

No sequenciamento de Nova Geração, os pipelines de Bioinformática contêm três etapas principais: mapeamento, para alinhar as leituras sequenciadas ao genoma de referência; chamada de variantes, através da qual algoritmos identificam as variantes encontradas; anotação, que consiste em capturar informações conhecidas sobre a variante em várias bases de dados.

No Varstation, estão disponíveis pipelines validados por conjuntos de dados bem caracterizados, o "Genome in a Bottle" ou NA12878. Para isso, a amostra de referência do NA12878 foi sequenciada com o kit de exoma utilizado na rotina dos laboratórios do Hospital Israelita Albert Einstein e da Genomika Diagnósticos, nossos design labs. O processamento foi desenvolvido a partir de arquivos .fastq e todas as etapas realizadas no Varstation. Os resultados foram comparados com a lista de variantes padrão ouro do NA12878, sendo obtidos dados confirmativos de precisão (0,9979), sensibilidade (0,9870) e acurácia (0,9924).

A seguir, disponibilizamos uma análise retrospectiva dos casos de sequenciamento completo do exoma (WES) realizados em conjunto pelos laboratórios do Einstein e da Genomika, com o suporte do Varstation.

Um retrato brasileiro do sequenciamento do exoma: 315 casos e seus detalhes

Renata Moldenhauer Minillo¹, Nair Hideko Muto¹, Priscila de Meira Oliveira¹, Roberta Sitnik¹, Murilo Castro Cervato¹, George Carvalho², Marcel Caraciolo^{1,2}, Wilder Galvão², Cristóvão Luis Pitangueira Manguieira¹, João Bosco Oliveira Filho^{1,2}.

Contact: labongs@einstein.br

1- Hospital Israelita Albert Einstein, Departamento de Genética Molecular; 2- Genomika Diagnósticos

Introdução

» O sequenciamento do exoma é atualmente uma das ferramentas diagnósticas mais eficazes na investigação molecular de doenças genéticas e sua análise é totalmente dependente das informações clínicas fornecidas pelo médico solicitante.
» Taxa de conclusão diagnóstica: 30-38%^{1,2}.

Objetivo

Traçar perfil amostral representativo dos casos de sequenciamento completo do exoma analisados pelo nosso laboratório.

Métodos

Análise retrospectiva de 315 casos analisados.

Resultados e discussão

» Taxa de positividade foi de 30,2%, a taxa de negatividade foi de 30,28% (sendo 36,84% dos casos com nenhuma variante relatada e 63,15% dos casos com uma variante patogênica em heterozigose em gene recessivo) e 39,36% dos casos com resultado inconclusivo (somente com variantes de significado incerto, sendo a média de variantes relatadas por caso 1,08 - variando de 1 a 7) (figura 1).

» Dos casos positivos, a herança mais frequente foi autossômica dominante (55,5% dos casos), seguida por autossômica recessiva (17,78% dos casos, sendo 37,5% dos casos com variantes em homozigose), herança autossômica dominante e autossômica recessiva no mesmo gene (17,78% dos casos), herança ligada ao X (6,67% dos casos) e mitocondrial (2,22% dos casos) (figura 2).

» A média da idade dos pacientes foi 5,1 anos (variando de menor de 1 ano a 73 anos).

» As indicações clínicas mais frequentes foram atraso do desenvolvimento neuropsicomotor (25%, com a associação mais frequente de dismorfias e malformações (58% dos casos, sendo 5,7% deles positivos), seguido por convulsões (12%, com 22,5% de positividade), imunodeficiência (10%, com 37,5% de casos positivos), autismo (8,5%, com 29,6% de casos positivos) e suspeita de síndrome específica com heterogeneidade genética (5,07% dos casos, com positividade de 38,5%). Fenótipo complexo compôs 6,3% dos casos (taxa de positividade de 40%, sendo 30% explicando parcialmente o fenótipo) (figura 3).

» Achados incidentais representaram 0,95% dos casos.

Conclusão

Nossos resultados estão concordantes com a literatura, com exceção da taxa de positividade de fenótipos complexos, e acreditamos que um dos motivos que possa contribuir para esse achado é que 25% desses casos foram solicitados por médicos geneticistas, que tendem a compor as partes constitutivas do fenótipo do paciente de forma mais definida.

Referências

1. Farwell KD, et al. Enhanced utility of family-centered diagnostic exome sequencing with inheritance model-based analysis: results from 500 unselected families with undiagnosed genetic conditions. *Genet Med*. 2015;17:578-586
2. Bergant G., et. Al. Comprehensive use of extended exome analysis improves diagnostic yield in rare disease: a retrospective survey in 1,059 cases. *Genet Med*. 2017.Sep 14

Figures

Figura 01: Taxa de positividade, negatividade e VUS

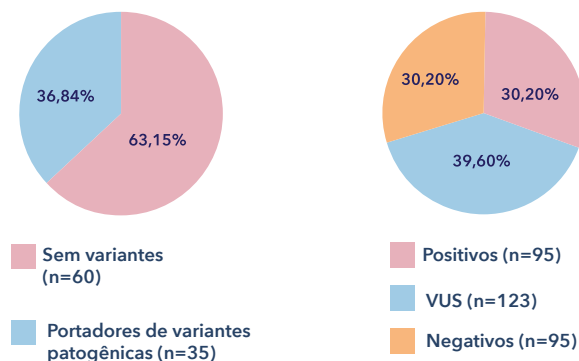


Figura 02: Modo de herança dos casos positivos

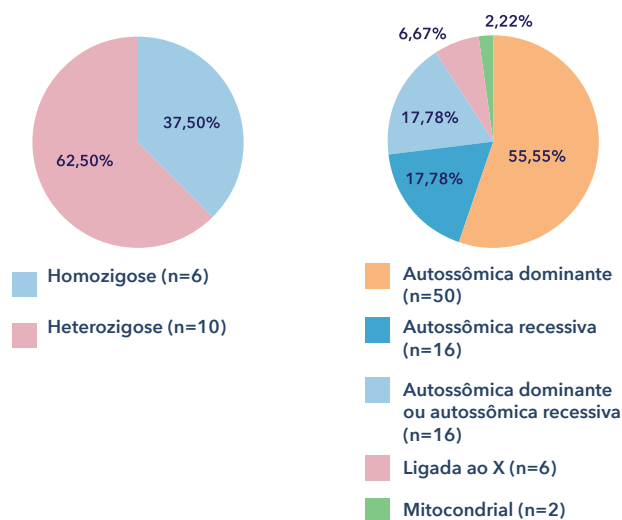


Figura 03: Porcentagem de positividade de acordo com a indicação clínica

