

Automatisierte genetische Befundberichte – Anforderungen und Abstimmung zwischen IT-Systemhersteller und Nutzer

Dr. rer. nat. Elisabeth Nüske – Applikationsspezialistin
GEPADO – Softwarelösungen für Genetik – GmbH

GEPADO – Softwarelösungen für Genetik – GmbH



Sitz in Dresden (2009), Regionalbüro in Berlin

**Framework zur Klinischen Dokumentation und
zur Prozessautomation in Medizinischen Laboren**



**LIMS für die Humangenetik sowie für die
Pathologie/Molekularpathologie, Molekulare Hämatologie,
Molekulare Onkologie, Molekulare Gynäkologie etc.**

Standardisierte Datenerfassung

- Geführte Datenerfassung durch „Standard Operating Procedures“ (SOPs) mit Hilfe von „Prozess Wizards“

↑ Erfassung

↓ Fehler

Prozessautomation

- Material – Analyse – Asservierungsketten mit Nummernsystem
- Prozessvisualisierung für schnelle Übersicht und Zugriff
- Prozessmanagerlisten für schnelle Steuerung (bulk edit)
- Automatisierte Berichtserstellung zur Erhöhung des Durchsatzes

Zielstellung:

Anforderungen an die Nutzer

Standardisierte und vollständige Dokumentation aller notwendigen Informationen

Anforderungen an den Nutzer (1)

Standardisierte und vollständige Dokumentation aller notwendigen klinischen und präanalytischen Daten, z.B.:

- Diagnosen
- Vorbefunde
- Ethnische Herkunft
z.B. ERCC2 Frameshift Mutation c.1703_1704delTT (p.Phe568fs) als populationsspezifische (slawische) Variante
- Familienstammbaum
- Konsanguinität
- Tumorzellanteil im zu untersuchenden Gewebe

⇒ **Interpretation von Varianten**

⇒ **Einschätzung möglicher Erbgänge**

Anforderungen an den Nutzer (2)

Standardisierte und vollständige Dokumentation der **Analysen**:

- Einschätzung der Krankheitsrelevanz der Vorbefunde => Festlegung des Umfangs der geplanten Analysen
- Ablauf der Vorbehandlung, z.B. Zeit der Formalinfixierung in Abhängigkeit von der Größe des Gewebeblocks
- Dokumentation aller Prozessschritte

Bsp. NGS:

- Dokumentation aller Arbeitsschritte der Library-Präparation
- Zusammenfassung aller Proben in einem Batch
- Autom. Erstellung von Sample Sheets
- Festlegung von Qualitätsparametern: geplante Readzahl, -länge, Spezifität etc.

Beispiel NGS-Prozessautomation

Verdünnung und NGS Library-Vorbereitung

Material	Panelname	1. Arbeitsschritt			2. Arbeitsschritt			Library Preparation			
		Konzentration nach PCR	Volumen	EB-Puffer	Konzentration nach 1. Verd.	Volumen	EB-Puffer	I7 Index	I5 Index	Konzentration nach PCR	Volumen für Pool
		QBit (ng/µl)	(µl)	(µl)	(ng/µl)	(µl)	(µl)			(ng/µl)	(µl)
13000002-PC2	TSC94	173,0	2,9	7,1	24,9	10,0	40,0	N702	E501	20,8	24,0
13000007-PC2	TSC94	195,0	2,6	7,4	32,0	7,8	42,2	N702	E501	28,0	17,9

Beispiel NGS sample sheet

RUN-Nummer: 2017-10-18_RUN_0055

Nr	Institution	Poolnummer	Panel	Anteil im Pool	Sequenziergerät	Sample_ID	Sample_Name	I7_Index_ID	Index	I5_Index_ID	Index 2
1	GEPADO Testsystem ENU	2017-10-17_0088	TSC94	1,0	MiSeq	F3#P3#1PR11	AN2	N701	TAAGGCGA	E501	TAGATCGC
2	GEPADO Testsystem ENU	2017-10-17_0088	TSC94	1,0	MiSeq	F4#P4#2PR2	AN5	N702	CGTACTAG	E501	TAGATCGC
3	GEPADO Testsystem ENU	2017-10-17_0088	TSC94	1,0	MiSeq	F5#P6#3PR4	AN7	N703	AGGCAGAA	E501	TAGATCGC
4	GEPADO Testsystem ENU	2017-10-17_0088	TSC94	1,0	MiSeq	F6#P7#4PR5	AN9	N704	TCCTGAGC	E501	TAGATCGC
5	GEPADO Testsystem ENU	2017-10-17_0088	TSC94	1,0	MiSeq	F7#P8#5PR2	AN12	N705	GGACTCCT	E501	TAGATCGC
6	GEPADO Testsystem ENU	2017-10-17_0088	TSC94	1,0	MiSeq	F8#P9#6PR1	AN14	N706	TAGGCATG	E501	TAGATCGC
7	GEPADO Testsystem ENU	2017-10-17_0088	TSC94	1,0	MiSeq	F9#P10#7PR3	AN20	N707	CTCTCTAC	E501	TAGATCGC
8	GEPADO Testsystem ENU	2017-10-17_0088	TSC94	1,0	MiSeq	F10#P11#8PR2	AN23	N708	CAGAGAGG	E501	TAGATCGC
9	GEPADO Testsystem ENU	2017-10-17_0088	TSC94	1,0	MiSeq	F11#P12#9PR6	AN26	N709	GCTACGCT	E501	TAGATCGC
10	GEPADO Testsystem ENU	2017-10-17_0088	TSC94	1,0	MiSeq	F12#P13#10PR3	AN29	N710	CGAGGCTG	E501	TAGATCGC
11	GEPADO Testsystem ENU	2017-10-17_0088	TSC94	1,0	MiSeq	F13#P14#11PR2	AN32	N711	AAGAGGCA	E501	TAGATCGC
12	GEPADO Testsystem ENU	2017-10-17_0088	TSC94	1,0	MiSeq	F14#P15#12PR2	AN35	N712	GTAGAGGA	E501	TAGATCGC

Anforderungen an den Nutzer (3)

Standardisierte und vollständige Dokumentation der Informationen, die zur **Bewertung von Varianten herangezogen werden bzw. daraus abgeleitet werden, z.B.:**

- Nutzung der HGVS-Nomenklatur (Version)
- Bewertung konform zu ACMG-Kriterien (American College of Medical Genetics and Genomics and the **Association for Molecular Pathology**)
- Angabe von: Allelfrequenzen, Lage der Variante im Gen, Expressionlevel im Gewebe
- Verwendete Datenbanken (Art & Version)
- Relevante aktuelle Publikationen (z.B. PubMed ID)
- Eingesetzte Bioinformatik-Software (Art & Version)
- Qualitätsparameter (Wenn nicht erfüllt, Angabe der betroffenen Targets)

Anforderungen an den Nutzer (4)

Standardisierte und vollständige Dokumentation der Informationen, die zur **Interpretation der Ergebnisse** herangezogen werden, z.B.:

- Welche Gene wurden in welchem Krankheitskontext bewertet, z.B. RAD51C: pathogenetisch bei Eierstockkrebs, GUS bei Brustkrebs
- Wurden für die jeweiligen Verdachtsdiagnosen und Vorbefunde relevante Ergebnisse erzielt?
- Prüfen der Filterkriterien je nachdem, wie hoch die Populationshäufigkeit bestimmter Varianten sein kann
- Können die Befunde abschließend bewertet werden oder sind weitere Analysen erforderlich?
- Wie wird der Kontext der Varianten bewertet, gibt es Modifier, z.B.: CHEK2 VUS bei HBOC

Anforderungen an den Nutzer (5)

Standardisierte und vollständige Dokumentation aller Informationen für den **Befundbericht**, z.B.:

- Festlegungen zur Auswahl der bisherigen Informationen
- Gibt es Übereinstimmung oder Diskrepanzen zu Vorbefunden?
- Sind therapeutische Konsequenzen auf Grund der Bewertung möglich?
- Sind Keimbahnmutationen zu vermuten?
- Gibt es Vorsorgemaßnahmen?
- Ggf. zu berücksichtigen: Ergebnisse der Segregationsanalyse
- Ausführliche Erläuterung der Analytik, evtl. Trio-Analysen notwendig
- Grenzen der Methoden

Anforderungen an den Nutzer (6)

Standardisierte und vollständige Dokumentation aller Informationen für die **Datenspeicherung**, z.B.:

- Funktionelle Bewertung bestimmter Varianten unklarer Signifikanz (VUS)? (Forschung)
- Festlegung zur Dokumentation von VUS und GUS
- Schnittstellen zu externen Datenbanken zum Hochladen der Varianten und ausgewählten klinischen Informationen

Import von NGS-Variantentabellen nach festgelegten Kriterien

Dynamische Felder

Sequenziergerät Projekt Panel Version

df_NGSandSangerVariantEvaluation

	<input type="checkbox"/>	Reference Genome	Chr	POS	SNP	REF	ALT	Gen	Transcript	Mutation	Amino Acid Change	Inheritance	Zygotizität	Bewertung gesamt	PVS1	PS1	PS2	PS3	PS4
1	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	11	67257823	rs641081	C	A	AIP	NM_003977	c.682C>A	p.Gln228Lys		Homozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	11	67258391	rs4930199	A	G	AIP	NM_003977	c.920A>G	p.Gln307Arg		Homozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	02	29416366	rs1881421	G	C	ALK	NM_004304	c.4587C>G	p.Asp1529Glu		Homozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	02	29416481	rs1881420	T	C	ALK	NM_004304	c.4472A>G	p.Lys1491Arg		Heterozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	02	29416572	rs1670283	T	C	ALK	NM_004304	c.4381A>G	p.Ile1461Val		Homozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	05	112176756	rs459552	T	A	APC	NM_001127510	c.5465T>A	p.Val1822Asp		Homozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	11	108183167	rs659243	A	G	ATM	NM_000051	c.5948A>G	p.Asn1983Ser		Homozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	17	41223094	rs1799966	T	C	BRCA1	NM_007300	c.4900A>G	p.Ser1634Gly		Heterozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	17	41244000	rs16942	T	C	BRCA1	NM_007300	c.3548A>G	p.Lys1183Arg		Heterozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	17	41244435	rs16941	T	C	BRCA1	NM_007300	c.3113A>G	p.Glu1038Gly		Heterozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	17	41244936	rs799917	G	A	BRCA1	NM_007300	c.2612C>T	p.Pro871Leu		Heterozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	13	32914236	rs4987117	C	T	BRCA2	NM_000059	c.5744C>T	p.Thr1915Met		Heterozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	13	32929387	rs169547	T	C	BRCA2	NM_000059	c.7397T>C	p.Val2466Ala		Homozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14	<input type="checkbox"/>	GRCh37/hg19	17	59763347	rs4986764	A	G	BRIP1	NM_032043	c.2755T>C	p.Ser919Pro		Heterozygous		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Fallbeispiel (1)

Indikation:

V. a. familiären Brust- und Eierstockkrebs (HBOC)

Bewertung:

Wahrscheinlich pathogene Mutation in *RAD51D*.

Ergebnis:

Gen	Chr.	Position (GRCh37)	Variante	Aminosäure- austausch	Zygotie
RAD51C	17	33428225	NM_002878.3: c.898C>T	p.Arg300*	heterozygot

Fallbeispiel (1)

Interpretation

Bei der Variante NM_002878.3:c.898C>T handelt es sich um eine **Stopp-Mutation im RAD51C-Gen**. Im korrespondierenden Protein führt diese Veränderung zu einem vorzeitigen Stopp der Translation am Kodon 300. Die Mutation wurde bereits bei Frauen mit Brust- oder Eierstockkrebs nachgewiesen (PMID: 25452441, 26261251). Sie befindet sich im vorletzten Exon des Gens, 5 Basenpaare vor der vorletzten Exon-Intron Grenze. Damit ist nicht sicher von einem NMD (Nonsense Mediated Decay) auszugehen, aber es wird auf Proteinebene wahrscheinlich ein verkürztes Protein gebildet, das die ATPase Domäne und möglicherweise auch die Protein-Protein Interaktionsdomäne für RAD51C verliert (PMID: 14704354, 19327148, 21111057, 10749867, 14704354, 19327148). Diese Variante ist in der **ClinVar- und der BRCA2006-Datenbank** als wahrscheinlich pathogen aufgeführt, wobei eine Bewertung durch das Expertengremium noch aussteht. Sie ist weder in der **GnomAD- noch in der Flossies-Datenbank** gelistet.

Frau XXX ist somit **Trägerin einer Tumorprädisposition**. Da es sich um eine wahrscheinlich pathogene Variante handelt, ist eine **prädiktive Testung von Familienangehörigen** möglich. Eine Segregationsanalyse der Varianten mittels Sanger Sequenzierung an Tumorgewebe der Mutter (Lebermetastase des Kolonkarzinoms) erbrachte den Nachweis der Stopp-Mutation im RAD51D-Gen bei der Mutter. Damit ist von einer **maternalen Vererbung** auszugehen.

Fallbeispiel (2)

Gen	Chr	Position (GRCh37)	Variante	Aminosäure-austausch	Zyg.	Bewertung
NF1	17	29559848	NM_001042492.2: c.3445A>G	p.Met1149Val	het.	wahrscheinlich pathogen

Nach **ACMG-Kriterien** sind ein moderates (PM2) sowie vier unterstützende Pathogenenitätskriterien (PP1, PP2, PP3, PP5) erfüllt. Es ergibt sich eine Bewertung als **wahrscheinlich pathogene Variante**.

Ergebnisse der Segregationsanalyse

ID Person	Personenstatus	NM_001042492.2:c.3445A>G
40742	Mutter	heterozygot
40746	Schwester	heterozygot
40743	Vater	liegt nicht vor

Die Variante konnte **bei allen Familienmitgliedern, welche multiple CALF aufweisen, nachgewiesen** werden, während jene Familienmitglieder, bei denen keine CALF bekannt sind, diese Variante nicht tragen.

Anforderungen an den Nutzer - Zusammenfassung



Standardisierte und vollständige Dokumentation aller Informationen

Nutzer sind zudem verantwortlich für:

- Definition der zu dokumentierenden Informationen
- Korrekte Interpretation dieser Informationen

GEPADO - Funktionale Stärken



Automatisierte Berichtsgenerierung

- Erstellt automatisiert Berichte als PDF- oder Word-Dokumente
- unterstützt Templates zum Schreiben komplexer Gutachten

Barcode-steuerbare Prozesse

- 1D-Barcode-Scan für Datenzugriff
- 2D-Barcode-Scan für „bulk upload“ von Dokumenten

Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus, Zentrum „Familiärer Brust- und Eierstockkrebs“

Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe - Direktorin: Prof. Dr. med. P. Wimberger
Institut für Klinische Genetik - Direktorin: Prof. Dr. med. E. Schröck
Institut und Poliklinik für Radiologische Diagnostik - Direktor: Prof. Dr. med. M. Laniado

TU Dresden, Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus
Institut für Klinische Genetik, Fetscherstraße 74, 01307 Dresden

Frau
Prof. Dr. med. Evelin Schröck
Technische Universität Dresden
Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus
Institut für Klinische Genetik
Fetscherstraße 74
01307 Dresden

Prof. Dr. med. Evelin Schröck
Direktorin

Genetische Ambulanz
Telefon: 0351 458-2891
Telefax: 0351 458-4316
E-Mail: genetische.ambulanz@uniklinikum-dresden.de



Wissenschaftlich begründete Beurteilung einer humangenetischen Untersuchung			
Name:	Mustermann, Maria	ID Person:	5200000
Anschrift:	Fetscherstr. 74 01307 Dresden	Geb.-Datum:	30.02.1976
		ID Familie:	5100000
ID Material:	Materialbezeichnung:	Abnahmedatum:	Eingangsdatum:
5300000	Blut, EDTA	03.05.2014	03.05.2014
5300020	Blut, EDTA	09.05.2014	10.05.2014

Indikation / Diagnose:

Verdacht auf familiären Brust- und Eierstockkrebs

Analytik:

Es wurden die 10 vom Deutschen Konsortium Familiärer Brust- und Eierstockkrebs vorgeschlagenen „Core“-Gene (Liste siehe Anlage 1) mit Hilfe der Hochdurchsatzsequenzierung auf Sequenzvarianten untersucht, welche die Aminosäuresequenz der resultierenden Proteine beeinflussen (Details zur Methodik siehe Anlage 2). Ergänzend zur Sequenzierung wurde eine hoch-auflösende Array-CGH-Analyse durchgeführt, mit der Gewinne und Verluste von genomischem Material im Bereich dieser Gene nachgewiesen werden können (Details zur Methodik siehe Anlage 3).

Die unten gelistete Mutation wurde mittels Sanger-Sequenzierung anhand einer zweiten, unabhängig entnommenen Blutprobe bestätigt.

Ergebnis: Auffälliger Befund mit Nachweis einer pathogenen BRCA1 Mutation NM_007294.3:c.5266dup, p.(Gln1756Profs*74), heterozygot; Array-CGH unauffällig [rsa (HBOC)x2].

Danke für Ihre Aufmerksamkeit

www.gepado.eu