EFICACIA DEL DIAGNÓSTICO PRENATAL NO INVASIVO POR CÉLULAS FETALES LIBRES EN SANGRE MATERNA 1990-2014. REVISIÓN SISTEMÁTICA

María del Rosario Forero Isaza. MD. Esp

Ana María Pérez Zauner. MD.

Nicole Valderrama Beltrán. MD

Tutor: Jenny Amaya Amaya. MD. Esp

Docente: Carlos Trillos. MD. Esp

Universidad del Rosario

UNIVERSIDAD CES

Un Compromiso con la Excelencia

INSTITUCIONES

- Colegio Mayor Nuestra Señora del Rosario. Facultad de Medicina. Departamento de Epidemiología.
- Universidad CES: Facultad de Medicina. Departamento de Epidemiología

AGRADECIMIENTOS

- JENNY CAROLINA AMAYA, MD, MsC:
  - Médico Colegio Mayor nuestra señora del Rosario, Especialista Epidemiología Universidad el Rosario – Universidad del CES:

- CARLOS ENRIQUE TRILLOS PEÑA, MD, MSC
  - Médico Universidad Javeriana. Especialista Gerencia de Servicios de Salud, Universidad Jorge Tadeo Lozano. Especialista en Epidemiología. Universidad del Rosario – Universidad CES. Especialista Gerencia en Salud Ocupacional, Universidad del Rosario – Universidad CES. Magíster en Epidemiología, Universidad CES.

TABLA DE CONTENIDOS

1.Resumen
2.Introducción
3.Justificación
4.Problema
5.Pregunta de Investigación
6.Marco Teórico
7.Propósitos
8.Objetivos
9.Metodología
10.Plan de análisis
11.Aspectos Éticos
12.Resultados
13.Discusión
14.Conclusiones
15.Referencias
16.Anexos

http://cool-3d-pictures.blogspot.com/2009/06/3d-figures.html

RESUMEN

SYSTEMATIC REVIEW: EFFECTIVENESS OF NON INVASIVE PRENATAL DIAGNOSIS THROUGH FREE FETAL BLOOD CELLS IN MATERNAL BLOOD 1990-2014_

Pérez Ana María, Forero María Rosario, Valderrama Nicole

BACKGROUND: Isolation of free fetal cells or fetal DNA in maternal blood opens a window of possibilities for the noninvasive diagnosis of monogenic and chromosomal disorders, and in addition it allows the identification of fetal sex and RH. Currently, there are many studies that evaluate the effectiveness of these methods, showing cost-effective and less risky results than the gold standard. This paper describes the evidence found for noninvasive prenatal diagnosis after conducting a systematic review of the literature.

OBJECTIVES: The aim of this study was to collect evidence that meets the search criteria on the matter of noninvasive fetal diagnosis through free fetal cells in maternal blood, to determine its diagnostic utility.

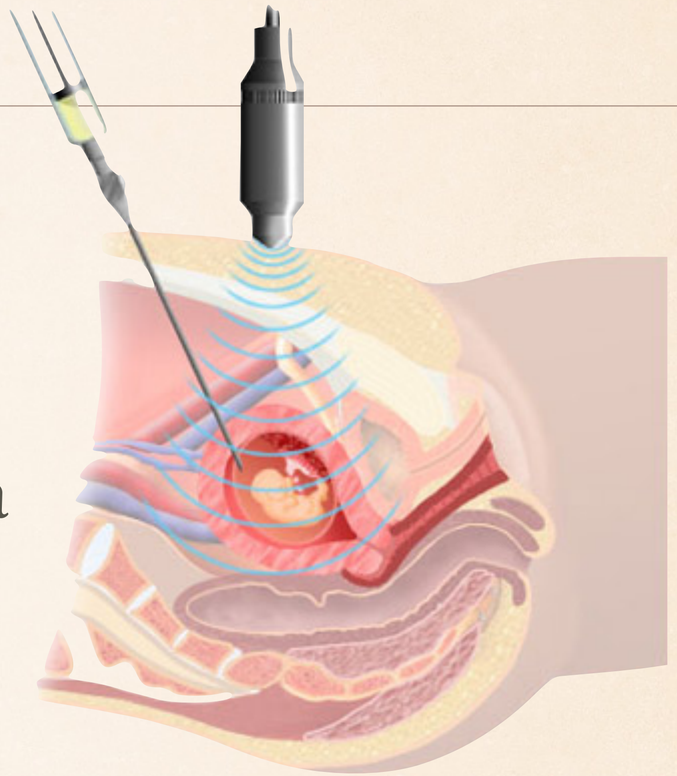
METHODS: A systematic literature review was conducted to determine whether noninvasive prenatal diagnosis of fetal cells in maternal free blood is effective as a diagnostic method.

RESULTS: 5,893 articles that met the search criteria were found; 67 met the inclusion criteria: 49.3% (33/67) were of cross-sectional studies, 38.8% (26/67) for cohort and 11.9% (8/67) case-control studies. Overall sensitivity, specificity and type of test were obtained.

CONCLUSION: In this systematic review, evidence was found that noninvasive prenatal diagnosis is a feasible, reproducible and sensitive technique for fetal diagnosis, avoiding the risk of an invasive diagnosis.

INTRODUCCIÓN

- 1940; Amniocentesis y cultivos celulares
- 1950: Evidencia de trofoblastos en sangre materna
- 1980: Biopsia de vellosidades coriónicas (<14s).
- Ambos procedimientos invasivos con riesgo de pérdida gestacional.



http://img.bebesymas.com/2008/07/amnioei_0023.jpg

Dey, M., Agarwal, S., & Sharma, S. (2013). NON-INVASIVE PRENATAL DIAGNOSIS: A REVIEW. *International Journal of Pharmaceutical Sciences & Research*, *4*(4).

INTRODUCCIÓN

- Tamizaje Genético conjugado:
  - Pruebas hormonales en sangre materna.
  - Medidas variables del tamizaje genético.
  - Uso de Software para determinación de riesgo.

- Gold estándar diagnóstico:
  - Amniocentesis
    - Riesgo de Perdida: 0.5%
  - Biopsia de vellosidades coriónicas
    - Riesgo Perdida: 0.5%-1%

http://www.asociadosenreproduccion.com/img/tamizaje1.jpg

Dey, M., Agarwal, S., & Sharma, S. (2013). NON-INVASIVE PRENATAL DIAGNOSIS: A REVIEW. *International Journal of Pharmaceutical Sciences & Research*, *4*(4).

INTRODUCCIÓN

http://1.bp.blogspot.com/-SlccrSKmIzY/UORYQguuM4I/AAAAAAAARZY/v3hsmvjfjoc/s1600/sn-fetaldna.jpg

- 1990: Descubrimiento de los ácidos desoxirribonucleicos (ADN) libres en el plasma materno
- 1997: Primer reporte sobre el aislamiento de ADN fetal en sangre materna
- Se abre una ventana de posibilidades diagnósticas no invasivas.

INTRODUCCIÓN

- Diagnóstico prenatal no invasivo:
  - Es el estudio de las características genéticas de un feto por medio de material obtenido en sangre materna ya sea por células fetales o ADN fetal libre.
  - La concentración de células fetales en sangre materna aumentan de acuerdo a la edad gestacional (rangos de 2-6 células fetales por ml de sangre materna).
  - Detección posible desde la semana 7-9 de gestación
  - Técnica con alta sensibilidad y especificidad para T18 y T21.

- LO, Y., TEIN, M., LAU, T., HAINES, C., LEUNG, T., POON, P., et al. (1998). Quantitative Analysis of Fetal DNA in Maternal Plasma and Serum: Implications for Noninvasive Prenatal Diagnosis. The American Journal of Human Genetics, 62(4), 768–775. http://doi.org/10.1086/301800
- Hill, M., Finning, K., Martin, P., Hogg, J., Meaney, C., Norbury, G., ... & Chitty, L. S. (2011). Non-invasive prenatal determination of fetal sex: translating research into clinical practice. Clinical genetics, 80(1), 68-75.

JUSTIFICACIÓN

- 4.000.000 diagnósticos prenatales en EEUU.
- Tamizaje Genético:
  - Tasa detección 82-87% (ecográfico) y 95% (combinado)
- Diagnóstico fetal no invasivo:
  - Tasa detección 99%
  - Falsos positivos 1%

Norton, M. E., Brar, H., Weiss, J., Karimi, A., Laurent, L. C., Caughey, A. B., ... & Song, K. (2012). Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. *American journal of obstetrics and gynecology*, *207*(2), 137-e1.
Snijders RJ, Noble P, Sebire N, et al. UK multicentre Project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10–14 weeks of gestation. Fetal
Medicine Foundation First Trimester Screening Group. Lancet 1998;352:343–6.

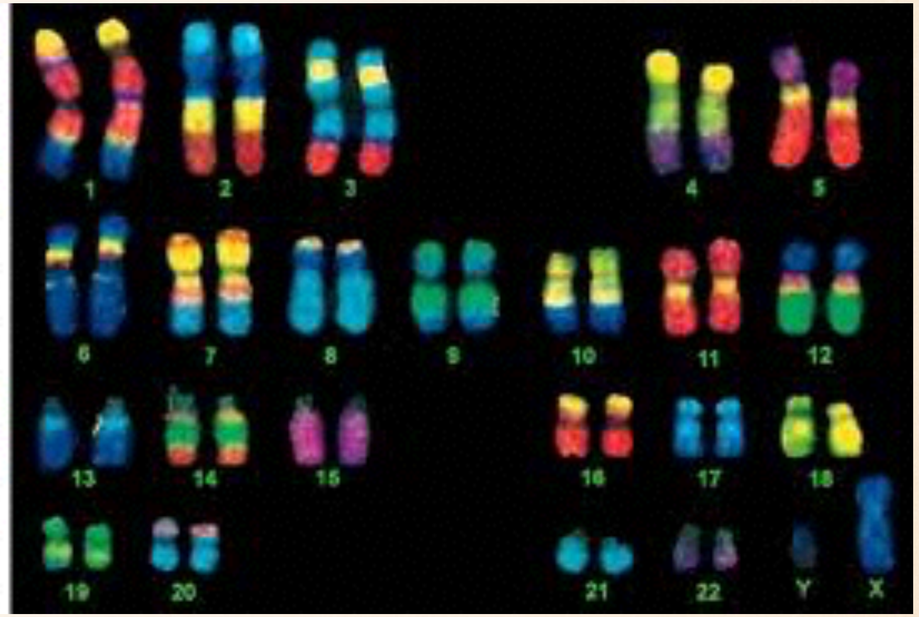
JUSTIFICACIÓN

- Enfermedades Genéticas en Colombia: 30-52/1.000:
  - Multifactoriales: 50%
  - Cromosómicas
  - Monogénicas
    - 4,341 patologías
    - 1671 fenotipos sospechosos

1. Schaeffer, A. J., Chung, J., Heretis, K., Wong, A., Ledbetter, D. H., & Martin, C. L. (2004). Comparative genomic hybridizationa Provincia de Ubaté, Colombia. 015.). Tiene una mortalidad en niños menores de 11.4 por cada 1,000 nacidos para e*The American Journal of Human Genetics*, *74*(6), 1168-1174.
2. (n.d.). Retrieved December 14, 2014, from http://omim.org/statistics/entry

JUSTIFICACIÓN

- Cromosomopatías autosómicas:
  - T21: 1.71/1.000 (1998-2005 en Colombia)
  - T18: 1/8.000(1998-2005 en Colombia)
  - T13: 1/10.000(1998-2005 en Colombia)
- Cromosomopatías sexuales:
  - Sindrome Klinefelter: 1/800
  - Sindrome Turner: 1/2.000
- Alteraciones estructurales
- Enfermedades Mendelianas



http://mumtazticloft.com/pigeongenetics.asp

1. VILLEGAS, J. B., & OBANDO, F. S. (2008). La carga de la enfermedad genética en Colombia, 1996-2025. *Univérsitas Médica*, *49*(1), 12-28.
2. Páez, P., Suárez-Obando, F., & Zarante, I. (2008). Enfermedades de origen genético en pacientes pediátricos hospitalizados en la Provincia de Ubaté, Colombia. *Revista de Salud Pública*, *10*(3), 414-422.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

- Durante más de 30 años el diagnóstico prenatal se realizó de manera invasiva e indirecta.
- Actualmente las mujeres han elegido posponer la maternidad (Edad media 20-39 años)
- El aislamiento de células fetales y ADN fetal de la sangre materna ha abierto una oportunidad para el diagnóstico fetal no invasivo; sin los riesgos del método invasivo.
  - Mayor número de patologías.
  - Toma de decisiones tempranas frente al curso del embarazo y de la vida de sus hijos

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la literatura médica, no se cuenta con información disponible en una revisión sistemática que recolecte el estado del arte de la literatura sobre las diferentes técnicas de diagnóstico y la eficacia para detectar los diferentes tipos de enfermedad

https://www.pinterest.com/leenleli/3d-white-guy/

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿EL USO CÉLULAS FETALES LIBRES EN SANGRE MATERNA ES UN MÉTODO DE DIAGNÓSTICO PRENATAL ÚTIL EN GESTANTES DE ALTO Y BAJO RIESGO?

PREGUNTAS SECUNDARIAS

- ¿Cuál es la información científica disponible acerca del uso de células fetales libres en sangre materna como método de diagnóstico prenatal?
- ¿Cuáles son las características de los estudios encontrados?
- ¿Cuáles son los tipos de técnicas realizadas para el diagnóstico prenatal no invasivo con células fetales libres en sangre materna?
- ¿Cuál es la correlación entre la clínica y las intervenciones diagnosticas realizadas?

MARCO TEÓRICO

- Siglo XX el Dr. Schmorl descubre trofoblastos en pulmones de pacientes que murieron por pre-eclampsia.
- 1969 Dr. J. Walknowska descubre células fetales en cultivos de linfocitos de sangre periférica materna.
- Migración transplacentaria de células fetales

• Sparks AB, Struble CA, Wang ET, et al. Noninvasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18. Am J Obstet Gynecol 2012;206:319.e1–9.

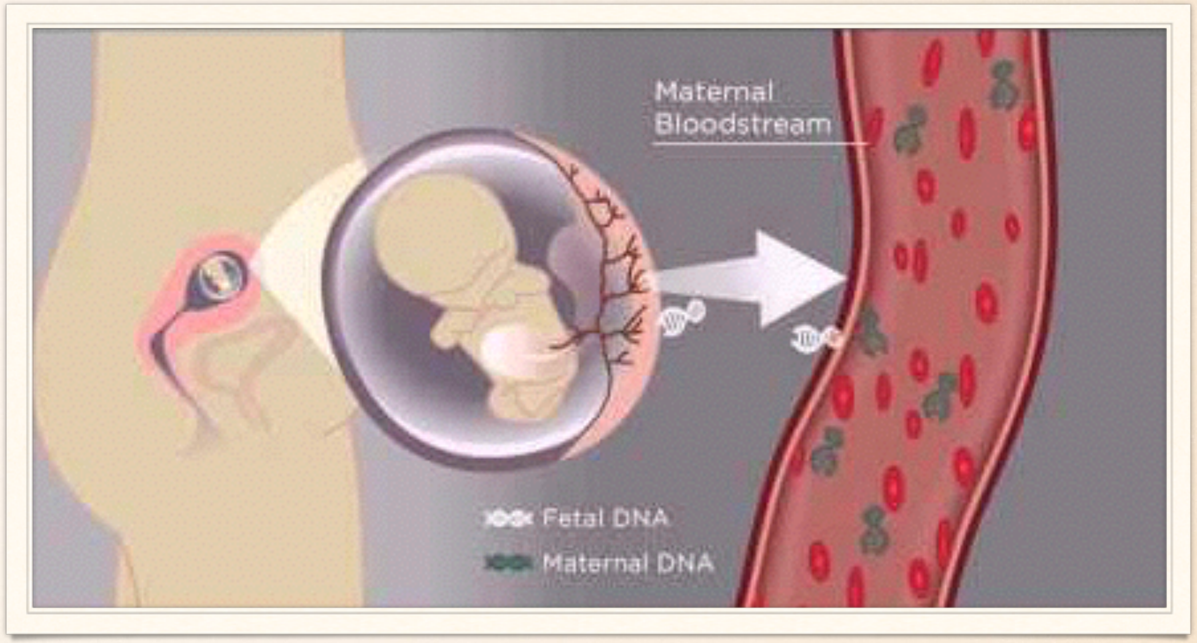
MARCO TEÓRICO

- 1980 identificación de células fluorescentes activadas en EEUU y magnética de células en Alemania.
- 1989 Dr. YMD Lo usó la PCR para detección de sexo fetal en sangre materna.
- 1990 Dr. Bianchi logró el aislamiento exitoso en el 75% para el cromosoma Y.
- 1993 Dr Simpson publica la identificación, aislamiento y análisis de células fetales en sangre materna.
- 1996 Dr. Cheung realizó el primer diagnóstico para enfermedades monogénicas.

- Lo, Y. M., Lo, E. S., Watson, N., Noakes, L., Sargent, I. L., Thilaganathan, B., & Wainscoat, J. S. (1996). Two-way cell traffic between mother and fetus: biologic and clinical implications. *Blood*, *88*(11), 4390-4395.
- Bianchi, D. W., Flint, A. F., Pizzimenti, M. F., Knoll, J. H., & Latt, S. A. (1990). Isolation of fetal DNA from nucleated erythrocytes in maternal blood. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *87*(9), 3279-3283.
- Simpson, J. L., & Elias, S. (1993). Isolating fetal cells from maternal blood: advances in prenatal diagnosis through molecular technology. *Jama*, *270*(19), 2357-2361.
- Lo, Y. D., & Chiu, R. W. (2007). Prenatal diagnosis: progress through plasma nucleic acids. *Nature Reviews Genetics*, *8*(1), 71-77.

MARCO TEÓRICO

- 6 células fetales/ml sangre materna.
- Identificación de ADN fetal libre en sangre materna.
- Concentración del 3.4 y 6.2 en primer y segundo trimestre.



https://www.healthtap.com/topics/how-long-does-it-take-to-get-amnio-results

- Lo, Y. M., Lo, E. S., Watson, N., Noakes, L., Sargent, I. L., Thilaganathan, B., & Wainscoat, J. S. (1996). Two-way cell traffic between mother and fetus: biologic and clinical implications. *Blood*, *88*(11), 4390-4395.
- Bianchi, D. W., Flint, A. F., Pizzimenti, M. F., Knoll, J. H., & Latt, S. A. (1990). Isolation of fetal DNA from nucleated erythrocytes in maternal blood. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *87*(9), 3279-3283.

MARCO TEÓRICO

- Diagnóstico prenatal:
  - Sexo
  - Monogénicas
  - Cromosomales
  - Rh
- Patologias Maternas:
  - Pre-eclampsia
  - RCIU
  - Resultado perinatal adverso

http://www.redorbit.com/news/health/1601566/prenatal_diagnosis_improved_by_microarray_analysis/

PROPÓSITO

- El diagnóstico fetal no invasivo actualmente se utiliza como alternativa para diagnóstico de alteraciones fetales.

- El propósito de esta revisión es evaluar si el diagnóstico prenatal no invasivo por células fetales libres en sangre materna es un método seguro, eficaz y con posibilidad de ser implementado en la práctica clínica, para realizar un diagnóstico prenatal temprano que permita ofrecer posibilidades de manejo y consejería a las mujeres embarazadas

OBJETIVO GENERAL

Reunir de forma exhaustiva y sistemática toda la evidencia, publicada o no, que cumpla los criterios de búsqueda y elegibilidad sobre el diagnóstico fetal no invasivo de células fetales libres en sangre materna para determinar la utilidad diagnóstica (i.e., definida como correlación del diagnóstico prenatal con el diagnóstico post-natal) del mismo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar la información contenida en la literatura sobre la población obstétrica de alto y bajo riesgo en cuanto a diagnóstico fetal no invasivo por células en sangre materna.
- Evaluar la calidad metodológica de cada uno de los estudios para obtener resultados y conclusiones globales de la técnica.
- Definir de acuerdo con los estudios, la eficiencia (i.e., correlación del diagnóstico prenatal con el diagnóstico post-natal) de la prueba para: sexo fetal, Rh fetal y alteraciones genéticas.
- Determinar la reproducibilidad de las técnicas usadas en el diagnóstico prenatal no invasivo de acuerdo a lo publicado en la literatura.
- Reportar los hallazgos descritos por medio de una revisión sistemática de la literatura.
- Identificar necesidades de investigación ulterior respecto a esta metodología de diagnóstico prenatal.

METODOLOGIA

DISEÑO

- Revisión sistemática
- Todos los estudios publicados en las bases de datos electrónicas:
  - Medline (EbscoHost) (hasta Agosto /2014)
  - Biblioteca virtual de la salud (BVS) (hasta Agosto/2014)
  - PubMed (hasta Agosto/2014)
  - Base de datos de la universidad del Rosario (EbscoHost) (hasta Agosto/2014)
  - Scopus (hasta Agosto/2014)
  - Cochrane Data Base (hasta Agosto/2014),

Sin restricción de fecha o idioma.

FORMULACIÓN HIPÓTESIS

Hipótesis Nula

El diagnóstico prenatal no invasivo con células fetales libres en sangre materna no tiene una adecuada correlación prenatal y post natal.

Hipótesis Alterna

El diagnóstico prenatal no invasivo con células fetales libres en sangre materna tiene una adecuada correlación prenatal y post natal.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

TIPOS DE ESTUDIOS:

Ensayos clínicos aleatorizados y no aleatorizados, estudios de cohortes, estudios corte transversal y estudios de casos y controles que evalúan la eficacia del método diagnóstico evaluado.

TIPOS DE PARTICIPANTES:

Estudios que incluyan pacientes en embarazo a quienes se les practique una prueba de diagnóstico fetal no invasivo en sangre materna antes de la semana 37 de gestación.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

TIPOS DE TÉCNICAS:

Estudios en los cuales se realice diagnóstico prenatal no invasivo fetal en sangre materna y se cotejen los resultados con pruebas de amniocentesis o BVC durante el embarazo o en el periodo postnatal.

MEDIDAS DE RESULTADO:

Desenlace Primario: Diagnóstico fetal acertado por medio de células fetales libres en sangre materna.

Desenlace Secundario: Determinación de las diferencias en la utilidad de los distintos métodos utilizados.

OTRAS CONSIDERACIONES:

No se realizó restricción de idioma o fecha en la búsqueda.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Estudios que cumplían con los criterios de inclusión, pero cuya información no permite concluir si la técnica es útil.
- Todo estudio que incluyó menos de 5 participantes.
- Estudios duplicados.
- Estudios que mostraron resultados en células o animales.
- Estudios para los cuales se tomó una muestra de células fetales en sangre materna, pero esta se utilizó para determinar patologías propias del embarazo o la madre y no para patologías fetales (i.e., diagnóstico de pre-eclampsia).
- Estudios con un puntaje en el CEDBM inferior a nivel 3 o que de los 10 criterios evaluados en según el QUADAS respondían *NO* en más de 8 ítems.
- Estudios del tipo revisiones sistemáticas y meta-análisis (i.e., sin embargo, se tuvieron en cuenta para revisar la bibliografía y para realizar la búsqueda activa).

FUENTES DE INFORMACIÓN

- Bases de datos electrónicas
  - Medline (EbscoHost) (hasta Agosto /2014)
  - Biblioteca virtual de la salud (BVS) (hasta Agosto/2014)
  - PubMed (hasta Agosto/2014)
  - Base de datos de la universidad del Rosario (EbscoHost) (hasta Agosto/2014)
  - Scopus (hasta Agosto/2014)
  - Cochrane Data Base (hasta Agosto/2014)
- EndNote
- Verificación Manual de referencias
- Contacto por correo a autores

TERMINOS DE BUSQUEDA

MeSH:

- "Maternal SerumScreeningTests"
- "Prenatal Diagnosis"
- "GeneticTesting"
- “DNA”
- “Cell-free system”
- “Fetus”

DeCS:

- Diagnóstico prenatal (Diagnóstico Pre-Natal)
- DNA (ADN)
- Sistema libre de células (Sistema livre de células)
- Feto
- Diagnóstico prenatal
- Pruebas de Tamizaje en Suero Materno
- Prueba genética

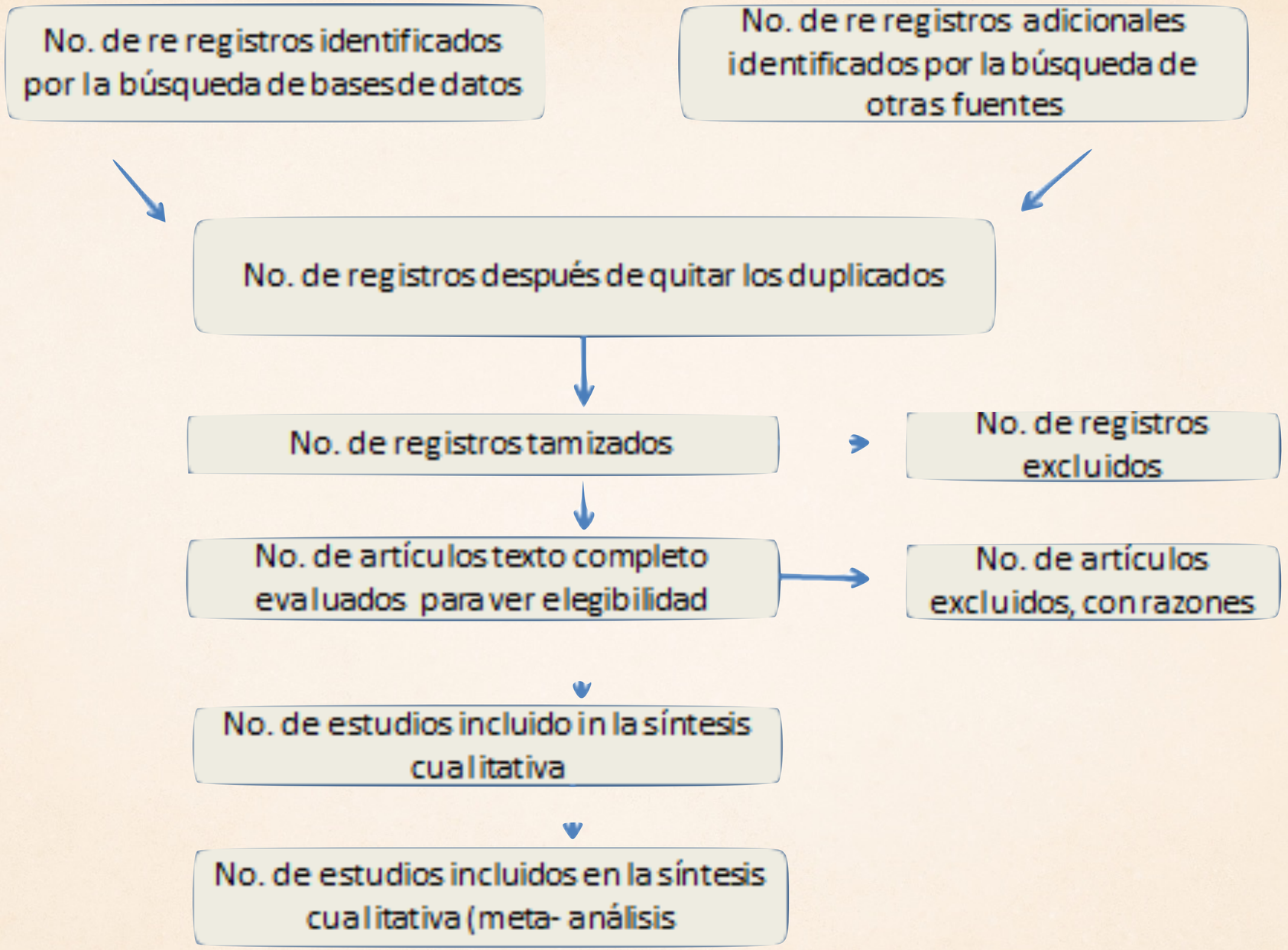
Key words/Palabras claves:

- DNA Fetal Libre Y Diagnóstico Prenatal No Invasivo.
- DNA Livre Fetal E Diagnóstico Pre-Natal Não Invasivo.
- Cell Free Fetal DNA And Prenatal Non Invasive Diagnosis.

PRE-SELECCIÓN DE ESTUDIOS

- Preliminar
  - Titulo
  - Abstract
- Dudas:
  - Articulo Completo
- Excluidos:
  - Revisión por los investigadores

http://pad.loveitsomuch.com/?refer=fs


No. de re registros identificados por la búsqueda de bases de datos
No. de re registros adicionales identificados por la búsqueda de otras fuentes
No. de registros después de quitar los duplicados
No. de registros tamizados
No. de registros excluidos
No. de artículos texto completo evaluados para ver elegibilidad
No. de artículos excluidos, con razones
No. de estudios incluido in la síntesis cualitativa
No. de estudios incluidos en la síntesis cualitativa (meta- análisis

PROCESO DE RECOLECCION DE DATOS

- Referencia Completa
- Número de identificación de acuerdo a la búsqueda inicial
- Autor (Apellido. Inicial primer nombre)
- Año de publicación del estudio
- Tipo de Estudio
- Nivel de evidencia CEDBM
- Nivel de evidencia QUADAS2
- Si es o no multicéntrico
- País del estudio
- Población del estudio (alto o bajo riesgo obstétrico)
- Año en el que se realizó el estudio
- Edad gestacional de inclusión
- Toma de tamizaje genético prenatal
- Toma de diagnóstico invasivo
- Tipo de diagnóstico invasivo
- Técnica para extracción de ADN fetal
- Técnica para el análisis del ADN fetal
- Información adicional sobre la técnica
- Número total de muestras
- Muestras no Incluidas
- Porqué la no inclusión de la muestras
- Tipo de diagnóstico
- Sexo Fetal
- RH fetal
- Alteraciones cromosómicas
- Alteraciones monogénicas
- Sensibilidad del estudio
- Especificidad del estudio
- Total de muestras incluidas
- Correlación post natal
- Valor predictivo negativo del estudio
- Valor predictivo positivo del estudio

VARIABLES

VARIABLES DEPENDIENTES

- Correlación prenatal y postnatal

VARIABLES INDEPENDIENTES

- Datos característicos del estudio
- Población de alto o bajo riesgo
- Toma de tamizaje genético
- Toma de pruebas invasivas
- Tipo de diagnóstico invasivo
- Edad gestacional de la toma

VARIABLES DE CONFUSIÓN

- Diferentes tipos de técnicas de extracción y de tipificación del ADN fetal.
- Número total de muestras

EVALUACIÓN DE CALIDAD

Criterios QUADAS-2	
1.	Fue el espectro de los pacientes representativo de los pacientes que recibirán esta prueba en la práctica médica?
2.	Fueron los criterios de selección claramente descritos?
3.	Es el tiempo entre el estándar de referencia y la prueba a evaluación suficiente para asegurar que se puede analizar la condición sin que esta sufra cambios?
4.	Recibió verificación con el GOLD estándar toda la muestra o una selección aleatoria de la misma?
5.	Recibieron los pacientes el test estándar sin importar los resultados del estudio en investigación?
6.	Fue descrito el test de prueba lo suficiente para poder determinar su replicabilidad?
7.	Se interpretaron los resultados de las pruebas diagnósticas sin conocer los resultados del estándar de referencia diagnóstico?
8.	Se posee la misma cantidad de datos clínicos disponibles cuando se interpretan los resultados del test y en la práctica clínica?
9.	Reportaron los resultados no analizados o intermedios?
10.	Se determinó por qué la no inclusión de pacientes?

EVALUACIÓN DE CALIDAD

PREGUNTA	NIVEL 1	NIVEL 2	NIVEL 3	NIVEL 4	NIVEL 5
Que tan común es el problema?	Encuesta, muestra aleatoria local y actual (oo censo)	Revisión sistemática de encuestas que permiten pertinencia a situaciones locales**	Muestra local no aleatorizada**	Serie de casos **	N/A
Es este diagnóstico o examen de monitoreo adecuado? (Diagnóstico)	Revisión sistemática o estudios cross - sectional que comparan consistentemente con la referencia estándar y enmascaramiento.	Estudios individuales cross-sectional que comparan consistentemente con la referencia estándar y enmascaramiento	Estudios no consecutivos, o estudios sin estándar de referencia aplicado consistentemente.	Estudios de casos-control o aquellos que tengan pobre o no tengan referencia con el estándar**	Razonamiento como mecanismo de base.
Qué pasará si no se agrega la terapia? (pronóstico)	Revisión sistemática o estudios de cohorte de inicio.	Estudios de cohorte de inicio	Estudios cohorte o un brazo control de un estudio aleatorizado.	Serie de casos, casos-control, o con pobre calidad en estudios de pronóstico tipo cohorte **	N/A
Esta intervención ayuda? (beneficios de tratamiento)	Revisión sistemática con ensayos aleatorizados o ensayos n-de-1	Estudios aleatorizados u observacionales con un efecto del estudio dramático	Estudios no aleatorizados controlados tipo cohorte o de seguimiento **	Serie de casos, casos-control o estudios controlados históricos**	Razonamiento como mecanismo de base.
Cuáles son los eventos adversos comunes? (eventos adversos del tratamiento)	Revisión sistemática de estudios aleatorizados, revisión de casos y controles anidados, ensayos n-de-1 con el paciente a quien se le está haciendo la pregunta o estudios observacionales con un efecto dramático.	Estudios individuales aleatorizados o (excepcionalmente) observacionales con un efecto dramático.	Estudios no aleatorizados controlados tipo cohorte o de seguimiento (vigilancia post-mercadeo) que proveen suficiente muestra para descartar eventos adversos comunes. (Para aquellos eventos adversos de larga evolución, el seguimiento debe ser adecuado)	Serie de casos, casos-control o estudios controlados históricos**	Razonamiento como mecanismo de base.
Cuáles son los eventos adversos raros? (eventos adversos del tratamiento)	Revisión sistemática de ensayos aleatorizados o n-de-1.	Estudios aleatorizados o (excepcionalmente) observacionales con un efecto dramático.			
Es este examen (la detección temprana) necesaria? (tamizaje)	Revisión sistemática de ensayos aleatorizados.	Estudios aleatorizados	Estudios no aleatorizados tipo cohorte/ estudios de seguimiento **	Serie de casos, casos-control o estudios controlados históricos**	Razonamiento como mecanismo de base.

SESGOS

- Riesgo de sesgo en los estudios individuales:

Se realizó un ejercicio preliminar entre los revisores y su tutor para determinar la aplicabilidad y factibilidad de las tablas usadas en el estudio. Para determinar la validez de los estudios, los revisores trabajaron de manera independiente y determinaron los puntajes de las tablas de esta forma.

- Sesgo de Publicación:

Para la eliminación de este sesgo se realizó la búsqueda en bases de datos de literatura gris y también se incluyeron aquellos estudios no publicados en las bases de datos electrónicas.

- Sesgo de Lenguaje:

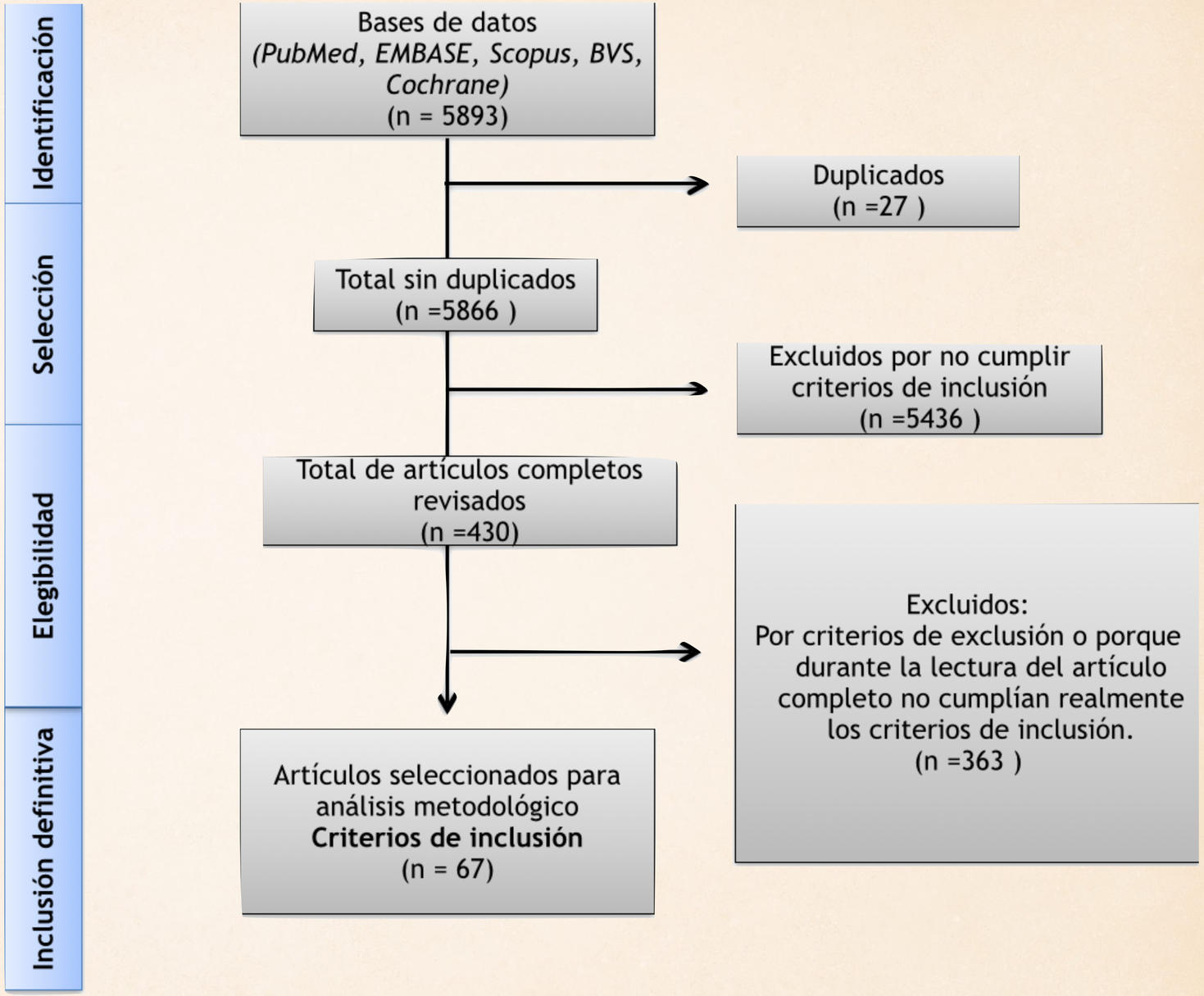
No se realizaron exclusiones de los artículos por idioma, aquellos en otro idioma fueron traducidos.

PLAN DE ANÁLISIS

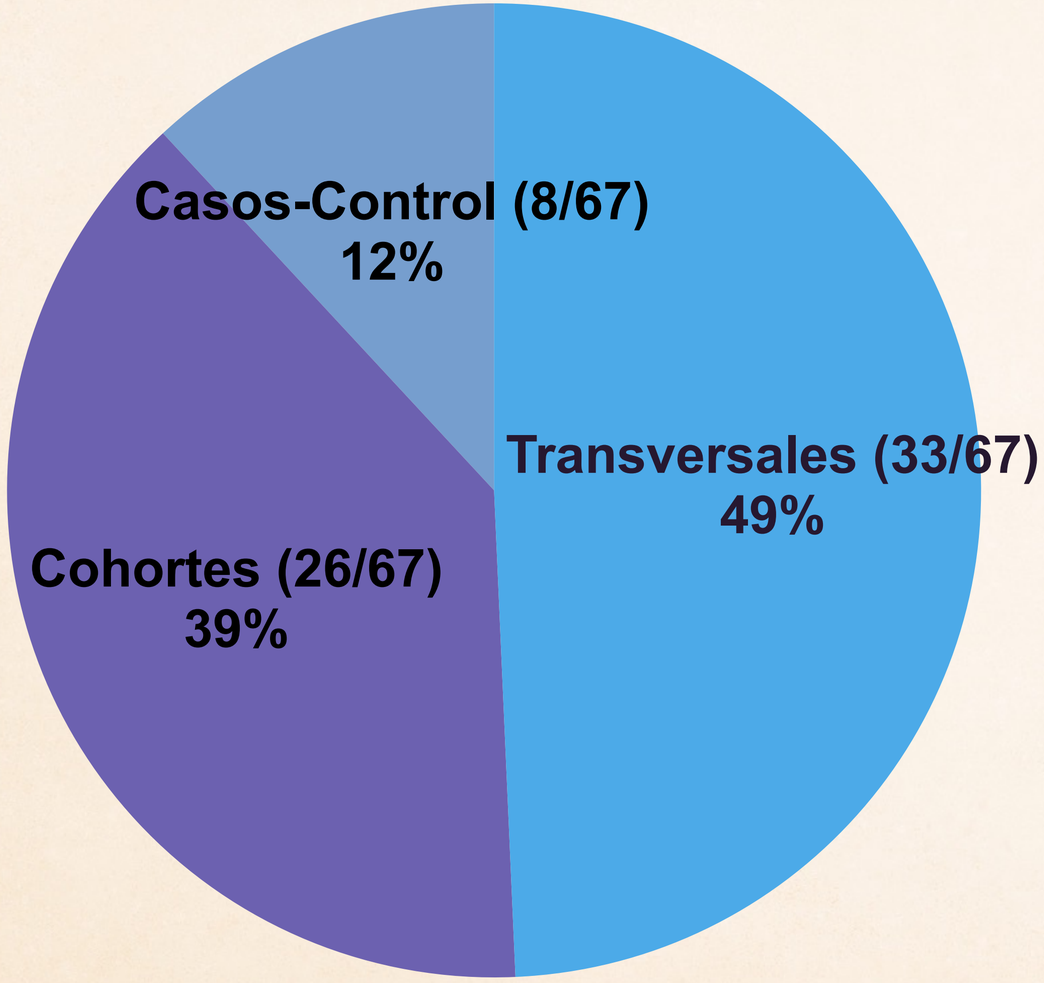
Dado que la presente investigación se encuentra catalogada dentro del Articulo 11 de la Resolución, N. 008430 del 4 de Octubre de 1993(71) como “investigación sin riesgo”, se considera que no es necesario presentar este estudio ante el comité de ética médica así como tampoco la firma de consentimiento informado. Por qué se revisan estudios clínicos ya publicados y no información particular de pacientes. No se pondrá en riesgo a ninguno de ellos. De igual manera se preservarán con exactitud los datos de los resultados obtenidos, siguiendo los principios reconocidos científicamente y cumpliendo con la declaración de Helsinki.

RESULTADOS

RESULTADOS

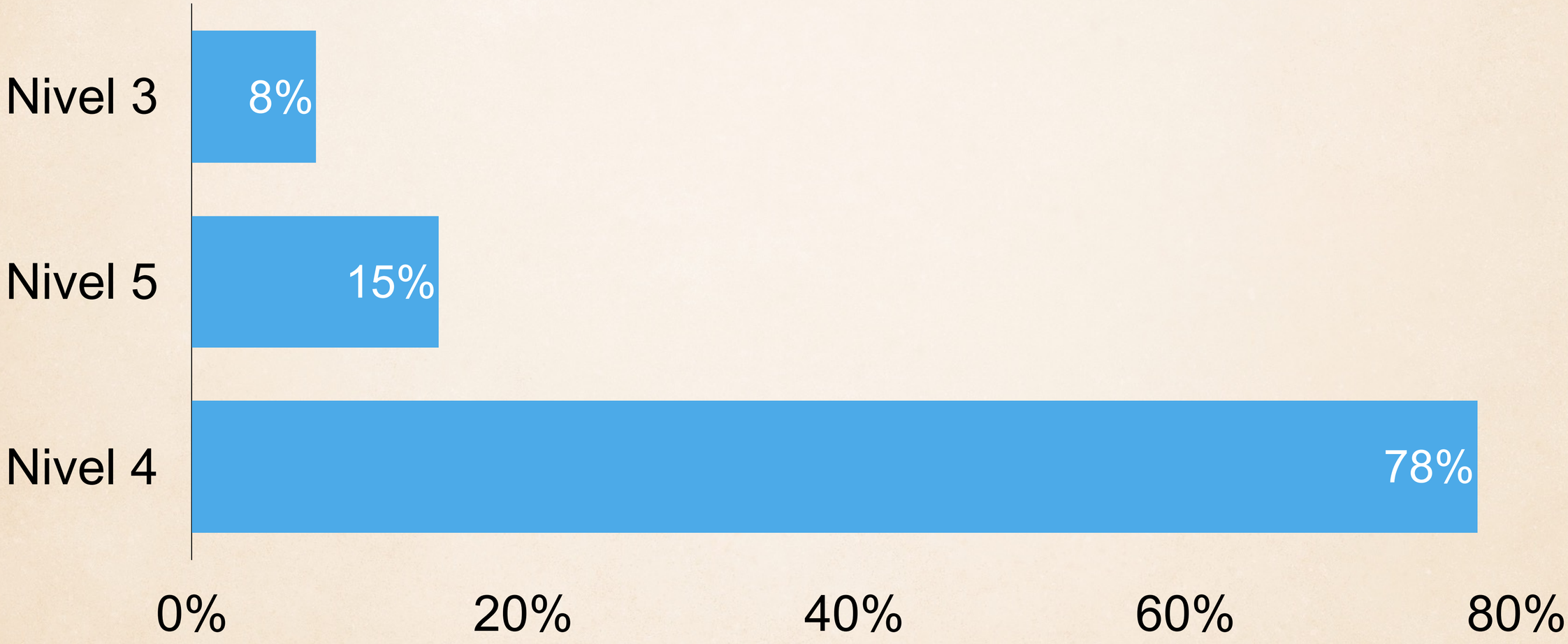

Identificación
Selección
Elegibilidad
Inclusión definitiva
Bases de datos
(PubMed, EMBASE, Scopus, BVS, Cochrane)
(n = 5893)
Duplicados
(n =27)
Total sin duplicados
(n =5866)
Excluidos por no cumplir criterios de inclusión
(n =5436)
Total de artículos completos revisados
(n =430)
Excluidos:
Por criterios de exclusión o porque durante la lectura del artículo completo no cumplían realmente los criterios de inclusión.
(n =363)
Artículos seleccionados para análisis metodológico
Criterios de inclusión
(n = 67)

RESULTADOS

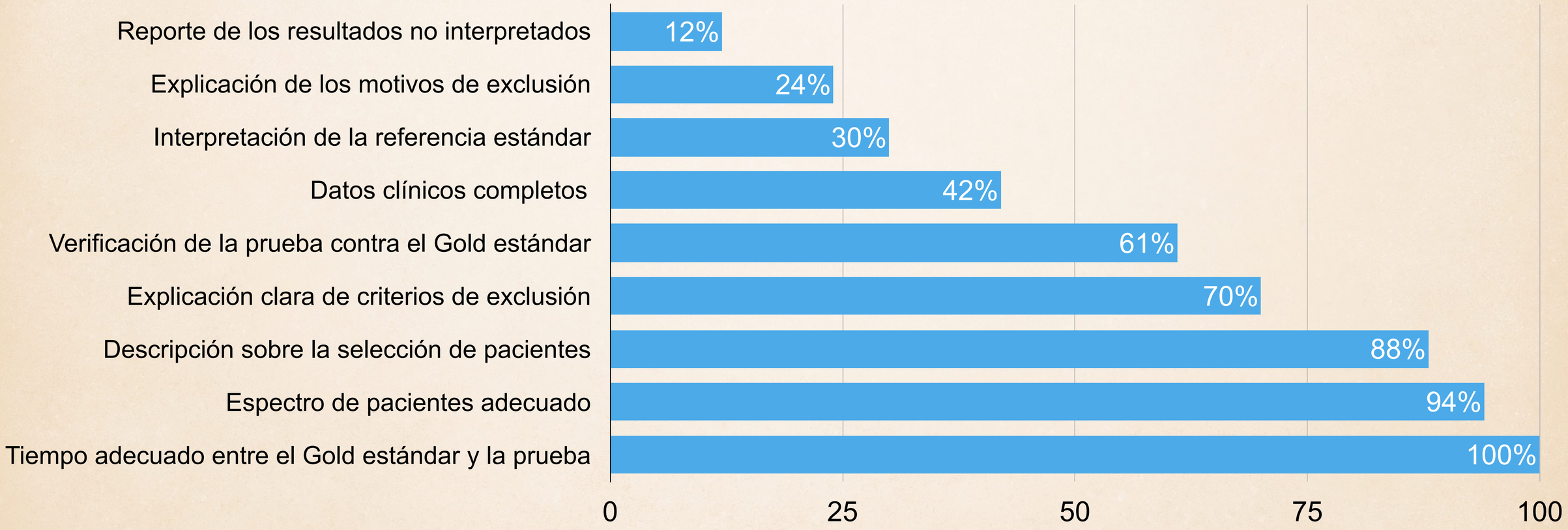


- Año de publicación en los estudios comprende desde 1995 hasta el año 2014 con un 27% de las publicaciones en el año 2011.
- 31% Multicentricos
- EEUU y china aportaron el 15% del total de estudios

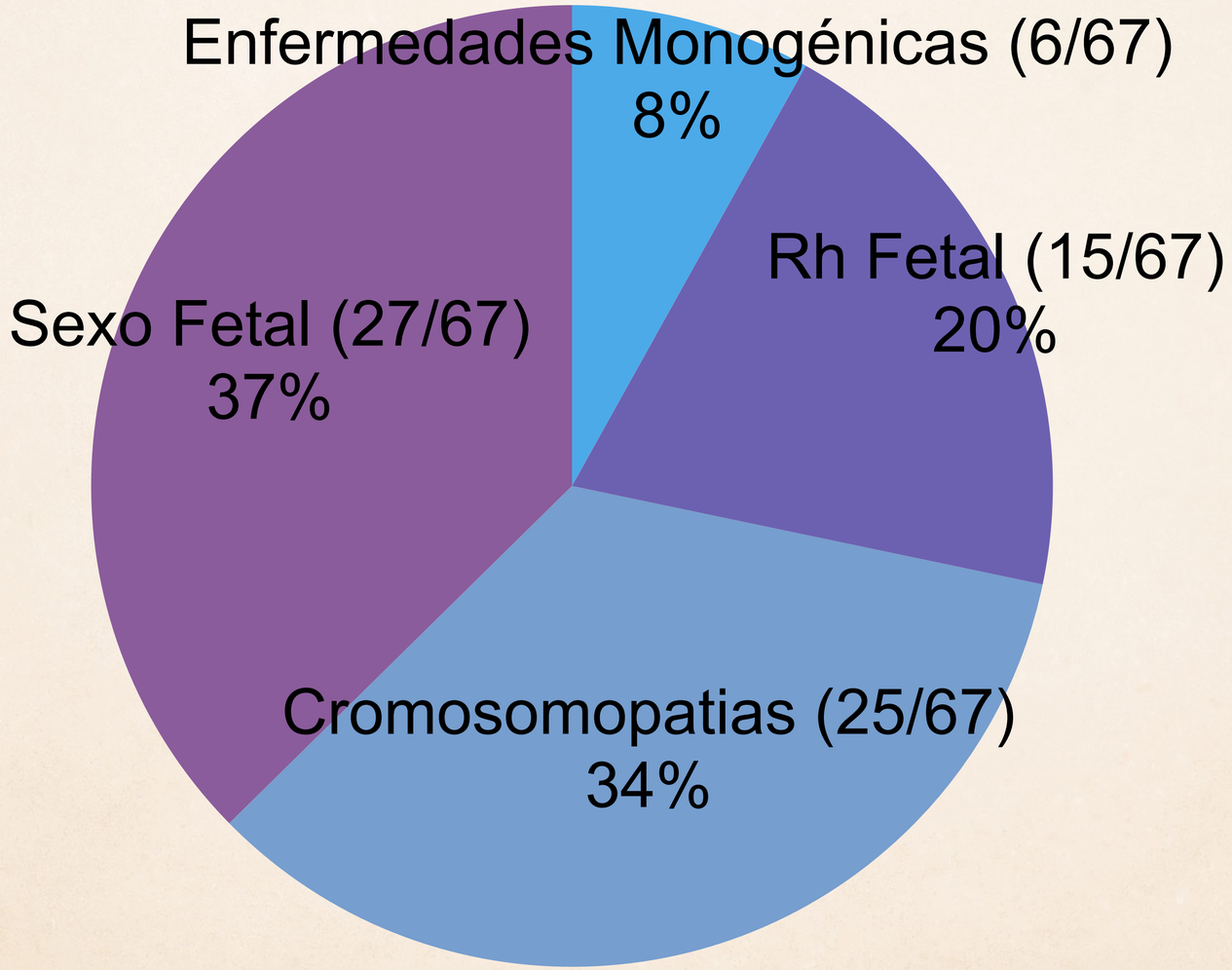
NIVEL DE EVIDENCIA CEBDM



NIVEL DE EVIDENCIA QUADAS



SUBCLASIFICACIÓN DE ESTUDIO



RESULTADOS CROMOSOMOPATÍAS

RESULTADOS

- 24 estudios tuvieron como objetivo la identificación de cromosomopatías:
  - cromosoma 21 (15 estudios)
  - cromosoma 18 (14 estudios)
  - cromosoma 13 (10 estudios)
  - cromosomas sexuales X o Y (8 estudios)
  - cromosomopatía parcial del 9 (1 estudio)

RESULTADOS

- Sensibilidad de las técnicas utilizadas esta comprendida entre le 66.7% y el 100%.
- En 9 estudios no fue posible obtener este dato y 9 estudios reportan el 100% de sensibilidad.
- Las especificidades variaron entre el 74.5% y el 100%, no se pudo calcular en 11 estudios.
- Los valores predictivos negativos (VPN) de los estudios variaron entre el 97.6% y el 100% (en 16 estudios no se encontró ese dato)
- El valor predictivo positivo (VPP) estuvo dentro de un rango de 40% y 100% y en 16 estudios no se pudo obtener ese dato.

RESULTADOS
RH FETAL

RESULTADOS

- Total de 15/67

- La región del gen estudiada fue:
  - Gen completo en 9 casos
  - Exón 7 en 4 casos
  - Alelo C
  - Alelo E
  - Exón 4
  - Exón 6
  - Exón 10.

http://rockwallx.com/circle-3d-figures-3d-figures-wallpaper-3d-human-figures-wallpaper.htm

RESULTADOS

- El porcentaje de muestras procesadas estuvo entre el 84.9% y el 100%.
- La sensibilidad de los estudios estuvo entre el 86.8% y el 100% (6/15 estudios tuvieron una sensibilidad del 100%).
- La especificidad varió entre el 75% y el 100% (6/15 estudios en 100%).
- El VPN estuvo entre el 90% y el 100% y el VPP varió entre el 85% y el 100%.

RESULTADOS
SEXO FETAL

RESULTADOS

- Total de 27/67

- El gen mas estudiado fue:
  - SRY en 15 estudios
  - DYS14 en 8 estudios
  - DAZ en 2 estudios
  - RASSF1A en 2 estudios
  - DYZ1, GALT, Amelogenina, RHD, Cromosoma Y (ATL-1), AMEL X/Y, ACTB y GAPDH cada uno en un estudio

http://maxcarehospital.in/general-physician/

RESULTADOS

- La sensibilidad de los estudios vario entre el 89.2% y el 100% (13/27 estudios mostraron una sensibilidad del 100%) y en 5 estudios no fue posible determinar la sensibilidad

- La especificidad varió entre 85.7% y 100% (13/27 estudios mostraron un 100% de especificidad)

- Los VPN variaron entre el 84.4% y el 100%, 4 estudios encontraron que la prueba tenía un VPN de 100%

- En cuanto al VPP, 4 pruebas encontraron un VPP de 100% y este parámetro presentó una variación entre el 79.8% y el 100%

RESULTADOS
ENFERMEDADES MONOGÉNICAS

RESULTADOS

- Total de 6/67
- Técnicas como:
  - ISEI, PCR, PCR-TR, y PCR Multiplex
- Gen estudiado:
  - Gen CFTR fue estudiado 2 veces
  - SRY, Melogenina, alfa talasemia, ZFX, ZFY, alfa globina y SMA fueron estudiados una vez cada uno.

RESULTADOS

- La sensibilidad de los estudios fue del 100% en 3 casos, del 98.4% en un caso y no fue determinable en 2 casos

- La especificidad fue del 100% en 2 estudios, del 79.2% y 93.8% en 1 estudio cada una y no se pudo determinar en 2 estudios.

DISCUSION

DISCUSIÓN

- Objetivo del diagnóstico prenatal es el diagnóstico temprano.
- Métodos no invasivos han sido aprobados por la ACOG para gestantes de alto riesgo.
- Distribución de los estudios, el mas prevalente fue el transversal (49.3%)
- Pico en el 2011 de publicaciones lo cual se correlación con la implementación de la técnica en la práctica clínica
- Todos los estudios presentaron un adecuado nivel de evidencia según el CEDBM sin embargo llama la atención que al usar el esquema QUADAS los estudios parecen quedar cortos en aportar datos frente a la interpretación de resultados, datos clínicos completos, exclusión de pacientes o resultados
- La mayoría de los estudios se realizaron en regiones que comprenden Norte América y Europa, debido a su desarrollo económico y científico que permiten la implementación de estas técnicas novedosas

DISCUSIÓN

- Se realizó una subclasificación de los datos de acuerdo a las patologías estudiadas, encontrando que una tercera parte de los estudios correspondieron a análisis de cromosomopatías.

- En la mayoría de los estudios la técnica utilizada fue la secuenciación de Sanger.

- Valores promedio de sensibilidad entre el 80-100% para cromosomopatías, 90-100% para Rh fetal y sexo fetal.

DISCUSIÓN

El diagnóstico genético prenatal no invasivo para cromosomopatías, Rh fetal, Sexo fetal y enfermedades monogénicas a través del estudio de cffDNA es útil en pacientes de alto y bajo riesgo; eliminando el riesgo de perdida del embarazo y planteando una estrategia paralela que reemplace los métodos invasivos.

CONCLUSIONES

- El diagnóstico prenatal no invasivo es una técnica feasible, reproducible y sensible para el diagnóstico fetal, evitando el riesgo al cual son expuestos las madres y fetos al optar por un diagnóstico invasivo.

- Es importante la realización de un estudio de costos para países del tercer mundo como el nuestro, donde la implementación de estas técnicas novedosas generalmente requiere de tiempo e inversiones económicas importantes, pero que de ser demostrado por su costo-eficacia se podría introducir en el esquema de control prenatal de las pacientes Colombianas reduciendo así la tasa de diagnósticos errados y posiblemente la mortalidad materna derivada de las complicaciones secundarias a una gestación de alto riesgo por alteración fetal

CONCLUSIONES

- La importancia a futuro de la realización de un meta-análisis cuando se cuenten con más estudios complementarios para poder determinar el verdadero impacto de esta muestra en una población más globalizada y no en una población específica donde el impacto de las alteraciones genéticas de la población difieran en su presentación para cada área geográfica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Dey, M., Agarwal, S., & Sharma, S. (2013). NON-INVASIVE PRENATAL DIAGNOSIS: A REVIEW. International Journal of Pharmaceutical Sciences & Research, 4(4).
2. Guibert, J. (2003). Kinetics of SRY gene appearance in maternal serum: detection by real time PCR in early pregnancy after assisted reproductive technique. Human Reproduction, 18(8), 1733–1736. http://doi.org/10.1093/humrep/deg320
3. Lo, Y. D., Corbetta, N., Chamberlain, P. F., Rai, V., Sargent, I. L., Redman, C. W., & Wainscoat, J. S. (1997). Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. The Lancet, 350(9076), 485-487.
4. Macek Sr, (Ed.) Early Prenatal Diagnosis, Fetal Cells and DNA in the Mother. Karolinum Press, Prague, Czech Republic; 2002: 96–102
5. Krabchi, K., Gros-Louis, F., Yan, J., Bronsard, M., Masse, J., Forest, J. C., & Drouin, R. (2001). Quantification of all fetal nucleated cells in maternal blood between the 18th and 22nd weeks of pregnancy using molecular cytogenetic techniques. Clinical genetics, 60(2), 145-150.
6. LO, Y., TEIN, M., LAU, T., HAINES, C., LEUNG, T., POON, P., et al. (1998). Quantitative Analysis of Fetal DNA in Maternal Plasma and Serum: Implications for Noninvasive Prenatal Diagnosis. The American Journal of Human Genetics, 62(4), 768–775. http://doi.org/10.1086/301800
7. Hill, M., Finning, K., Martin, P., Hogg, J., Meaney, C., Norbury, G., ... & Chitty, L. S. (2011). Non-invasive prenatal determination of fetal sex: translating research into clinical practice. Clinical genetics, 80(1), 68-75.
8. Nygren, A. O. H., Dean, J., Jensen, T. J., Kruse, S., Kwong, W., van den Boom, D., & Ehrich, M. (2010). Quantification of fetal DNA by use of methylation-based DNA discrimination. Clinical Chemistry, 56(10), 1627–1635. http://doi.org/10.1373/clinchem.2010.146290
9. Kimura, M., Hara, M., Itakura, A., Sato, C., Ikebuchi, K., & Ishihara, O. (2011). Fragment size analysis of free fetal DNA in maternal plasma using Y-STR loci and SRY gene amplification. Nagoya journal of medical science, 73(3-4), 129-135.
10. Fuks, A. M., & Hsu, C.-D. (2005). Prenatal Diagnosis using Fetal Genetic Material in Maternal Circulation. Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology, 44(1), 8–15. http://doi.org/10.1016/S1028-4559(09)60100-5
11. Group, T. N. P. S. W. (2013). ACOG statement on noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy. Genetics in Medicine, 15(5), 395-398.Medicine Foundation First Trimester Screening Group. Lancet 1998;352:343 Fir
12. Currier R, Wu N, Van Meter K, et al. Integrated and first trimester prenatal screening in California: program implementation and patient choice for follow-up services. Prenat Diag 2012;32: 1077–83.
13. Snijders RJ, Noble P, Sebire N, et al. UK multicentre Project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10–14 weeks of gestation. Fetal
14. Medicine Foundation First Trimester Screening Group. Lancet 1998;352:343–6.
15. Ball, R. H., Caughey, A. B., Malone, F. D., Nyberg, D. A., Comstock, C. H., Saade, G. R., ... & D'Alton, M. E. (2007). First-and second-trimester evaluation of risk for Down syndrome. Obstetrics & Gynecology, 110(1), 10-17.
16. Norton, M. E., Brar, H., Weiss, J., Karimi, A., Laurent, L. C., Caughey, A. B., ... & Song, K. (2012). Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. American journal of obstetrics and gynecology, 207(2), 137-e1.
17. Ashoor, G., Syngelaki, A., Wagner, M., Birdir, C., & Nicolaides, K. H. (2012). Chromosome-selective sequencing of maternal plasma celltion (NICE) Studrst-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18. American journal of obstetrics and gynecology, 206(4), 322-e1.
18. Ashoor, G., Syngelaki, A., Wagner, M., Birdir, C., & Nicolaides, K. H. (2012). Chromosome-selective sequencing of maternal plasma celltion DNA for first-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18. American journal of obstetrics and gynecology, 206(4), 322-e1.
19. Palomaki, G. E., Kloza, E. M., Lambert-Messerlian, G. M., Haddow, J. E., Neveux, L. M., Ehrich, M., ... & Canick, J. A. (2011). DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. Genetics in medicine, 13(11), 913-920.
20. Dan, S., Wang, W., Ren, J., Li, Y., Hu, H., Xu, Z., ... & Zhang, X. (2012). Clinical application of massively parallel sequencing-based prenatal noninvasive fetal trisomy test for trisomies 21 and 18 in 11 105 pregnancies with mixed risk factors. Prenatal diagnosis, 32(13), 1225-1232.

BIBLIOGRAFÍA

21. Walknowska, J., Conte, F., & Grumbach, M. (1969). Practical and theoretical implications of fetal/maternal lymphocyte transfer. *The Lancet*, *293*(7606), 1119-1122.
22. DataBank Error Page. (n.d.). Retrieved December 13, 2014, from http://databank.worldbank.org/data/views/reports/tableview.aspx, fecha de búsqueda enero 31 de 2015.). Tiene una mortalidad en niños menores de 11.4 por cada 1,000 nacidos para el año 2012 (http://www.asivamosensalud.org/inidicadores/estado-de-salud/grafica.ver/7
23. Schaeffer, A. J., Chung, J., Heretis, K., Wong, A., Ledbetter, D. H., & Martin, C. L. (2004). Comparative genomic hybridizationa Provincia de Ubaté, Colombia. 015.). Tiene una mortalidad en niños menores de 11.4 por cada 1,000 nacidos para e*The American Journal of Human Genetics*, *74*(6), 1168-1174.
24. (n.d.). Retrieved December 14, 2014, from http://omim.org/statistics/entry
25. Chen, C. P., Wu, P. C., Lin, C. J., Chern, S. R., Tsai, F. J., Lee, C. C., ... & Wang, W. (2011). Unbalanced reciprocal translocations at amniocentesis. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, *50*(1), 48-57.
26. NAZER, J., & CIFUENTES, L. (2011). Estudio epidemiológico global del síndrome de Down. *Revista chilena de pediatría*, *82*(2), 105-112.
27. VILLEGAS, J. B., & OBANDO, F. S. (2008). La carga de la enfermedad genética en Colombia, 1996-2025. *Univérsitas Médica*, *49*(1), 12-28.
28. Páez, P., Suárez-Obando, F., & Zarante, I. (2008). Enfermedades de origen genético en pacientes pediátricos hospitalizados en la Provincia de Ubaté, Colombia. *Revista de Salud Pública*, *10*(3), 414-422.
29. Nassbaum, R., Melness, R., & Willant, H. (n.d.). Capítulo 5. In *Principios de citogenética clínica»* (Séptima ed., pp. 68-75). Thompson & Thompson.
30. Fact Sheet 8: Autosomal Recessive Inheritance. (n.d.). Retrieved December 14, 2014, from http://www.genetics.edu.au/Publications-and-Resources/Genetics-Fact-Sheets/FactSheet8/view
31. Cystic Fibrosis Mutation Database: Statistics. (n.d.). Retrieved December 10, 2014, from http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/StatisticsPage.html
32. Lay-Son, G., & Repetto, G. (2010). Genética y fibrosis quística: desde el gen CFTR a los factores modificadores. *Neumología pediátrica*, *5*, 4-9.
33. Malambo, D., Gómez, D., Veloza, L., Arbeláez, J., & Gómez, C. (2008). Algunos aspectos hereditarios y ambientales en casos de fibrosis quística en la ciudad de Cartagena (Colombia). *Salud Uninorte. Barranquilla (Col)*, *24*, 10-22.
34. Ortigosa, L. (2007). Fibrosis quística. Aspectos diagnósticos. *Colombia Médica*, *38*(1 Supl 1).
35. Dequeker, E., Stuhrmann, M., Morris, M. A., Casals, T., Castellani, C., Claustres, M., ... & Girodon, E. (2009). Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders–updated European recommendations. *European journal of human genetics*, *17*(1), 51-65.
36. Ogino, S., & Wilson, R. B. (2004). Spinal muscular atrophy: molecular genetics and diagnostics.
37. Stewart, H., Wallace, A., McGaughran, J., Mountford, R., & Kingston, H. (1998). Molecular diagnosis of spinal muscular atrophy. *Archives of disease in childhood*, *78*(6), 531-535.
38. Steinberg, M. H., & Adewoye, A. H. (2006). Modifier genes and sickle cell anemia. *Current opinion in hematology*, *13*(3), 131-136.
39. De las Heras, F. S., & Pérez, H. L. (2008, February). [Hemoglobinopathies diagnosed at the University Hospital Ntra. Sra. de Candelaria and its area of reference in Santa Cruz de Tenerife during one year]. In *Anales de medicina interna (Madrid, Spain: 1984)* (Vol. 25, No. 2, pp. 61-66).
40. Rosero María Jimena, Bermúdez Antonio José. Análisis de hemoglobinopatías en regiones afrocolombianas usando muestras de sangre seca de cordón umbilical. Acta Med Colomb [serial on the Internet]. 2012 Sep [cited 2015 Apr 26] ; 37(3): 117-126. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-24482012000300003&lng=en.

BIBLIOGRAFÍA

41.ACOG Committee on Practice Bulletins. (2007). ACOG Practice Bulletin No. 77: screening for fetal chromosomal abnormalities. Obstet Gynecol, 109, 217-227.

42.Armengol, L., Nevado, J., Serra-Juhé, C., Plaja, A., Mediano, C., García-Santiago, F. A., ... & Pengol, L., Nevado, J., Serra-Juhé, C., Plaja, A., Mediano, C., García-Santiago, F. A., ... al chromosomal abnorHuman genetics, 131(3), 513-523.

43.De los Ángeles Mori, M., Mansilla, E., García-Santiago, F., Vallespín, E., Palomares, M., Martín, R., ... & Nevado, J. (2012). Diagnóstico prenatal y array-hibridación genómica comparada (CGH)(I). Gestaciones de elevado riesgo. Diagnóstico Prenatal, 23(2), 34-48.

44.Sparks AB, Struble CA, Wang ET, et al. Noninvasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18. Am J Obstet Gynecol 2012;206:319.e1–9.

45.Lo, Y. M., Lo, E. S., Watson, N., Noakes, L., Sargent, I. L., Thilaganathan, B., & Wainscoat, J. S. (1996). Two-way cell traffic between mother and fetus: biologic and clinical implications. Blood, 88(11), 4390-4395.

46.Bianchi, D. W., Flint, A. F., Pizzimenti, M. F., Knoll, J. H., & Latt, S. A. (1990). Isolation of fetal DNA from nucleated erythrocytes in maternal blood. Proceedings of the National Academy of Sciences, 87(9), 3279-3283.

47.Simpson, J. L., & Elias, S. (1993). Isolating fetal cells from maternal blood: advances in prenatal diagnosis through molecular technology. Jama, 270(19), 2357-2361.

48.Lo, Y. D., & Chiu, R. W. (2007). Prenatal diagnosis: progress through plasma nucleic acids. Nature Reviews Genetics, 8(1), 71-77.

49.Cheung, M. C., Goldberg, J. D., & Kan, Y. W. (1996). Prenatal diagnosis of sickle cell anaemia and thalassaemia by analysis of fetal cells in maternal blood. Nature genetics, 14(3), 264-268.

50.Krabchi, K., Gadji, M., Samassekou, O., GrW. (1996). PrenForest, J. C., & Drouin, R. (2006). Quantification of fetal nucleated cells in maternal blood of pregnant women with a male trisomy 21 fetus using molecular cytogenetic techniques. Prenatal diagnosis, 26(1), 28-34.

51.Stroun M, Maurice P, Vasioukhin V, Lyautey J, Lederrey C, Lefort F, Rossier A, Chen XQ and Anker P (2000) The origin and mechanism of circulating DNA.

52.Ann NY Acad Sci906, 161–168. Chen, X. Q., Stroun, M., Magnenat, J. L., Nicod, L. P., Kurt, A. M., Lyautey, J., ... & Anker, P. (1996). Microsatellite alterations in plasma DNA of small cell lung cancer patients. Nature medicine, 2(9), 1033-1035.

53.Wong, I. H., Lo, Y. D., Zhang, J., Liew, C. T., Ng, M. H., Wong, N., ... & Johnson, P. J. (1999). Detection of aberrant p16 methylation in the plasma and serum of liver cancer patients. Cancer research, 59(1), 71-73.

54.Anker, P., Lefort, F. R. A. N. C. O. I. S., Vasioukhin, V. A. L. E. R. I., Lyautey, J. A. C. Q. U. E. L. I. N. E., Lederrey, C. H. R. I. S. T. I. N. E., Chen, X. Q., ... & Farthing, M. J. (1997). K-ras mutations are found in DNA extracted from the plasma of patients with colorectal cancer. Gastroenterology, 112(4), 1114-1120.

55.Heid, C. A., Stevens, J., Livak, K. J., & Williams, P. M. (1996). Real time quantitative PCR. Genome research, 6(10), 986-994.

56.Lo, Y. D., Corbetta, N., Chamberlain, P. F., Rai, V., Sargent, I. L., Redman, C. W., & Wainscoat, J. S. (1997). Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. The Lancet, 350(9076), 485-487.

57.Lo, Y. D., Tein, M. S., Lau, T. K., Haines, C. J., Leung, T. N., Poon, P. M., ... & Hjelm, N. M. (1998). Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis. The American Journal of Human Genetics, 62(4), 768-775.

58.Smid, M., Lagona, F., de Benassuti, L., Ferrari, A., Ferrari, M., & Cremonesi, L. (1999). Evaluation of different approaches for fetal DNA analysis from maternal plasma and nucleated blood cells. Clinical chemistry, 45(9), 1570-1572.

59.Lau, T. K., Chen, F., Pan, X., Pooh, R. K., Jiang, F., Li, Y., ... & Zhang, X. (2012). Noninvasive prenatal diagnosis of common fetal chromosomal aneuploidies by maternal plasma DNA sequencing. Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine, 25(8), 1370-1374.

60.Faas, B. H. W., Beuling, E. A., Christiaens, G. M., & von dem Borne, A. K. (1998). Detection of fetal RHD-specific sequences in maternal plasma. The lancet, 352(9135), 1196.

BIBLIOGRAFÍA

61. Bischoff, F. Z., Nguyen, D. D., Marqutiaens, G. M., & von de, Simpson, J. L., & Elias, S. (1999). Noninvasive determination of fetal RhD status using fetal DNA in maternal serum and PCR. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, *6*(2), 64-69.
62. Amicucci, P., Gennarelli, M., Novelli, G., & Dallapiccola, B. (2000). Prenatal diagnosis of myotonic dystrophy using fetal DNA obtained from maternal plasma. *Clinical Chemistry*, *46*(2), 301-302.
63. Chen, C. P., Chern, S. R., & Wang, W. (2000). Fetal DNA in maternal plasma: the prenatal detection of a paternally inherited fetal aneuploidy. *Prenatal diagnosis*, *20*(4), 355-357.
64. Lo, Y. D., Lau, T. K., Zhang, J., Leung, T. N., Chang, A. M., Hjelm, N. M., ... & Bianchi, D. W. (1999). Increased fetal DNA concentrations in the plasma of pregnant women carrying fetuses with trisomy 21. *Clinical chemistry*, *45*(10), 1747-1751.
65. van Wijk, I. J., de Hoon, A. C., Jurhawan, R., Tjoa, M. L., Griffioen, S., Mulders, M. A., ... & Oudejans, C. B. (2000). Detection of apoptotic fetal cells in plasma of pregnant women. *Clinical chemistry*, *46*(5), 729-731.
66. Lo, Y. D., Leung, T. N., Tein, M. S., Sargent, I. L., Zhang, J., Lau, T. K., ... & Redman, C. W. (1999). Quantitative abnormalities of fetal DNA in maternal serum in preeclampsia. *Clinical chemistry*, *45*(2), 184-188.
67. Al-Mufti, R., Hambley, H., Albaiges, G., Lees, C., & Nicolaides, K. H. (2000). Increased fetal erythroblasts in women who subsequently develop pre-eclampsia. *Human reproduction*, *15*(7), 1624-1628.
68. Liberati, A., Altman, D. G., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Golaides, K. H. (2000). Increased fe.. & Moher, D. (2009). The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *Annals of internal medicine*, *151*(4), W-65.
69. Medicine, O. C. F. E.-B. (2011). CEBM Levels of Evidence Table. *The Oxford Levels of Evidence*.
70. Whiting, P., Rutjes, A. W., Reitsma, J. B., Bossuyt, P. M., & Kleijnen, J. (2003). The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC medical research methodology*, *3*(1), 25.
71. Resolución, N. 008430 Del 4 De Octubre De 1993. *Ministerio de salud*.
72. Driscoll, D. A., & Gross, S. (2009). Prenatal screening for aneuploidy. *New England Journal of Medicine*, *360*(24), 2556-2562.
73. American College of Obstetricians and Gynecologists. (2012). Committee opinion no. 545: Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol*, *120*(6), 1532-1534.
74. Greene, N., Greenland, S., Olsen, J., & Nohr, E. A. (2011). Estimating bias from loss to follow-up in the Danish National Birth Cohort. *Epidemiology*, *22*(6), 815-822.
75. Langer, A., Díaz-Olavarrieta, C., Berdichevsky, K., & Villar, J. (2004). Why is research from developing countries underrepresented in international health literature, and what can be done about it?. *Bulletin of the World Health Organization*, *82*(10), 802-803.
76. Loane, M., Morris, J. K., Addor, M. C., Arriola, L., Budd, J., Doray, B., ... & Dolk, H. (2013). Twenty-year trends in the prevalence of Down syndrome and other trisomies in Europe: impact of maternal age and prenatal screening. *European Journal of Human Genetics*, *21*(1), 27-33.
77. Norwitz, E. R., & Levy, B. (2013). Noninvasive prenatal testing: the future is now. *Reviews in obstetrics and gynecology*, *6*(2), 48.
78. Song, K., Musci, T. J., & Caughey, A. B. (2013). Clinical utility and cost of non-invasive prenatal testing with cfDNA analysis in high-risk women based on a US population. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, *26*(12), 1180-1185.
79. Wright, C. F., & Burton, H. (2009). The use of cell-free fetal nucleic acids in maternal blood for non-invasive prenatal diagnosis. *Human reproduction update*, *15*(1), 139-151.

ANEXOS

RECURSOS HUMANOS

Recursos Humanos

Personas	**Tiempo**	**Grado Formación**	**Límite máximo salarios mínimos legales**
Investigador 1	10 h/semana	Estudiante de Maestría y Postgrado. Médico graduado.	Hasta 5 salarios
Investigador 2	10 h/semana	Médico graduado con post grado. Estudiante de post grado.	Hasta 5.5 salarios
Investigador 3	10 h/semana	Médico graduado. Estudiante de post grado.	Hasta 5 salarios
Tutor	2 h/ semana		

RECURSOS FINANCIEROS

Recursos Financieros

Rublos y Renglones	**Honorarios**
Estadístico	Estimado 800.000 que solo serán necesarios en caso de datos meta-analizables.
Investigadores	9.000.000
Material Bibliográfico	300.000
Material Fungible Papelería	200.000
Costo de Publicación	100.000
Varios	300.000
TOTAL	**11.600.000**

CRONOGRAMA

Tabla 4									
CRONOGRAMA	**MESES**								
Actividades	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre
Búsqueda de literatura									
Diseño del protocolo									
Selección de estudios									
Extracción de datos									
Proceso de verificación y digitación de la información									
Limpieza y verificación de datos									
Análisis de los datos									
Generación de conclusiones e informe final									

GRACIAS