



DOCUMENTO DE CONSENSO

Guía de buenas prácticas en diagnóstico genético preimplantacional[☆]



Ana Bustamante-Aragón^{a,*}, Esther Fernández^b, Ana Peciña^c, Joaquín Rueda^d,
Carmen Ramos^a, Carles Giménez^e, Sandra Monfort^f y Carmen Rubio^g

^a Servicio de Genética, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España

^b Geniality Diagnóstico Genético, Madrid, España

^c Servicio de Genética, Hospital Virgen del Rocío, Sevilla, España

^d Unidad de Genética, Clínica Vistahermosa, Facultad de Medicina, Universidad Miguel Hernández, Alicante, España

^e Reprogenetics, Barcelona, España

^f Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España

^g Igenomix, Valencia, España

Recibido el 4 de mayo de 2016; aceptado el 5 de mayo de 2016

Disponible en Internet el 20 de junio de 2016

PALABRAS CLAVE

Diagnóstico genético preimplantacional;
Biopsia embrionaria;
Enfermedades monogénicas;
Alteraciones cromosómicas

KEYWORDS

Preimplantation genetic diagnosis;
Embryo biopsy;
Monogenic disorders;

Resumen El diagnóstico genético preimplantacional (DGP) es un conjunto de actuaciones y procedimientos diagnósticos que permite conocer en un embrión la presencia o no de una determinada anomalía genética o citogenética asociada a una enfermedad antes de su posible transferencia uterina. Aunque estos procedimientos están regulados por la legislación española, son varios los aspectos metodológicos que merecen reflexión y acuerdo de los expertos. Por ello, la Comisión de DGP de la Asociación Española de Genética Humana, ha desarrollado un documento de consenso que se expone como una Guía de buenas prácticas en DGP.

© 2016 Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción y Sociedad Española de Fertilidad. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Good practice guidelines in preimplantation genetic diagnosis

Abstract Preimplantation genetic diagnosis (PGD) is a series of actions and diagnostic procedures that make it possible to identify the presence or absence of a specific disease-associated genetic or cytogenetic anomaly in an embryo prior to its transfer to the uterus. Although these procedures are regulated by Spanish law, several of the methodological aspects involved merit

[☆] En el momento de la redacción de este artículo Ana Bustamante-Aragón A., Esther Fernández, Ana Peciña y Joaquín Rueda son miembros de la Comisión de DGP de la AEGH; asimismo, son miembros anteriores de la Comisión de DGP de la AEGH los autores Carmen Ramos, Carles Giménez, Sandra Montfort y Carmen Rubio.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: abustamante@fjd.es (A. Bustamante-Aragón).

Chromosomal rearrangements

further analysis and consensus by experts. For this reason, the PGD committee of the Spanish Association for Human Genetics has drafted a consensus document that will serve as a guide to best practices in PGD.

© 2016 Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción y Sociedad Española de Fertilidad. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

El diagnóstico genético preimplantacional (DGP) es una de las opciones reproductivas disponibles para progenitores en los que su descendencia presenta un riesgo elevado para una determinada enfermedad genética. El DGP está dirigido a los embriones resultantes de un ciclo de fecundación *in vitro* (FIV) con objeto de seleccionar aquellos embriones libres de la enfermedad familiar o de una determinada anomalía cromosómica. Por otro lado, el cribado embrionario preimplantacional (*Preimplantation Genetic Screening* [PGS]) de aneuploidías se realiza con el fin de aumentar el éxito de un tratamiento de FIV. El DGP supone una alternativa al diagnóstico prenatal (DP), si bien no lo sustituye, y a la posibilidad de tener un embarazo de descendencia afecta.

El propósito de esta guía es establecer y unificar criterios básicos en el conjunto de actos y técnicas que se realizan en los centros de reproducción humana asistida (RHA), por un conjunto de especialistas en el proceso de DGP.

Esta guía engloba los procesos, protocolos y recomendaciones prácticas en DGP basadas en la literatura, la experiencia y el marco legal español.

Marco legal del diagnóstico genético preimplantacional en España

El marco legal para el DGP está definido por la Ley 14/2006, sobre técnicas de reproducción humana asistida, el Real Decreto 42/2010, por el que se regula la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida (CNRHA) y la Ley 14/2007 que regula los estudios genéticos.

La Ley 14/2006 indica que el DGP se podrá realizar para la detección de enfermedades graves, de aparición precoz y no susceptibles de tratamiento curativo posnatal, así como para la detección de otras alteraciones que puedan comprometer la viabilidad del preembrión. Para otras finalidades, incluida la determinación de antígenos de histocompatibilidad de los preembriones, deberá solicitarse autorización a la CNRHA, órgano colegiado dependiente del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

La solicitud de evaluación de un caso a la CNRHA debe realizarse a través de la consejería de sanidad de la comunidad autónoma a la que pertenece el centro solicitante. La documentación requerida por la CNRHA incluye:

a) Autoridades sanitarias autonómicas:

1. Solicitud de informe preceptivo de la CNRHA.

b) Centro o servicio de RHA

2. Solicitud de autorización del ciclo de DGP identificando el nombre completo de la pareja y la enfermedad.

3. Acreditación del centro de RHA y del servicio de genética (si es diferente al de RHA).

4. Informes clínicos (referente a la enfermedad motivo de DGP) y genéticos de los miembros de la familia portadores de la enfermedad.

5. Informe del consejo genético que incluya:

- Breve descripción de la enfermedad.
- Valoración clínica individualizada de la mutación familiar.
- Asesoramiento reproductivo: probabilidad de transmisión, opciones reproductivas, alcance, limitaciones, implicaciones éticas y posibles complicaciones.

6. Informe clínico ginecológico y andrológico: debe incluir la edad de la pareja y la capacidad reproductiva (recuento de folículos antrales y perfil hormonal básico/seminograma).

7. Formularios de consentimiento informado firmado que incluyan:

- Descripción de los procedimientos implicados (FIV, biopsia embrionaria y técnicas diagnósticas), riesgos y limitaciones.
- Probabilidades de obtener embriones sin la mutación mediante la aplicación de las técnicas solicitadas conforme al estado del conocimiento actual.
- Aproximación a las probabilidades de éxito en el centro o servicio de RHA solicitante, teniendo en cuenta las características particulares del caso concreto.
- Información relativa a los aspectos jurídicos y éticos de las técnicas que van a ser realizadas, y relativa a las condiciones económicas del tratamiento.
- Posibilidad de revocación del consentimiento en cualquier momento.
- Información relativa al compromiso del centro o servicio de garantizar la protección de los datos personales.

Debe quedar explícito que la pareja decide llevar a cabo el DGP como la opción terapéutica que más se ajusta a sus necesidades y puntos de vista, y aceptan los riesgos y complicaciones de los que han sido informados previamente, de forma adecuada y comprensible, y de los que se han dado por enterados.

Adicionalmente, en la primera solicitud que realice un centro se debe incluir:

8. Informe de la experiencia del centro o servicio de RHA (número de ciclos realizados y resultados).

9. Información de la experiencia del laboratorio o servicio de genética y los resultados en términos de eficacia diagnóstica.

10. Especificación del procedimiento coordinado de trabajo entre el centro o servicio de RHA y el laboratorio o servicio de genética.
 - c) *Datos adicionales a incluir en el informe de DGP cuando sea para un estudio combinado con la determinación de antígenos de HLA con fines terapéuticos para terceros:*
11. Informe médico detallado del paciente para el que se solicita la selección embrionaria. Debe incluir:
 - Tratamientos anteriores y resultado.
 - Tratamiento actual.
 - Indicación clara de trasplante de progenitores hematopoyéticos para el paciente. Indicar si se trata de trasplante consolidado o experimental.
 - Ausencia de donantes familiares compatibles.
 - Fecha de inicio de la búsqueda en el REDMO y resultado de la misma. Si no se ha realizado la búsqueda, justificación de tal decisión.
12. Compromiso escrito del centro o servicio que llevará a cabo el trasplante de células del cordón umbilical.
13. Información de la experiencia del servicio de genética en relación a DGP con determinación de HLA en preembriones, especificando las enfermedades y el número de casos de cada enfermedad.
14. Formularios de consentimiento informado en los que se detalle:
 - Probabilidades de éxito en la generación de un donante HLA idéntico.
 - Aproximación a las probabilidades de éxito en el centro o servicio de RHA solicitante.

Organización de un programa de diagnóstico genético preimplantacional

El DGP tiene como finalidad el diagnóstico genético molecular o citogenético en células procedentes de la biopsia de un embrión. Un programa de DGP requiere la actuación coordinada de la unidad de fecundación *in vitro* (consulta reproductiva y laboratorio de FIV) y de la unidad de genética (consulta genética y laboratorio de diagnóstico genético). El DGP es un proceso multidisciplinar, y la comunicación entre las unidades implicadas dentro del programa debe ser clara, comprensible, protocolizada y debe mantenerse bajo un estricto control de calidad ([Geraedts et al., 2001](#)).

- En DGP (enfermedad monogénica, anomalías cromosómicas estructurales o numéricas) los pacientes serán atendidos por un genetista clínico/asesor genético que informará a la pareja sobre el proceso y evaluará dicha técnica en su caso particular. Además, un especialista clínico en fertilidad evaluará la idoneidad de la pareja para un ciclo de FIV.
- En PGS (cribado de aneuploidías), los pacientes serán atendidos en la unidad de reproducción y deberán recibir asesoramiento genético y reproductivo.

El laboratorio de FIV debería estar organizado según las guías de buenas prácticas de la *European Society of Human*

Reproduction and Embryology (ESHRE) ([Gianaroli et al., 2000](#)).

Los laboratorios donde se realiza el DGP tienen que contar con los recursos materiales y humanos adecuados. Todo el personal implicado en el DGP tanto clínico, embriólogo, genetista o técnico tiene que tener la cualificación, entrenamiento, formación y dedicación que requiere la puesta a punto de las diferentes técnicas y que garantice su participación en el proceso.

El laboratorio de diagnóstico genético puede ser una unidad interna o externa; en ambos casos el sistema de identificación de paciente y células debe ser inequívoco para cualquier profesional que tenga que acceder a los datos del procedimiento.

Todo el procedimiento debe constar de protocolos revisados periódicamente y registrados, estando dicho registro a disposición de todos los integrantes del proceso. Es recomendable que el laboratorio se someta a revisión de equipos y reactivos y controles de calidad internos y externos como sistema de evaluación.

Indicaciones

El DGP estará indicado en alguno de los siguientes casos:

1. Portadores de enfermedades mendelianas con causa genética identificada o identificable.
2. Tipificación HLA para donación de células madre.
3. Cáncer familiar.
4. Progenitores con cariotipo alterado:
 - Portadores de anomalías estructurales (translocaciones robertsonianas, translocaciones recíprocas, inversiones,...).
 - Portadores de anomalías numéricas: 47,XXY; 47,XYY; mosaico 45,X/46,XX; mosaico 47,XXX/46,XX.

El PGS está destinado a progenitores con cariotipo normal en las siguientes situaciones:

- Mujeres de edad avanzada (>38 años).
- Abortos recurrentes sin causa identificada (≥ 2 abortos).
- Fallo repetido de implantación tras varios ciclos de FIV/ICSI (≥ 3 fallos previos).
- Historia reproductiva de aneuploidías en gestaciones previas.
- Factor masculino severo con espermiograma alterado, estudio de meiosis testicular alterado, estudio de hibridación fluorescente *in situ* (FISH) de espermatozoides alterado.
- Feto anterior con trisomía en embarazo mediante TRA.

Criterios de inclusión y exclusión

La decisión de inclusión/exclusión de la pareja en un ciclo de DGP/PGS debe ser tomada por un equipo multidisciplinar (reproducción asistida, embriología y genética).

Los criterios de inclusión en un determinado centro pueden depender de las técnicas disponibles en el mismo y/o de la política sanitaria de cada comunidad autónoma.

Criterios de inclusión

- Deben tener en cuenta el porcentaje de éxito reproductivo en el caso individual.
- Que el diagnóstico genético sea técnicamente posible, su fiabilidad elevada y las posibilidades de éxito aceptables.

Criterios de exclusión

- Cuando el diagnóstico de la enfermedad no sea técnicamente posible o las posibilidades de éxito escasas.
- Cuando las técnicas de reproducción asistida están contraindicadas clínica o legalmente.
- Por desconocimiento de la causa de la enfermedad o cuando no haya sido posible concretar el diagnóstico en el paciente portador.

Información a los pacientes

Asesoramiento genético y reproductivo

La comunicación con los pacientes tiene que ser clara, veraz, concisa y comprensible. Debe incluir:

1. Asesoramiento genético

- Información sobre la enfermedad familiar, tipo de herencia, riesgo para la descendencia.
- Alternativas reproductivas disponibles.
- Descripción técnica del proceso de DGP.
- Descripción de las pruebas genéticas necesarias previas al DGP y posible implicación para otros miembros de la familia.
- Recomendación de la realización de un diagnóstico prenatal (DP) en caso de embarazo.
- Además, en el caso de DGP + HLA:
 - Si solo se realiza selección de embriones histocompatibles, el 25% de los embriones serían aptos para transferencia.
 - Si la selección HLA se combina con el DGP de enfermedad monogénica, el 18% de los embriones serían aptos para transferencia.
 - Si la selección HLA se combina con el DGP para sexado por una determinada enfermedad ligada al sexo, el 12% de los embriones serían aptos para transferencia.

2. Asesoramiento reproductivo

- Descripción y detalles del procedimiento de FIV/ICSI.
- Pruebas previas necesarias.
- Riesgos del proceso durante la estimulación y la punción ovárica.
- Incertidumbre sobre la fertilidad tras un ciclo de DGP ([Winston y Hardy, 2002](#)).
- Particularidades del DGP respecto a un ciclo convencional de FIV/ICSI: necesidad de optimizar el número de ovocitos, posibilidad de ausencia de embriones aptos para biopsia, embriones que no sobreviven a la biopsia, ausencia de embriones transferibles.
- Número de embriones sanos que pueden ser transferidos a la vez.
- Posibilidad de embarazo/niño nacido por ciclo o por transferencia.
- Riesgo de embarazo múltiple.

- Política de cancelación del ciclo.
- Destino de los preembriones criopreservados sobrantes.
Además, informar que para selección HLA:
- Las parejas deberían remitirse a un centro especializado en el trasplante de células madre donde puedan ser informados de las posibilidades de éxito del trasplante de células madre de cordón umbilical, alternativas disponibles y posibles complicaciones asociadas al trasplante.

Consentimiento informado

El consentimiento informado del diagnóstico genético en DGP que se acompaña de la hoja de información al paciente debe contener:

- Objetivos del DGP.
- Procedimientos del proceso de FIV-DGP, riesgos y limitaciones.
- Probabilidad de obtención de embriones sin la mutación/anomalía cromosómica familiar.
- Aproximación a las probabilidades de éxito en el centro de RHA solicitante de cada caso en particular.
- Información relativa a los aspectos jurídicos y éticos de las técnicas que van a ser empleadas.
- Posibilidad de revocación del consentimiento en cualquier momento.
- Debe quedar explícito que la pareja decide llevar a cabo el DGP como la opción terapéutica que más se ajusta a sus necesidades y puntos de vista, y aceptan los riesgos y complicaciones de los que han sido informados previamente.
- Firma por parte de los pacientes y del médico.

Procedimiento

Un ciclo de FIV-ICSI/DGP comprende las siguientes fases:

- Técnicas de fecundación *in vitro* (FIV-ICSI). Proceso de estimulación.
- Biopsia de corpúsculos polares y embriones.
- Análisis de ADN de células embrionarias.
- Transferencia de embriones.

Fecundación *in vitro* /inyección intracitoplasmática de espermatozoides

Existen 2 variantes: FIV convencional e ICSI. Para un proceso de DGP es recomendable realizar FIV-ICSI.

Cualquiera de las técnicas requiere la estimulación del ovario de la paciente para obtener el mayor número de ovocitos posible, existiendo distintos protocolos de estimulación. Posteriormente, se produce el rescate de ovocitos mediante aspiración ecoguiada.

Biopsia embrionaria

Hay distintos tipos de biopsia: a) primer y segundo corpúsculo polar (CP) en cigotos ([Verlinsky y Kuliev, 2005](#); [PGDIS](#),

2008); b) una blastómera (6-8 células) (D+3); y c) varios blastocistos del trofoectodermo (D+5). La legislación permite la biopsia en cualquiera de estos estadios de desarrollo.

Se han publicado guías de buenas prácticas para realizar la biopsia embrionaria (PGDIS, 2008; Harton et al., 2011a, b, c). La biopsia debe ser realizada por personal cualificado, en el menor tiempo posible, siendo recomendable que una persona realice la biopsia y otra los cambios y lavados embrionarios (Harton et al., 2011d).

Biopsia de corpúsculo polar

- El primer CP deber ser biopsiado entre 36-42 h post-hCG (Verlinsky et al., 1990).
- La biopsia del primer y segundo CP se puede realizar simultáneamente entre las 9 y las 22 h postinseminación (Verlinsky et al., 1997).
- No debe ser utilizada para casos de DGP molecular de origen paterno.

Biopsia de blastómeras (D+3)

- Entre las 64-68 h postinseminación.
- Biopsiar una sola célula, con núcleo visible, de embriones que hayan iniciado la tercera división (6 o más células).
- El diagnóstico puede ser obtenido en una o 2 células analizadas independientemente. La biopsia de una segunda célula es aceptable cuando la primera se ha perdido o en aquellos diagnósticos con una baja fiabilidad (por ejemplo enfermedades mitocondriales); si es necesario obtener una segunda célula se recomienda utilizar el primer orificio practicado.

Biopsia en blastocisto

- Hay varios métodos de biopsia de trofoectodermo (Kokkali et al., 2005; McArthur et al., 2005) que incluyen rotura de zona pelúcida (ZP) en D+3 y biopsia en D+5 o realizarlo todo en D+5.
- Se recomienda el uso de medios libres de Ca^{2+} y Mg^{2+} (Harper et al., 2010).
Pueden utilizarse cualquiera de los métodos de rotura de la ZP descritos: mecánico, químico y láser, aunque ni el método químico ni el láser son recomendables para la biopsia de primer corpúsculo polar. Cualquiera de los 3 métodos debe evitar 2 aberturas en la ZP, orificios superiores a los 30-35 μm o un excesivo calentamiento por láser mal alineado.
- Las células biopsiadas deben mantenerse intactas para favorecer la obtención de resultados.
- El embrión y la célula biopsiada deben estar identificados a lo largo de todo el proceso.
- Si las células van a enviarse a un laboratorio externo para su análisis genético, es obligatorio seguir las recomendaciones del laboratorio externo.
- Los embriones deben ser lavados tras la biopsia para eliminar trazas de ácido o medio de biopsia.
- Se recomienda que el proceso de *tubing* esté protocolizado para minimizar el riesgo de contaminación o pérdida de la biopsia.
- Es recomendable recoger la biopsia con la mínima cantidad de medio posible y depositarla en un tubo de PCR.

- Se recomienda que cada persona que realice el *tubing* haya conseguido amplificación correcta en al menos 20 blastómeros. La tasa de fallo de amplificación de ADN por WGA aceptada es menor del 2-3%.
- Los laboratorios en los que se realiza el *tubing* deben estar físicamente separados del laboratorio de preamplificación y del laboratorio de postamplificación. Los reactivos preamplificación se deben mantener separados de las fuentes de ADN, y todo el trabajo de preamplificación debe ser realizado en condiciones de máxima asepsia, con el uso de campanas de flujo, incluyendo bata quirúrgica, gorro, mascarilla, calzas y guantes.

Diagnóstico de enfermedades moleculares mediante reacción en cadena de la polimerasa

Esta técnica se emplea para el estudio de enfermedades monogénicas mediante estudio directo de la mutación, o mediante un estudio indirecto, utilizando marcadores moleculares asociados a la enfermedad.

1. Antes de la puesta en marcha del DGP en parejas portadoras de enfermedades de transmisión mendeliana es necesario:
 - Confirmar las mutaciones en el ADN del progenitor portador o afecto. Si se va a realizar diagnóstico mediante estudio indirecto, confirmar la validez de los marcadores en los portadores o afectados.
2. Los protocolos deben ser optimizados para cada enfermedad, estar escritos y cumplir los siguientes requisitos:
 - Testar un mínimo de 50 células para establecer la eficiencia de amplificación y la tasa de fallo de amplificación de uno de los alelos (ADO, *Allele Drop Out*).
 - Si se analizan blastómeros se recomienda el estudio de al menos 10 y, si es posible, estudiar diferentes blastómeros del mismo embrión para corroborar el genotipo cuando se utilizan marcadores STR.
 - Los protocolos tienen que garantizar una tasa de amplificación superior al 90% de las células analizadas. Las tasas de ADO serán inferiores al 10%.
 - Se debe incluir el mismo número de blancos (> 50) para establecer la tasa de contaminación, que debe ser inferior al 5%.
 - Usar controles internos en la PCR del DGP que debería incluir controles positivos (100 pg de ADN y/o células únicas control). Para cada blastómero analizado debe analizarse un blanco (medio en el que se ha lavado el blastómero). Se recomienda el uso de al menos 3 medios de lavado y un control del reactivo (sin ADN ni medio de lavado).
 - Fiabilidad del 95% y tasa de embriones no informativos no mayor del 10%.
3. Informe genético:
 - Resultado confirmado por 2 genetistas.
 - Informe claro, interpretable por el laboratorio de FIV y explicado a los pacientes.
 - Además de la técnica empleada, marcadores genéticos utilizados y resultados de cada embrión se informará de las limitaciones de la técnica.
 - Recomendar, en caso de embarazo, la realización de DP.

Fijación para hibridación fluorescente *in situ*

- Cada operario habrá fijado correctamente al menos 50 blastómeras.
- El proceso debe estar protocolizado. Se puede utilizar metanol: ácido acético (Tarkowski, 1966), Tween/HCl (Coonen et al., 1994) o la combinación de ambos (Dozortsev y McGinnis, 2001). Debe asegurarse una buena morfología del núcleo, alta calidad de hibridación y porcentaje menor del 5% de pérdidas nucleares.
- Utilizar un sistema claro para la identificación de las blastómeras en las extensiones.

Diagnóstico de reordenamientos cromosómicos/sexado mediante hibridación fluorescente *in situ*

- Se puede utilizar cualquiera de los métodos de FISH publicados (Delhanty y Conn, 2001; Harper y Wilton, 2001).
- Se recomienda el uso de sondas comerciales. Se acepta el uso de sondas de fabricación propia si se realiza una validación previa en linfocitos de líneas celulares normales y trisómicas. Debe garantizarse una eficacia del 95%.
- Los protocolos deben contener la metodología, las sondas y los criterios de interpretación de señales de hibridación empleados.
- Se recomienda realizar de forma periódica controles de calidad en los aparatos y reactivos utilizados.
- Debe realizarse, de forma periódica, confirmación del diagnóstico en los preembriones descartados como anormales para estimar el riesgo de error de diagnóstico.
- Las señales FISH deben ser interpretadas por 2 observadores independientes (Magli et al., 2001).
- Si el resultado es discordante se recomienda el reanálisis de la célula con sondas del mismo cromosoma, pero diferente locus, y si no es posible, dar resultado de no valorable.
- Para la *determinación del sexo* embrionario, en el caso de enfermedades ligadas al cromosoma X, se recomienda utilizar, además, al menos una sonda de un cromosoma autosómico como control.
- En el caso de *portadores de reordenamientos cromosómicos* hay que tener en cuenta:
 - Se debe evaluar cada caso de forma independiente, realizar un estudio de todas las segregaciones posibles y diseñar una estrategia con la combinación de sondas que refleje todas estas segregaciones.
 - La estrategia diseñada debe ser testada en célula única de los portadores del reordenamiento para validar el uso de esa estrategia diseñada.
 - Se recomienda el uso de sondas subteloméricas y/o específicas de locus en caso de dudas en la interpretación de las señales.
 - En las translocaciones X-autosoma (mayoritariamente mujeres) se debe tener en cuenta el portador y el posible sexo embrionario. En estos casos el diseño con sondas de FISH implica la utilización de más de 3 sondas o 2 rondas de hibridación, realizando una primera selección embrionaria con sondas para los cromosomas sexuales y en una segunda ronda dirigida a la translocación.

Riesgos y limitaciones del diagnóstico genético preimplantacional mediante hibridación fluorescente *in situ*

- En algunos casos problemas durante la biopsia, fijación e hibridación *in situ*, pueden ocasionar la ausencia de diagnóstico en algunos de los preembriones analizados. Se recomienda, entonces, la biopsia de una nueva célula o la rehibridación con sondas específicas, con el fin de minimizar este valor.
- El DGP mediante FISH tiene un riesgo estimado del 8% de diagnóstico erróneo. Por las limitaciones de la técnica no se podrán detectar anomalías en mosaico, disomía uniparental, la inactivación del cromosoma X, ni se podrá distinguir entre preembriones cromosómicamente normales y preembriones portadores de alteraciones estructurales equilibradas.

Informe genético:

- Breve resumen del proceso realizado.
- Embriones estudiados.
- Resultado final de cada embrión estudiado.
- Interpretación de los resultados.
- Limitaciones de la técnica.
- Recomendar, en caso de embarazo, la realización de DP.

Diagnósticos mediante técnica de arrays de hibridación genómica comparada y de secuenciación masiva

- Utilización de un sistema claro para la identificación de las muestras.
- Se recomienda el uso de arrays de hibridación genómica comparada (*array CGH*, *Comparative Genomic Hybridization*) o paneles de secuenciación masiva (NGS, *Next Generation Sequencing*) comerciales que hayan sido validadas para célula única y en los que se haya definido la fiabilidad para su uso en la detección de aneuploidías y/o desequilibrios cromosómicos.
- Los protocolos de amplificación deben garantizar una eficacia superior al 90%.
- El laboratorio dispondrá de todo el aparataje necesario para la ejecución de la técnica, incluyendo escáner y software adecuados.
- La metodología empleada estará especificada en los protocolos escritos del laboratorio.
- Es recomendable realizar confirmación periódica del diagnóstico en los embriones descartados como anormales para estimar el riesgo de error de diagnóstico.
- Informe genético:
 - Revisado y consensado por 2 genetistas.
 - Indicación.
 - Embriones estudiados.
 - Descripción del *array* o panel de NGS utilizado y metodología.
 - Resultados de cada blastómero estudiado.
 - Interpretación de cada resultado: normal, desequilibrado, apto para la transferencia, no apto, no concluyente, etc.
 - Interpretación clínica y observaciones.

- Especificar limitaciones, fiabilidad y parámetros de decisión de la técnica y el margen de error de estos estudios.
- Recomendar, en caso de embarazo, la realización de DP.

Transferencia de embriones

- El criterio de selección para la transferencia de los embriones analizados debe basarse, en primer lugar, en el resultado del diagnóstico genético y, como criterio secundario, en los criterios de calidad embrionaria.
- Si se hace DGP con biopsia en día +3, se podrá, generalmente, realizar la transferencia en el mismo ciclo. Por el contrario, si la biopsia se realiza en estadio de blastocisto, muy probablemente se deberán congelar los embriones hasta la obtención del resultado del estudio genético, transfiriéndose en ciclo posterior.
- En el caso de PGS es posible la transferencia de embriones sin diagnóstico, aunque los pacientes deben ser informados de la falta de resultado y, por tanto, del riesgo de una posible aneuploidía.

Congelación de embriones sobrantes

- Los centros de reproducción asistida que realicen DGP deben contar con un programa de congelación embrionaria.
- Deben criopreservarse los embriones no transferidos carentes de alteración genética y que tengan buena calidad embrionaria (óptimo estadio de división, menos del 10% de fragmentación y ausencia de multinucleación).
- La vitrificación de los embriones debe realizarse en estadio de blastocisto, incluso cuando la biopsia se ha realizado en D+3, con el fin de evitar la pérdida de alguna blastómera adicional a través del orificio de la biopsia durante el proceso de vitrificación/desvitrificación. La transferencia de embriones congelados, procedentes de un ciclo con DGP, no difiere en nada de la transferencia de embriones congelados de un ciclo de FIV.

Controles de calidad

Es recomendable que el centro/laboratorio/unidad que realice el estudio genético, además de realizar los controles de calidad internos mencionado en los apartados anteriores, tenga implantado o ponga en marcha un sistema integral de gestión de calidad conforme a las normas ISO. Asimismo, se recomienda la participación en programas externos de evaluación de la calidad que actualmente es ofrecido por *Cytogenetic European Quality Assessment Service* y *United Kingdom National External Quality Assessment Service*.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Coonen, E., Dumoulin, J.C., Ramaekers, F.C., Hopman, A.H., 1994. Optimal preparation of preimplantation embryo interphase nuclei for analysis by fluorescence in-situ hybridization. *Human Reproduction* 9, 533–537.
- Delhanty, J., Conn, C., 2001. Preimplantation genetic diagnosis of chromosome abnormalities: Specific chromosomal rearrangements and age-related aneuploidy. En: Harper, J., Delhanty, J., Handyside, A. (Eds.), *Preimplantation genetic diagnosis*. John Wiley & Sons, UK, pp. 203–224.
- Dozortsev, D.I., McGinnis, K.T., 2001. An improved fixation technique for fluorescence in situ hybridization for preimplantation genetic diagnosis. *Fertility and Sterility* 76, 186–188.
- Geraedts, J.P., Harper, J., Braude, P., Sermon, K., Veiga, A., Gianaroli, L., et al., 2001. Preimplantation genetic diagnosis (PGD), a collaborative activity of clinical genetic departments and IVF centres. *Prenatal Diagnosis* 21, 1086–1092, Erratum in: *Prenat Diagn* 2002 May;22(5):451. Kanavakis E [corrected to Traeger-Synodinos JJ].
- Gianaroli, L., Plachot, M., van Kooij, R., Al-Hasani, S., Dawson, K., DeVos, A., et al., 2000. ESHRE guidelines for good practice in IVF laboratories. Committee of the Special Interest Group on Embryology of the European Society of Human Reproduction and Embryology. *Human Reproduction* 15, 2241–2246.
- Harper, J., Wilton, L., 2001. FISH and embryo sexing to avoid X-linked disease. En: Harper, J., Delhanty, J., Handyside, A. (Eds.), *Preimplantation genetic diagnosis*. John Wiley & Sons, UK, pp. 191–202.
- Harper, J.C., Coonen, E., de Rycke, M., Harton, G., Moutou, C., Pehlivan, T., et al., 2010. ESHRE PGD Consortium data collection X: Cycles from January to December 2007 with 371 pregnancy follow-up to October 2008. *Human Reproduction* 25, 2685–2707.
- Harton, G., Braude, P., Lashwood, A., Schmutzler, A., Traeger-Synodinos, J., Wilton, L., et al., 2011a. ESHRE PGD consortium best practice guidelines for organization of a PGD centre for PGD/preimplantation genetic screening. *Human Reproduction* 26, 14–24.
- Harton, G.L., Harper, J.C., Coonen, E., Pehlivan, T., Vesela, K., Wilton, L., 2011b. ESHRE PGD consortium best practice guidelines for fluorescence in situ hybridization-based PGD. *Human Reproduction* 26, 25–32.
- Harton, G.L., de Rycke, M., Fiorentino, F., Moutou, C., Sen-Gupta, S., Traeger-Synodinos, J., et al., 2011c. ESHRE PGD consortium. ESHRE PGD consortium best practice guidelines for amplification-based PGD. *Human Reproduction* 26, 33–40.
- Harton, G.L., Magli, M.C., Lundin, K., Montag, M., Lemmen, J., Harper, J.C., 2011d. ESHRE PGD consortium/embryology special interest group-best practice guidelines for polar body and embryo biopsy for preimplantation genetic diagnosis/screening (PGD/PGS). *Human Reproduction* 26, 41–46.
- Kokkali, G., Vrettou, C., Traeger-Synodinos, J., Jones, G.M., Cram, D.S., Stavrou, D., et al., 2005. Birth of a healthy infant following trophectoderm biopsy from blastocysts for PGD of beta-thalassemia major. *Human Reproduction* 20, 1855–1859.

- Magli, M.C., Gianaroli, L., Ferraretti, A.P., 2001. [Chromosomal abnormalities in embryos](#). *Molecular and Cellular Endocrinology* 183 (Suppl 1), S29–S34.
- McArthur, S.J., Leigh, D., Marshall, J.T., de Boer, K.A., Jansen, R.P., 2005. [Pregnancies and live births after trophoctoderm biopsy and preimplantation genetic testing of human blastocysts](#). *Fertility and Sterility* 421, 1628–1636.
- Preimplantation Genetic Diagnosis International Society (PGDIS), 2008. [Guidelines for good practice in PGD: Programme requirements and laboratory quality assurance](#). *Reproductive Biomedicine Online* 16, 134–147.
- Tarkowski, A.K., 1966. [An air-drying method for chromosome preparations from mouse eggs](#). *Cytogenetics* 5, 394–400.
- Verlinsky, Y., Ginsberg, N., Lifchez, A., Valle, J., Moise, J., Strom, C.M., 1990. [Analysis of the first polar body: Preconception genetic diagnosis](#). *Human Reproduction* 5, 826–829.
- Verlinsky, Y., Rechitsky, S., Cieslak, J., Ivakhnenko, V., Wolf, G., Lifchez, A., et al., 1997. [Preimplantation diagnosis of single gene disorders by two-step oocyte genetic analysis using first and second polar body](#). *Biochemical and Molecular Medicine* 62, 182–187.
- Verlinsky, Y., Kuliev, A., 2005. [Atlas of preimplantation genetic diagnosis](#). Taylor and Francis, London and New York, pp. 288.
- Winston, R.M., Hardy, K., 2002. [Are we ignoring potential dangers of *in vitro* fertilization and related treatments?](#) *Nature Cell Biology* 4 (Suppl), s14–s18.