Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

GENeALYSE

Workshop 21.2.2019

Herzlich Willkommen!

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

GENeALYSE

Vorstellung und Projektstand
Ergebnisse der Strukturanalyse

Teja Falk Radke
Dr. rer. nat.

GENeALYSE Workshop 29.1.2019

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

GENeALYSE

Teil 1 : Vorstellung und Projektstand

Vorstellung

- Gefördert durch das

Ministerium für
Kultur und Wissenschaft
des Landes Nordrhein-Westfalen

- Projektlaufzeit: 24 Monate
  (1.10.2017 bis 31.9.2019)

		Zeitverlauf																					
Arbeitspakete		2017			2018											2019							
Nr	Titel	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	IST-Analyse								M1																
2	SOLL-Prozess																								M2
3	Semantische Annotation																								M3
4	Leitfadenerstellung																								M4
5	PM, ÖA																								M5

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Vorstellung

Projekt-Partner:

- Hochschule Niederrhein - Competence Center eHealth
  (Prof. Sylvia Thun)

- Universitätsklinikum Köln – Institut für Pathologie
  (Prof. Sabine Merkelbach-Bruse)

- Universitätsklinikum Düsseldorf – Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe
  (Dr. Dieter Niederacher)

Vorstellung

Assoziierte Partner:

- Bundesverband Deutscher Pathologen e.V.
- Cluster InnovativeMedizin.NRW
- Krebsgesellschaft Nordrhein-Westfalen e.V.
- Wissenschaftliches Institut der Niedergelassenen Hämatologen und Onkologen - WINHO - GmbH

BUNDESVERBAND DEUTSCHER PATHOLOGEN e.V.

Innovative Medizin.NRW Cluster Nordrhein-Westfalen

Krebsgesellschaft Nordrhein-Westfalen e.V.

WINHO

Hochschule Niederrhein University of Applied Sciences

Vorstellung

Projektziel:

Entwicklung einer standardkonformen Befundstruktur für genetische Ergebnisberichte auf Basis von definierten und internationalen Standards bzw. Terminologien.

HL7 CDA
(Clinical Document Architecture)

SNOMED CT
(Systematized Nomenclature of Medicine)

HL7 FHIR
(Fast Healthcare Interoperability Resources)

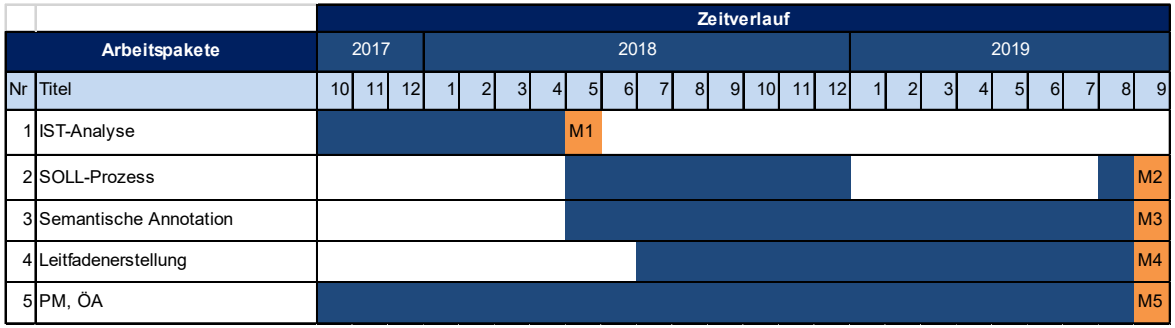
LOINC
(Logical Observation Identifiers Names and Codes)

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Projektstand

Die Arbeitspakete:

1. Analyse der IST-Situation
2. SOLL-Prozessableitung
3. Semantische Annotation
4. Technische Spezifikation und Implementierungsleitfaden
5. Projektmanagement / Öffentlichkeitsarbeit

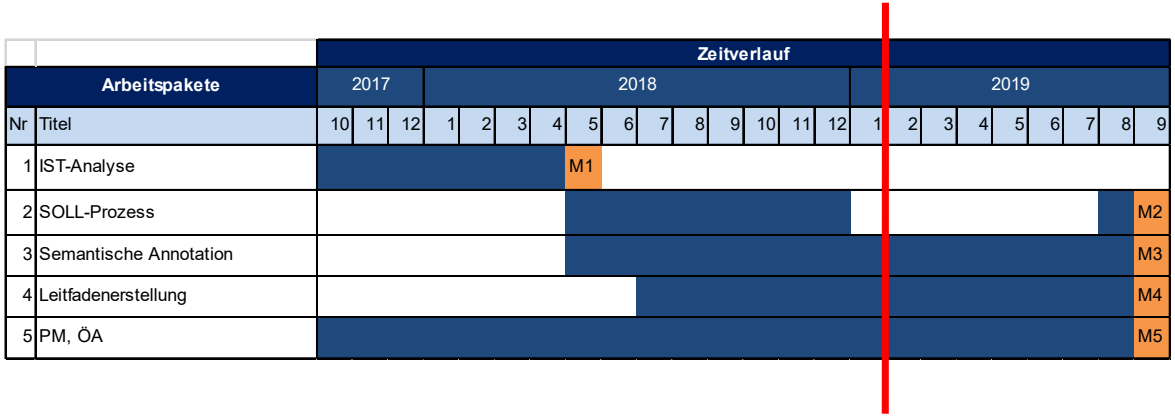


Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Projektstand

Die Arbeitspakete:

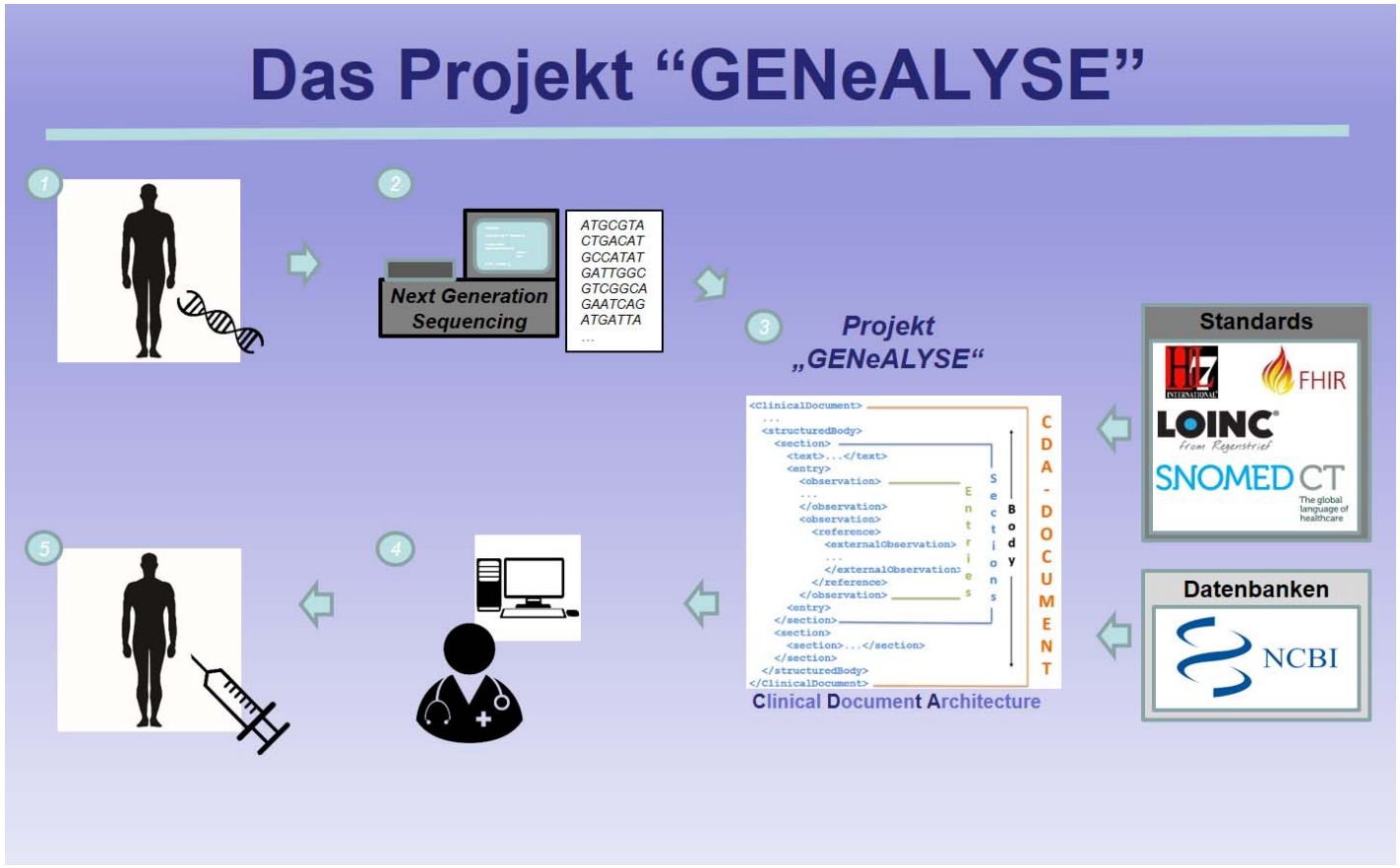
1. Analyse der IST-Situation
2. SOLL-Prozessableitung
3. Semantische Annotation
4. Technische Spezifikation und Implementierungsleitfaden
5. Projektmanagement / Öffentlichkeitsarbeit



Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Projektstand

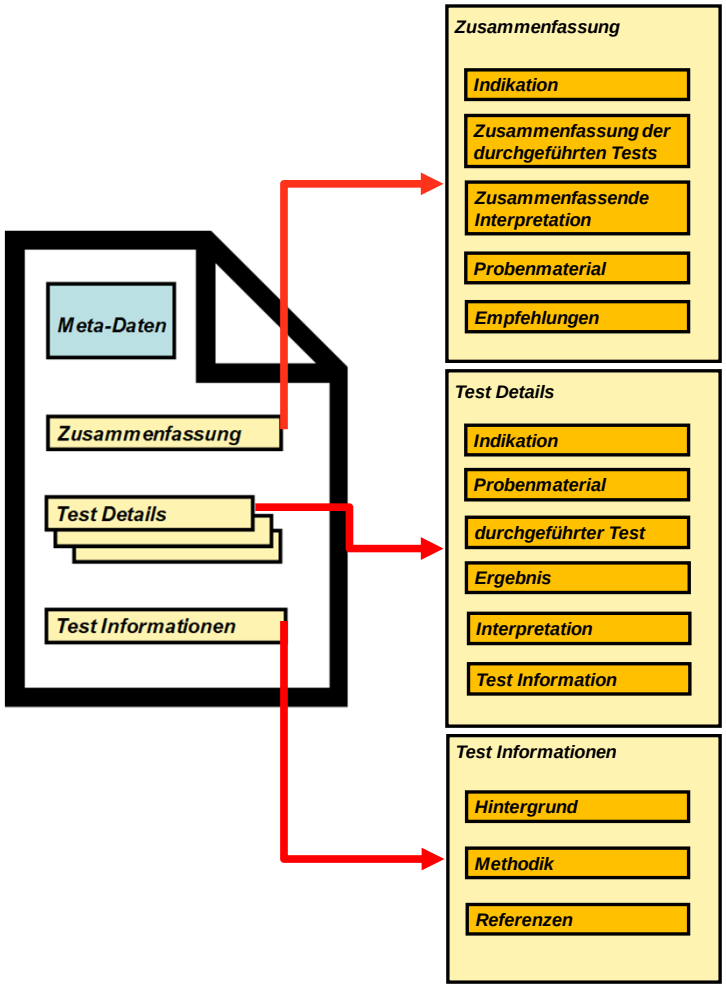
Ziel:



Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Projektstand

Ziel:



Indikation strukturiert bspw. mit SNOMED CT:
443961001 |Malignant adenomatous neoplasm (disorder)|

Probenmaterial strukturiert bspw. mit LOINC:
48002-0 |Genomic source class|

Untersuchtes Gen
LOINC: 48018-6 | Gene Identifier |
code="GJB2"codeSystemName="HGNC"

Detektierte Sequenzvariation
LOINC: 48003-8 | DNA sequence variation identifier |
code="rs72474224" codeSystemName= "dbSNP"

Narrative Beschreibung der durchgeführten Untersuchung und Verweis auf Studien

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

GENeALYSE

Teil 2 : Ergebnisse der Strukturanalyse

Projektstand

Ansätze:

- Expertenrunden (UKK / UKD)
- Vorabauswertung von 15 nationalen und internationalen anonymisierten Befunden
- Später Analyse von 96 anonymisierten, deutschsprachigen Befunden aus Ringversuchen des EMQN (European Molecular Genetics Quality Network)

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Strukturanalyse

Im Rahmen der Aufnahme der SOLL-Situation:

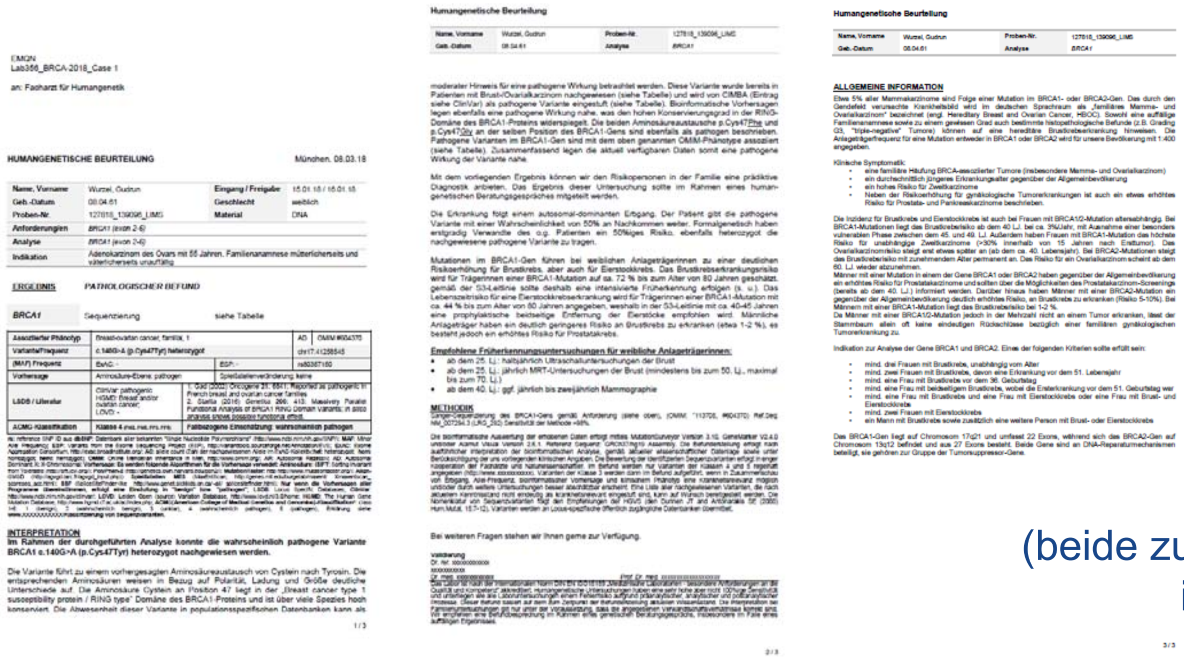
- Verschaffen eines Überblicks über den generellen Aufbau eines genetischen Befundes
- Sammeln der enthaltenen Kernelemente (Daten inkl. verwendeter Standards)
- Regelmäßige Rücksprache mit den Experten

Strukturanalyse

Erste Erkenntnis: Enorme Varianz!

Strukturanalyse

Erste Erkenntnisse: Enorme Varianz in… Umfang


EMQN
Lab356_BRCA-2018_Case 1
an: Facharzt für Humangenetik

HUMANGENETISCHE BEURTEILUNG München, 08.03.18

ERGEBNIS PATHOLOGISCHER BEFUND

INTERPRETATION
Im Rahmen der durchgeführten Analyse konnte die wahrscheinlich pathogene Variante BRCA1 c.140G>A (p.Cys47Tyr) heterozygot nachgewiesen werden.

Humangenetische Beurteilung

Empfohlene Früherkennungsuntersuchungen für weibliche Anlageträgerinnen:

METHODIK

Bei weiteren Fragen stehen wir Ihnen gerne zur Verfügung.

Humangenetische Beurteilung

ALLGEMEINE INFORMATION

vs.


Referenz-Nr. Labor: 0175

31.01.2018

BEFUNDBERICHT UND BEGUTACHTUNG

Indikation:

Ergebnis: Nachweis der gesichert klinisch relevanten Variante c.140G>A, p.(Cys47Tyr) im BRCA1-Gen in heterozygoter Konstellation.

Methoden:

Beurteilung:

Mit freundlichen Grüßen,

FA für Humangenetik Diplom-Biologe MTLA

(beide zu dem gleichen Test mit identischer Probe)

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Strukturanalyse

Erste Erkenntnisse: Enorme Varianz in… Umfang

EMQN 2018 SCHEME: HFE - 2018 LAB-ID 0642

Name des Einsenders
Adresse des Einsenders

Fall 1 Befundbericht zur molekulargenetischen Analyse bei V.a. Hämochromatose

Name, Vorname: Jonckers, Ijsbrand, Case 1 Probennummer: 17009466 Labor-ID: 1025641113
Geburtsdatum: 17.05.1967 Probeneingang: 11.01.2018 Befunddatum: 05.03.2018
Geschlecht: männlich Material: DNA Befundstruck: 05.03.2018

HUMANGENETISCHE DIAGNOSTIK

Indikation:
V. a. Hämochromatose, klinische Symptome: Eisenüberladung, Keine Hämochromatose in der Familie bekannt.

Molekulargenetische Analyse bei Verdacht auf Hämochromatose

HFE-Genotyp (C282Y) heterozygot
HFE-Genotyp (H63D) nicht nachgewiesen

Ergebnis:
Die Mutation p.Cys282Tyr (C282Y/c.845G>A) im HFE-Gen (Hämochromatose) liegt in heterozygoter Form vor. Die Mutation H63D konnte nicht nachgewiesen werden.

Humangenetische Beurteilung
Ergebnis der Untersuchung des HFE-Gens (OMIM-Nummer: 613609) auf die häufigsten Mutationen in der mitteleuropäischen Bevölkerung:

Der V. a. eine hereditäre Hämochromatose kann nicht durch die o.g. heterozygote Mutation begründet werden.

Als Ursache für die hereditäre Hämochromatose sind insbesondere im nordeuropäischen Raum hauptsächlich Veränderungen im HFE-Gen (80% homozygote C282Y-Mutation, 2-5 % C282Y und H63D-Mutation) zu finden. Aber auch andere Mutationen in anderen Regionen des HFE-Gens können ursächlich sein. Bei der nachgewiesenen Heterozygotie für die Mutation p.Cys282Tyr (C282Y/c.845G>A wäre aufgrund des autosomal rezessiven Erbganges an eine weitere Mutation im HFE-Gen zu denken.

Wenn aufgrund der klinischen Symptomatik weiterhin der Verdacht auf eine Hämochromatose besteht, könnte eine erweiterte Diagnostik angeboten werden. Hierzu kann eine Komplettsequenzierung des HFE-Gens (Stufe 2), und falls auch diese Untersuchung negativ ausfällt, eine molekulargenetische Analyse der Gene HJV, HAMP, TFR2 und SLC11A3 (Stufe 3) angeboten werden.

Wenn Sie eine erweiterte Hämochromatose-Diagnostik nach Stufe 2 und ggfs. Stufe 3 wünschen, bitten wir einfach um eine kurze Nachricht/ Nachmeldung (Tel.-Nr. siehe Fußtext).

Klinischer Hintergrund:
Neben der Hämochromatose Typ 1 gibt es weitere Formen (Typ2A: HJV, Typ2B: HAMP, Typ3: TFR2 und Typ4: SLC11A3). Außer dem Typ 4 werden alle anderen Formen autosomal-rezessiv vererbt. Die Gene des Eisenstoffwechsels HFE, HAMP, HJV und TFR2, welche für Hepcidin bzw. dessen Regulation kodieren, gehen bei Mutationen mit einem erniedrigten Hepcidinspiegel einher. Trotz Eisenüberschuss im Körper kommt es zu einer erhöhten Eisenabsorption aus dem Darm. Dies führt zu einer Akkumulation von Eisen in den Organen und infolgedessen zu Organschäden wie z.B. Leberzirrhose, Diabetes, Kardiomyopathie und Arthropathien.
Organschäden sind in absteigender Häufigkeit bei den Hämochromatoseformen wie folgt zu erwarten: 2A: HJV, 2B: HAMP, 3: TFR2, 1:HFE, 4: SLC11A3.Eine klinische Hämochromatose-Symptomatik zeigt sich bei den Formen 2A und 2B bereits ab der 2.-4.Dekade und bei den Formen 1,3 und 4 ab der 4.-6. Dekade. Eine therapeutische Konsequenz kann sich je nach Genotyp und klinischer Manifestation ergeben.

1/2

EMQN 2018 SCHEME: HFE - 2018 LAB-ID 0642

Als Maß für das gespeicherte Körpereisen sollten bei Verdacht auf eine Eisenüberladung die Serum-Eisenkonzentration, Ferritin und Transferrin (Transferrinsättigung) regelmäßig kontrolliert werden.

Literatur:
Rebecca Seckington und Laerie Powell, Gene Reviews, www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1440/

Methodik:
DNA-Isolierung aus eingesandten Probenmaterial.
PCR-Amplifikation des Exons 2 (für H63D) und 4 (für C282Y). Nachweis der HFE-Varianten mittels RFLP mit dem Restriktionsenzym Rsa I (H63D) bzw. Bcl I (C282Y). Referenzsequenz: NM_000410.3

Genetische Untersuchungsergebnisse sollen nach §10 GenDG im Rahmen einer genetischen Beratung durch Fachärzte für Humangenetik oder Ärzte mit Zusatzbezeichnung Medizinische Genetik oder Ärzte mit fachgebietsbezogener Qualifikation mitgeteilt werden. Für Rückfragen stehen wir unter der Telefon-Nr. XXX gerne zur Verfügung.

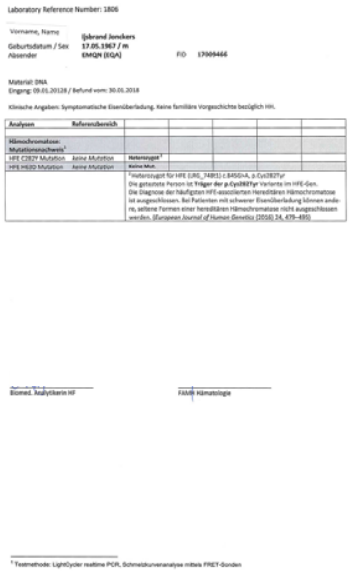
Die Untersuchung erfolgte nach den Leitlinien zur molekulargenetischen Diagnostik des Berufsverbands Deutscher Humangenetiker e.V. (BVDH).

UNTERSCHRIFT 1 UNTERSCHRIFT 2
(FACHARZT FÜR HUMANGENETIK)

Ein Einverständnis für die Durchführung der Genetischen Diagnostik liegt vor.

2/2

vs.



Laboratory Reference Number: 1806

Vorname, Name: **Ijsbrand Jonckers**
Geburtsdatum / Sex: **17.05.1967 / m**
Absender: **EMQN (EQA)** FID: **17009466**

Material: DNA
Eingang: 09.01.20128 / Befund vom: 30.01.2018

Klinische Angaben: Symptomatische Eisenüberladung. Keine familiäre Vorgeschichte bezüglich HH.

Analyse	Referenzbereich					
Hämochromatose: Mutationsnachweis[1]						
HFE C282Y Mutation	keine Mutation	**Heterozygot**[1]				
HFE H63D Mutation	keine Mutation	**Keine Mut.**				

[1] Heterozygot für HFE (JBC_74851): c.845G>A, p.Cys282Tyr
Die getestete Person ist **Träger der p.Cys282Tyr** Variante im HFE-Gen.
Die Diagnose der häufigsten HFE-assoziierten Hereditären Hämochromatose ist ausgeschlossen. Bei Patienten mit schwerer Eisenüberladung können andere, seltene Formen einer hereditären Hämochromatose nicht ausgeschlossen werden. (European Journal of Human Genetics (2018) 26, 470–480)

Biomed. Analytikerin HF FAMH Hämatologie

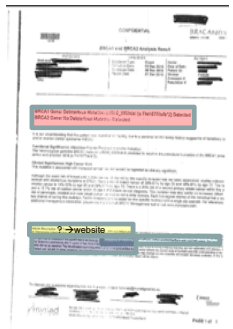
[1] Testmethode: LightCycler realtime PCR, Schmelzkurvenanalyse mittels FRET-Sonden

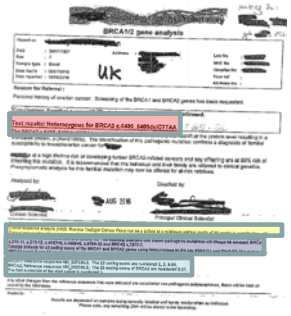
(beide zu dem gleichen Test mit identischer Probe)

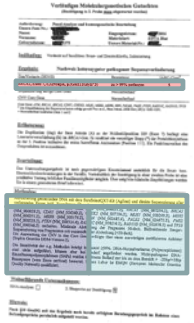
Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

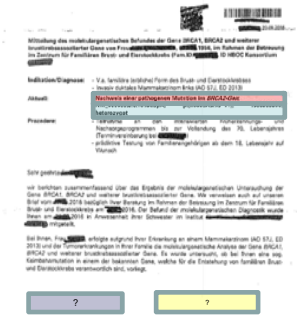
Strukturanalyse

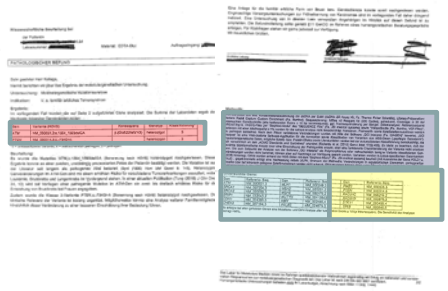
Erste Erkenntnisse: Enorme Varianz in… Gliederung/Inhalten

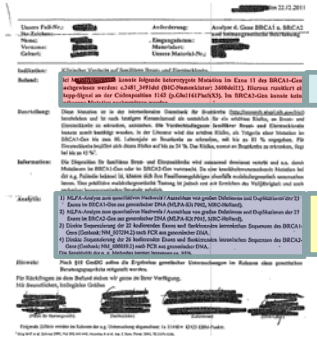






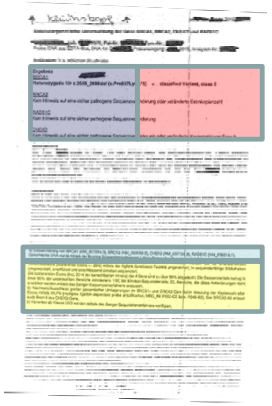






Nur Mutation

Keine Details direkte Sequenzierung



Befund/Ergebnis

Methoden

Testspektrum

Infos (NM_ /OMIM)

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Strukturanalyse

Erste Erkenntnisse: Des weiteren….

- Oftmals fehlende Angabe, ob kommerzielles kit oder in-house system
- Mehrfach als Methode nur „NGS“, ohne weitere Angaben
- Genreferenz (Beispiel BRCA): Meist ClinVar (NM_00xxxx), teilweise OMIM ID oder auch „spezielle“ Datenbanken (z.B. BIC)

Strukturanalyse

Hauptarbeit: Extraktion aller relevanten (?) Informationen.

→ Manuelles durchsehen der Befunde nach jedem einzelnen Datenelement

Strukturanalyse

- Document
  - Document type
    - Genetic analysis report
    - Pages total (Page x of y)
    - Report ID
- Laboratory
  - Lab name
    - Institution name
  - Address
    - Address line 1
    - Address line 2
    - City
    - Zip code
    - Country
  - Contact
    - Phone
    - Fax
    - E-mail
  - Responsible person
    - Title
    - Family Name
    - First name
    - Function
- Requesting physician
  - Requester
    - Title
    - Family Name
    - First name
  - Institution (optional)
    - Institution name
  - Address
    - Address line 1
    - Address line 2
    - City
    - Zip code
    - Country
  - Contact
    - Phone
    - Fax
    - E-mail
- Patient data
  - Patient
    - Title
    - Family Name
    - First name
    - Middle name
    - Gender
    - *Optional : Ethnicity*
    - Date of birth
    - *Remarks on patient*
  - Address
    - Address line 1
    - Address line 2
    - City
    - Zip code
    - Country
  - Contact
    - Phone
    - Fax
    - E-mail
  - Other
    - Patient ID
    - Family ID
- Sample data
  - Sample type
    - Sample material (e.g. Blood)(Loinc)
    - *Sample size (volume/mass) (e.g. ml/cm3) (Loinc?)*
    - If applicable: Solvent/additives (e.g. EDTA/TE-Buffer) (Loinc)
    - *If applicable: Solvent/additives size (e.g. ml) (Loinc)*
    - Sample form (e.g. liquid/lyophilized etc.)(Loinc)
    - Sample origin (e.g. Peripheral blood; Resectate from hemicolectomy with lymph node isolation)
    - If applicable (tissue): Tumour content (e.g. % of neoplastic cells)
  - Sample Reference ID
    - External reference ID
    - Internal reference ID
  - Other
    - *Remarks on sample (e.g. "no micro dissection performed")*
    - Sample storage/handling
- Timestamps
  - Timestamps
    - Date request issued
    - Date request received
    - Date sample drawn
    - Date sample received
    - Date analysis started
    - Date analysis finished
    - Date report written
    - Date report sent
- Indication/Requested Analysis
  - Suspected disease/Observed abnormalities
    - Suspected disease ID (Snomed CT)
    - Observed abnormalities/Disease (Snomed CT/OMIM MIM)
    - Patient health status (anamnesis) (Snomed CT)
    - Family health status (anamnesis) (Snomed CT)
    - If applicable: Suspected genetic predisposition (e.g. BRACA1 p.Cys47Tyr)(Snomed CT)
  - Previous analysis/results (external)
    - Test(s) previously performed ID (e.g. MLPA)(Loinc)
    - Test(s) previously performed results (Loinc?)
    - Gene(s) previously tested ID (ClinVar/Ensemble/HGVS)
    - Gene(s) previously tested results
  - Previous analysis/results (internal)(e.g. if confirmative testing)
    - Previous report ID
  - Analysis requested
    - Specific Genes/Exons/Transcripts to be tested ID (e.g. ClinVar/Ensembl/HGVS)
    - Additional/special requirements/requests
    - Alternatively: Original, unaltered request text
- Methods
  - Scope
    - Gene(s) tested ID (e.g. BRACA1) (HGVS)
      or Sequence tested; e.g. CAG-repeats
    - Cytogenic location (e.g. Chromosome 17q21.31) (HGVS/OMIM/Gene Location/LRG)

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Strukturanalyse

- Genomic location (e.g. Chr17: 43106528 (GRCh38), Chr17(GRCh37):g.41258545C>T) (ClinVar)
- Reference sequence(s) (e.g. NM_007294.3; LRG_292t1) (ClinVar, LRG if available)
- Exon(s) tested classic (e.g. 2-6)
- Exon(s) tested HGVS (e.g. (c.1_c.441))
- ? Codon(s) tested (e.g. 12,13,59,60,...)
- Panel name (e.g. GIST)
- Panel reference (PubMed, Link)

Details on sample preparation

- DNA isolation method (Loinc)
- DNA enrichment method (Loinc)
- Primer used (if applicable)
- Primer references (if applicable)(PubMed, Link)
- DNA enrichment junction span (IVS/+/- x bp)

Details on analysis method

- Analysis method(s) (e.g. Capillary electrophoresis, Sanger, NGS, Multiplex, rev. hybridisation)(Loinc)
- If applicable: Read depth/Coverage (e.g. >20 in 98% of examined sequences) (Loinc)
- Mutation analysis focus (if specific, e.g. Ins, Del , Repeats etc.)
- Direction of Sequencing (e.g. 3', 5', both) (Loinc?)
- Sensitivity (e.g. Detection limit, Q-phred score) (Loinc?)
- If applicable: Starting point (e.g. "nt1 = A of ATG start codon")

Limitations

- Method limitations

Materials

Devices used

- Product name
- Product ID
- Supplier
- Version

Software used

- Product name
- Product ID
- Supplier
- Version

Material/Kit(s) used

- Product name
- Product ID
- Supplier

Result(s)

Findings/results

- Formal finding DNA (e.g. c.140G>A) (ClinVar)
- Genomic location (e.g. Chr17: 43106528 (GRCh38)) (ISCN)
- Formal consequence / protein change (e.g. p.Cys47Tyr; p.Glu746_Ala750del) (ClinVar)
- Trivial terminology (e.g."C47Y", "C282Y", "E746_A750del")
- Cytogenic location (e.g. 17q21.31)
- Genotype (e.g. homozygote/heterozygote)(Snomed CT)
- Mutation type (Point/Frameshift; Ins, Del etc.) (Snomed CT)

Additional data

- Raw data / graphs / images etc.
- Genes excluded from testing + reason (i.e. c.193A>T p.(Ser65Cys) for HH)(HGVS)

Interpretation

Databases used (for each database used)

- Reference Database (s) used (e.g. ClinVar, MutationTaster,SIFT,BIC,LOVD,HGMD)
- Reference Database(s) Link(s (e.g. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/54246/)
- Reference Database Pathogenicity (e.g. "Class 4: likely pathogen")
- Pathogenicity reference (e.g. ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics), IARC (International Agency for Research on Cancer))

Final interpretation

- Mutation consequence (e.g. Splice site mutation, Missense)(Snomed CT?)
- Mutation class (e.g. germline / somatic)(Snomed CT)
- Affected proteins & resulting effects (if applicable)(ClinVar/Ensembl)
- Estimated Pathogenicity (e.g. Class 4: likely pathogen)(IARC)
- Disease risk patient (e.g."80% risk to develop breast cancer by age of 50")
- Inheritance (e.g. autosomal dominant)(Snomed CT)
- Disease risk family members (e.g. first grade)(Snomed CT)
- Reference(s) (PubMed, Link)

Recommendations

Recommended additional tests

- On patient/new sample (Loinc)
- On family members (e.g. Carrier testing/Predictive testing) (Loinc)

Recommended therapeutic approach

- Treatment/Medication (Loinc)
- References (PubMed)

Other recommendations

- Recommended (genetic) counselling
- Recommended screening tests (If applicable)

Additional Information

- If applicable: Local support groups
- Confirmative testing required?
- Patient already informed on results?
- Lab accreditations/QA

Notes:

Sequence not uniform

- BRACA1 p.Cys47Tyr
- NM_007294.3(BRCA1):c.140G>A (p.Cys47Tyr)
- LRG_292t1:c.140G>A p.Cys47Tyr
- Chr17(GRCh37):g.41258545C>T
- rs80357150

Sample material not uniform

- Blood
- Blood EDTA
- DNA
- DNA lyophilized
- Leukocytes / Lymphocytes / Lymphoblasts

Reference Transcript not uniform

- At least one case for BRCA which used transcript 2 instead of 1 (though referring to transcript 1 via NM_number).

Different terminology Germline/Somatics?

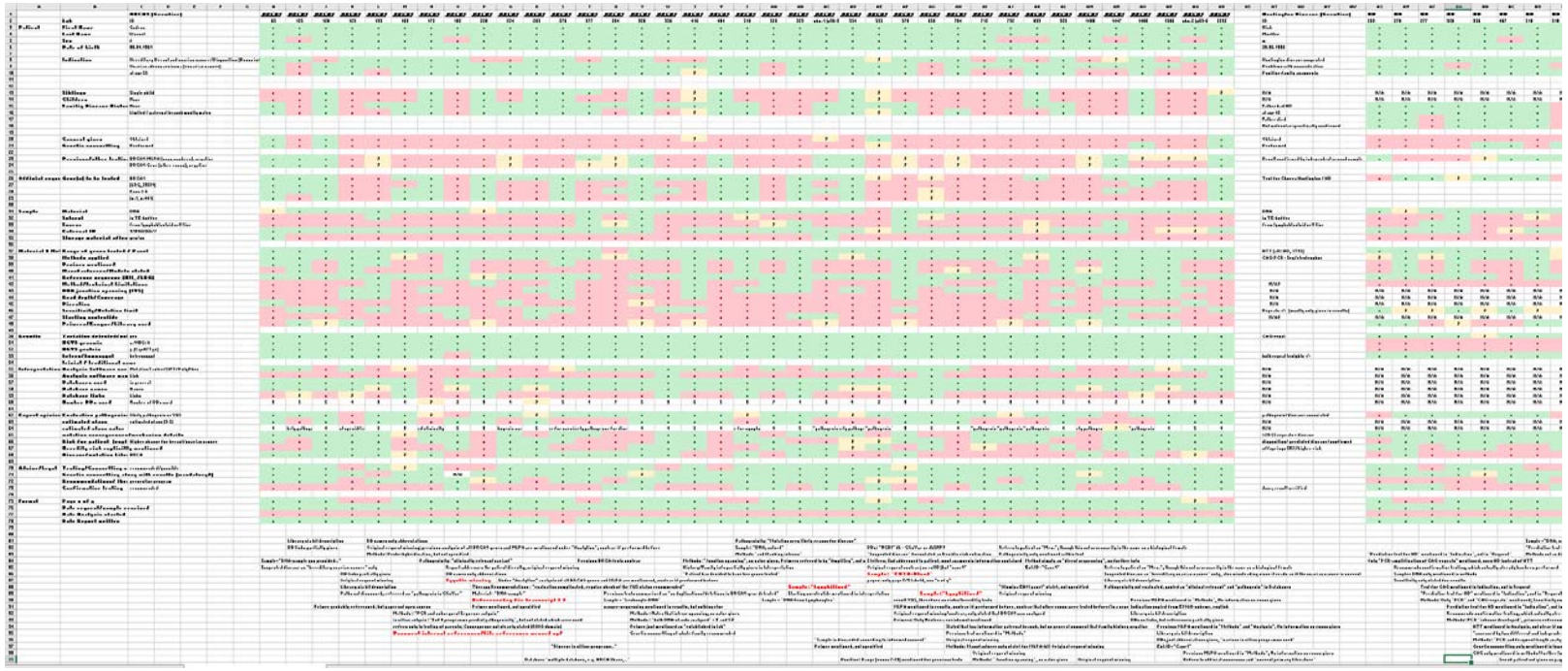
- Mol Path uses codons/AA position rather than nucleotide sequences in terminology?

Ende des Dokuments ■

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Strukturanalyse

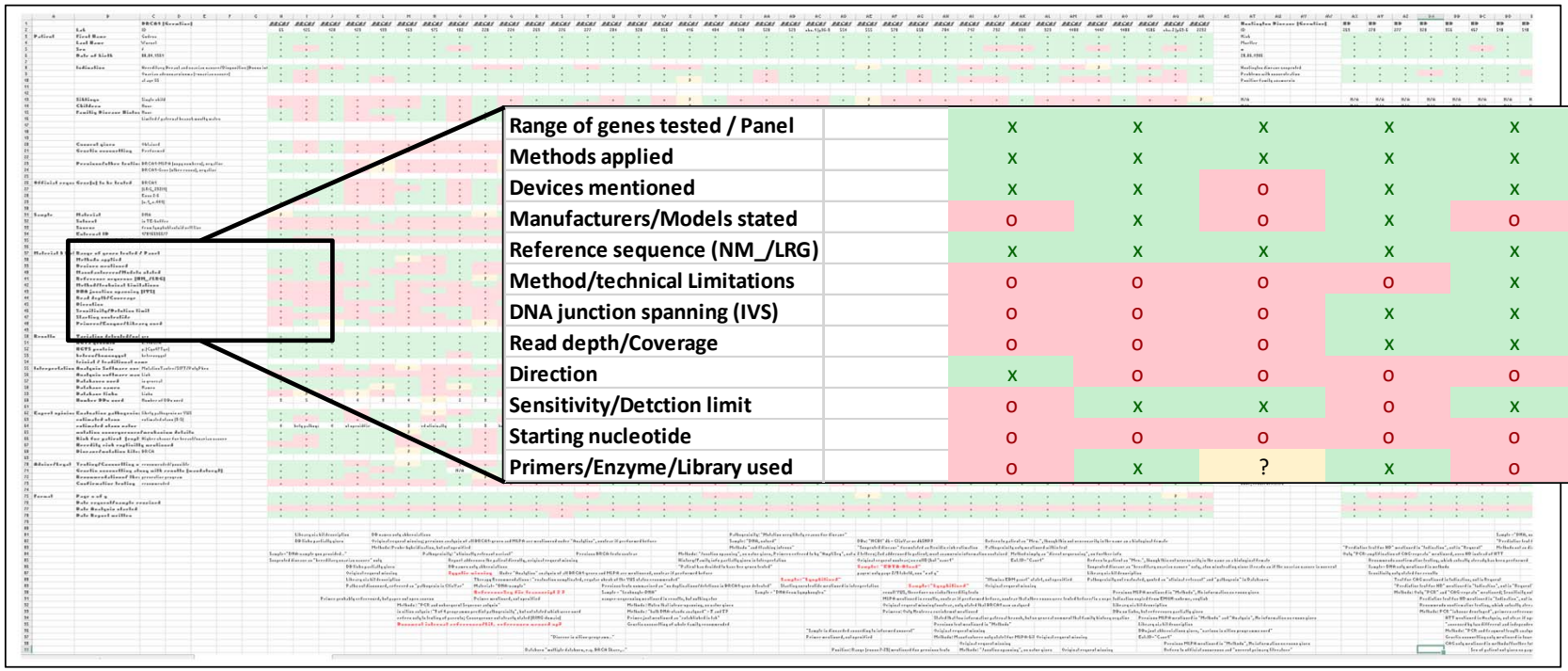
Nach Zusammentragen wurde in einer zweiten Analyse jeder Ringversuch-Bericht erneut auf Vorhandensein dieser Datenelemente geprüft.



Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Strukturanalyse

Nach Zusammentragen wurde in einer zweiten Analyse jeder Ringversuch-Bericht erneut auf Vorhandensein dieser Datenelemente geprüft.



Range of genes tested / Panel		x	x	x	x	x	x	x
Methods applied		x	x	x	x	x	?	o
Devices mentioned		x	x	o	x	x	o	o
Manufacturers/Models stated		o	x	o	x	o	o	o
Reference sequence (NM_/LRG)		x	x	x	x	x	x	x
Method/technical Limitations		o	o	o	o	x	o	o
DNA junction spanning (IVS)		o	o	o	x	x	o	x
Read depth/Coverage		o	o	o	x	x	o	o
Direction		x	o	o	o	o	o	o
Sensitivity/Detction limit		o	x	x	o	x	o	x
Starting nucleotide		o	o	o	o	o	o	o
Primers/Enzyme/Library used		o	x	?	x	o	o	o

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Strukturanalyse

Ergebnis:

1. Patient and sample information	Reports	% Complete	% Partial	% Missing
Patient first name	63	**100,0%**	0,0%	0,0%
Patient last name	63	**100,0%**	0,0%	0,0%
Patient sex	63	**82,5%**	0,0%	**17,5%**
Patient date of birth	63	**100,0%**	0,0%	0,0%
Patient family members*	37	**27,0%**	**10,8%**	**62,2%**
Family disease history*	56	**60,7%**	**12,5%**	**26,8%**
Sample material	63	**84,1%**	**6,3%**	**9,5%**
Sample form/solvent/additives**	63	**17,5%**	**1,6%**	**81,0%**
Sample source	63	**25,4%**	**6,3%**	**68,3%**
Sample external ID	63	**77,8%**	**7,9%**	**14,3%**

*Only taken into account if provided with initial request
**2 labs reported the sample as “lyophilized” although all labs received DNA in TE-buffer.

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Strukturanalyse

Ergebnis:

1. Patient and sample information	Reports	% Complete	% Partial	% Missing
Patient first name	63	**100,0%**	0,0%	0,0%
Patient last name	63	**100,0%**	0,0%	0,0%
Patient sex	63	**82,5%**	0,0%	**17,5%**
Patient date of birth	63	**100,0%**	0,0%	0,0%
Patient family members*	37	**27,0%**	**10,8%**	**62,2%**
Family disease history*	56	**60,7%**	**12,5%**	**26,8%**
Sample material	63	**84,1%**	**6,3%**	**9,5%**
Sample form/solvent/additives**	63	**17,5%**	**1,6%**	**81,0%**
Sample source	63	**25,4%**	**6,3%**	**68,3%**
Sample external ID	63	**77,8%**	**7,9%**	**14,3%**

*Only taken into account if provided with initial request
**2 labs reported the sample as “lyophilized” although all labs received DNA in TE-buffer.

Das „Frau XXX“ biologisch weiblich ist, mag trivial erscheinen…

Für eine elektronische Auswertung ist dies jedoch eine notwendige Information (ganz zu schweigen von Spezialfällen wie Transmann / Transfrau)

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Strukturanalyse

Ergebnis:

2. Indication/request	Reports	% Complete	% Partial	% Missing
Suspected disease/Purpose*	9	**88,9%**	0,0%	**11,1%**
Anamnesis	63	**69,8%**	**19,0%**	**11,1%**
Previous/Other testing*	37	**24,3%**	**24,3%**	**51,4%**
Original request/Gene(s) to be tested	63	**39,7%**	**28,6%**	**31,7%**

3. Material & Methods	Reports	% Complete	% Partial	% Missing
Range of genes tested / Panel used*	63	**90,5%**	**7,9%**	**1,6%**
Methods applied	63	**82,5%**	**17,5%**	**0,0%**
Devices used (Manufacturer/model)	63	**33,3%**	**12,7%**	**54,0%**
Reference sequence used	63	**82,5%**	**6,3%**	**11,1%**
Method/Technical limitations**	53	**35,8%**	**0,0%**	**64,2%**
Primers/Library used	63	**25,4%**	**20,6%**	**54,0%**
Sensitivity/Detection limit	63	**38,1%**	**11,1%**	**50,8%**
Analysis details (IVS; read depth)***	47	**21,3%**	**27,7%**	**51,1%**

4. Results	Reports	% Complete	% Partial	% Missing
Variation (not) detected/confirmed*	63	**96,8%**	**3,2%**	0,0%
Mutation description, gene (HGVS)**	51	**100,0%**	0,0%	0,0%
Mutation description, protein (HGVS)**	51	**98,0%**	**2,0%**	0,0%
Zygosity [g] or Percentage [s]***	61	**95,1%**	0,0%	**4,9%**

5. Interpretation and expert opinion	Reports	% Complete	% Partial	% Missing
Analysis Software used (*in silico*) [g]*	37	**54,1%**	**8,1%**	**37,8%**
Databases used*	37	**78,4%**	**18,9%**	**2,7%**
Evaluation pathogenic/disease associated [g]**	47	**68,1%**	**14,9%**	**17,0%**
Estimated pathogenicity class value (IARC) [g]*	37	**54,1%**	**40,5%**	**5,4%**
Mutation consequences/Mechanism details	63	**74,6%**	**1,6%**	**23,8%**
Risk for patient***	57	**73,7%**	**3,5%**	**21,1%**
Hereditary risk explicitly mentioned [g]	56	**50,0%**	**7,1%**	**42,9%**
Disease/Mutation literature reference(s)****	61	**44,3%**	**3,3%**	**52,5%**

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Strukturanalyse

Potentiell kritisch?

	Reports (unique lab)	% Complete	% Partially	% Missing
1. Patient and sample information				
Patient sex	63	**82,5%**	**0,0%**	**17,5%**
Sample source	63	**25,4%**	**6,3%**	**68,3%**
Sample external ID	63	**77,8%**	**7,9%**	**14,3%**
2. Indication/request				
Previous/Other testing	37	**24,3%**	**24,3%**	**51,4%**
3. Material & Methods				
Method/Technical Limitations	53	**35,8%**	**0,0%**	**64,2%**
Primers/Library used	63	**25,4%**	**20,6%**	**54,0%**
Sensitivity/Detection limit	63	**38,1%**	**11,1%**	**50,8%**
5. Interpretation and expert opinion				
Evaluation pathogenic/disease associated [g]	47	**68,1%**	**14,9%**	**17,0%**
Estimated pathogenicity class value (IARC) [g]	37	**54,1%**	**40,5%**	**5,4%**
Risk for patient	56	**75,0%**	**3,6%**	**21,4%**
Disease/Mutation literature reference(s)	61	**44,3%**	**3,3%**	**52,5%**
6. Other/Formal/Legal/Recommendations				
Patient consent given	63	**7,9%**	**3,2%**	**88,9%**
Genetic counselling performed	63	**9,5%**	**1,6%**	**88,9%**
Confirmative testing done/required/recommended	63	**33,3%**	**0,0%**	**66,7%**
Storage/Disposal of material after testing	63	**3,2%**	**0,0%**	**96,8%**
Pages numbered (x of y)	63	**63,5%**	**6,3%**	**30,2%**

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Strukturanalyse

Zu guter Letzt… 8 Ergebnisse eines Ringversuchs zu BRCA1/2 (Mol.Path)

Results:
Unsuspicous result
No detection of a pathogenic BRCA1/2 variant
Treatment with PARP inhibitors is not recommended.

Results: The analysis revealed **no disease causing mutation** in the analysed regions of the *BRCA1 and BRCA2* genes in ≥ 10% of tumour DNA of the high grade serous ovarian carcinoma. We do not report on known benign polymorphisms and variants without clinical relevance. MLPA analysis **did not** detect a deletion or duplication.

Critical final report:

Ovarian cancer without detection of a pathogenic non-synonymous mutation in BRCA1 and BRCA2 regions analyzed using the Oncomine BRCA Research Assay.

The current requirements of the EMA approval criteria for PARP inhibitor therapy are not fulfilled.

Strukturanalyse

Zu guter Letzt… 8 Ergebnisse eines Ringversuchs zu BRCA1/2 (Mol.Path)

Results:
Unsuspicous result
No detection of a pathogenic BRCA1/2 variant
Treatment with PARP inhibitors is not recommended.

Results: The analysis revealed **no disease causing mutation** in the analysed regions of the *BRCA1 and BRCA2* genes in ≥ 10% of tumour DNA of the high grade serous ovarian carcinoma. We do not report on known benign polymorphisms and variants without clinical relevance. MLPA analysis **did not** detect a deletion or duplication.

Critical final report:

Ovarian cancer without detection of a pathogenic non-synonymous mutation in BRCA1 and BRCA2 regions analyzed using the Oncomine BRCA Research Assay.

The current requirements of the EMA approval criteria for PARP inhibitor therapy are not fulfilled.

Result:
***BRCA1*:**
likely benign, non-therapeutic variant c.736T>G (p.(Leu246Val), exon 10) in 51% of the sequences (class 2*).

***BRCA2*:**
No mutation or variant currently classified as pathogenic was detected in the coding regions of exon 2-27

Result:

Gene	Exon	Mutation Status DNA / Amino Acid Sequence	Freq. (%)	Reference (LRG/GRCh38/hg38)
BRCA1 (Exon 2-23)	10	c.736T>G; p.L246V; ClinVar ID 41835	51,6	LRG_292t1, ENST00000357654, NM_007294.3
BRCA2 (Exon 2-27)		-/-		LRG_293t1, ENST00000380152, NM_000059

Result:

Gene	Variant	Interpretation
BRCA1	c.736T>G p.(Leu246Val) heterozygous	unclassified, probably neutral variant
BRCA2		benign

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Strukturanalyse

Zu guter Letzt… 8 Ergebnisse eines Ringversuchs zu BRCA1/2 (Mol.Path)

Results:
Unsuspicous result
No detection of a pathogenic BRCA1/2 variant
Treatment with PARP inhibitors is not recommended.

Results: The analysis revealed **no disease causing mutation** in the analysed regions of the *BRCA1 and BRCA2* genes in ≥ 10% of tumour DNA of the high grade serous ovarian carcinoma. We do not report on known benign polymorphisms and variants without clinical relevance. MLPA analysis **did not** detect a deletion or duplication.

Critical final report:

Ovarian cancer without detection of a pathogenic non-synonymous mutation in BRCA1 and BRCA2 regions analyzed using the Oncomine BRCA Research Assay.

The current requirements of the EMA approval criteria for PARP inhibitor therapy are not fulfilled.

Result:

No mutation was found.

PARP inhibitor therapy (Olaparip (Lynparza™)) is not recommended according to the EMA criteria.

Genetic results:

Gene	Mutation	Reference seq.	Frequency (Coverage)	Therapeutic agents	References
BRCA1	Wildtype	NM007294.3			
BRCA2	Wildtype	NM000059.3			

Result:
BRCA1:
likely benign, non-therapeutic variant c.736T>G (p.(Leu246Val), exon 10) in 51% of the sequences (class 2*).

BRCA2:
No mutation or variant currently classified as pathogenic was detected in the coding regions of exon 2-27

Result:

Gene	Exon	Mutation Status DNA / Amino Acid Sequence	Freq. (%)	Reference (LRG/GRCh38/hg38)
BRCA1 (Exon 2-23)	10	c.736T>G; p.L246V; ClinVar ID 41835	51,6	LRG_292t1, ENST00000357654, NM_007294.3
BRCA2 (Exon 2-27)		-/-		LRG_293t1, ENST00000380152, NM_000059

Result:

Gene	Variant	Interpretation
BRCA1	c.736T>G p.(Leu246Val) heterozygous	unclassified, probably neutral variant
BRCA2		benign

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Strukturanalyse

Zu guter Letzt… 8 Ergebnisse eines Ringversuchs zu BRCA1/2

Results:
Unsuspicous result
No detection of a pathogenic BRCA1/2 variant
Treatment with PARP inhibitors is not recommended.

Results: The analysis revealed **no disease causing mutation** in the analysed regions of the *BRCA1 and BRCA2* genes in ≥ 10% of tumour DNA of the high grade serous ovarian carcinoma. We do not report on known benign polymorphisms and variants without clinical relevance. MLPA analysis **did not** detect a deletion or duplication.

Critical final report:

Ovarian cancer without detection of a pathogenic non-synonymous mutation in BRCA
BRCA2 regions analyzed using the Oncomine BRCA Research Assay

The current requirements of the EMA approval criteria
fulfilled.

Result:

No mutation was found.

PARP inhibitor therapy (Olaparip (Lynparza™)) is not rec

Genetic results:

Gene	Mutation	Reference seq.	Fr (Co		References
BRCA1	Wildtype	NM007294.3			
BRCA2	Wildtype	NM000059.3			

Result:
***BRCA1*:**
likely benign, non-therapeutic variant G (p.(Leu246Val), exon 10) in 51% of the sequences (class 2*).

BRCA2
thogenic was detected in the coding regions of exon 2-27

	Freq. (%)	Reference (LRG/GRCh38/hg38)
41835	51,6	LRG_292t1, ENST00000357654, NM_007294.3
		LRG_293t1, ENST00000380152, NM_000059

Result:

Gene	Variant	Interpretation
BRCA1	c.736T>G p.(Leu246Val) heterozygous	unclassified, probably neutral variant
BRCA2		benign

„No pathogenic mutation“
= „No mutation / Wild type“
oder
„Benign mutation“ ?

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Hochschule Niederrhein
University of Applied Sciences

Ich danke für Ihre Aufmerksamkeit!