



# Técnicas de diagnóstico genético aplicadas a la pediatría

D. Elena García Payá

Adjunta del laboratorio de biología molecular

Edificio gris, 4º planta

Hospital general universitario de Alicante



## Técnicas de diagnóstico genético aplicadas a la pediatría

**¿Qué son?**

**¿Cuándo debemos pedir las?**

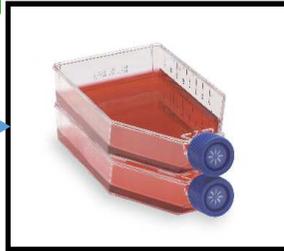
**¿Cómo debemos pedir las?**

**¿Qué resultados nos podemos encontrar?**

# Cariotipo en sangre periférica



Heparina Li/Na



+Mitógeno (PHA)



Cultivo 72h

**Bandeo**  
Digestión con **tripsina**

Preparación portas  
Envejecido

**Harvest/Sacrificio**  
Choque hipotónico KCl  
Choque/Lavados  
Solución Carnoy

**Tratamiento Colchicina**

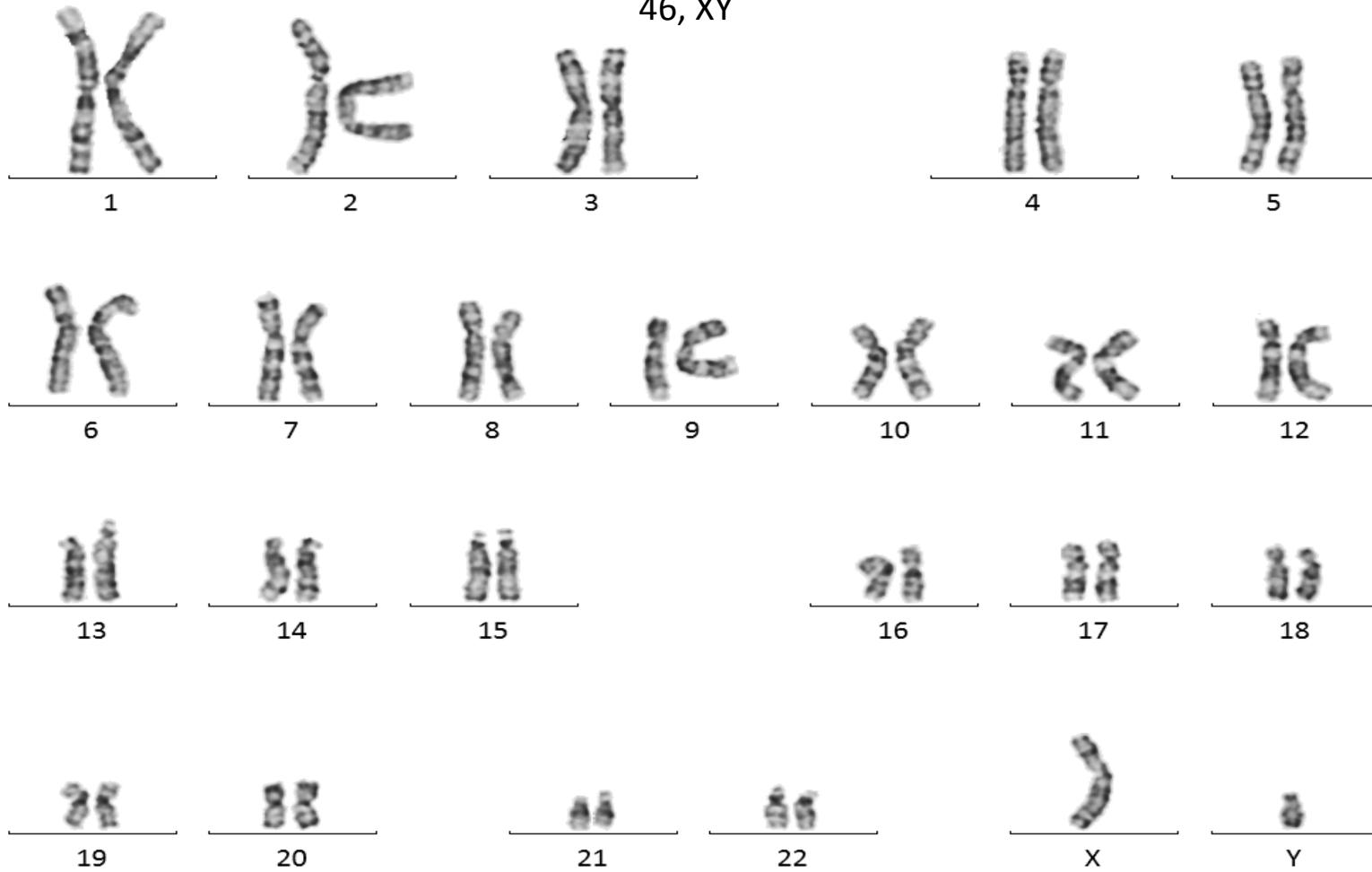
Tinción con Giemsa

**Análisis de Metafasas** al  
microscopio óptico  
Al menos 20 metafases  
significativas

**Interpretación**  
Elaboración informe

# Cariotipo en sangre periférica

46, XY



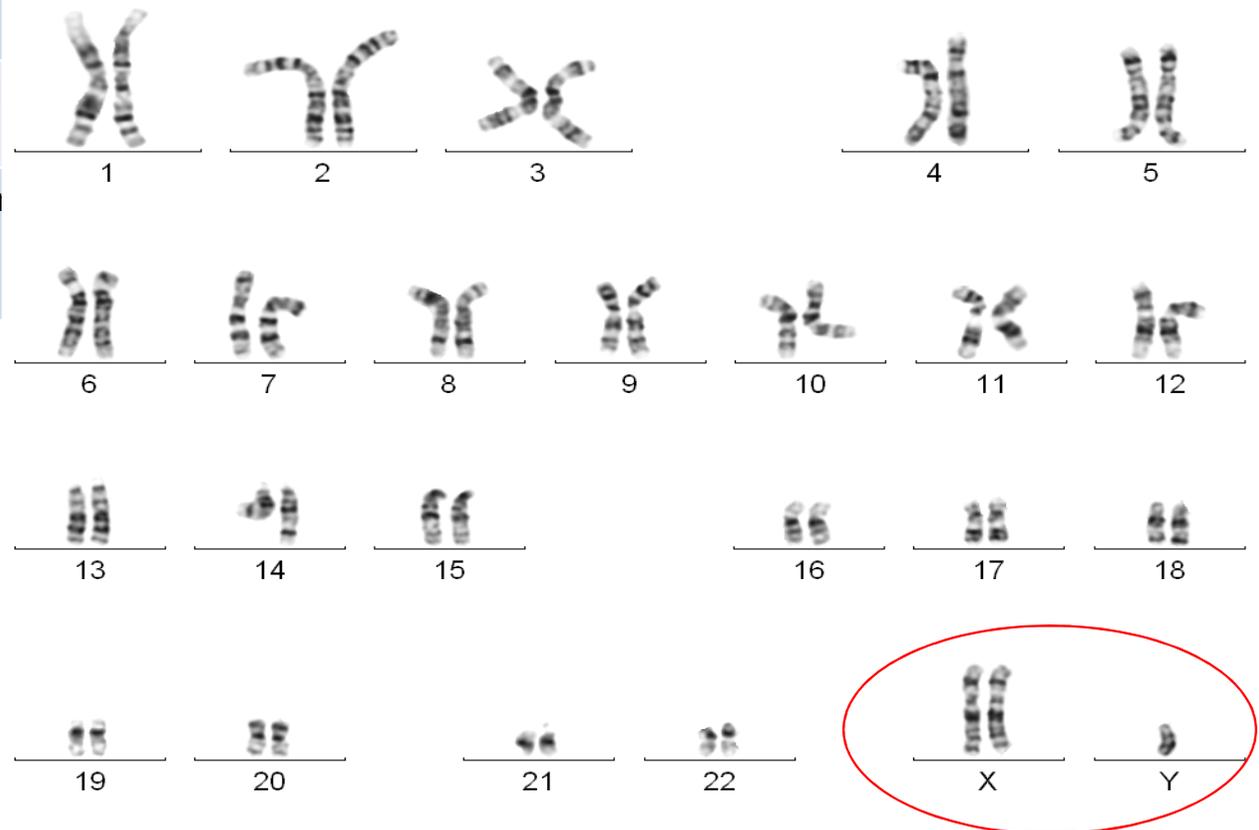
# Cariotipo en sangre periférica

## ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS

### Anomalías cromosómicas numéricas

Poliploidias	Triploidías y tetraploidías
Aneuploidías	Monosomías 45
	Trisomías sexuales
	Trisomía autosómica

Síndrome de Klinefelter 47, XXY



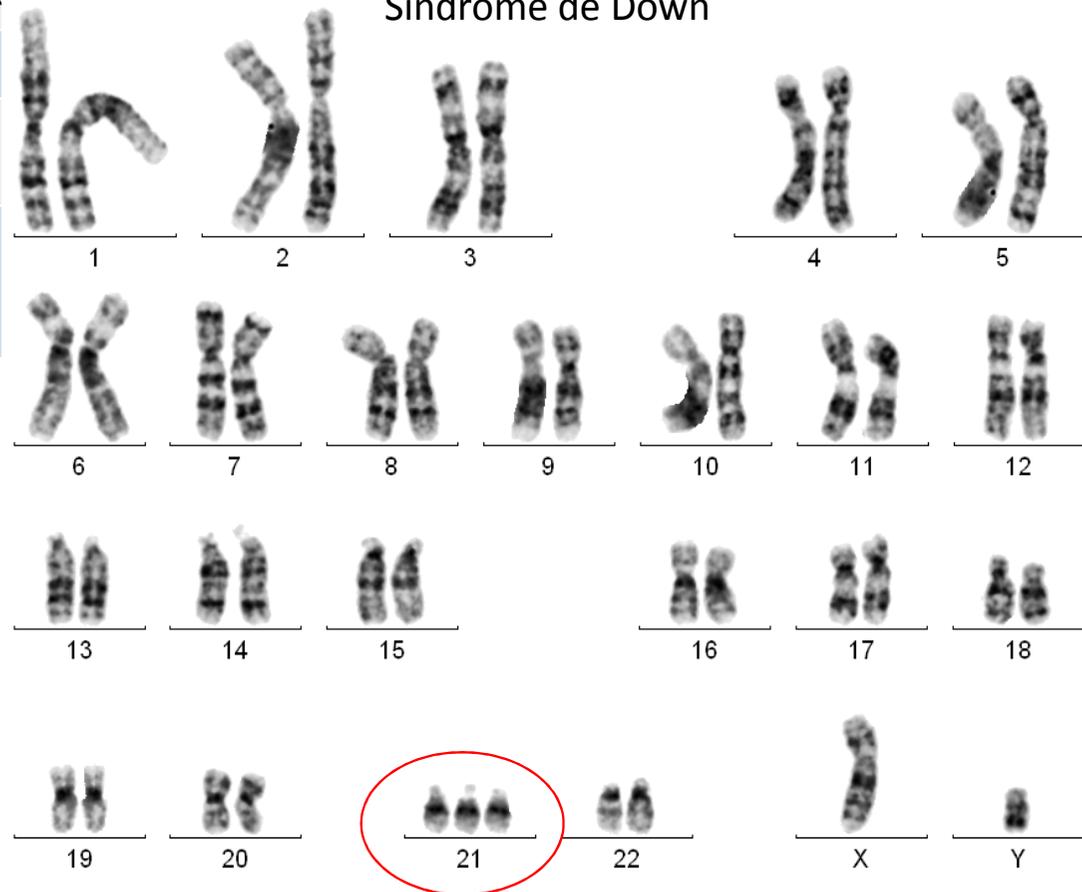
# Cariotipo en sangre periférica

## ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS

### Anomalías cromosómicas numéricas

Poliploidias	Triploidías y tetraploic
Aneuploidías	Monosomías 45 X0
	Trisomías sexuales
	Trisomía autosómica

### Síndrome de Down



# Cariotipo en sangre periférica

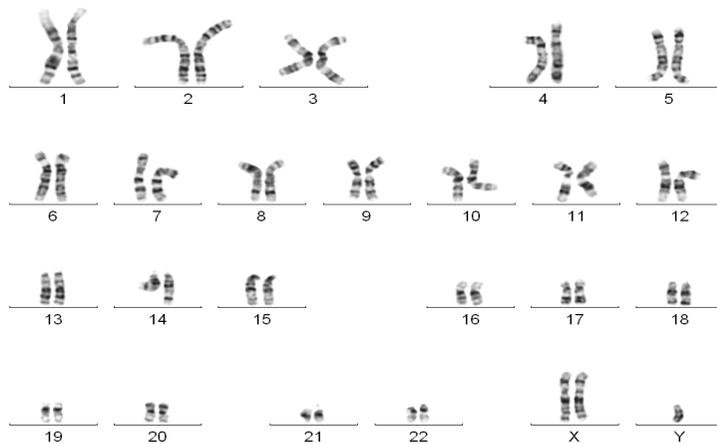
## ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS

### Anomalías cromosómicas numéricas

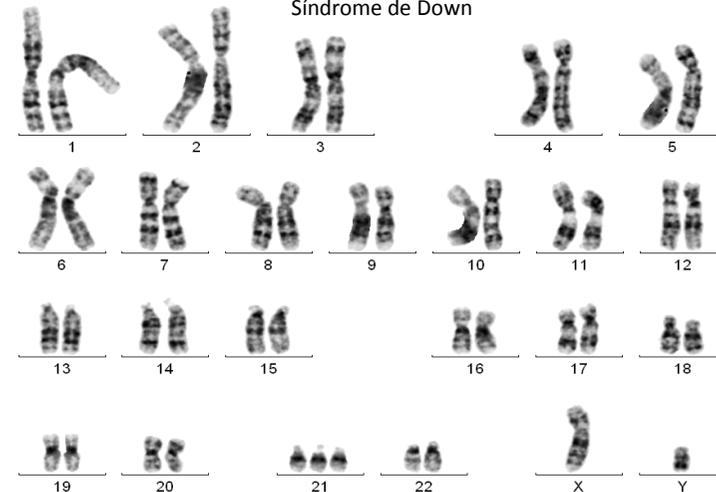
Poliploidias	Triploidías y tetraploidias	Restos abortivos
Aneuploidías	Monosomías 45 X0	Síndrome de Turner
	Trisomías sexuales	S. Klinefelter (47XXY) S. De Jacobs (47XYY)
	Trisomía autosómica	S. De Down (47,XX+21) S. De Edwards (47,XX+18) S. De Patau (47,XX+13)

**Diagnóstico  
conseguido**

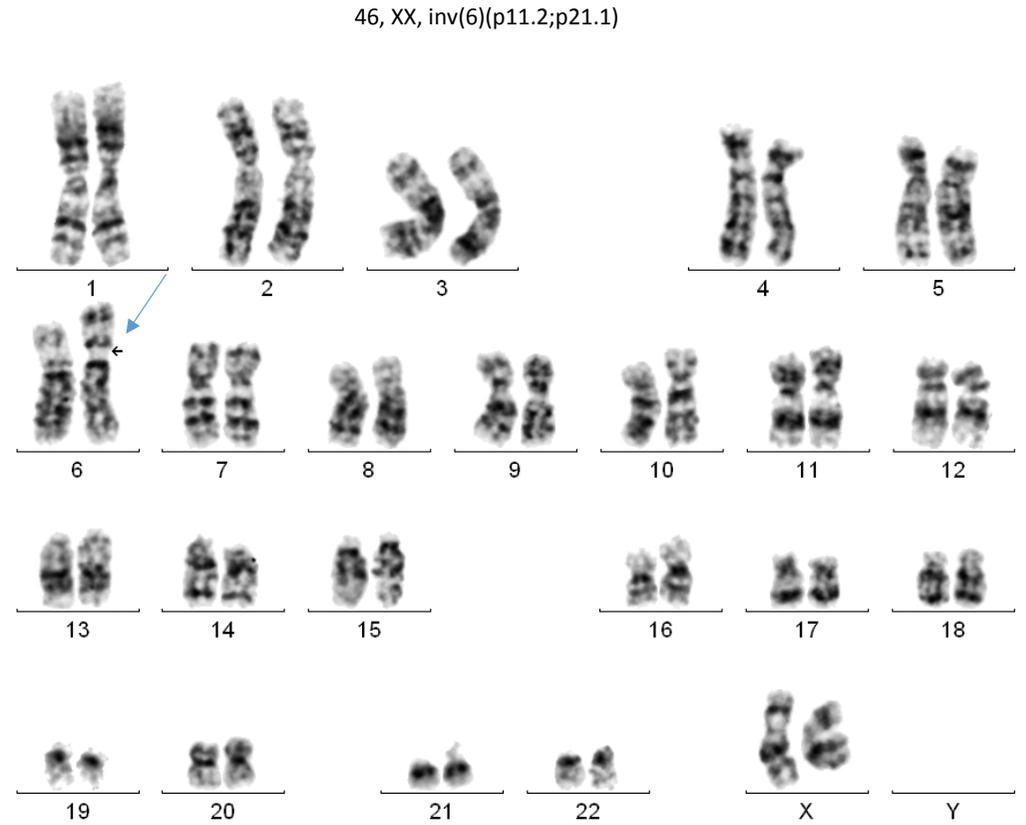
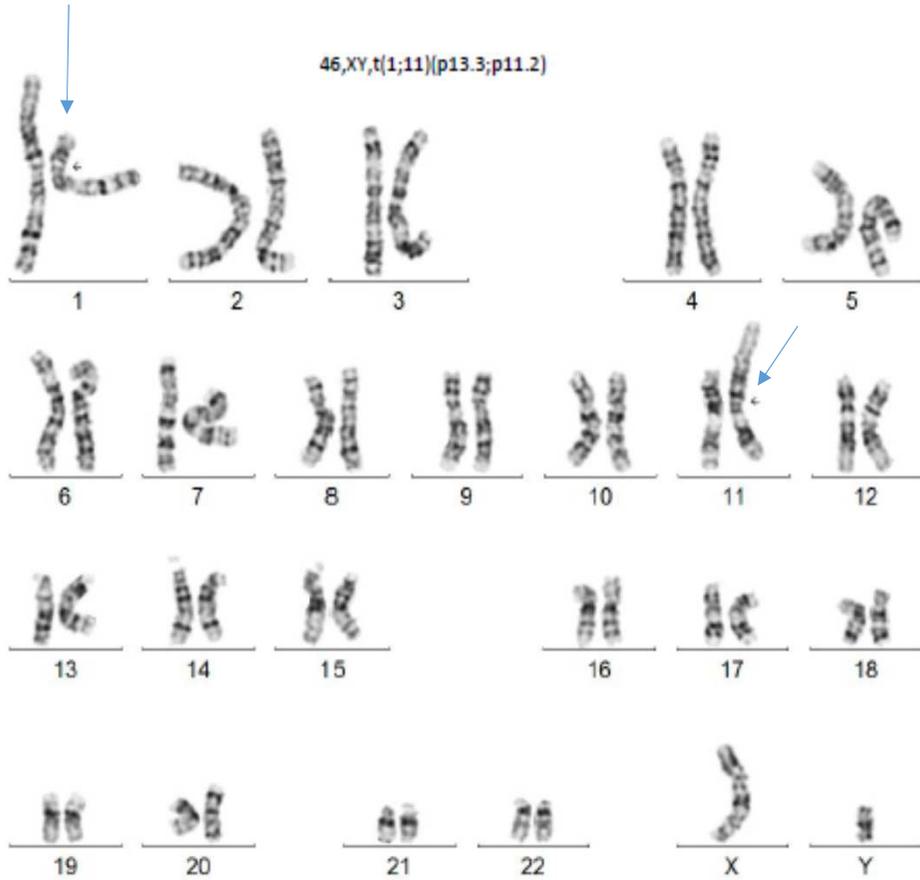
Síndrome de Klinefelter 47, XXY



Síndrome de Down



# Cariotipo en sangre periférica



# Cariotipo en sangre periférica

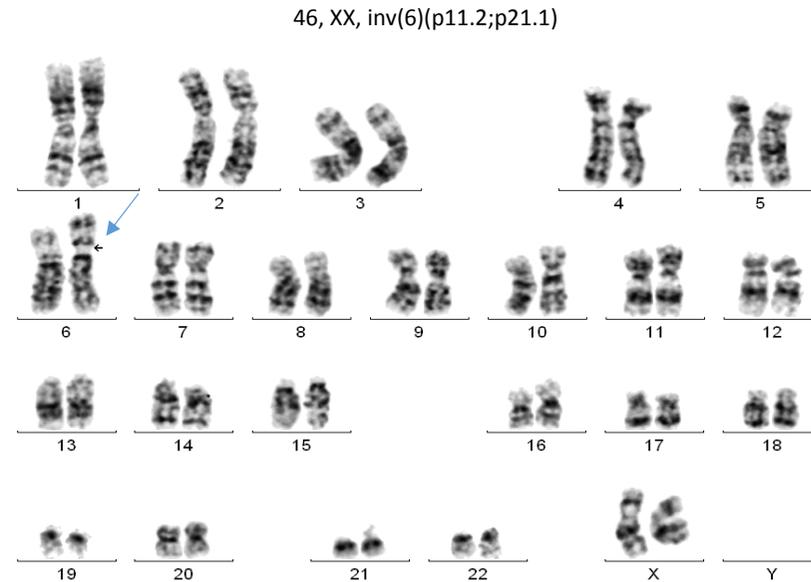
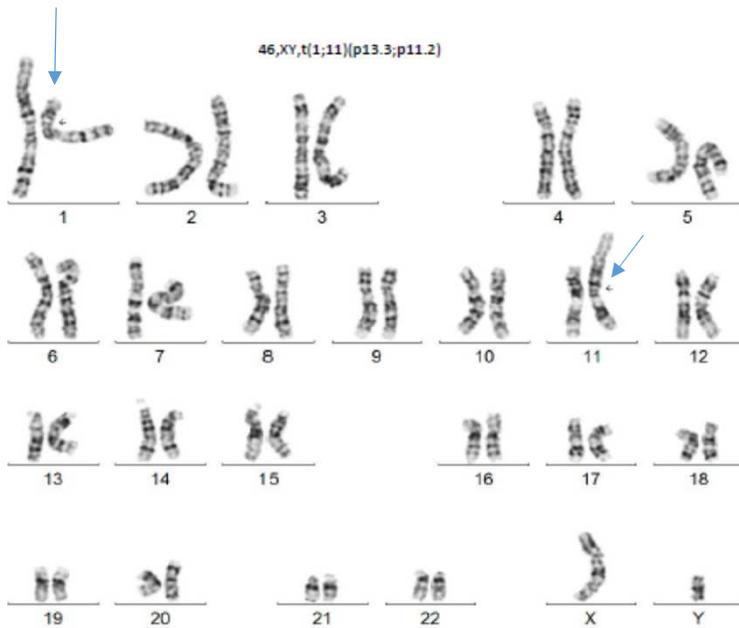
## ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS

### Anomalías cromosómicas estructurales

Reordenamientos  
equilibrados

Translocaciones,  
inversiones

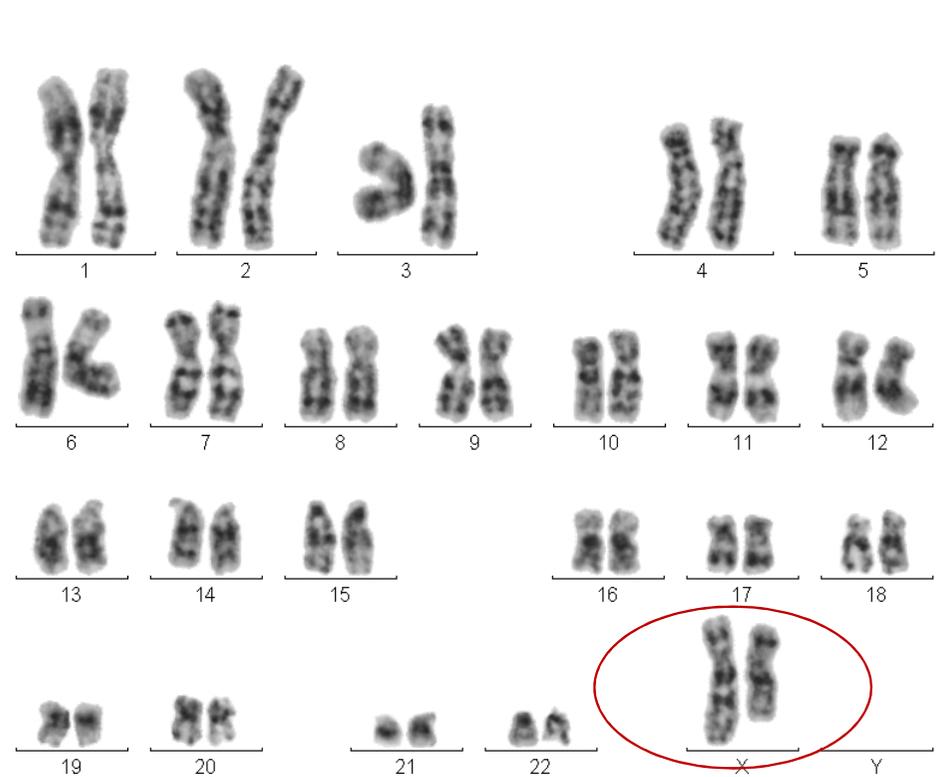
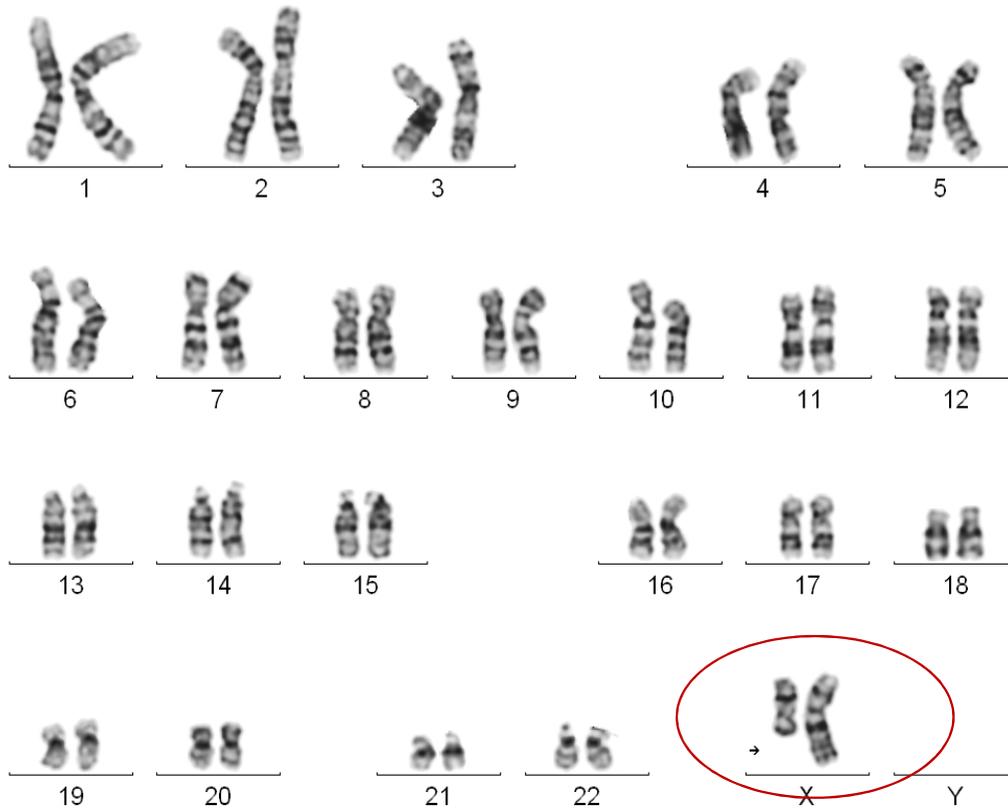
Consejo genético  
Indicación cariotipo  
ampliación CGH-array



# Cariotipo en sangre periférica

46,X,del(X)(q21.2->qter)

46,XX,dup(X)(q13->q21)



# Cariotipo en sangre periférica

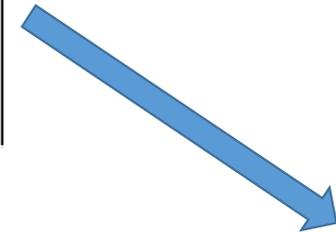
## ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS

### Anomalías cromosómicas estructurales

Reordenamientos  
desequilibrados

Deleciones y  
duplicaciones, adición,  
isocromosoma,  
cromosoma marcador

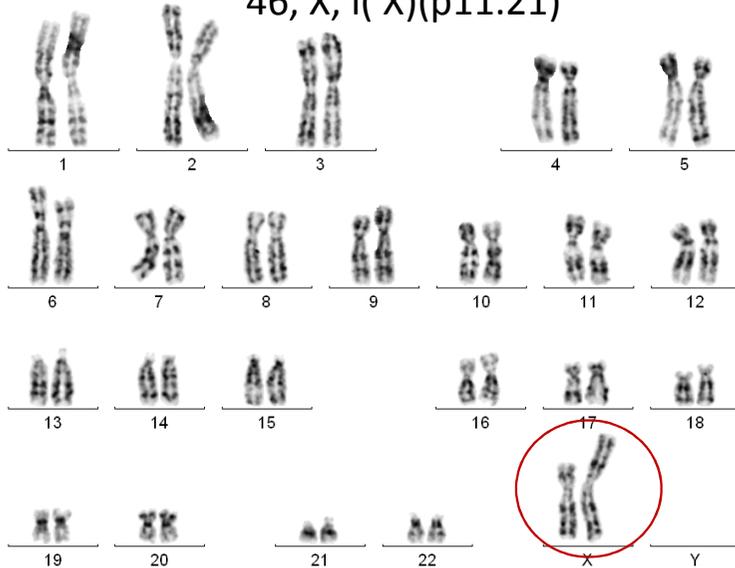
S. De di George  
Síndrome de microdelección 1q41-q42  
Síndrome de monosomía 1p36  
Síndrome de microdelección 16p13.3  
Síndrome de Williams-Beuren



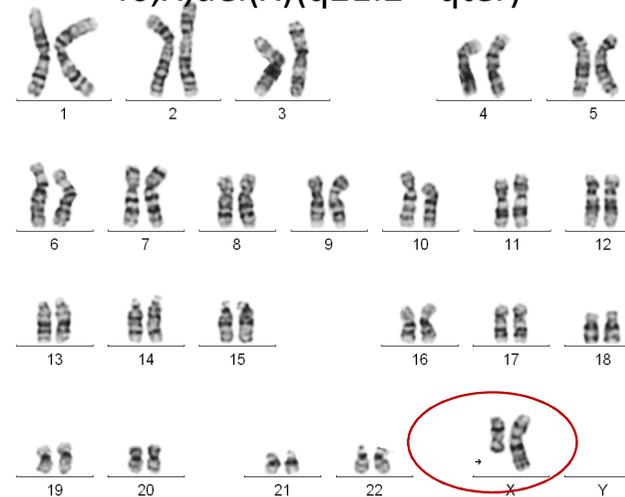
**Indicación/ ampliación**

**CGH-array**

46, X, i(X)(p11.21)



46, X, del(X)(q21.2->qter)



# Cariotipo en sangre periférica

## INDICACIONES

Síndrome de Turner  
 Síndrome Klinefelter  
 Síndrome de Down

Antecedentes familiares de translocaciones cromosómicas

*Miller DT et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. Am J Hum Genet. 2010 May 14;86(5):749-64.*

## Hoja de solicitud de estudios genéticos

ALACANT HOSPITAL GENERAL  
 DEPARTAMENT DE SALUT

DEPARTAMENTO DE SALUD ALICANTE - HOSPITAL GENERAL

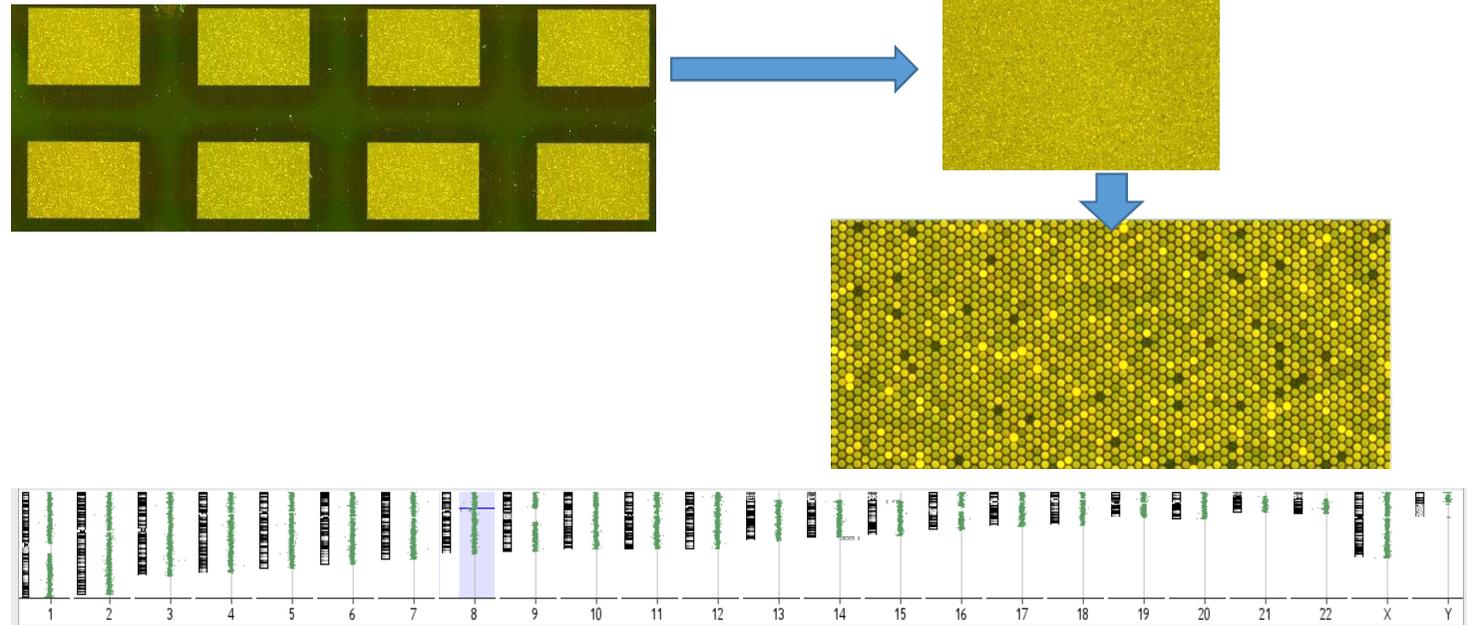
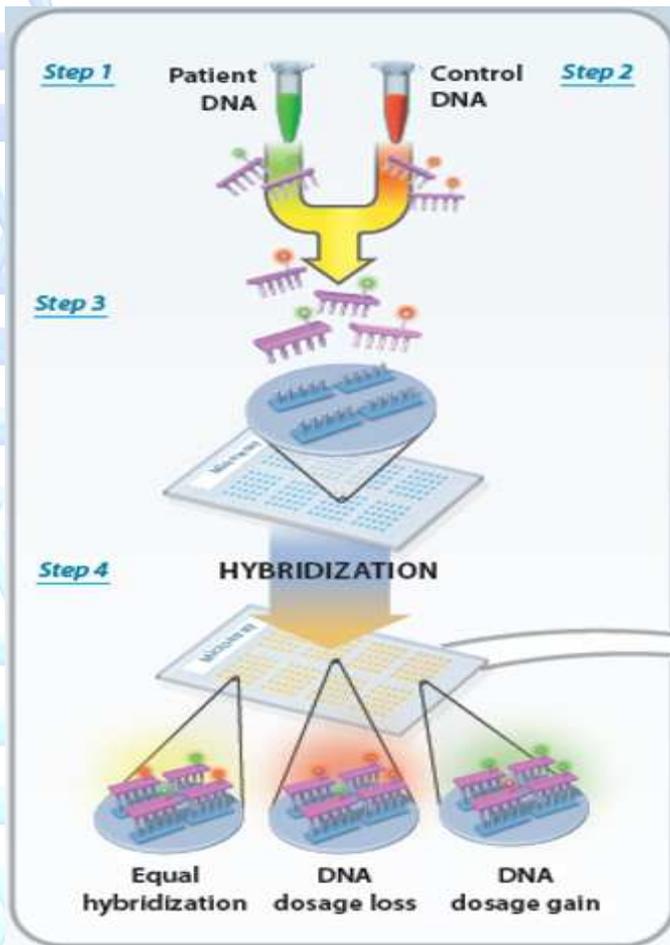
Hoja de solicitud de estudios genéticos  
 N° Registro(1):

PEGAR ETIQUETA CON CÓDIGO DE BARRAS O RELLENAR				Médico Solicitante	
Apellido 1				Especialidad	
Apellido 2				N° Colegiado	
Nombre				Nombre y firma	
Sexo		N° 1ª Clínica		Fecha	
Número DIP		Fecha Nacimiento		Tipo de muestra	
Solicitud de estudios genéticos				<input checked="" type="checkbox"/> Sangre total EDTA <input type="checkbox"/> Líquido amniótico <input type="checkbox"/> Biopsia <input type="checkbox"/> Otros:	
Código de Muestra (2)				SERVIDO	
Fecha de Extracción (2)				UNIDAD	
Fecha de Resultados (2)				CONSULTA	
Cumplimentación obligatoria del médico solicitante: - Declaro que se ha cumplido el Art.47 de la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica <input checked="" type="checkbox"/> - Declaro que se ha firmado el consentimiento informado para realizar la prueba <input checked="" type="checkbox"/> - La solicitud se ajusta a guías de práctica clínica <input checked="" type="checkbox"/> o, MBE <input type="checkbox"/> - Es indicación precisa para el diagnóstico <input checked="" type="checkbox"/> , pronóstico <input type="checkbox"/> y/o tratamiento <input type="checkbox"/>					
Escriba el nombre completo del estudio solicitado (3) y CÓDIGO OMIM					
Información clínica relevante del paciente y familiares y justificación del estudio solicitado (4)					
Antecedentes de estudios genéticos del: (En caso afirmativo señalar NOMBRE y CÓDIGO OMIM)					
Paciente: NO <input checked="" type="checkbox"/> SI: <input type="checkbox"/>					
Padre: <input type="checkbox"/> Madre: <input type="checkbox"/>					
Hermano: <input type="checkbox"/>					
Sello y/o firma del médico solicitante		VSP del Jefe de Servicio(s)		VSP de la Dirección	
Fecha:		Fecha:		Fecha:	

(1) A rellenar por Dirección (2) A cumplimentar por el Servicio de Análisis Clínicos (3) NO cumplimentar a mano (4) IMPRESCINDIBLE para cursar la solicitud

# CGH-array

CNV: VARIACIONES EN EL NÚMERO DE COPIA



## Bases de datos

ISCA Consortium  
Database of Genetic Variants  
Decipher  
ECARUCA  
UCSC Genome Browser  
Ensembl  
NCBI

[www.iscaconsortium.org](http://www.iscaconsortium.org)  
[projects.tcag.ca/variation](http://projects.tcag.ca/variation)  
[decipher.sanger.ac.uk](http://decipher.sanger.ac.uk)  
[www.ecaruca.net](http://www.ecaruca.net)  
[genome.ucsc.edu](http://genome.ucsc.edu)  
[www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)  
[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)

# CGH-array

## SIN CNV

*arr[hg19] (1-22)x2 (XY)x1, Normal Varón*

*arr[hg19] (1-22, X)x2, Normal Mujer*

### CNV BENIGNA

### CNV DE SIGNIFICADO INCIERTO

### CNV PATOGENICA

*“Las alteraciones detectadas no tienen significación clínica según las bases de datos disponibles hasta la fecha”*

**CNV descrita como de significado incierto**

**CNV No descrita**

**Conflictos en cuanto a su patogeneicidad**

*“No es posible establecer relación entre el fenotipo del paciente y las variantes detectadas”*

*“La alteración es compatible con patología”*

#### Probablemente Benigna

- *Es heredada de un progenitor aparentemente sano*
- *Alteraciones similares en tamaño y contenido génico han sido clasificadas como benignas*
- *<Tamaño*
- *Dosis génica (duplicación)*
- *Contenido génico (ningún gen OMIM, ni ningún gen mórbido)*

#### Probablemente patogénica

- *CNV de novo*
- *Alteraciones similares en tamaño y contenido génico han sido clasificadas como patogénicas*
- *>Tamaño*
- *Dosis génica (delección)*
- *Contenido génico: genes OMIM y genes mórbidos*

Miller DT et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. Am J Hum Genet. 2010 May 14;86(5):749-64.

Kearney HM, et al. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. Genet Med. 2011 Jul;13(7):680-5

Vermeesch JR, et al. Genome-wide arrays: quality criteria and platforms to be used in routine diagnostics. Hum Mutat. 2012 Jun;33(6):906-15.

## Listado de síndromes que pueden ser detectados por CGH-array

Síndrome de monosomía 1p36	Síndrome Cornelia de Lange	Síndrome de Pallister-Killian	Síndrome de microdeleción 19q13.1
Síndrome de microdeleción 1p32-p31	Síndrome de duplicación 5p13	Síndrome de Patau	Síndrome de Alagille
Síndrome de microdeleción 1q41-q42	Síndrome de microdeleción 5q14.3	Holoprosencefalia 5	Síndrome de Down
Síndrome de Feingold	Síndrome de microdeleción 6pter-p24	Microftalmia síndromica	Holoprosencefalia 1
Síndrome de hipotonía-cistinuria	Síndrome de microdeleción 6q11-q14	Síndrome de duplicación 15q11-q13	Síndrome del ojo de gato
Holoprosencefalia 2	Síndrome de microdeleción 6q24-q25	Síndrome de microdeleción 15q24	Síndrome de de Di George
Síndrome de microdeleción 2p16.1p15	Síndrome de síndrome de Saethre-Chotzen	Síndrome de microdeleción 15q26-qter	Síndrome de Opitz GBBB
Síndrome de microdeleción 2p11-p11.22	Síndrome de Williams-Beuren	Síndrome de microdeleción 16p13.3	Síndrome de microdeleción 22q11.2 distal
Displasia mesomélica tipo Savariayan	Holoprosencefalia 3	Síndrome de Rubenstein-Taybi	Síndrome de microdeleción 22q13.3
Síndrome de Joubert	Síndrome de CHARGE	Síndrome de microdeleción 16`12,2-p11,2	Síndrome de Turner
Nefronoptisis tipo 1	Síndrome Trico-rino-falangico tipo 1	Síndrome de lisencefalia de Miller-Dieker	Síndrome de triple X
Malformación Split/hand foot 5	Síndrome de microdeleción 9p	Síndrome de duplicación 17p13.3	Síndrome de Klinefelter
Síndrome de microdeleción 2q31	Holoprosencefalia 7	CMT tipo 1A	Síndrome de microdeleción Xp22
Síndrome de microdeleción 2q32-q33	Síndrome de Kleefstra	Síndrome de Smith-Magenis	Dístrifia muscular de Duchenne
Holoprosencefalia tipo 6	Hipoparatiroidismo, sordera neurosensorial y enfermedad renal	Síndrome de Potocki-Lupski	Síndrome de microdeleción de genes contiguos de ictiosis complicada ligada al X
Síndrome de de braquidactilia- retraso mental	Síndrome de Di George	Síndrome de microdeleción 17q11.2	Síndrome de microdeleción Xp11.3
Blefarofimosis, ptosis y epicantus inverso	Síndrome de microdeleción 10q23	Síndrome de microdeleción 17q21.31	Síndrome de duplicación Xp11.23-p11.22
Síndrome de Dany-Walker	Síndrome de microdeleción 10q26	Síndrome de microduplicación 17q21.31	Retraso mental ligado al X con panhipoparatiroidismo
Microftalmia síndromica tipo 3	Síndrome de Beckwith-Wiedemann	Síndrome de deleción 18p	Síndrome de microdeleción Xq28
Síndrome de microdeleción 3q29	Síndrome de microdeleción 11p15-p14	Síndrome de Edwards	Síndrome XYY
Síndrome de Wolf-Hirschhorn	Síndrome de microdeleción 11p13-12	Holoprosencefalia 4	Síndrome de Axenfeld Rieger
Síndrome de microdeleción 4q31	Síndrome de WAGR	Síndrome de Pitt-Hopkins	Síndrome de Langer Giedion
Síndrome de cri-du-chat	Síndrome de Potocki-Shaffer	Síndrome de deleción 18p	Síndrome uña- rótula



# CGH-array

## INDICACIONES

- Discapacidad intelectual
- Retraso global del desarrollo
- Anomalías congénitas o rasgos dismórficos
- Trastorno de espectro autista
- En pacientes con translocaciones aparentemente balanceadas
- En presencia de duplicaciones o deleciones en el cariotipo para determinar los límites de la región alterada
- Cromosomas marcadores, para determinar su origen
- Sospecha de síndrome de delección/duplicación de genes contiguos (listado anterior)

*Manning M., et al. Professional Practice and Guidelines Committee. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. Genet Med 2010;12:742-745*

**Ratio diagnóstico de aproximadamente un 15-20% según las diferentes series de pacientes**

# CGH-array

## VENTAJAS

- Mejores características técnicas (Datos objetivos, reproducibilidad, control de calidad)
- Rendimiento diagnóstico
- Mayor resolución >5 Mb vs <5 kb
- Diagnóstico más preciso (puntos de rotura, contenido génico)
- Diseño según utilidad clínica

## DESVENTAJAS

- No detecta reordenamientos equilibrados, poliploidías ni duplicaciones/deleciones en mosaico con un porcentaje menor al 50%
- No detecta mutaciones puntuales en las regiones analizadas
- Dificultad en la interpretación de los hallazgos (CNV Benignas/Patológicas, de significado incierto, no descritas)
- Pueden generar mayor incertidumbre
- Coste

CGH array 180k Autismo no  
síndromico



Hoja de solicitud de estudios genéticos

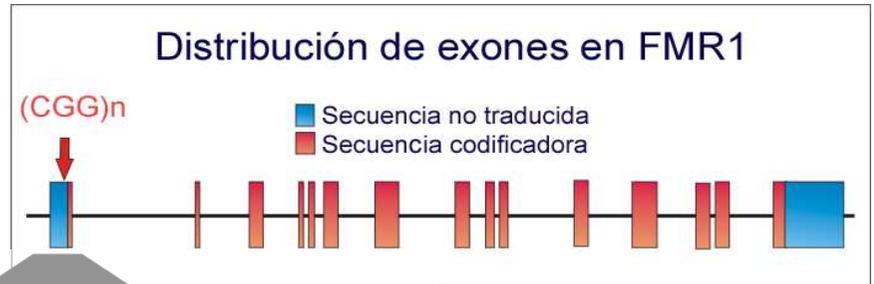
# Síndrome de X-Frágil

La causa más común de discapacidad intelectual heredada, pero solo ocupa entre un 0.5-2% de los pacientes con DI

Mutación dinámica que se debe a la repetición del trinucleótido CGG.

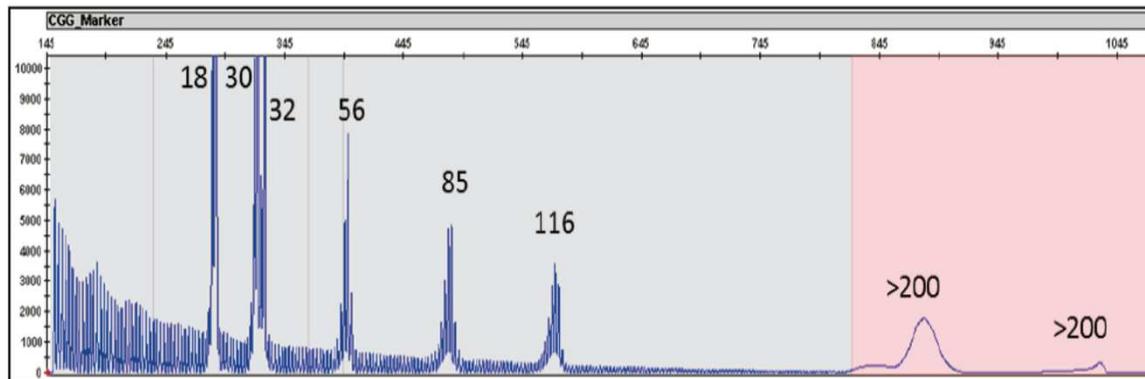
La prevalencia general del síndrome del X frágil es de ~1 por 4000 en los hombres y de ~1 por 5000-8000 en las mujeres

Herencia dominante ligada al Cr. X con penetrancia incompleta (80% varones, 30% mujeres)

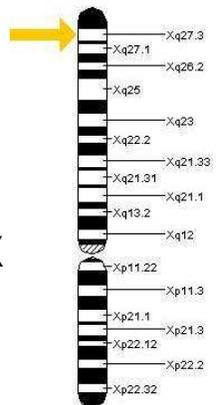


ATCAT**CGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG**TACAAG

Región 5'UTR

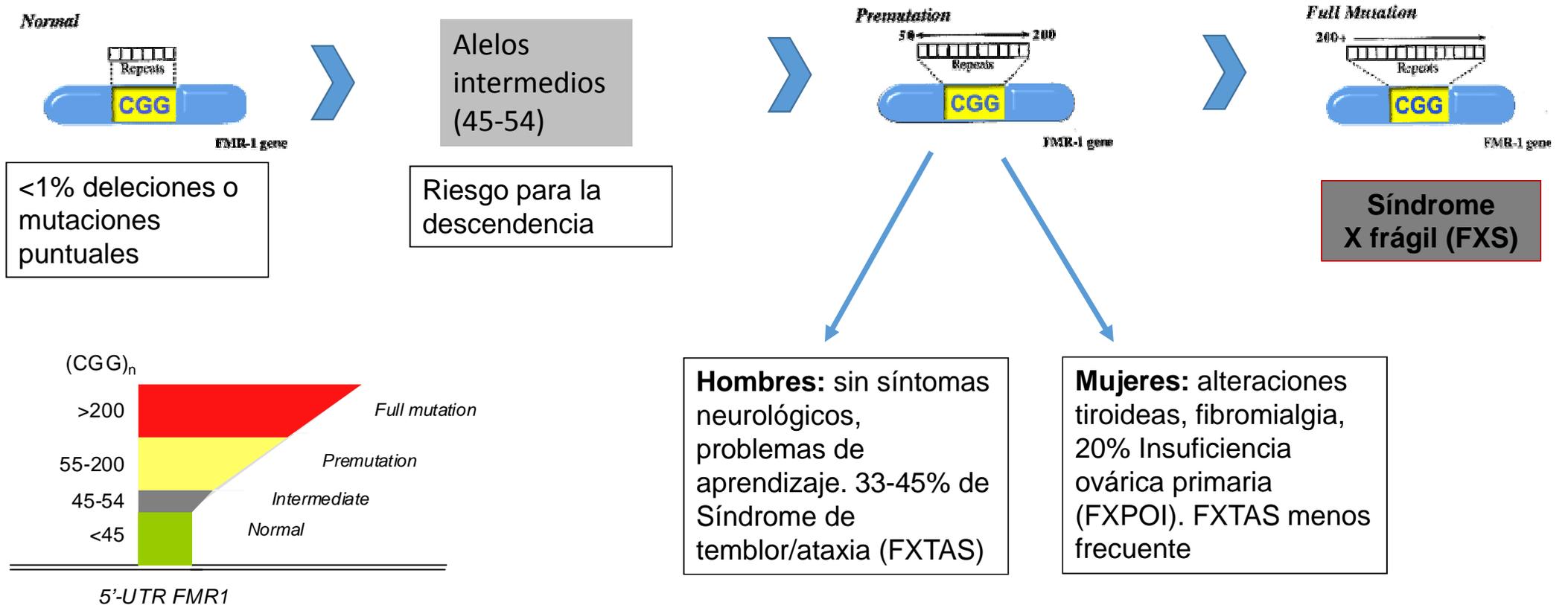


Cromosoma X



# Síndrome de X-Frágil

Según el número de repeticiones **CGG**



# Síndrome de X-Frágil

- Retraso en la aparición del lenguaje
- Retraso motor leve
- Trastorno de déficit de atención por hiperactividad
- Trastorno de espectro autista
- Cara alargada, mentón prominente, orejas grandes y salientes
- Macroorquidismo
- Otros: paladar elevado, hiperlaxitud articular, piel fina y aterciopelada, otitis recurrente, estrabismo, pies planos, prolapso de la válvula mitral, 15% se presenta con epilepsia, fenotipo similar al del síndrome de Prader-Willi, con obesidad e hiperfagia

Milá M, et al. Clinical guideline of gene FMR1-associated diseases: fragile X syndrome, primary ovarian insufficiency and tremor-ataxia syndrome. Med Clin (Barc). 2014 Mar 4;142(5):219-25.  
Christofolini DM, et al. Evaluation of clinical checklists for fragile X syndrome screening in Brazilian intellectually disabled males: proposal for a new screening tool. J Intellect Disabil. 2009 Sep;13(3):239-48.

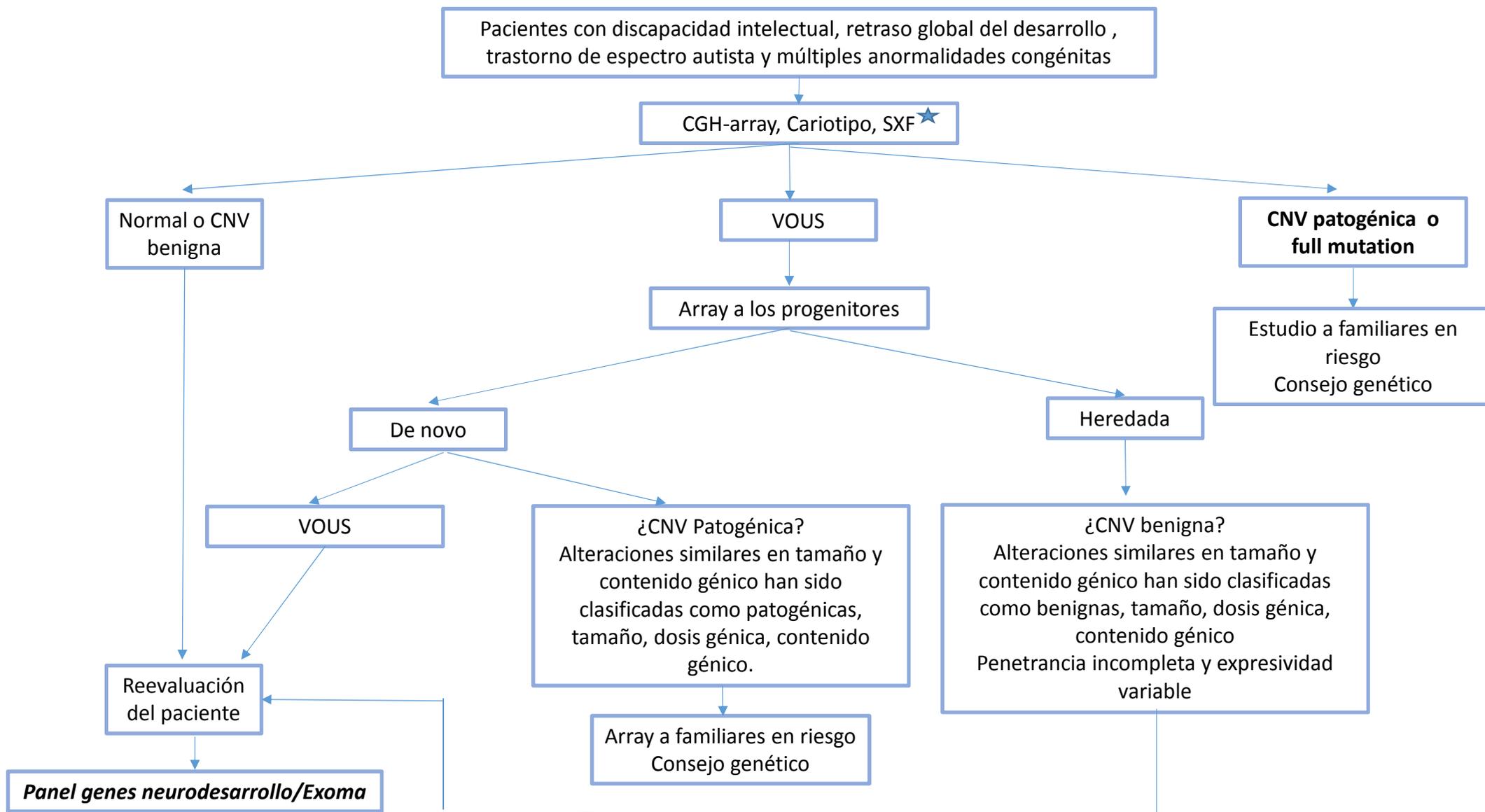


## INDICACIONES

En niños con sospecha por rasgos dismórficos característicos y/o historia familiar de DI, TEA en varios individuos de la rama materna de la familia.

**NO** se realizará en niñas que no cumplan los siguientes: fenotipo altamente sugestivo de SXF, con historia familiar de paciente afecto con SXF en la familia, fallo ovárico prematuro, ataxia o temblores

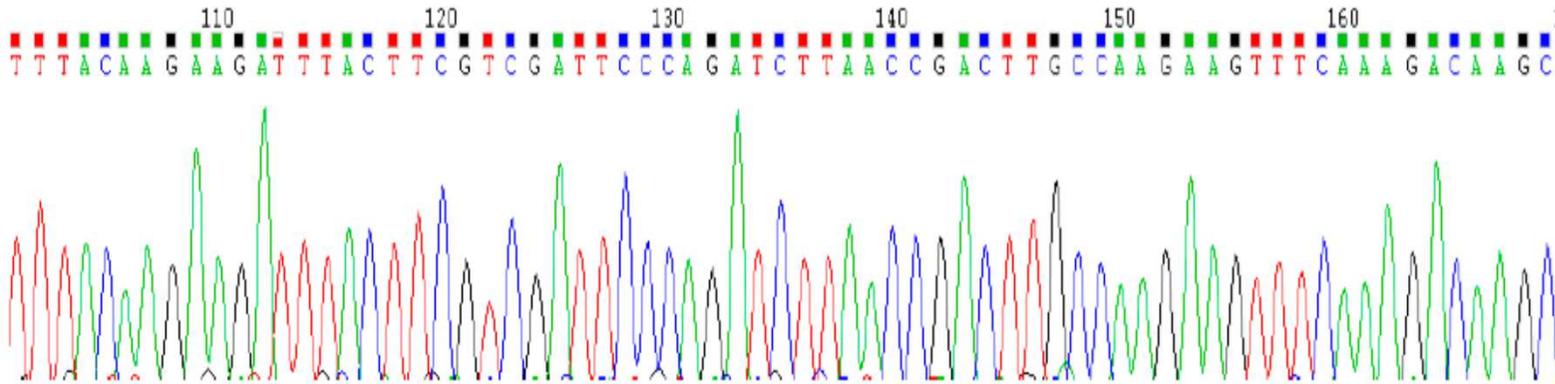
Hoja de solicitud de estudios genéticos



Miller DT et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. Am J Hum Genet. 2010 May 14;86(5):749-64.

# Técnicas de diagnóstico genético aplicadas a la pediatría

## Secuenciación Sanger



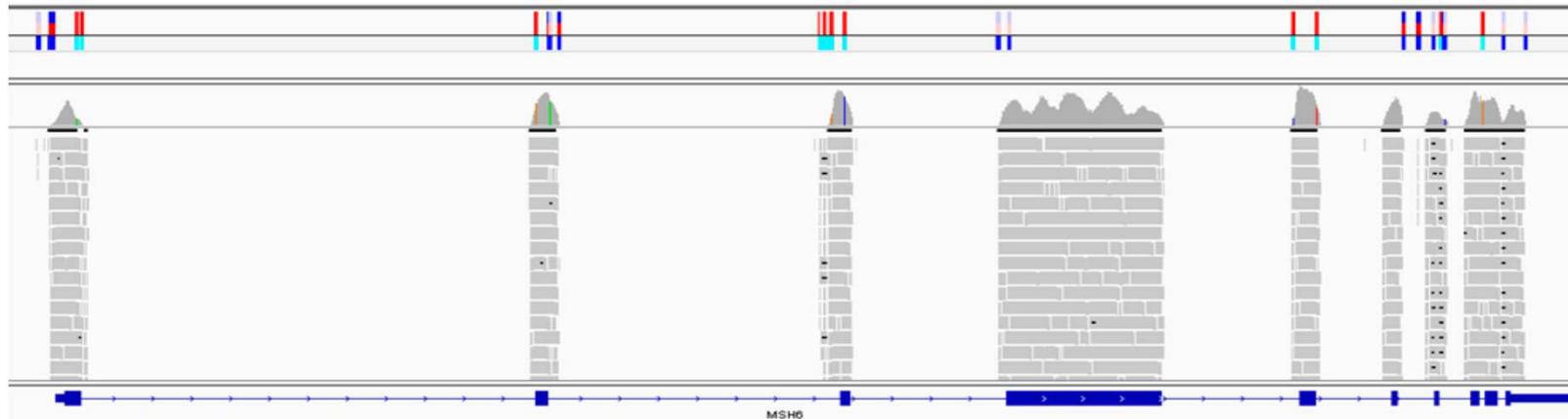
Mutaciones puntuales

Patología causada por un único gen de tamaño pequeño. *Síndrome de Aarskog-Scott (gen FGD1)*  
*Síndrome de Apert (gen FGFR2)*

Pseudogenes Hiperplasia Suprarrenal Congénita por déficit de 21OHD (gen CYP21A2)

Gold Estándar

## Next Generation Sequencing (NGS)



Genes grandes, múltiples genes

Heterogeneidad genética

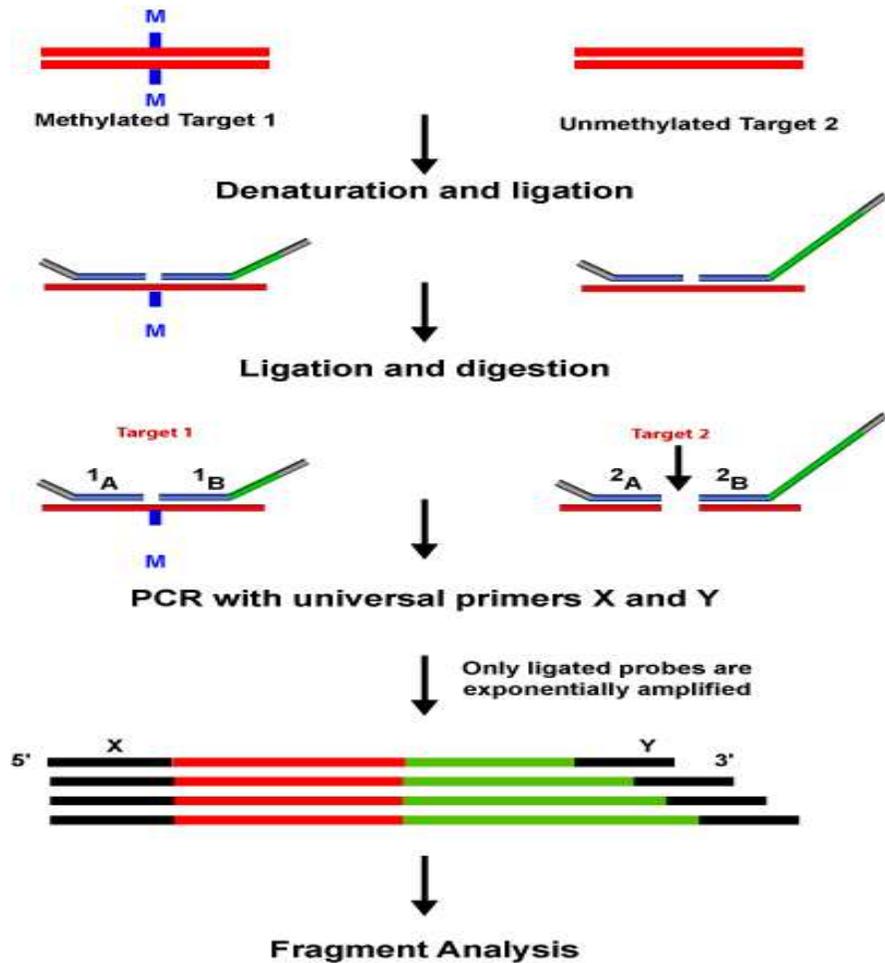
Enfermedades complejas y multifactoriales

Identificación de nuevos genes (investigación)

Síndrome de Noonan: gen PTPN11, SOS1, RAF1, BRAF, KRAS, NRAS, HRAS; SHOC2; MAP2K1; MAP2K2; CBL.

# Técnicas de diagnóstico genético aplicadas a la pediatría

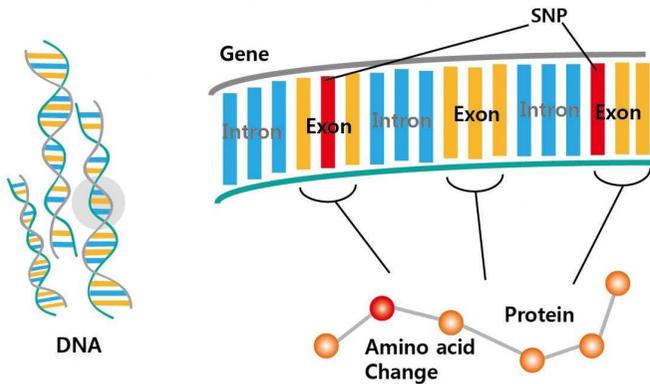
## MLPA: multiplex ligation probe amplification



- Enfermedades asociadas a deleciones/duplicaciones de uno a varios exones del gen (distrofia muscular de Duchenne o de Becker)
- Cuando la secuenciación ha resultado no informativa
- Cuando encontramos una mutación en heterocigosis en una patología recesiva

# Técnicas de diagnóstico genético aplicadas a la pediatría

El análisis de Exoma se basa en la secuenciación masiva de las zonas codificantes del genoma (exones)



<2% del genoma

21,000 genes

85% mutaciones descritas

## INDICACIONES

- Trastornos graves del neurodesarrollo
- Enfermedades hereditarias con extrema heterogeneidad genética
- Pacientes con afectación de varios sistemas no relacionados
- “genotipo a fenotipo”

Exoma clínico

Exoma dirigido

Exoma trío



Ratio diagnóstico de aproximadamente un 20% (en el caso de exoma trío) según las diferentes series de pacientes

# Técnicas de diagnóstico genético aplicadas a la pediatría

[http://intranethgua.cs.san.gva.es/?page\\_id=2523](http://intranethgua.cs.san.gva.es/?page_id=2523)



DEPARTAMENTO DE SALUD  
ALICANTE- HOSPITAL GENERAL

## CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA REALIZACIÓN DE UN ANÁLISIS GENÉTICO

En este formulario se recoge información sobre los beneficios, riesgos y limitaciones de estos análisis genéticos. Esta es una prueba VOLUNTARIA y la obtención de la muestra, su manipulación, su custodia, los informes que de ella se deriven y las personas que puedan acceder a los mismos, han de cumplir rigurosamente la Ley 14 /2007, de Investigación Biomédica y la Ley Orgánica 15/1999, de Protección de Datos de Carácter Personal. Lea detenidamente este formulario antes de tomar una decisión al respecto, pregunte si algún término no le ha quedado claro y luego si usted está de acuerdo con lo que se le propone, firme el presente CONSENTIMIENTO.

## OBJETIVO

La finalidad de esta prueba es diagnóstica. Con este análisis se determina un gen o genes específicos responsables de cambios genéticos llamados mutaciones. Ayudará a determinar si usted es portador del gen responsable de la enfermedad \_\_\_\_\_, o detectar una predisposición o una susceptibilidad genética a esta enfermedad, todo ello con fines médicos. Las muestras, una vez procesadas, se almacenarán en el Centro \_\_\_\_\_ durante el tiempo necesario para realizar todo el proceso de análisis y, a continuación serán destruidas, salvo que se estime la conveniencia de otros usos, como es la investigación, para lo que se requerirá nuevamente su consentimiento, que deberá ser específico, independiente y por escrito, distinto al que se le propone en este documento.

## PROCEDIMIENTO

Para realizar dicho análisis genético, se podrá extraer una muestra de: SANGRE, LÍQUIDO AMNIÓTICO, MÉDULA ÓSEA o TEJIDOS etc., para llenar un tubo de ensayo y se enviará para su análisis. Las muestras irán identificadas con sus datos si se van a analizar en alguno de los Laboratorios de nuestro Hospital; pero SE SUSTITUIRÁN POR UN CÓDIGO QUE LE IDENTIFIQUE A VD, en el caso que tengamos que enviar la muestra a un Laboratorio externo.

## BENEFICIOS Y RIESGOS

**Beneficios.** Los resultados de esta prueba genética podrían ayudarle a usted y a su médico a tomar decisiones más informadas sobre su atención médica o estrategias preventivas. La identificación de una mutación (o mutaciones) en un gen en una familia permite que otros familiares consanguíneos determinen si comparten o no el mismo diagnóstico.

### 1. Consecuencias previsibles de la realización de la prueba

Es posible que los estudios realizados sobre sus muestras aporten información relevante para su salud. Tiene derecho tanto a ser informado, como a que no se le informe de sus datos genéticos y otros datos personales obtenidos en el estudio. Estos datos pueden repercutir también en algunos miembros de su familia, por lo cual

**EDTA, Tapón morado**



DEPARTAMENTO DE SALUD ALICANTE - HOSPITAL GENERAL

Hoja de solicitud de estudios genéticos  
Nº Registro(1):

**DATOS IDENTIFICATIVOS DEL PACIENTE/ SOLO DEMOGRÁFICOS**

**MEDICO PETICIONARIO**

Código de Muestra (2)	
Fecha de Extracción (2)	
Fecha de Resultados (2)	

Cumplimentación obligatoria del médico solicitante:

- Declaro que se ha cumplido el Art.47 de la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica <input checked="" type="checkbox"/>	SERVICIO
- Declaro que se ha firmado el consentimiento informado para realizar la prueba <input checked="" type="checkbox"/>	UNIDAD
- La solicitud se ajusta a guías de práctica clínica <input checked="" type="checkbox"/> o, MBE <input type="checkbox"/>	CONSULTA
- Es indicación precisa para el diagnóstico <input checked="" type="checkbox"/> , pronóstico <input type="checkbox"/> y/o tratamiento <input type="checkbox"/>	

**Sospecha clínica (genes implicados)**

Información clínica relevante del paciente y familiares y justificación del estudio solicitado (3)

**Datos clínicos de interés**

Antecedentes de estudios genéticos del: (En caso afirmativo señalar NOMBRE y CÓDIGO OMIM)

Paciente: NO  SI

Padre  Madre

Hermano

Sello y/o firma del médico solicitante	VSP del Jefe de Servicio(4)	VSP de la Dirección
<b>MEDICO PETICIONARIO</b>	<b>JEFE DE SERVICIO</b>	<b>SUBDIRECCIÓN MÉDICA</b>
Fecha:	Fecha:	Fecha:

(1) A rellenar por Dirección (2) A cumplimentar por el Servicio de Análisis Clínicos (3) NO cumplimentar a mano (4) IMPRESCINDIBLE para cursar la solicitud

# Técnicas de diagnóstico genético aplicadas a la pediatría

## **BIBLIOGRAFÍA:**

- Milá M, et al. Clinical guideline of gene FMR1-associated diseases: fragile X syndrome, primary ovarian insufficiency and tremor-ataxia síndrome. *Med Clin (Barc)*. 2014 Mar 4;142(5):219-25.
- Christofolini DM, et al. Evaluation of clinical checklists for fragile X syndrome screening in Brazilian intellectually disabled males: proposal for a new screening tool. *J Intellect Disabil*. 2009 Sep;13(3):239-48.
- Miller DT et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*. 2010 May 14;86(5):749-64.
- Manning M., et al. *Professional Practice and Guidelines Committee. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. Genet Med* 2010;12:742–745
- Kearney HM, et al. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med*. 2011 Jul;13(7):680-5
- Vermeesch JR, et al. Genome-wide arrays: quality criteria and platforms to be used in routine diagnostics. *Hum Mutat*. 2012 Jun;33(6):906-15.
- Schaefer GB., et al. Clinical genetics evaluation in identifying the etiology of autism spectrum disorders: 2013 guideline revisions. *Genet Med*. 2013 May;15(5):399-407. doi: 10.1038/gim.2013.32. Epub 2013 Mar 21.
- Shevell, M. et al. Practice parameter: evaluation of the child with global developmental delay: Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and The Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology* 60, 367–380 (2003).
- Weinstein V. et al. Do the data really support ordering fragile X testing as a first-tier test without clinical features? *Genet Med*. 2017 Dec;19(12):1317-1322.
- Mullegama SV., et al. Is it time to retire fragile X testing as a first-tier test for developmental delay, intellectual disability, and autism spectrum disorder? *Genet Med*. 2017 Dec;19(12). doi: 10.1038/gim.2017.146. Epub 2017 Sep 21.
- Hartley T., et al. Fragile X testing as a second-tier test. *Genet Med*. 2017 Dec;19(12).
- Autism and Developmental Monitoring Network Surveillance Year 2000 Principal Investigators. (2007). Prevalence of autism spectrum disorders—autism and developmental disabilities monitoring network, six sites, United States, 2000. *MMWR Surveill. Summ*. 56, 1–11.

# Técnicas de diagnóstico genético aplicadas a la pediatría



**Laboratorio de biología molecular**

**Edificio gris, 4º planta**

**913958, 445110**

**[genetica\\_hgua@gva.es](mailto:genetica_hgua@gva.es)**