

Caso práctico:

## Análisis genómico integral de datos de microarray y de secuenciación de última generación para diagnóstico clínico



### Resumen

En este caso práctico obtendrá información sobre:

- cómo el Greenwood Genetic Center (GGC) usa los resultados de NGS y array en análisis genéticos rutinarios para conseguir un mayor rendimiento en el diagnóstico,
- cómo la plataforma Alissa Interpret permite una integración impecable del número de copias y de las variantes moleculares,
- un ejemplo sobre cómo el GGC utilizó esta función para abordar un caso de diagnóstico de córnea frágil.

### Autores:

Doctora<sup>1</sup> Alka Chaubey

Doctor<sup>1</sup> Michael J. Friez

Doctora<sup>1</sup> Monica J. Basehore

Doctor en medicina<sup>1</sup> R. Curtis Rogers

Doctor<sup>2</sup> Steven Van Vooren

1. Greenwood Genetic Center  
106 Gregor Mendel Circle  
Greenwood, SC 29646

2. Agilent Technologies  
Lexington, Massachusetts

### Introducción

La secuenciación de última generación (NGS) ha demostrado ser, recientemente, una herramienta útil para el diagnóstico en un abanico cada vez mayor de aplicaciones clínicas. Se ha creado con el objetivo de remplazar con una sola metodología una gran cantidad de herramientas básicas de diagnóstico molecular, como la secuenciación por Sanger, la qPCR, el MLPA y el análisis de número de copias basado en array (aCNA). La extracción de las variaciones en el número de copias (CNV) de los datos de la NGS ha demostrado ser, sin embargo, difícil. En este caso práctico, el Greenwood Genetic Center muestra la aplicación exitosa de ambas técnicas, la NGS y el aCNA, como métodos complementarios de diagnóstico clínico. Esta demostración ejemplifica cómo el módulo de software Alissa Interpret se puede utilizar como una plataforma integrada de análisis de datos que permite analizar conjuntamente los resultados de los ensayos de CGH y NGS.

### Caso

Se remitió el caso de un bebé varón de dos meses que padecía queratoglobo, esclerótica azul y reflejo rojo anómalo en los ojos (Figura 1). En el historial clínico familiar no se encontraron resultados clínicos positivos relativos a estos y otros trastornos relacionados. El diagnóstico inicial apuntaba al síndrome de córnea frágil (trastorno autosómico recesivo) o a la osteogénesis imperfecta (trastorno autosómico dominante) y se utilizó para identificar los genes candidatos causantes del fenotipo del paciente.



**Figura 1.** La figura representa la constitución del probando y un primer plano del queratoglobo y la esclerótica azul.

### Resumen de las conclusiones

El laboratorio del Greenwood Genetic Center (GGC) consiguió establecer de forma rápida y con precisión los cambios genómicos causantes de la enfermedad a través del Alissa Interpret de Agilent, el módulo de automatización de evaluación de variantes y de creación de informes que forma parte de la plataforma de NGS Alissa Clinical Informatics. El GGC fue capaz de superar el reto que supone la extracción de las CNV de los datos de la NGS en un único análisis integrado en ambos flujos de trabajo, el de aCNA y el de NGS, y consiguió aumentar de forma significativa la eficiencia de las prácticas rutinarias.



## Métodos y resultados

En un primer momento, el Laboratorio de citogenética del Greenwood Genetic Center (GGC) llevó a cabo el aCNA por medio de la plataforma Affimetrix Cytoscan HD. Se analizaron los datos de microarray a través de la plataforma Alissa Interpret. De las nueve regiones de CNV que se identificaron, seis eran deleciones cromosómicas.

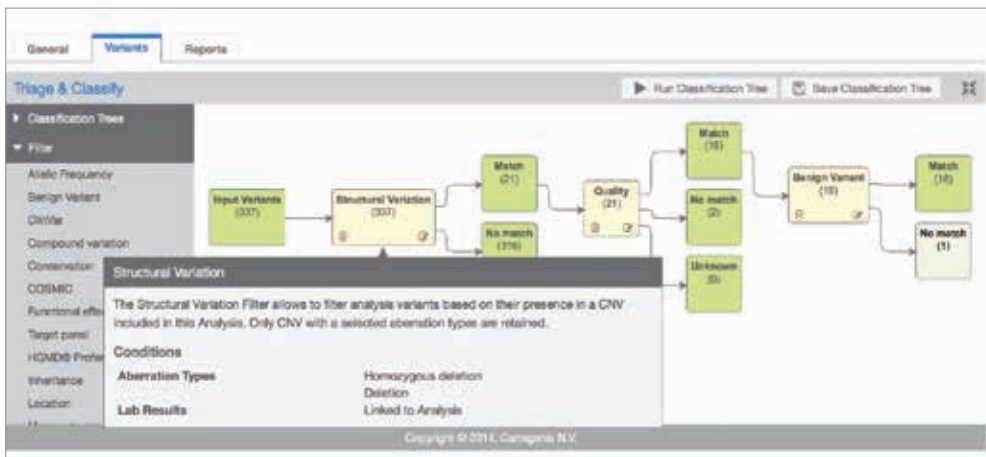
El alineamiento de estas regiones con los genes OMIM mostró la pérdida de una copia de un segmento de 114,1 Kb en el cromosoma 16. Esta deleción engloba el locus ZNF469 completo, que es conocido por su función reguladora y estructural en el conjunto de las fibras de colágeno y que se ha asociado con el síndrome de córnea frágil de tipo 1.

Tras esta observación, se llevó a cabo otra secuenciación selectiva con NGS de 31 genes representados en el Panel de Tejido Conectivo del Laboratorio de diagnóstico genético de Greenwood. Se utilizó una estrategia sencilla para extraer variantes de interés relacionadas con la enfermedad (**Figura 2**).

Se descartaron las variantes benignas por medio del alineamiento de los datos de NGS con los que existen en las siguientes bases de datos públicas a las que se accede a través de Alissa Interpret:

- Exome Variant Server
- dbSNP
- 1000Genomes

Además del alineamiento con los datos de referencia de variantes comunes del propio GGC, tal y como se muestra en la **Figura 3**.



**Figura 2.** Estrategia de filtrado de variantes del Laboratorio de genética de Greenwood para los datos de NGS basados en los resultados del aCNA.

**Benign Variant**

The Benign Variant filter filters a list of variants based on their presence in a controlled set of benign variants or reference set. Select and configure the sets you want to include in the filtering. Combinations of multiple sets can be applied such that a variant goes to the MATCH output when the variant is found in all, any, or a minimal number of sets.

**Conditions**

Match Any of the following conditions:

dbSNP	
dbSNP Allele frequency	0.01
dbSNP Allele count	200
dbSNP Validation Status	validated
dbSNP Suspicion Flag	not suspected false
1000 Genomes	
1000 Genomes Allele frequency	0.01
1000 Genomes Allele count	200
ESP6500	
ESP6500 Allele frequency	0.01
ESP6500 Allele count	200
Gleeson_Exome_reference_set	
Gleeson_Exome_reference_set Allele frequency	0.01
Gleeson_Exome_reference_set Allele count	200
ALL_Exome_reference_set	
ALL_Exome_reference_set Allele frequency	0.01
ALL_Exome_reference_set Allele count	200

**Figura 3.** Las variantes se filtran en función de parámetros de calidad de los datos tales como la profundidad de lectura superior a 20 (no se muestra). A continuación, se descartan las variantes benignas; se eliminan las que tienen una frecuencia de alelos superior al 1 % y están presentes en la base de datos privada, y también las que están incluidas en las bases de datos públicas (EVS, dbSNP y 1000Genomes). Greenwood también introdujo sus propios exomas como referencia.



## Resumen

A modo de conclusión, se puede decir que el ejemplo expuesto demuestra que el uso de Alissa Interpret ofrece una forma rápida y eficaz de integrar el análisis de datos genómicos para establecer con precisión los cambios genómicos que causan la enfermedad. El Laboratorio de genética de Greenwood es un ejemplo de cómo la función de integración de datos específicos de la plataforma Alissa Clinical Informatics permite la automatización de los procedimientos operativos estandarizados con el fin de incrementar significativamente la eficiencia del flujo de trabajo del laboratorio y de sus prácticas rutinarias.

## Respuestas de confianza. Juntos.

### Declaración del uso previsto

El software Alissa Interpret está diseñado para el almacenamiento, visualización y anotación de variantes usando fuentes de datos públicas, comerciales e internas de los usuarios. Permite a los usuarios configurar flujos de trabajo para realizar o automatizar la clasificación de variantes genéticas. Proporciona funciones de registro de evaluaciones de variantes y de elaboración de informes de análisis de variantes. Las capacidades de integración permiten el intercambio automatizado de la información de variantes y de informes con los sistemas de software externos.

El software Alissa Interpret está diseñado para ser utilizado por profesionales de laboratorio cualificados, genetistas clínicos y patólogos moleculares como una plataforma de software de ayuda en la toma de decisiones para el análisis e interpretación de variantes genéticas identificadas en muestras humanas en el contexto de la información clínica registrada para una muestra.

### MÁS INFORMACIÓN:

[www.agilent.com/lifesciences/alissa](http://www.agilent.com/lifesciences/alissa)

Póngase en contacto con nosotros a través del correo electrónico [cad.info@agilent.com](mailto:cad.info@agilent.com)

PR7000-0689

© Agilent Technologies, Inc. 2017. Impreso en EE. UU.

Publicación original: 1 de noviembre de 2015

Fecha de la revisión: 30 de junio de 2017

5991-8528ES

Alissa Interpret es un producto sanitario de EE. UU. exento de clase I, CE-IVD en Europa y un producto sanitario IVD de clase I en Canadá y Australia.



**Agilent Technologies**