

Libro blanco:

Desafíos que presenta la patología molecular: evaluación de variantes mediante NGS y creación de informes sobre resultados válidos



Resumen

En este caso práctico obtendrá información sobre:

- Cómo los laboratorios de patología que han introducido la tecnología NGS mejoran de forma significativa los plazos de prestación del servicio a través de la automatización de la interpretación y los protocolos de creación de informes.
- Cómo Alissa Interpret permite a los laboratorios automatizar los PNT de evaluación de variantes y los borradores de los informes sobre los resultados válidos.

Introducción

Tanto los laboratorios de genética clínica como los de patología molecular se enfrentan a nuevos desafíos con la llegada de la secuenciación de última generación (NGS). Este breve libro blanco muestra cómo las funciones fáciles de usar de Alissa Interpret, el módulo de evaluación de variantes de la plataforma Agilent Alissa Clinical Informatics, abordan de forma eficiente las necesidades propias de la automatización de los análisis de muestras y de la elaboración de informes. Como ejemplo de estas funciones de automatización, vamos a utilizarlas en el marco de la patología molecular.

Caso

Para ilustrarlo, vamos a escoger los resultados de un kit de captura de un panel genético en el que están representados 50 genes de cáncer conocidos y caracterizados. Tras el procesamiento en laboratorio y el análisis de los datos primarios para llamar SNP y variantes de inserción y deleción desde los resultados de la secuenciación, las variantes que aparecen identificadas (y que están disponibles en un archivo VCF) se cargan en Alissa Interpret, ya sea como muestra individual o como lote de pruebas. Las variantes que se obtienen están disponibles en los resultados del laboratorio del registro del paciente, tal y como se muestra en la **Figura 1**.

Status	Source	Sample ID	# Variants	Actions
Ready	Herdol.vcf	HP01	52	
Ready	Herdol.vcf	HP01	117	

Figura 1. Los archivos VCF que contienen SNP e inserciones y deleciones se asocian al registro de muestras oncológicas del paciente. Hay un total de 169 variantes disponibles para analizar.

Resumen de las conclusiones

Alissa Interpret permite una agilización importante, así como una estandarización del flujo de trabajo en el marco de la oncología clínica.



Caso práctico de Alissa Interpret

La función Análisis permitirá que se ejecute automáticamente un procedimiento operativo estandarizado sobre las variantes que se han identificado. Los pasos correspondientes al análisis y a la interpretación se representan por medio de un árbol de decisión, que se ha creado y validado previamente con varias muestras de cáncer cuyos resultados son conocidos. Las variantes recorren el árbol de decisión y se clasifican de acuerdo con el protocolo.

Los laboratorios suelen preferir llevar a cabo los pasos correspondientes al filtro tal y como se muestra en la **Figura 2**:

- Presencia en las bases de datos públicas que reflejan variantes frecuentes. Este protocolo en concreto etiquetará las variantes como “benignas” en el momento en que aparezcan en dos de las tres bases de datos (Exome Variant Server, 1000 Genomes y dbSNP) con una frecuencia del alelo menos común superior al 1 %;
- Un efecto de transcripción que no es “sinónimo”. Únicamente se tienen en cuenta las variantes con posibilidades de afectar a las proteínas;
- Una comprobación con bases de datos personalizadas. En este caso, se configuran las siguientes bases de datos:
 - la base de datos COSMIC de variantes de cáncer,
 - una selección de variantes que el laboratorio ha verificado de acuerdo con recursos en línea como PubMed,
 - variantes TP53 y BRCA1 que son conocidas y que están verificadas por bases de datos de locus específico que haya elegido y validado el laboratorio,
 - una selección de variantes ClinVar de interés oncológico,
 - una base de datos específica del laboratorio de marcadores genéticos con medicamentos conocidos.

Este árbol de clasificación es tan solo un ejemplo: existen muchos más filtros, bases de datos, algoritmos y estrategias que están disponibles de forma inmediata en la plataforma Alissa Clinical Informatics. Los ejemplos incluyen la comparación entre muestras sanas y tumorales, el análisis de herencia orientado a los marcadores de línea germinal, distintos algoritmos de pronóstico, el cálculo de estadísticas de frecuencia y la posibilidad de utilizar grandes grupos de muestras, entre otros. Además, la plataforma se puede personalizar y adaptar para cubrir las necesidades del laboratorio.

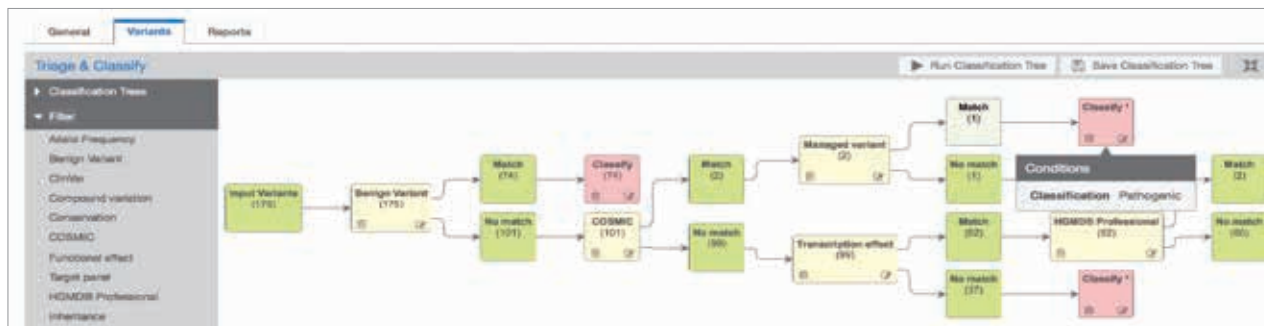


Figura 2. Estrategia de filtración básica reflejada en un árbol de decisión que se ha validado y almacenado. Las variantes se filtran en su recorrido por el árbol y obtienen una clasificación. Se pueden revisar posteriormente e incluir en el informe.

El protocolo identificó de forma inmediata una variante patógena que se marcó para su revisión e inclusión en el informe. La **Figura 3** muestra una preselección: en este caso, una variante bastante conocida con un medicamento que el laboratorio tiene anotada en su base de datos.

Effect	Benign	Likely benign	VOUS	Likely pathogenic	Pathogenic	Not Classified	Total
frameshift	0	0	0	0	0	41	41
nonsynonymous	31	0	0	1	1	19	52
stopgain	0	0	0	0	0	2	2
synonymous	31	18	0	0	0	0	49
Not specified	12	19	0	0	0	0	31
Total	74	37	0	1	1	62	175

Figura 3. Las variantes que se han obtenido: en este caso, se ha identificado una sola variante que habrá que marcar para incluir en el informe. Hay muchas otras herramientas disponibles: (a) comprobar si había aparecido antes en el laboratorio, (b) enlazar a recursos que se encuentren en sitios web externos, (c) obtener toda la información sobre la variante de un solo vistazo, (d) anotaciones c. y p., (e) gráficas de barras que muestran si han aparecido en otras muestras de la base de datos, así como en bases de datos verificadas denominadas "listas de variantes administradas".

En el último paso del flujo de trabajo, Alissa Interpret permite crear informes de laboratorio a través de un práctico sistema de plantillas. Existen plantillas predeterminadas, pero habitualmente las plantillas se adaptan a las necesidades de la elaboración de informes del laboratorio y a sus requisitos de diseño.

El potencial de este sistema de plantillas reside en su capacidad de automatización:

- Puede insertar notas de texto automáticamente según el contenido del análisis. Por ejemplo, cuando la variante BRAF p.Val600Glu en concreto está presente, se puede configurar la plantilla del informe para que inserte la información de forma automática en el gen BRAF, sobre la variante en concreto, sobre los medicamentos que se conocen dirigidos a esta variante o sobre los ensayos clínicos que estén asociados a una base de datos interna.
- Elabora automáticamente párrafos con los resultados.
- Elabora automáticamente tablas de información general sobre las variantes que se consideran de interés.
- Incluye de forma automática protocolos, exenciones de responsabilidad y sugerencias para el seguimiento.
- Incluye de forma automática información sobre las versiones de las bases de datos, de los protocolos, etc., de forma que se proporciona una trazabilidad total en cualquier marco clínico.

En la **Figura 4** que aparece en la última página de este caso práctico se muestra un borrador de informe elaborado de forma automática, que se ha personalizado según las necesidades del laboratorio y que está preparado para revisarlo, procesarlo, cargarlo o exportarlo en formato PDF o como archivo Word.

Alissa Interpret y la NGS: conclusión

Alissa Interpret permite una agilización importante, así como una estandarización del flujo de trabajo en el marco de la oncología clínica: no solo sirve de ayuda en los laboratorios de patología y genética, sino que también ofrece a los oncólogos informes instructivos y personalizados.

Si desea obtener más información, solicite asistir a una demostración del sistema a través del sitio web www.agilent.com/lifesciences/alissa.

MyHospital
Department for Clinical Genetics

Patient

Name: P_HP01
Gender: Male
Creation date: 16.09.2014

Analysis

Reference number: A_HP01
Domain: Oncology
Target panel: 50 gene target panel used
Date: 16.09.2014

Clinical details

HP:0012056 Cutaneous melanoma - The presence of a 'melanoma' (MPATH:359) of the 'skin' (FMA:7163).

Reported variants

Gene	Transcript	Zyg	eNomen	protein	Read	Label
BRAF	NM_004333.4	0/1	c.1799T>A	p.Val600Glu	105.0	Pathogenic

Affected gene information

BRAF This gene encodes a protein belonging to the raf/mil family of serine/threonine protein kinases. This protein plays a role in the MAP kinase/ERKs signaling pathway which affects cell division, differentiation, and secretion.

Mutations in this gene are associated with **cardiofaciocutaneous syndrome**, a disease characterized by **heart defects, mental retardation and a distinctive facial appearance**. Mutations in this gene have also been associated with various cancers, including **non-Hodgkin lymphoma, colorectal cancer, malignant melanoma, thyroid carcinoma, non-small cell lung carcinoma, and adenocarcinoma of lung**. A pseudogene, which is located on chromosome X, has been identified for this gene. An important paralog gene is **FPGT-TNNI3K**.

Interpretation

Tafinlar, a BRAF inhibitor, is approved to treat patients with melanoma whose tumors express the BRAF V600E gene mutation. M... a MEK inhibitor, is approved to treat patients whose tumors express the BRAF V600E or V600K gene mutations. Approximately h...

Figura 4. Un ejemplo de borrador de informe elaborado automáticamente desde una plantilla de informe.

Nota: Se pueden configurar completamente los informes para orientarlos a las necesidades del laboratorio, tanto en términos de contenido como de diseño.

(a) Se puede incluir en una plantilla toda la información sobre la muestra, los resultados, la información pública, las bases de datos, las anotaciones sobre literatura, etc..

(b) Revisiones sencillas de leer y que contienen múltiples características, como la profundidad de lectura, la nomenclatura, los transcritos, las definiciones del gen, la clasificación, etc., que pueden incluirse en listas desarrolladas en tablas.

(c) Se puede generar un texto elaborado de forma automática para que dependa del contexto: si la variante X o el gen Y aparecen en resultados que se deben incluir en el informe, el texto configurado previamente se incluirá de forma pertinente. En este caso, el encabezado de la "información sobre el gen afectado" incluye automáticamente una sección sobre el gen BRAF, ya que se ha detectado esta variante.

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 finales 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

Póngase en contacto con nosotros a través del correo electrónico cad.info@agilent.com

PR7000-0745

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

Publicación original: 27 de septiembre de 2016

Fecha de la actualización: 30 de junio de 2017

5991-8534ES

Respuestas de confianza. **Juntos.**

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



Agilent Technologies