

De la consulta al informe: Experiencias en el laboratorio de genética y genómica clínica.

IV Jornadas de Genómica Clínica

Auditorio principal, Pabellón IFIBYNE, Ciudad Universitaria, CABA

Dr. David A. Rosso

Laboratorio de Genotipificación del Centro de Estudios
Médicos e Investigación Clínica “Norberto Quirno” CEMIC

Organización de la labor bioquímica en el laboratorio de genética y genómica:

- Fase pre-analítica: incluye todos los procesos desde la solicitud del análisis por parte del médico, hasta el procesamiento de la muestra.
- Fase analítica: abarca todos los procedimientos relacionados directamente con el procesamiento de la muestra.
- Fase post-analítica: comprende los procesos de interpretación del resultado y su validación, elaboración y emisión del informe. Consultas y pedidos posteriores.

Fase preanalítica:

- Recepción, análisis e interpretación de las órdenes médicas.
- Asesoramiento, presupuesto de estudio, autorizaciones, coordinar turno.
- Entrevista con el paciente: Explicar el proceso, aliviar dudas, firma del consentimiento informado.
- Toma de muestra y seguimiento.

¿Por qué organizamos una consulta con el paciente antes de la toma de la muestra?

- Muchos pacientes no tienen consulta previa con un médico genetista antes de acudir a una prueba genética.
- Se genera un ambiente donde el paciente puede compartir sus dudas y preocupaciones al respecto del estudio solicitado.
- Se brinda la seguridad que el resultado va a ser confidencial y protegido.
- Se explican los alcances y limitaciones del procedimiento.

Rol de las habilidades blandas en la consulta:

- Las habilidades blandas, en inglés “soft skills” son aptitudes y competencias interpersonales que permiten a una persona desenvolverse en un entorno sin necesidad de conocimientos técnicos previos.
- Son rasgos de la personalidad que facilitan la interacción social, el desarrollo personal y profesional, y la ejecución de tareas.

Ejemplos de habilidades blandas en la consulta:

- Mostrarse con buen humor
- Ponerse en el lugar de ellos, lo más cercano que podamos.
- Evitar preguntas incómodas, por ejemplo “¿Todo bien?”, “¿Cómo estás?”
- No forzar la mano: la información que obtenemos es la que el paciente está dispuesto a dar.
- Responder con sinceridad, reconocer limitaciones.
“¿Cuándo va a estar listo el resultado?”



Dificultades de la fase preanalítica:

- Comprensión de las órdenes médicas:

- ¿Qué dice? ¿Qué pide?

- Famosa “Letra de médico”

- “Panel 80 genes”, falta de estandarización de las solicitudes.



- ¿Está bien solicitado?

- Variantes mal descritas (o anotación histórica), omitiendo la nomenclatura actual.

- Importancia de solicitar el informe del caso índice. Referencias según transcripto MANE.

- Ej: *BRCA1* 185delAG siendo su nomenclatura actual: NM_007294.4:c.68_69del

- ¿Corresponde lo que pide el médico con mi prestación?

- Conocer tus limitaciones:

- ¿Puedo hacerlo?

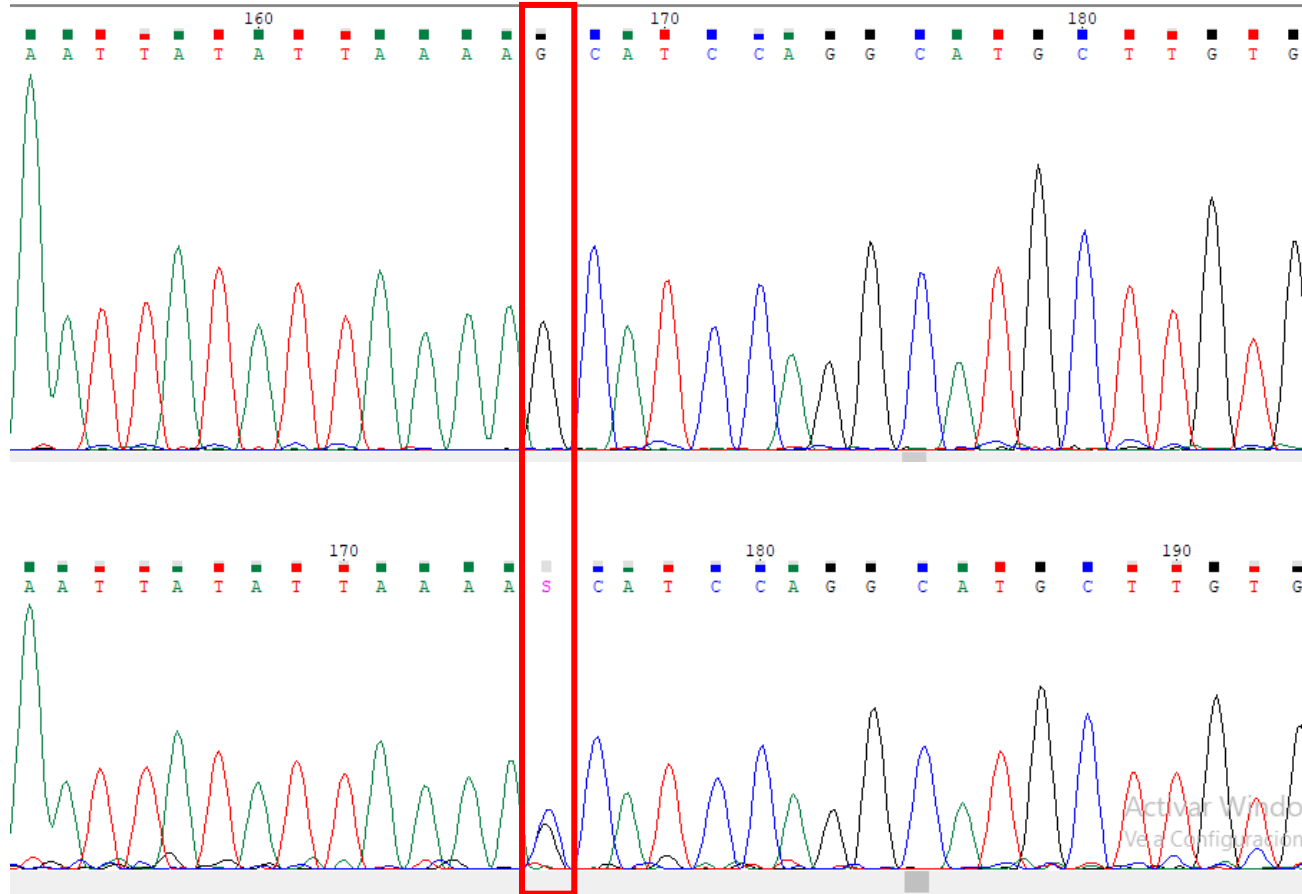


Fase analítica:

- Realización de PCR de punto final para la secuenciación de Sanger posterior de variantes familiares o confirmación de resultados de NGS.
- Realización de PCR de largo alcance (LR-PCR) para discriminar gen de pseudogenes.
- Secuenciación NGS para enfermedades heredables:
 - Panel para cáncer hereditario.
 - Exoma con filtrado de genes de acuerdo con el fenotipo y/o la patología sospechada del paciente.
- Análisis de fragmentos:
 - Estudio de grandes rearrreglos genómicos mediante MLPA.
 - Estudio de inestabilidad microsatelital (MSI).

Secuenciación de Sanger

Variante en *MSH2*: c.1906G>C -p.(Ala636Pro)



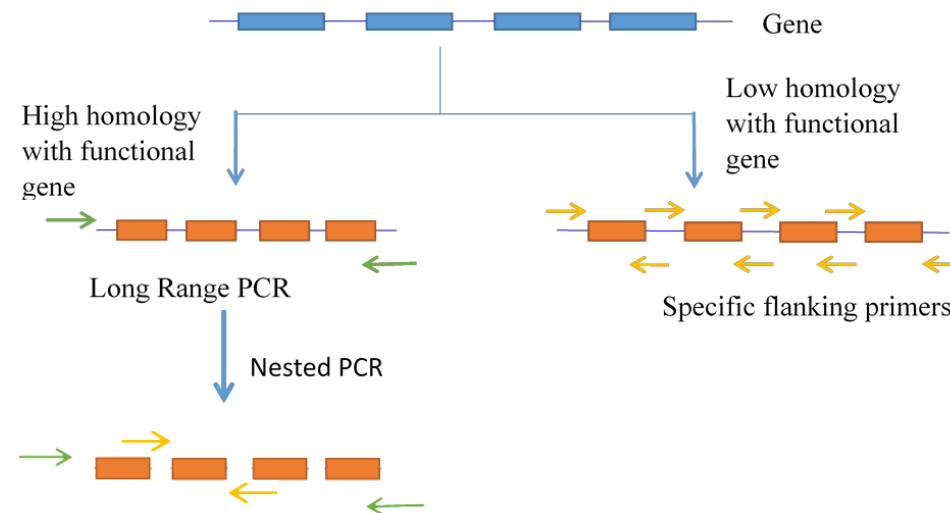
Negativo (no portador)

Positivo (portador)

Long Range PCR (LR-PCR):

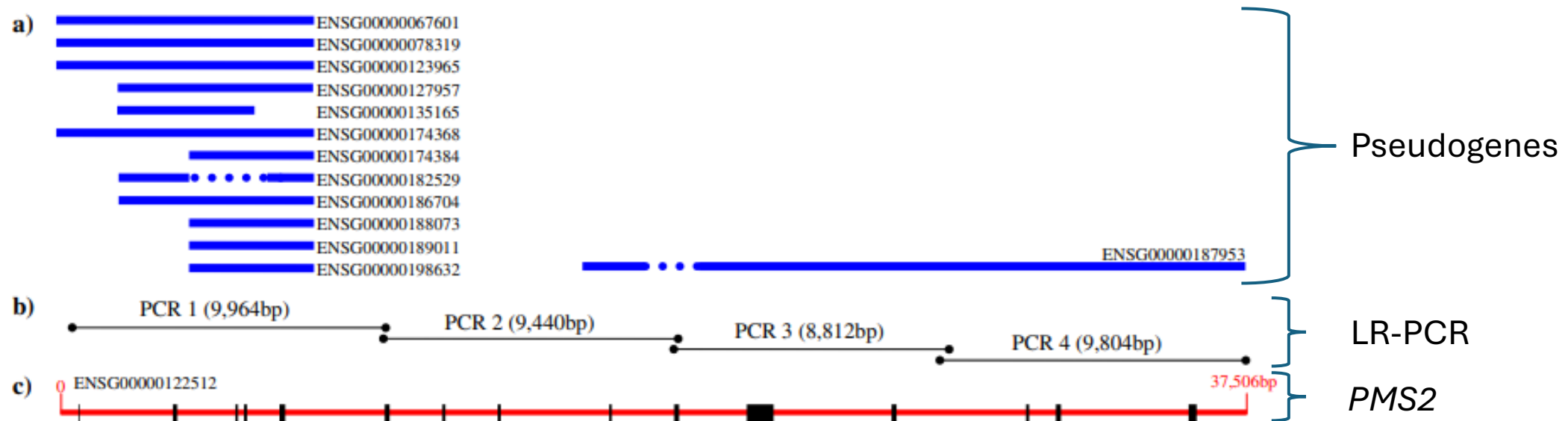
- Es una PCR que utiliza una polimerasa de alta eficiencia que permite obtener amplicones de más de 5000 pb

	Convencional	Long Range	Nested
Producto (pb)	<1300	>9.000	<1000
Polimerasa	Taq ADN polimerasa	TaKaRa L.A. Taq DNA Polymerase	Taq ADN polimerasa
Elongación (min)	1/1,5	15/18	1



LR-PCR de *PMS2*:

- Los primers diseñados hibridan en regiones del gen **sin** homología con los pseudogenes.

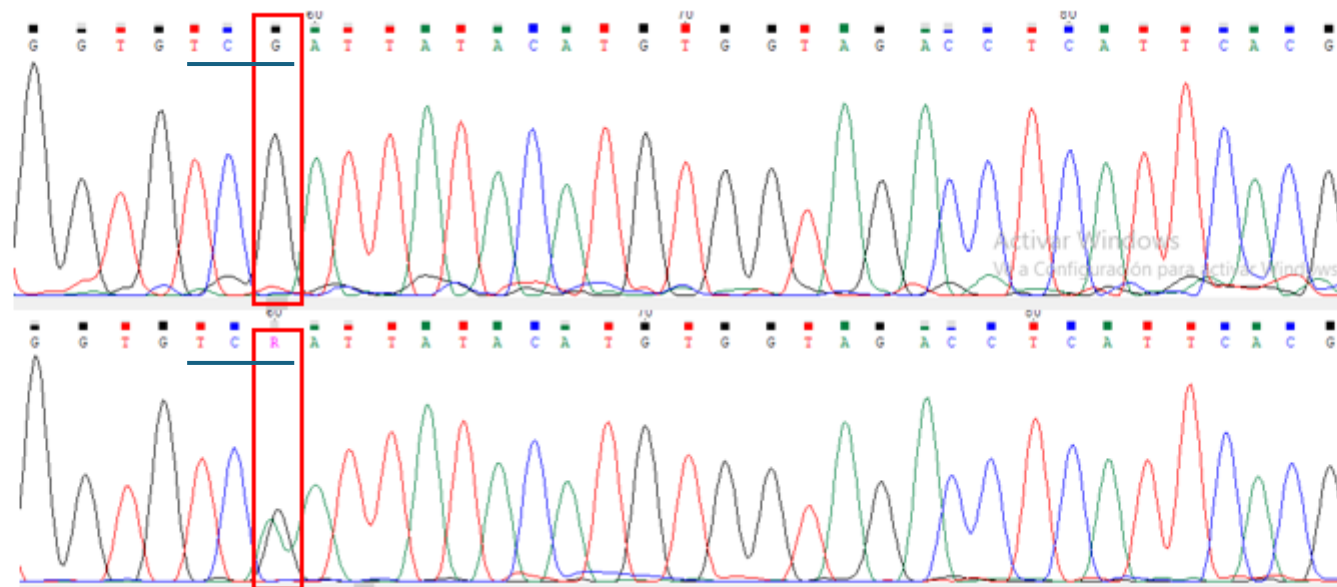


- Actualmente los amplicones abarcan los exones 1-6 (LR1), 6-10 (LR2), 10-15 (LR3).
- Luego, se realiza una PCR anidada con primers específicos para la región donde se encuentra la variante

Madre CI
PMS2 c.943C>T - (p.Arg315*)

Hija

Hijo

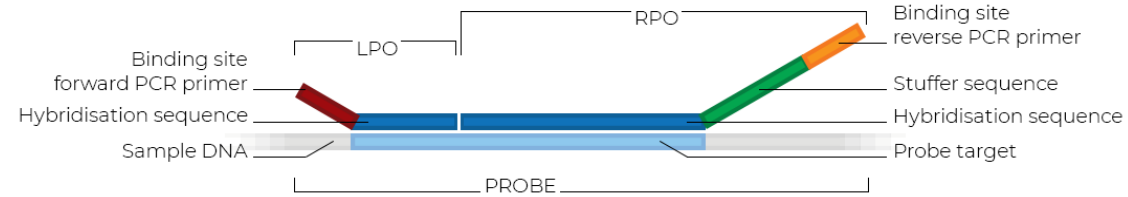


Negativo
(no portadora)

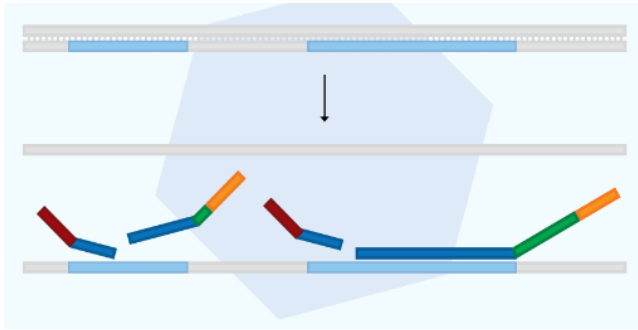
Positivo
(portador)

MLPA

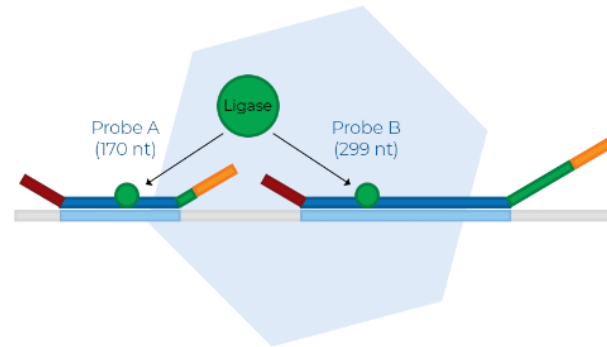
Sonda de MLPA



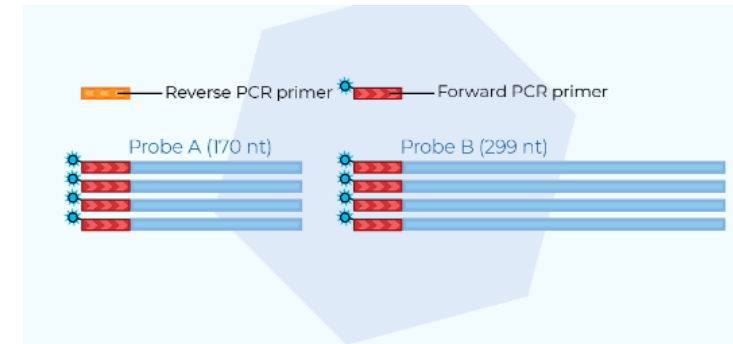
1) Desnaturalización e hibridación



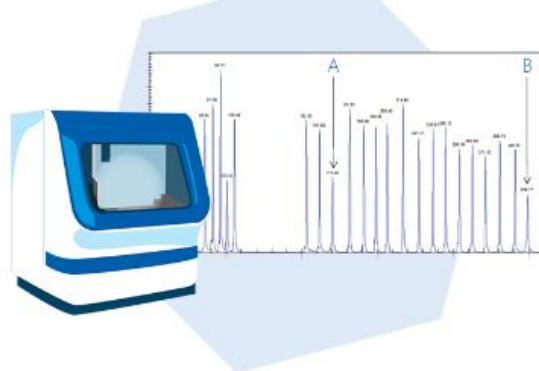
2) Ligación



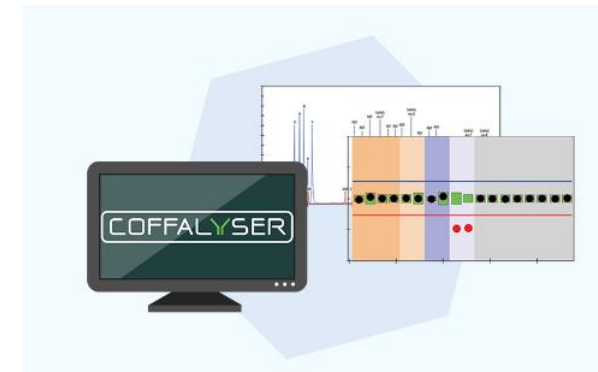
3) Amplificación por PCR



4) Separación por electroforesis capilar



5) Análisis informático

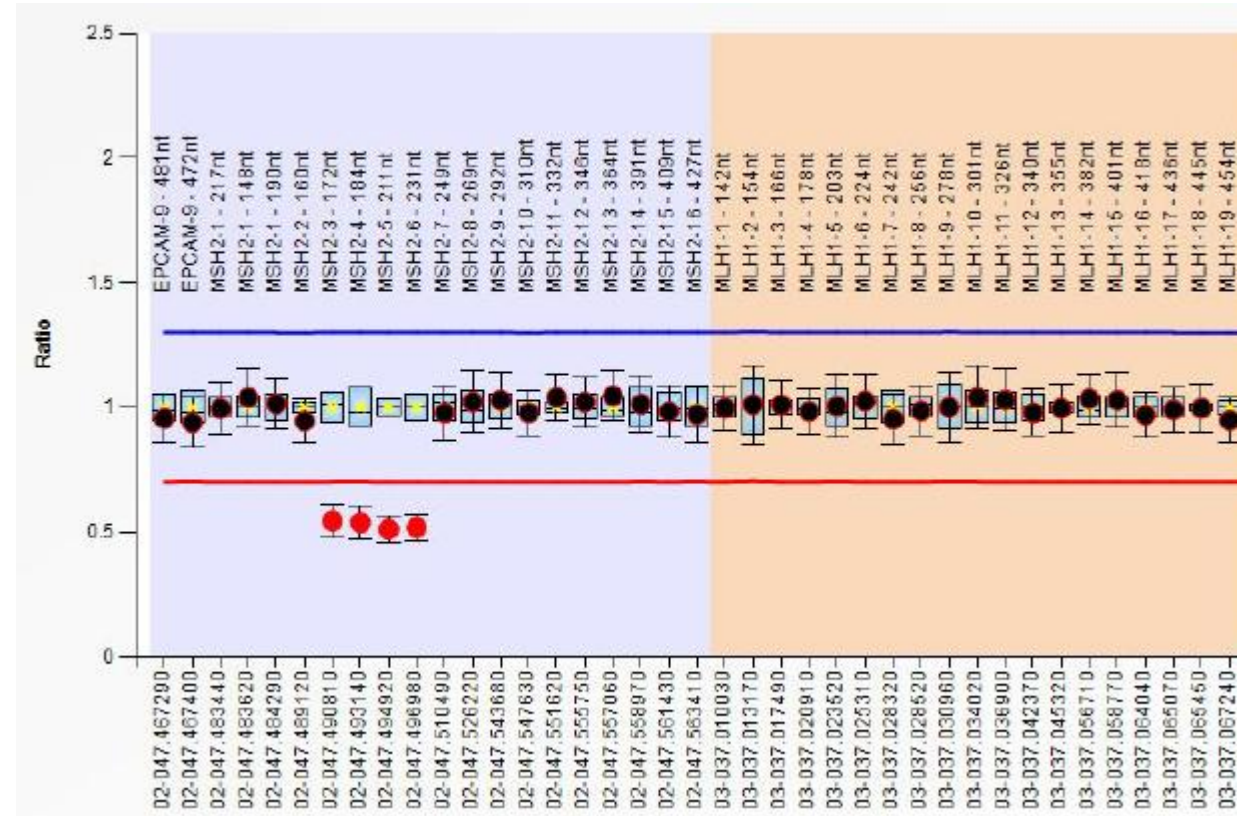


MLPA

Normal



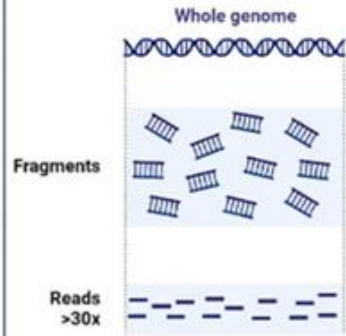
Delección de exones 3 a 6 en *MSH2*



NGS

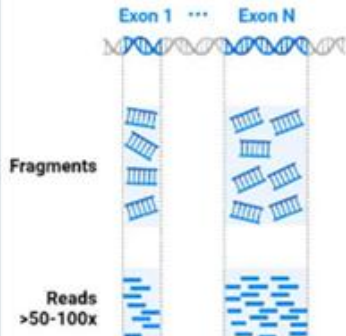
Next Generation Sequencing

Genome Sequencing



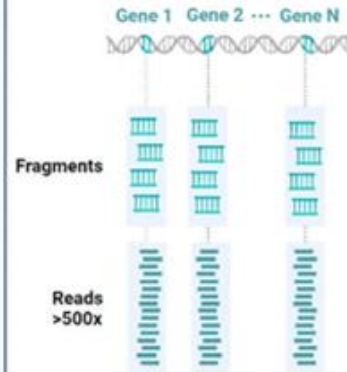
Coverage: All genes and non-coding DNA
Accuracy: Low
Time: Longest turnaround time
Cost: Most expensive
Depth: >30X

Exome Sequencing



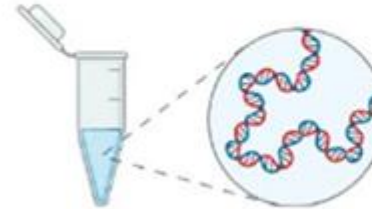
Coverage: Entire exome (20-25k genes)
Accuracy: Good
Time: Long turnaround time
Cost: Cost-effective
Depth: >50-100X

Targeted Gene Panel

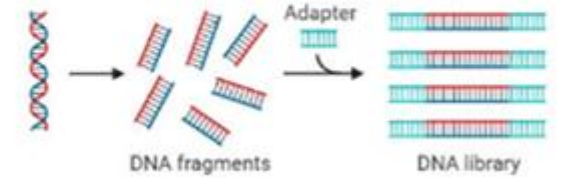


Coverage: 10-500 genes
Accuracy: High
Time: Rapid turnaround time (few days)
Cost: Most cost-effective
Depth: >500X

Step 1: DNA extraction

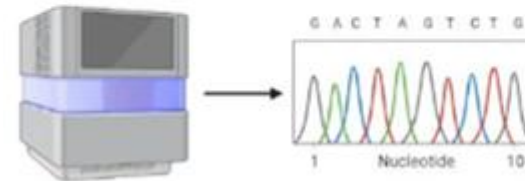


Step 2: Library preparation

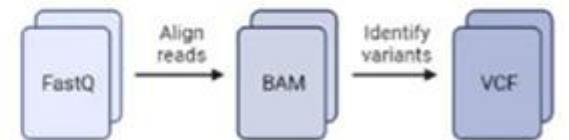


Next Generation Sequencing Workflow

Step 3: Sequencing



Step 4: Analysis

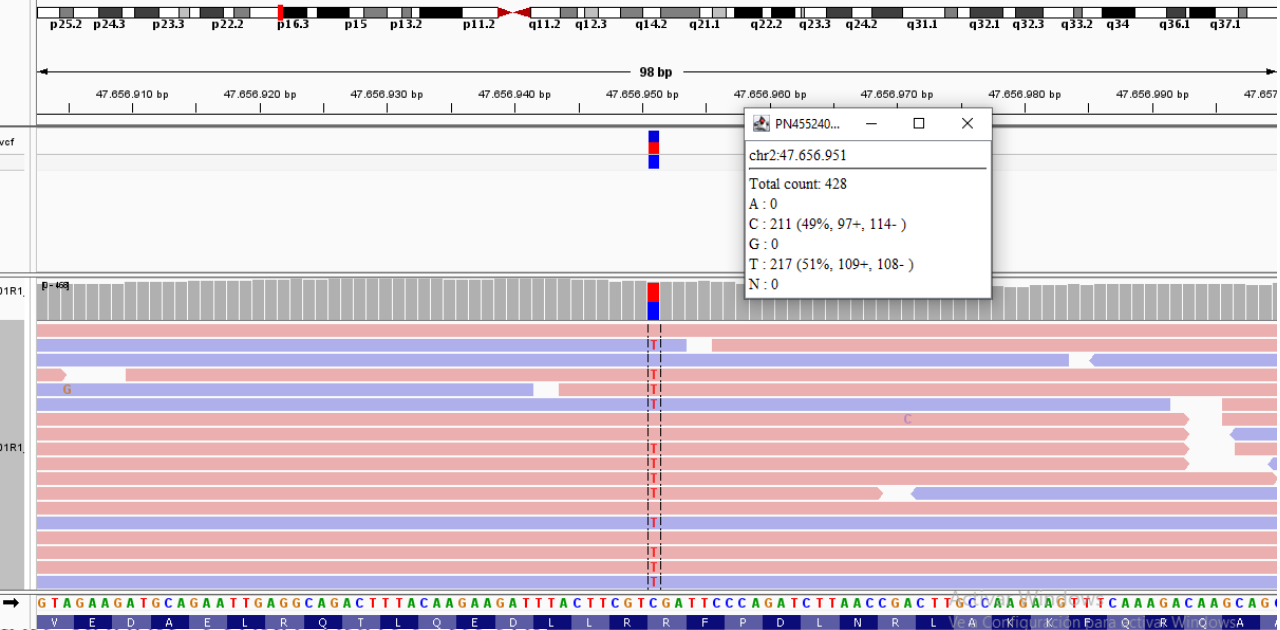


NGS

Archivo VCF

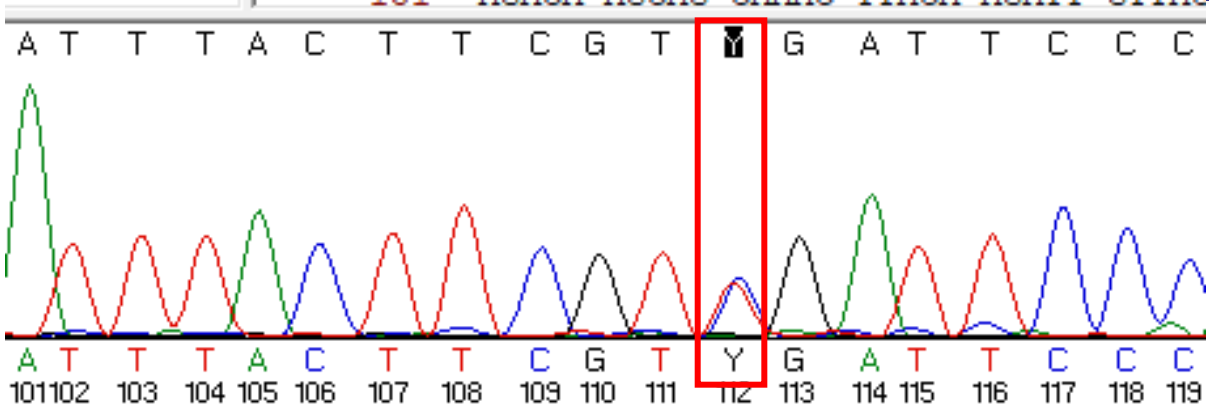
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
913	2	999433	C	A	MODERAT	missense	ABCG8	NM_0224	protein_c	8	c.1199C>A	p.Thr400Lys	1	2
914	2	46414708	G	GA	MODIFIER	3_prime	PRKCE	NM_0054	protein_c	15	c.*2698dupA		1	2
915	2	47601106	T	C	MODERAT	missense	EPCAM	NM_0023	protein_c	3	c.344T>C	p.Met115Thr	0,5	16
916	2	47601257	T	C	MODIFIER	upstream	MIR559	NR_03028	pseudoge	-1	n.-3557T>C		0,5	373
917	2	47601407	A	G	MODIFIER	upstream	MIR559	NR_03028	pseudoge	-1	n.-3407A>G		0,5	
918	2	47612156	A	G	MODIFIER	intron_vai	EPCAM	NM_0023	protein_c	7	c.859-149A>G		0,5	
919	2	47630550	C	G	MODIFIER	intron_vai	MSH2	NM_0002	protein_c	1	c.211+9C>G		0,5	
920	2	47635523	CT	C	LOW	splice_reg	MSH2	NM_0002	protein_c	1	c.212-4delT		0,5	
921	2	47637147	A	C	MODIFIER	intron_vai	MSH2	NM_0002	protein_c	2	c.367-86A>C		0,5	
922	2	47641559	TAA	T	MODIFIER	intron_vai	MSH2	NM_0002	protein_c	5	c.942+28 942+29delAA		1	vaf
923	2	47656951	C	T	HIGH	stop_gain	MSH2	NM_0002	protein_c	7	c.1147C>T	p.Arg383*	0,5	
924	2	47672569	G	A	MODIFIER	intron_vai	MSH2	NM_0002	protein_c	7	c.1277-118G>A		0,5	
925	2	47703379	C	T	MODIFIER	intron_vai	MSH2	NM_0002	protein_c	12	c.2006-127C>T		1	
926	2	48022900	A	G	MODIFIER	intron_vai	MSH6	NM_0001	protein_c	2	c.458-133A>G		0,5	
927	2	48030458	G	C	MODIFIER	downstre	FBXO11	NM_0011	protein_c	-1	c.*4799C>G		0,5	
928	2	48030838	A	T	MODIFIER	downstre	FBXO11	NM_0011	protein_c	-1	c.*4419T>A		0,5	11R1
929	2	48032740	AT	A	LOW	splice_reg	MSH6	NM_0001	protein_c	6	c.3557-4delT		0,5	
930	2	48032874	ACTAT	A	MODIFIER	downstre	FBXO11	NM_0011	protein_c	-1	c.*2379_*2382delATAG		0,5	
931	2	48032937	T	C	MODIFIER	downstre	FBXO11	NM_0011	protein_c	-1	c.*2320A>G		0,5	
932	2	48033551	C	G	MODIFIER	downstre	FBXO11	NM_0011	protein_c	-1	c.*1706G>C		0,5	

Visualización de las lecturas y variantes



Variante en MSH2: c.1147C>T - p.(Arg383Ter)

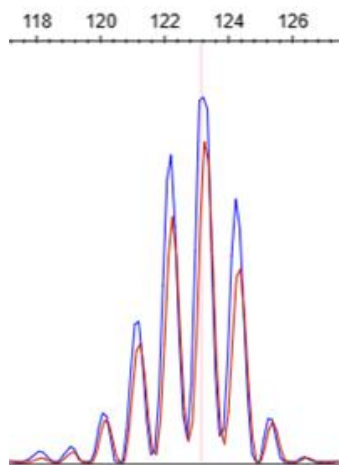
Confirmación
por Sanger



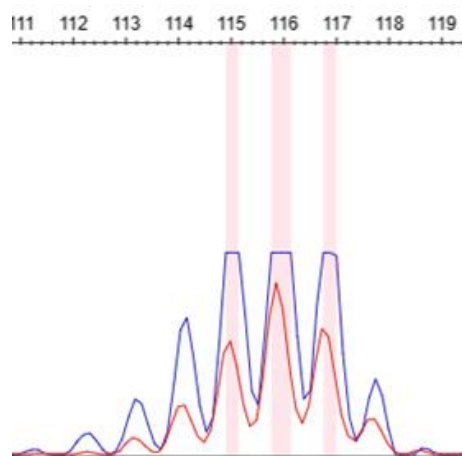
MSI

Azul: Sangre periférica

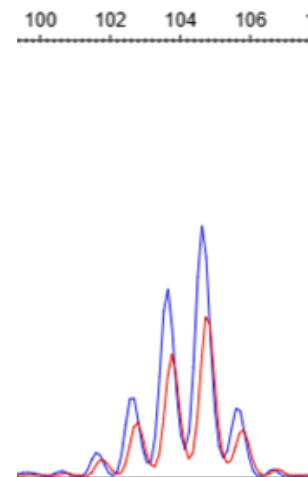
Rojo: Biopsia tumoral



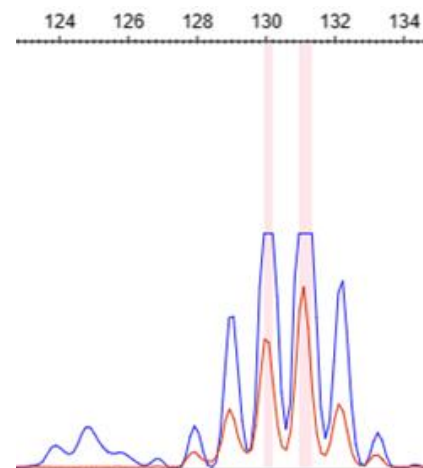
BAT25



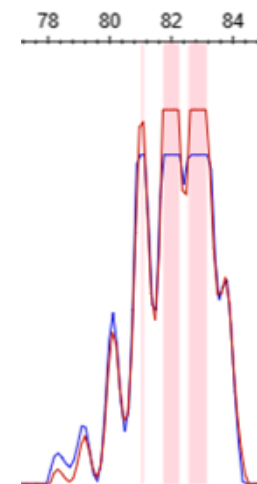
BAT26



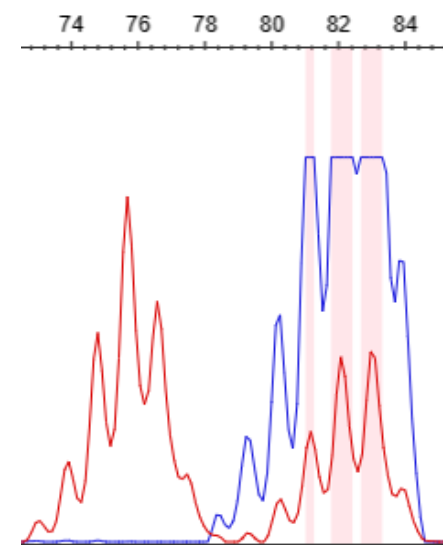
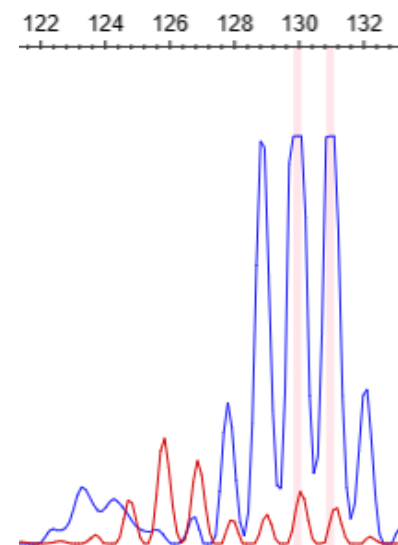
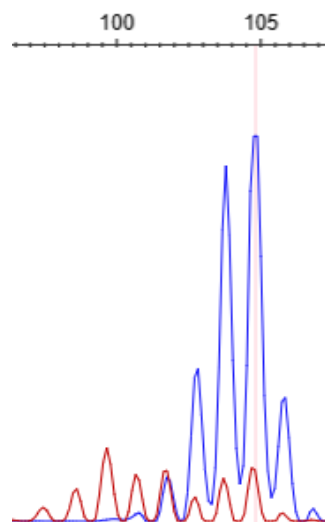
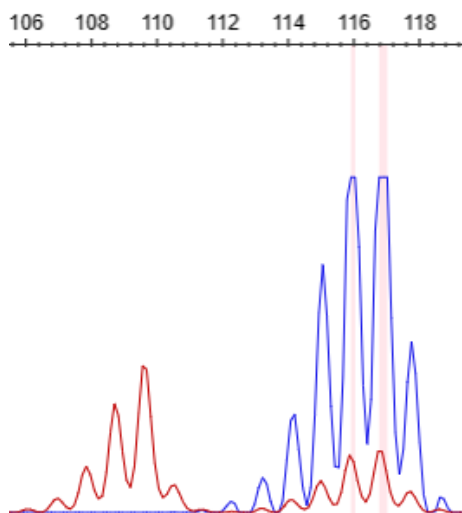
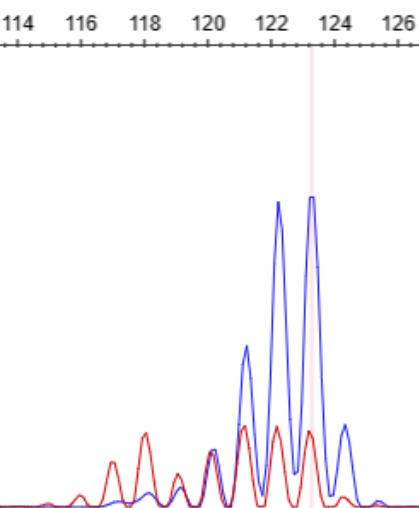
NR21



NR24



NR27



MSI (Inestable)

Fase post-analítica:

Recordando: comprende los procesos de interpretación del resultado y su validación, elaboración y emisión del informe.

- Posiblemente la parte más difícil del trabajo: el correcto análisis del resultado y su interpretación pueden cambiar el diagnóstico y conducta médica a seguir con el paciente.

Ejemplos:

- Implementación de inmunoterapia en pacientes con inestabilidad microsatelital.
- Administración de fármacos inhibidores de PARP en pacientes con variantes germinales en *BRCA1/2*.
- Cambio en el inicio y frecuencia de los estudios preventivos en pacientes portadores de variantes patogénicas (mamografías, colonoscopías, etc).

Caso particular: análisis del NGS del caso índice

¿Cómo buscamos las posibles variantes causante de la patología?

- Aplicación de filtros de búsqueda lógicos: Genes relacionados con la patología, parámetros de calidad adecuados, frecuencia poblacional de la variante, impacto alto según predictores bioinformáticos (REVEL, CADD), etc.

¿Cómo clasificamos la variante de interés?

Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology

[Sue Richards](#)¹, [Nazneen Aziz](#)², [Sherri Bale](#)³, [David Bick](#)⁴, [Soma Das](#)⁵, [Julie Gastier-Foster](#)⁶, [Wayne W Grody](#)⁷, [Madhuri Hegde](#)⁸, [Elaine Lyon](#)⁹, [Elaine Spector](#)¹⁰, [Karl Voelkerding](#)¹¹, [Heidi L Rehm](#), On behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee¹²

Title	VCEP	Gene
ClinGen ENIGMA BRCA1 and BRCA2 Expert Panel Specifications to the ACMG/AMP Variant Interpretation Guidelines for BRCA1 Version 1.2.0	ENIGMA BRCA1 and BRCA2 ↗	BRCA1 (<i>HGNC:1100</i>) ↗
ClinGen ENIGMA BRCA1 and BRCA2 Expert Panel Specifications to the ACMG/AMP Variant Interpretation Guidelines for BRCA2 Version 1.2.0	ENIGMA BRCA1 and BRCA2 ↗	BRCA2 (<i>HGNC:1101</i>) ↗



CanVIG-UK Consensus Specification for Cancer Susceptibility Genes (CSGs) of ACGS Best Practice Guidelines for Variant Classification

Criteria ACMG/AMP 2015

	Benign		Pathogenic			
	Strong	Supporting	Supporting	Moderate	Strong	Very Strong
Population Data	MAF is too high for disorder <i>BA1/BS1</i> OR observation in controls inconsistent with disease penetrance <i>BS2</i>			Absent in population databases <i>PM2</i>	Prevalence in affecteds statistically increased over controls <i>PS4</i>	
Computational And Predictive Data		Multiple lines of computational evidence suggest no impact on gene /gene product <i>BP4</i> Missense in gene where only truncating cause disease <i>BP1</i> Silent variant with non predicted splice impact <i>BP7</i>	Multiple lines of computational evidence support a deleterious effect on the gene /gene product <i>PP3</i>	Novel missense change at an amino acid residue where a different pathogenic missense change has been seen before <i>PM5</i> Protein length changing variant <i>PM4</i>	Same amino acid change as an established pathogenic variant <i>PS1</i>	Predicted null variant in a gene where LOF is a known mechanism of disease <i>PVS1</i>
Functional Data	Well-established functional studies show no deleterious effect <i>BS3</i>		Missense in gene with low rate of benign missense variants and path. missenses common <i>PP2</i>	Mutational hot spot or well-studied functional domain without benign variation <i>PM1</i>	Well-established functional studies show a deleterious effect <i>PS3</i>	
Segregation Data	Non-segregation with disease <i>BS4</i>		Co-segregation with disease in multiple affected family members <i>PP1</i>	Increased segregation data		
De novo Data				<i>De novo</i> (without paternity & maternity confirmed) <i>PM6</i>	<i>De novo</i> (paternity & maternity confirmed) <i>PS2</i>	
Allelic Data		Observed in <i>trans</i> with a dominant variant <i>BP2</i> Observed in <i>cis</i> with a pathogenic variant <i>BP2</i>		For recessive disorders, detected in <i>trans</i> with a pathogenic variant <i>PM3</i>		
Other Database		Reputable source w/out shared data = benign <i>BP6</i>	Reputable source = pathogenic <i>PP5</i>			
Other Data		Found in case with an alternate cause <i>BP5</i>	Patient's phenotype or FH highly specific for gene			

CanVIG - UK

Pathogenic

1. 1 Very Strong (PVS1) AND

- a. ≥1 Strong (PS1–PS4) OR
- b. ≥2 Moderate (PM1–PM6) OR
- c. 1 Moderate (PM1–PM6) and 1 Supporting (PP1–PP5) OR
- d. ≥2 Supporting (PP1–PP5)

2. ≥2 Strong (PS1–PS4) OR

3. 1 Strong (PS1–PS4) AND

- a. ≥3 Moderate (PM1–PM6) OR
- b. 2 Moderate (PM1–PM6) AND ≥2 Supporting (PP1–PP5) OR
- c. 1 Moderate (PM1–PM6) AND ≥4 Supporting (PP1–PP5)

Likely Pathogenic

- 1. 1 Very Strong (PVS1) AND 1 Moderate (PM1–PM6) OR
- 2. 1 Strong (PS1–PS4) AND 1–2 Moderate (PM1–PM6) OR
- 3. 1 Strong (PS1–PS4) AND ≥2 Supporting (PP1–PP5) OR
- 4. ≥3 Moderate (PM1–PM6) OR
- 5. 2 Moderate (PM1–PM6) AND ≥2 Supporting (PP1–PP5) OR
- 6. 1 Moderate (PM1–PM6) AND ≥4 Supporting (PP1–PP5)

PM2 (rare in controls): Absent from controls (or at extremely low frequency if recessive) in Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project, or ExAC

Use at **Moderate**: where there are 0 observations of the variant across all populations in gnomAD v4.1

Use at **Supporting** where the variant is not absent but is present at a frequency of ≤0.002% (1 in 50,000 individuals, 1 in 100,000 alleles), or CanVIG-UK/VCEP recommended gene-specific frequency, in the relevant portion of gnomAD v4.1 (see explanatory notes below)

Explanatory Notes:

- Note that allele counts from UK Biobank can be retrieved from the CanVar-UK database against the variant searched; for non-SNVs, a spreadsheet of counts is accessible from the CanVar-UK homepage and can be searched manually.
- For PM2_{sup} in cancer susceptibility genes, we recommend the use of populations of all ancestries from relevant population databases. Where UK Biobank data has already been used for PS4 application, the non-UK Biobank partition of gnomAD v4.1 should be used to calculate variant frequency to avoid “double-counting”. Where UK Biobank data has not been used for PS4 application, data from the entirety of gnomAD v4.1 should be used to calculate an overall variant frequency.
- PM2 should not be applied at any level if the variant is observed in >1 individual in any subpopulation dataset of <50,000 individuals (e.g. any non-NFE group in gnomAD v4.1)
- ClinGen Sequence Variant Interpretation (SVI) Working Group recommends [applying PM2 criterion at Supporting evidence weighting only](#). CanVIG-UK (in agreement with ACGS working group) recommends retaining of PM2_{Moderate} weighting until further ratification of the ACMG guidelines
- Caution should be exercised in using PM2 for CNVs as sequencing approaches/analytical methodologies can result in wide variation in calling of these variant types in NGS/exome/genome data.
 - PM2 may be applied at either moderate or supporting for (i) whole exon or multiexon copy number variants, or (ii) insertions/deletions of 10-50 base pairs.

ClinGen VCEP – BRCA1

PS1

Original ACMG Summary

Same amino acid change as a previously established pathogenic variant regardless of nucleotide change.

Example: Val->Leu caused by either G>C or G>T in the same codon.

Caveat: Beware of changes that impact splicing rather than at the amino acid/protein level.

VCEP Specifications: For both missense and splicing scenarios, (Likely) Pathogenic variant classification should be assigned using VCEP specifications.

For application of PS1 for splicing predictions, **see Specifications Table 5**. The predicted event of the VUA must precisely match the predicted event of the known (likely) pathogenic variant (e.g. both predicted to lead to exon A skipping, or both to enhanced use of cryptic site B), AND the strength of the prediction for the VUA must be of similar or higher strength than the strength of the prediction for the known (likely) pathogenic variant. For an exonic variant, predicted or proven functional effect of missense substitution/s encoded by the variant and the previously classified pathogenic variant should also be considered before PS1 code application for splicing prediction.

Strong

Apply **PS1**, for predicted **missense** substitutions, where a previously classified **pathogenic** variant is considered to act via protein change (no confirmed or predicted effect on mRNA splicing (SpliceAI≤0.1)).

Apply **PS1**, for exonic and intronic variants with same predicted impact on **splicing**, as a previously classified **pathogenic** variant. Vary weight depending on relative positions, and confidence in classification of the reference variant.

See Specifications Table 5 and Appendix E, J and K for details.

Modification Type: General recommendation

Moderate

Apply **PS1_Moderate**, for predicted **missense** substitutions, where previously classified **likely pathogenic** variant is considered to act via protein change (no confirmed or predicted effect on mRNA splicing (SpliceAI≤0.1)).

Apply **PS1_Moderate**, for exonic and intronic variants with same predicted impact on **splicing**, as a previously classified **(likely) pathogenic** variant. Vary weight depending on relative positions, and confidence in classification of the reference variant.

See Specifications Table 5 and Appendix E, J and K for details.

Modification Type: General recommendation

PP5

Original ACMG Summary

Reputable source recently reports variant as pathogenic, but the evidence is not available to the laboratory to perform an independent evaluation.

Not Applicable

This criterion is not for use as recommended by the ClinGen Sequence Variant Interpretation VCEP Review Committee. PubMed : 29543229

BS1

Original ACMG Summary

Allele frequency is greater than expected for disorder.

VCEP Specifications: Apply based on maximum filter allele frequency in a gnomAD non-founder population, considering exome and genome data separately.

Do not apply if read depth <20. Do not apply to well-established pathogenic founder variants.

Strong

Filter allele frequency (FAF) is above 0.01% (FAF > 0.0001) in gnomAD v2.1 (non-cancer, exome only subset) and/or gnomAD v3.1 (non-cancer), non-founder population(s). See Appendix G for details.

Modification Type: Gene-specific

Supporting

Filter allele frequency (FAF) is above 0.002% (FAF > 0.00002) and less than or equal to 0.01% (FAF ≤ 0.0001) in gnomAD v2.1 (non-cancer, exome only subset) and/or gnomAD v3.1 (non-cancer), non-founder population(s). See Appendix G for details.

Modification Type: Gene-specific

Ejemplo de clasificación de la variante NM_000051.4(ATM):c.2921+1G>T hallada en un paciente

El gen ATM, localizado en el cromosoma 11q22.3, está conformado por 63 exones y codifica para la proteína homónima que se activa en respuesta al DNA dañado y participa en el control del ciclo celular. Actúa como reguladora de otras proteínas supresoras de tumores como TP53 y BRCA1, entre otras.

La portación de variante en heterocigosis que generan pérdida de función (LoF) en ATM se asocian con un aumento del riesgo para el cáncer de mama (MIM#114480) y cáncer de páncreas.

En la variante NM_000051.4:c.2921+1G>T se produce un cambio del primer nucleótido del sitio dador de splicing canónico del intrón 19 en el gen ATM, siendo crítica su conservación para la posterior expresión funcional de la proteína. Esta alteración genera la pérdida del sitio donante canónico de empalme, dando lugar a un ARN mensajero anómalo más corto que omite el exón 19, con cambio del marco de lectura en el resto de la secuencia. En este nuevo marco se introduciría un codón de stop prematuro que provocaría la síntesis de una proteína truncada o ausente a por la activación del mecanismo de degradación de ARN mensajero mediado por mutaciones terminadoras (en inglés, Nonsense-Mediated Decay, NMD). PVS1

En el mismo sitio, se encuentra descrita la variante patogénica NM_000051.4c.2921+1G>A (ClinVar ID: 141182). Estudios transcriptómicos detectaron que esta variante provoca el acortamiento del ARN mensajero por la pérdida de los 83 nucleótidos correspondientes al exón 19, llevando a la degradación por NMD (PMID: 11298136). La herramienta in silico SpliceAI, que evalúa el impacto de las variantes de empalme, otorga el mismo puntaje para ambas variantes en relación a la pérdida del sitio donante de empalme. (PS1_Supporting)

En la base de datos gnomAD (4.1.0), esta variante posee baja frecuencia en la población general (0.000029) (PM2_Supporting).

La variante se encuentra registrada en la base de variantes ClinVar (ID: 142057) con múltiples entradas clasificándola como variante patogénica/ probablemente patogénica en relación al síndrome de predisposición a cáncer hereditario y a cáncer de mama familiar.

De acuerdo a las especificaciones del panel de expertos ClinGen VCEP de las reglas ACMG/AMP para la clasificación de variantes en ATM, la variante NM_000051.4:c.2921+1G>T se clasifica como Variante Patogénica (Criterio: 1 PVS + 2 PM; PVS1 + PM2_Supporting + PS1_Supporting).

¿Debo clasificar las variantes que encuentro si ya están previamente clasificadas por otros?

- La clasificación de una variante por otro laboratorio es una fotografía de la evidencia disponible hasta el momento.
- Cada año salen nuevos estudios funcionales, modelos predictores de proteína más potentes, mejores algoritmos predictores, más casos clínicos, guías más actualizadas, etc.
 - Meta-predictor REVEL
 - AlphaFold2
 - SpliceAI
 - PromotorAI
- Los clasificadores automáticos a menudo aplican criterios generales y no los criterios refinados de las guías de curadores expertos.

¿Qué dificultades se pueden encontrar al clasificar variantes?

- Fundamentalmente en variantes que quedan como VUS (variantes de significado incierto):
 - No existen estudios funcionales (variantes novel, o muy poco frecuentes).
 - Los algoritmos predictores no están bien entrenados para cierto tipo de variantes (Delins, deleciones e inserciones *in-frame*).
 - No es posible o es difícil estudiar la segregación de la variante en la familia.

¿Qué ocurre si encuentro variantes por fuera del panel solicitado?

- Todo hallazgo reportable debe circunscribirse al consentimiento informado del paciente y tener evidencia de que su reporte lo beneficia.
- Ocurre generalmente en solicitudes de pocos genes, por ejemplo: *BRCA1/2*.

ACMG SF v3.2 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)

[David T Miller](#)¹, [Kristy Lee](#)², [Noura S Abul-Husn](#)^{3,4}, [Laura M Amendola](#)⁵, [Kyle Brothers](#)⁶, [Wendy K Chung](#)⁷,
[Michael H Gollob](#)⁸, [Adam S Gordon](#)⁹, [Steven M Harrison](#)¹⁰, [Ray E Hershberger](#)¹¹, [Teri E Klein](#)¹², [C Sue Richards](#)¹³,
[Douglas R Stewart](#)¹⁴, [Christa Lese Martin](#)^{15,16}, ACMG Secondary Findings Working Group

► [Author information](#) ► [Article notes](#) ► [Copyright and License information](#)

PMCID: PMC10524344 NIHMSID: NIHMS1895945 PMID: [37347242](#)

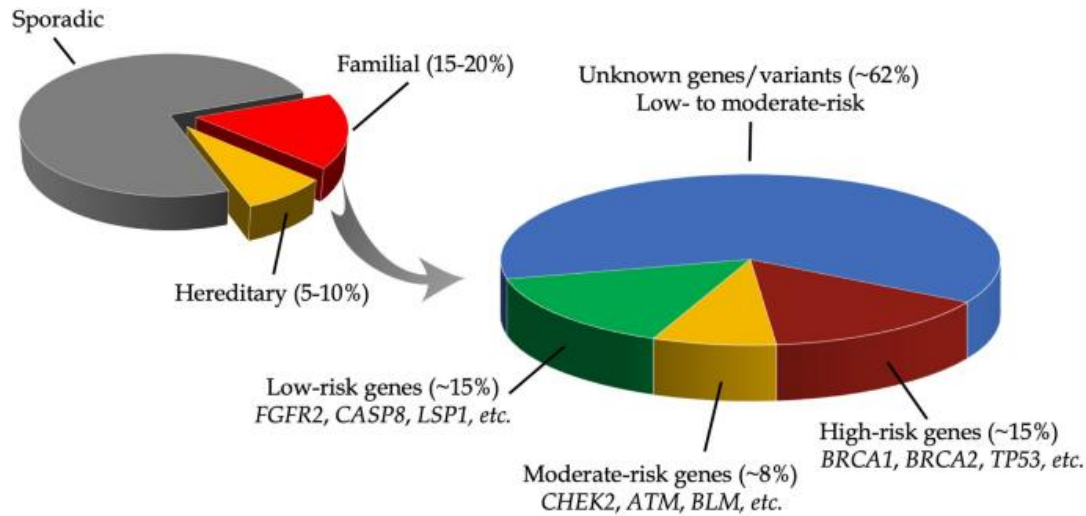
¿Y si no
encuentro
variante
alguna?




**KEEP
CALM
AND
CARRY
ON**

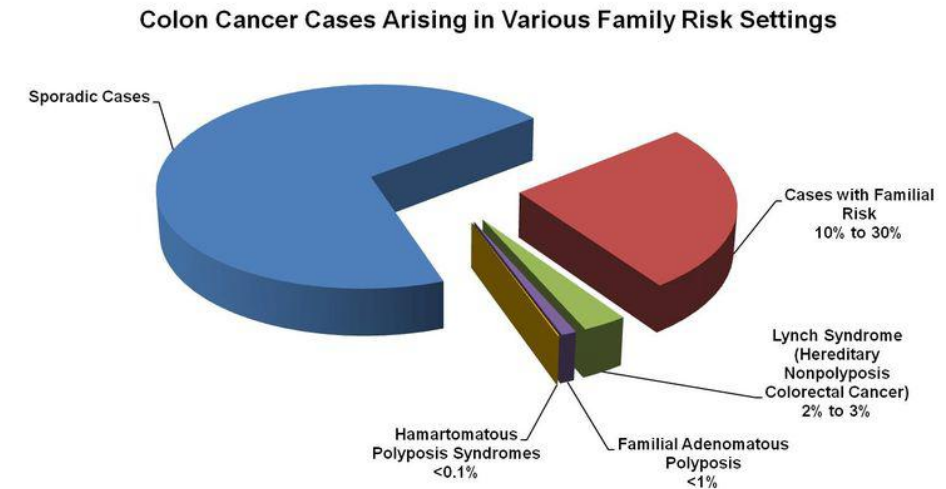
Si no encuentro variantes a nivel germinal...

Cáncer de mama



<https://doi.org/10.1038/s41598-020-77037-7>

Cáncer colorrectal



<https://siteman.wustl.edu/ncipdq/genetics-of-colorectal-cancer-pdq-health-professional-version/>

Los paneles comerciales incluyen los genes con mayor evidencia y asociación a síndromes de cánceres hereditarios (HBOC, Lynch, Li-Fraumeni, etc) dejando de lado genes de baja penetrancia o con los que no hay conducta clara a seguir.

No todo resultado negativo es “malo”, hay que analizar el resultado en el contexto clínico del paciente.

Copy Number Variants (CNVs):

Históricamente el MLPA es el Gold Standard para variantes que involucran grandes deleciones o inserciones.

Complementaban la secuenciación completa del gen de Sanger cuando no se observaban variantes SNV o pequeñas deleciones e inserciones.

La aparición de NGS permitió predecir, mediante algoritmos que comparan y analizan la cobertura entre pacientes y referencias, si existen o no alteraciones estructurales en los genes.



Falsos positivos
Y falsos negativos

***In silico* Copy Number Variation (CNVs) bioinformatics estimation: dream or nightmare?**

Leandro Gutiérrez, Lara Parada-Fennen, Angela Rosaria Solano

*Laboratorio de Genotipificación, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas "Norberto Quirno"
(CEMIC), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina*

El MLPA quedó relegado como técnica confirmatoria del NGS o para familiar. Actualmente la frecuencia de solicitudes de MLPA disminuyó considerablemente, lo que encarece la posibilidad de ofrecerlo.

¿Qué pasa cuando no hay MLPA diseñado para el gen donde se detecta un CNV? ¿Técnicas alternativas?

¿Qué ocurre una vez que entregamos el informe?

- Lo más probable es que nunca más oigamos del caso.

└─> Falta de integración entre el laboratorio y los médicos.

- Pregunten por detalles técnicos del informe.

└─> Tener cuidado con la forma de redactar. No sobre complicar con tecnicismos que puedan dar lugar a confusiones.

- Muy en el futuro....pregunten por actualización de clasificación de una variante VUS.

¡¡¡Muchas gracias!!!

¿Preguntas?



Never Ask A Woman
Her Age



A Man,
His Salary



A genetist,
¿Cuándo está el
resultado?