesario de acuerdo con la indicación para realizar el estudio, los requerimientos del análisis citogenético en el caso de los cultivos cosechados mediante suspensión enzimática, los niveles de análisis básico, moderado o extensivo en el caso de posible mosaicismo, etc. Además participamos satisfactoriamente en rondas de evaluación externa de la calidad tipo ensayos de aptitud organizados por CEQA (Cytogenetic European Quality Assessment).

En cuanto a la cromosopatía fetal (Cuadro 1), vemos como el común denominador es la indicación de ecografía anormal o la edad materna avanzada junto con marcadores sonográficos sugestivos de anomalía cromosómica. Solamente en un caso el hallazgo de translucencia nucal aumentada, como única indicación de amniocentesis permitió hacer el diagnóstico de trisomía 21. En esta situación atípica, no se trató de una trisomía 21 libre, con 47 cromosomas, sino de una trisomía por reordenamiento desbalanceado, con 46 cromosomas. El rea (21q21q) es el tipo más común de reordenamientos de novo en el síndrome de Down.⁶ El análisis citogenético convencional no permite distinguir, si este defecto corresponde con una translocación robertsoniana o con un isocromosoma. Cuando se hacen estudios moleculares de estos reordenamientos, la mayoría de las veces resultan ser isocromosomas derivados de un único cromosoma 21 parental que sufre un intercambio tipo U entre cromátidas hermanas.⁶⁻⁸ Otro isocromosoma

Cuadro 1. Cariotipos fetales anormales, las indicaciones para la amniocentesis y las semanas de la edad gestacional en que se realizó		
Cariotipo fetal anormal	Indicación de amniocentesis	Edad gestacional según ecografía
Trisomías		
47,XX,+21	Edad materna 43 años, ausencia de ambas manos	26
47,XX,+21	Edad materna 40 años, higroma quístico	17
47,XX,+21	Edad materna 35 años y translucencia nucal aumentada	16
47,XY,+21	Hidropesía fetal	21
47,XY,+21	Edad materna 40 años, higroma quístico	16
47,XY,+21	Cardiomegalia con CIA*, hepatoesplenomegalia y otros defectos	28
47,XY,+21	Corazón con canal atrio-ventricular	23
47,XY,+21	Ausencia hueso nasal y pie bot	20
Mosaico: mos47,XY,+21/46,XY	Tamizaje bioquímico positivo, translucencia nucal aumentada, arteria umbilical única	17
47,XX,+18	Edad materna 38 años, hueso nasal hipoplásico, probable CIV**, pie bot bilateral	17
47,XX,+18	Transposición de grandes vasos, hernia diafragmática, polihidramnios	30
47,XY,+18	Atresia esofágica, CIV, espina bífida, pie bot bilateral, arteria umbilical única, polihidramnios	21
47,XY,+18	Agnesia del cuerpo caloso, riñón en herradura, pie bot bilateral, arteria umbilical única, restricción del crecimiento intrauterino	30
47,XY,+18	Cardiopatía, nefropatía, pie bot bilateral	20
47,XY,+18	Edad materna 42 años, polihidramnios y restricción del crecimiento intrauterino	35
47,XY,+18	Edad materna 38 años, quiste plexo coroide, hipoplasia hueso nasal, CIV, CIA, polihidramnios, polidactilia	23
47,XY,+18	Edad materna 41 años, onfalocele fetal	15
47,XY,+18	Higroma quístico, hipoplasia nasal	16
47,XX,+13	Edad materna 38 años, microcefalia, disrrafia del tubo neural, defectos en labio y paladar, polihidramnios	30
47,XX,+13	Holoprosencefalia semilobar, labio leporino bilateral	30
Síndrome de Turner		
45,X	Higroma quístico	17
45,X	Higroma quístico	17
45,X	Higroma quístico	16
45,X	Hidropesía fetal	20
Cromosomas derivados por translocaciones maternas o paternas		
46,XX,der(16)	Hidropesía fetal	25
46,XY,der(7)t(4;7)(4q31.1;7q35)mat	Holoprosencefalia semilobar, arrinia y proboscis	16
46,XY,der(14)t(14;18)pat	Primigesta de 40 años, translucencia nucal aumentada, hueso nasal ausente	15
Isocromosomas		
46,XX,i(18)(q10)	Síndrome de hipoplasia de cámaras cardíacas izquierdas	27
Mosaico: mos46,X,i(Xq)/45,X	Hipoplasia del vermix	24
Trisomía por translocación robertsoniana		
46,XY,+13,rob(13;14)(q10;q10)	Síndrome de hipoplasia de cámaras izquierdas, atresia de la válvula aórtica, CIV, megavejiga, reflujo vesíco-ureteral bilateral, hidronefrosis, labio leporino bilateral, paladar hendido, hipoplasia cerebelar y vermiana y otras malformaciones.	18
Cromosomas extra estructuralmente anormales		
47,XX,+mar	Ascitis fetal severa	20
48,XY,+2mar	Edad materna 45 años, cardiopatía compleja, micropene con hipopasidias, polihidramnios.	25
Triploidía		
69,XXX	Hidrocefalia, infartos placentarios.	22
Reordenamiento desbalanceado		
46,XX,+21,rea(21;21)(q10;q10)	Translucencia nucal aumentada	15

*CIA: comunicación inter-auricular, **CIV: comunicación inter-ventricular

diagnosticado prenatalmente fue el del cromosoma 18, que produjo una trisomía 18 con 46 cromosomas. Este caso fue confirmado mediante QF-PCR en nuestro laboratorio, pues esta técnica la tenemos validada desde el 2008 para las trisomías 21, 18 y 13.⁹ Un tercer isocromosoma para el brazo largo del cromosoma X, es un hallazgo relativamente frecuente en los casos de síndrome de Turner en mosaico con una línea celular 45, X típica. Otros casos interesantes fueron los que presentaron cromosomas extra estructuralmente anormales, también llamados marcadores, supernumerarios, accesorios y cromosomas B. Algunos son inocuos y no tienen consecuencias fenotípicas (los cromosomas B) pero otros pueden significar un riesgo para el feto. Se diagnostican en 1:1000 diagnósticos prenatales, a menudo como mosaicos con una línea celular normal.¹⁰ Más de la mitad de las veces tienen origen en un cromosoma acrocéntrico, el cual con frecuencia resulta ser un cromosoma 15. El caso con un marcador y ascitis fetal severa mostró un cromosoma metacéntrico extra muy pequeño y el feto polimalformado presentó dos marcadores idénticos, acrocéntricos con satélites. Por otro lado, las translocaciones recíprocas balanceadas, ya sea maternas o paternas, son comunes (1:500 personas portadoras) y casi siempre simples, involucran usualmente solo dos cromosomas, por lo general autosomas y cada uno tiene solamente un punto de fractura. El padre o la madre portadora tienen aumento del riesgo de concebir un producto físicamente y mentalmente anormal, debido al fenómeno de aneusomía segmental.¹¹ Por ejemplo, en nuestro caso de madre con translocación (4,7) se produjo un desbalance tipo adyacente 1 que presenta un segmento trisómico para la porción del cromosoma 4 (q31.1→qter) y otro segmento monosómico para 7 (q35→qter). El riesgo de producto anormal (en cualquier embarazo) para la madre con esta translocación es de 18,40% y el mismo es potencialmente viable.

El laboratorio de citogenética siempre solicita sangre para hacer el cariotipo del padre y de la madre del feto con cromosopatía, a menos de que se trate de trisomías libres o monosomía X. Sin embargo, no siempre conseguimos que los hospitales nos envíen las muestras o nos refieran a estas personas, de manera que a veces el estudio del caso se queda incompleto. Esto tiene repercusiones para futuros embarazos, ya que para el asesoramiento genético apropiado de estas familias, es necesario contar con la información completa en todos los casos. De igual manera, solicitamos que se nos informe de cualquier discrepancia entre el cariotipo fetal que el laboratorio ha reportado y el fenotipo del recién nacido, incluso en varias ocasiones solicitamos sangre neonatal para hacer control interno de calidad. Lamentablemente no hemos recibido retroalimentación de ningún servicio de salud en este sentido, sin embargo, en las encuestas de satisfacción del cliente que realizamos anualmente, el laboratorio obtiene muy buenos resultados.

En Costa Rica contamos con servicios de perinatología con equipos ecográficos muy sofisticados y con personal altamente especializado, de manera que los defectos anatómicos fetales y otras patologías rara vez pasan desapercibidas. El cariotipo fetal es el complemento indispensable para el abordaje clínico óptimo de estos casos, sobre todo, cuando se cuenta con la calidad que garantizan los ensayos acreditados.

Referencias

1. Castro-Volio I. El diagnóstico prenatal de defectos cromosómicos en Costa Rica. *Rev Biol Trop* 2004; 52:545-549
2. Burnett D. A practical guide to accreditation in laboratory medicine. London: ABC Venture Publications, 2002.
3. Dagna-Bricarelli F, Hastings RJ, Kristoffersson U, Cavani S. Cytogenetic Guidelines and Quality Assurance. A common European framework for quality assessment for constitutional and acquired cytogenetic investigations. E.C.A. Permanent Working Group for Cytogenetics and Society. GUIDELINES Version 1.1 En: <http://www.eurogentest.org/events/info/public/unit1/guidelines/cytogenetics/index.xhtml>
4. American College of Medical Genetics. Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories. 2008. En: http://www.acmg.net/AM/Template.cfm?Section=Laboratory_Standards_and_Guidelines&Template=/CM/HTMLDisplay.cfm&ContentID=6439.
5. Association for Clinical Cytogenetics. Professional Guidelines for Clinical Cytogenetics. Prenatal Diagnosis Best Practice Guidelines: Amniotic fluid (2005) Reformatted and updated 2007. En: www.cytogenetics.org.uk/prof.../acc_af_bp_oct2005_1.01.pdf
6. Schaffer LG, Jackson-Cook CK, Meyer JM, Brown JA, Spence JE. A molecular genetic approach to the identification of isochromosomes of chromosome 21. *Hum Genet* 1991; 86:375-82
7. Schaffer LG, McCaskill C, Haller V, Brown JA, Jackson-Cook CK. Further characterization of 19 cases of reara (21q21q) and delineation as isochromosomes or Robertsonian translocations in Down Syndrome. *Am J Med Genet* 1993; 47:1218-22.
8. Chen CP, Chern SR, Tsai FJ, Wu PC, Chiang SS, Lee CC, Wang W. Down syndrome due to unbalanced homologous acrocentric rearrangements and its recurrence in subsequent pregnancies: prenatal diagnosis by amniocentesis. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2009; 48:403-7.
9. Malespín-Bendaña W, Ortiz-Morales F, Castro-Volio I. Diagnóstico molecular de cromosopatías fetales en Costa Rica. *Acta Méd Costarric* 2009; 51:236-240.
10. Tseng JJ, Chou MM, Lo FC, Lai HY, Chen MH, Ho ESC. Prenatal diagnosis of extrastructurally abnormal chromosomes: clinical experience and literature review. *J Chin Med Assoc* 2009; 72:29-33.
11. Gardner RJM, Sutherland GR. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 3rd ed. Oxford: Oxford Univ. Press, 2004