



Schweizerische  
Gesellschaft für  
Medizinische Genetik



Schweizerische Gesellschaft für Hämatologie  
Société Suisse d'Hématologie  
Società Svizzera di Ematologia  
Swiss Society of Hematology

## **Bonnes Pratiques**

**Für die Nutzung der Hochdurchsatz-Sequenzierung (HDS) in der Hämato-onkologie mit gezielter bioinformatischer Analyse somatischer Gene.**

Konsensusdokument der Schweizerischen Gesellschaft für Medizinische Genetik (SGMG) und der Schweizerischen Gesellschaft für Hämatologie (SGH)

Version 1

Juli 2022

## Inhaltsverzeichnis

1	Allgemeine Einleitung.....	3
2	Hämato-onkologische Erkrankungen und HDS: Anwendungen und Einsatzbereich .....	3
3	Verordnung.....	4
3.1	Praktische Aspekte der Laborarbeit.....	4
3.2	Bioinformatische Analyse und Interpretation der Daten .....	6
3.3	Qualitätskontrolle .....	7
4	Bericht der Analyse mittels HDS .....	8
5	Rechnungsstellung.....	9
6	Datenspeicherung .....	9
7	Referenzen.....	11

### Redaktionskommission:

Dr. F. Marcelli (PhD), Ilaria Scarpelli (MSc, FAMH, ErCLG) und Prof. J. Schoumans (PhD, ErCLG, FAMH Gleichwertigkeit).

Deutsche Übersetzung: Dr. Raphael Joncourt (PhD) und Dr. Naomi Porret (PhD, FAMH)

Korrekturlesen: PD Joelle Tchinda (PhD, ErCLG, FAMH Gleichwertigkeit) und Dr. Corinne Widmer (MD, FMH, FAMH)

# 1 Allgemeine Einleitung

In den letzten Jahren wurde die Hochdurchsatz-Sequenzierung (HDS oder NGS, next-generation sequencing), welche bereits routinemässig zur Diagnose von Erbkrankheiten eingesetzt wird, auf somatische Analysen im Bereich der Hämato-Onkologie adaptiert und hat bei der Behandlung von Patienten mit hämatologischen Neoplasien eine beträchtliche Bedeutung erlangt. Das vorliegende Dokument befasst sich daher mit den Besonderheiten der HDS-Analysen im Kontext der Hämato-onkologie. Die in den bereits geltenden *bonnes pratiques* für hereditäre Erkrankungen [1] behandelten Gemeinsamkeiten werden auch hier ausführlich dokumentiert.

Spezifische Problematiken bei der somatischen HDS-Analyse treten sowohl im praktischen Laborschritt als auch bei der bioinformatischen Analyse oder der Interpretation der Resultate im Kontext der Krankheit sowie bei der Erstellung des Berichts auf. Daher sind fundierte Kenntnisse im Bereich der Molekulargenetik erforderlich, um die Resultate zu analysieren und zu interpretieren, sowie im Bereich der Hämato-Onkologie, um die Daten im klinischen Kontext angemessen interpretieren zu können. Im Gegensatz zu Analysen im Kontext von Erbkrankheiten müssen HDS-Analysen in der somatischen Genetik bei ein und demselben Patienten im Rahmen der Nachsorge und zur Beurteilung des Therapieansprechens häufig wiederholt werden. Daher muss auch für den somatischen Kontext ein Leitfaden für *bonnes pratiques* eingeführt werden, um sicherzustellen, dass die HDS-Analysen in einem bestimmten klinischen Kontext einen angemessenen Nutzen für die Therapieüberwachung der Patienten bringen. Dieses Dokument wurde im Zusammenhang mit der Aufnahme von HDS-Analysen in der Hämato-onkologie in die Analysenliste des BAG erstellt.

Da sich die HDS-Technik und die Interpretation somatischer Mutationen im Zusammenhang mit verschiedenen Krankheiten ständig weiterentwickeln, beziehen sich die in diesem Dokument beschriebenen Empfehlungen ausschliesslich auf die aktuelle Situation und müssen regelmässig aktualisiert werden.

## 2 Hämato-onkologische Erkrankungen und HDS: Anwendungen und Einsatzbereich

Die HDS ermöglicht die rasche gleichzeitige Analyse mehrerer genomischer Varianten (Mutationen), die in einem sehr geringen Anteil der Zellen der Probe vorkommen. Diese Technologie ist bereits Teil der routinemässigen molekularen Analyse bei Patienten mit hämatologischen Neoplasien: Das Screening von erworbenen Mutationen (somatischen Varianten) mittels HDS ist für die behandelnden Ärzte bei ihren Therapieentscheidungen unverzichtbar geworden. In den letzten Jahren wurden zahlreiche auf hämato-onkologische Krankheiten zugeschnittene Analyse-Panels entwickelt, und wurden zunehmend in die klinische Diagnostik eingeführt, auch wenn bisher nur wenige Mutationen zur gezielten Behandlung geeignet sind, wie dies bei soliden Tumoren der Fall ist [2, 3].

Der Nachweis von erworbenen Mutationen mithilfe der HDS bei hämatologischen Neoplasien kann für mehrere Zwecke eingesetzt werden [4, 5]:

- **Diagnostisch:** Auch wenn nur wenige Mutationen spezifisch für eine bestimmte Leukämie sind, kann der Nachweis bestimmter Mutationen bei der Bestimmung des Typs der malignen hämatologischen Erkrankung helfen, z. B. Mutationen in den Genen *JAK2*, *CALR* und *MPL* bei myeloproliferativen Neoplasien, *KIT* bei Mastozytose oder *BRAF* bei Haarzelleukämie [6-8].
- **Prognostisch:** Der Nachweis bestimmter Mutationen ist mit einer günstigen Prognose (z. B. Mutationen im *NPM1* Gen bei akuter myeloischer Leukämie [9] oder Mutationen im *SF3B1* Gen beim myelodysplastischen Syndrom [10]) oder einer ungünstigen Prognose (z. B. Mutationen

im *ASXL1* Gen bei der Mehrzahl der myeloischen malignen hämatologischen Erkrankungen [6, 9-11]) verbunden. Modelle, welche somatische Mutationsdaten in einen prognostischen Score einbeziehen, wurden in mehreren klinischen Studien validiert [12; 13; 17].

**Prädiktiv:** Vor kurzem wurden gezielte Inhibitoren für mutierte *IDH1* und *IDH2* Gene entwickelt, so dass der Nachweis von Mutationen in diesen Genen eine gezielte Behandlung des Patienten ermöglicht [14]. Alternativ führt das Vorhandensein von Mutationen in bestimmten Genen zu einer Resistenz gegen die Standardtherapie, wie z. B. Mutationen im *TP53* Gen bei Patienten mit 5q- myelodysplastischem Syndrom, die mit Lenalidomid behandelt werden [8].

- **Krankheitsverlauf:** Die Verlaufsanalyse ohne oder nach der Behandlung ermöglicht es, den Verlauf der Allelfrequenz der bei Diagnose der Krankheit nachgewiesenen Mutationen zu verfolgen, wobei ein Verschwinden der Mutationen (entsprechend der festgelegten Nachweisgrenze) mit Remission der Erkrankung vereinbar ist, während das Wiederauftreten der ursprünglichen Mutationen auf ein Rezidiv oder das Auftreten zusätzlicher Mutationen auf eine ungünstige Krankheitsentwicklung hindeutet.

### 3 Verordnung

Somatisch-genetische HDS-Analysen im Bereich der Hämato-onkologie dürfen nur von Ärzten verordnet werden, die direkt in die Behandlung der malignen hämatologischen Erkrankung involviert sind, d.h. von Trägern des eidgenössischen Nachdiplomtitels FMH in "Hämatologie", "Onkologie" oder "pädiatrische Hämatologie-Onkologie" gemäss Bundesgesetz vom 23. Juni 2006 über die universitären Medizinalberufe [15]. Im Gegensatz zu den konstitutionellen HDS-Analysen ist bei der somatischen HDS-Analyse in der Hämato-onkologie keine genetische Beratung erforderlich. Denn das Ziel dieser Analyse ist es, somatische Mutationen zu erkennen, die nur in den malignen Zellen und nicht in der Keimbahn des Patienten vorkommen. Konstitutionelle Varianten können jedoch in seltenen Fällen mit diesem Ansatz nachgewiesen werden [16]. Die Patienten müssen daher über die Möglichkeit konstitutioneller Zufallsbefunde aufgeklärt werden. Konstitutionelle Varianten müssen mit besonderer Sorgfalt behandelt werden, und die betroffenen Patienten sollten je nach Situation an eine Abteilung für medizinische Genetik überwiesen werden (siehe Kapitel 4.2).

#### 3.1 Praktische Aspekte der Laborarbeit

Die praktischen Aspekte der Laborarbeit sind weitgehend mit der konstitutionellen HDS identisch. Insbesondere, wie im Dokument Bonnes Pratiques für die konstitutionelle HDS beschrieben wird [1]:

- Qualität und Quantität der DNA müssen angemessen sein und den Werten entsprechen, welche in der Anleitung des Kitanbieters zur Vorbereitung der Sequenzierung angegeben sind. Kommerzielle Kits müssen vor Ort validiert werden: Sie sollen robuste Resultate und eine gute Reproduzierbarkeit gewährleisten.
- Die üblichen Standards zur Amplifikation der DNA müssen eingehalten werden. Insbesondere soll Nativ-DNA verwendet werden und die DNA darf nicht aus einer Gesamtgenom-Amplifikation stammen (da diese Technik ein Risiko birgt, dass artifizielle Varianten entstehen). Die Herstellung von Libraries und/oder das Capturing müssen in dafür geeigneten Laborräumen durchgeführt werden. Solche Arbeitsplätze müssen auf eine ausreichende Anzahl geschlossener Räume aufgeteilt werden, welche eine angemessene Lüftung und einen geeigneten Luftdruck aufweisen (Überdruck/Unterdruck). Es wird empfohlen, folgende verschiedene Arten von geschlossenen Räumen zu verwenden:

- Räume, in denen es keine amplifizierte Produkte hat (Herstellung von Reagenzien-Mixe, DNA-Zugabe, Überdruck wünschenswert).
- Räume, welche schwach amplifizierte DNA enthalten (fakultativ, aber wünschenswert für die Handhabung nach ersten Amplifizierungszyklen, zur Reinigung und Hybridisierung)
- Räume, welche für die Handhabung von Produkten nach der letzten Amplifikation vorgesehen sind. Die Vorbereitung der ersten Schritte in der Herstellung der Libraries (Fragmentierung, Ligation der Adaptoren, Vorbereitung der Amplifikation-Phasen, Unterdruck) darf nicht in diesen Räumen stattfinden.
- Allgemein muss die Vorbereitung der Prä-PCR-Mixe in erstgenannten Räumen (Prä-PCR) vorgenommen werden, während die amplifizierten Produkte im Post-PCR-Raum bleiben müssen.

Generell gilt, dass Vorgehen und Anweisungen, die bei einer Hochdurchsatz-Sequenzierung zu befolgen sind, in der Betriebsanleitung des Herstellers enthalten und spezifisch für den jeweiligen vom Labor verwendeten Hochdurchsatz Sequenzierer sind [1].

Somatische HDS-Analysen in der Hämato-onkologie sollten nur in Laboren durchgeführt werden:

- deren Leiter den FAMH-Titel in medizinischer Genetik oder den FAMH-Titel in Hämatologie besitzt. In beiden Fällen ist eine vom FAMH-Vorstand anerkannte Ausbildung in somatischer Molekulargenetik, die in einem von der FAMH anerkannten Ausbildungslabor absolviert wurde, obligatorisch.
- in denen die HDS-Analysen in somatischer Genetik nach ISO 15189 oder ISO 17025 akkreditiert sind
- Darüber hinaus ist die regelmässige Teilnahme an multidisziplinären "Leukämie-/Lymphom-Boards" obligatorisch.

Neben den praktischen Aspekten, die den SHD-Analysen in der konstitutionellen Genetik gemeinsam sind, müssen in der Hämato-onkologie die folgenden Punkte besonders beachtet und die Arbeitsweise des Labors darauf abgestimmt werden:

- **Die Ergebniszeit:** Die Resultate müssen innerhalb kurzer Zeit vorliegen, damit die Kliniker sie für ihre Therapiewahl nutzen können. Die maximale Dauer, bis ein Resultat vorliegt, hängt von der Art der Neoplasie und der daraus resultierenden Behandlungsstrategie ab. Es wird jedoch empfohlen, dass das Resultat bei akuter Leukämie innerhalb von etwa 2 Wochen vorliegt, oder zumindest vor dem Ende des ersten Behandlungszyklus [17].
- **Verfügbare DNA-Menge:** Da die meisten Tests an Knochenmarksproben durchgeführt werden, an denen auch viele andere Tests durchgeführt werden, ist die verfügbare DNA-Menge in der Regel begrenzt, insbesondere nach einer Behandlung. Es ist meist nicht möglich, eine neue Probe anzufordern, da es sich um einen invasiven Eingriff handelt und die Krankheit dynamisch ist, sodass die genomische Zusammensetzung des Knochenmarks zu verschiedenen Zeitpunkten nicht dieselbe ist. Auch die Qualität der Entnahme kann suboptimal sein. So sind manche Proben sehr zellarm oder stammen nicht aus der ersten entnommenen Knochenmarkfraktion, weshalb die DNA aufkonzentriert werden muss, und andere stammen aus einer Knochenmarkbiopsie bei trockener Punktion (Markkern). Die Methode muss also optimiert werden, damit sie zuverlässig an einer sehr kleinen Menge DNA und in unterschiedlicher Qualität durchgeführt werden kann.
- **Coverage:** Um Mutationen mit tiefer Allelfrequenz aufzuspüren, muss eine Coverage erreicht werden, die weit über der von konstitutionellen genetischen Analysen liegt, und sie muss an die gewünschte Sensitivität angepasst werden. Beispielsweise sind mindestens 500 Reads pro Position erforderlich, um eine Mutation mit einer Allelfrequenz von 5% zu erkennen, wobei eine Coverage von 2000 Reads optimal ist. Je nach Allelfrequenz, die für eine Verlaufsanalyse erkannt werden soll, muss die Coverage weiter erhöht werden [18].

- **Die Art der zu detektierenden Mutationen:** Einige Arten von Mutationen sind durch HDS schwer zu detektieren; z. B. Mutationen in GC-reichen Regionen wie im *CEBPA* Gen oder Mutationen in einem Homopolymer wie im Hotspot des *ASXL1* Gens. Daher ist eine gute Kenntnis der wiederkehrenden Mutationen mit prognostischer Bedeutung und der schwierigen genomischen Regionen erforderlich, und es sollten alternative Techniken in Betracht gezogen werden, wenn diese Mutationen durch HDS nicht gut erkannt werden, um sowohl falsch-positive als auch falsch-negative Resultate zu vermeiden.
- **Weiterentwicklung der Kenntnisse auf diesem Gebiet:** Angesichts der raschen Weiterentwicklung der Kenntnisse im Bereich der hämato-onkologischen Neoplasien muss das betreffende Labor in der Lage sein, sich kontinuierlich an neue internationale Empfehlungen anzupassen.

Aus den oben genannten Gründen und angesichts der Tatsache, dass eine begrenzte Anzahl von Genen bei malignen hämatologischen Erkrankungen immer wieder mutiert sind, sind Panelanalysen von Zielgenen im klinischen Kontext derzeit besser geeignet als Exom- oder Genomanalysen.

Um die Fristen für die Abgabe der Resultate einzuhalten, muss mindestens jede Woche ein HDS Lauf durchgeführt werden. Eine Mindestzahl an Analysen muss daher garantiert werden können und die Kapazität der Plattform muss an die Anzahl der durchgeführten Analysen angepasst werden, um unnötige Kosten zu vermeiden und so effizient wie möglich zu arbeiten. Darüber hinaus sollte die HDS-Analyse nur dann durchgeführt werden, wenn sie im Vergleich zu einem anderen methodischen Ansatz Zeit spart und keine zusätzlichen Kosten für die Versicherungen verursacht. Diagnosespezifische Mutationsanalysen bei einem präsymptomatischen Patienten, bei dem eine Behandlung nicht vorgesehen ist (z. B. die Suche nach der V617F-Mutation im *JAK2*-Gen bei myeloproliferativen Neoplasien), sollten nicht durch ein Panel oder für die Situation ungeeignete Regionen eines Gens ersetzt werden, da dies die Kosten unnötig erhöhen würde. Obwohl die HDS Technik auch zum Nachweis spezifischer Mutationen durchgeführt werden kann, darf in diesem Rahmen nur die Position der KLV Analyseliste für eine konventionelle molekulare Methode (nicht HDS), die auf spezifische Mutationen abzielt, in Rechnung gestellt werden. Wenn hingegen eine Behandlung geplant ist oder eine Krankheitsentwicklung/-transformation vermutet wird, ist es wichtig, ein vollständiges Mutationsprofil zu erstellen, um potenzielle Mutationen zu identifizieren, die eine Therapieresistenz oder eine schlechte Prognose verursachen. In solchen Fällen ist die Sequenzierung eines Genpanels, das die *JAK2* Mutation V617F durch HDS einschliesst, besser geeignet und die konventionelle molekulare Methode kann ersetzt werden, um die Suche nach derselben Mutation nicht unnötig zu wiederholen.

### 3.2 Bioinformatische Analyse und Interpretation der Daten

Die Analyse und Interpretation der Daten kann mithilfe kommerzieller Software oder mit Analyse-"Pipelines" erfolgen, die im Labor mithilfe von Tools erstellt werden, welche in der wissenschaftlichen Literatur validiert wurden. Beide Optionen erfordern eine sorgfältige Validierung, und die gewählten Analyseparameter müssen eine zuverlässige Erkennung aller Arten von wiederkehrenden Mutationen ermöglichen, auch in schwierigen genomischen Regionen, die mit alternativen Techniken getestet werden müssen. Ausserdem sollte die gewählte Methode nicht von einer einzelnen Person abhängen, um Kontinuität zu gewährleisten. Eine interne Datenbank der aufgetretenen Varianten und Sequenzierungsartefakte sollte eingerichtet werden, um die Analysen zu erleichtern. Bei den Varianten muss jedoch besonders auf den Kontext der Krankheit geachtet werden. Denn ein und dieselbe Variante hat in unterschiedlichem Kontext oder bei unterschiedlichen Allelfrequenzen nicht unbedingt die gleiche Bedeutung. Was Sequenzierungsartefakte betrifft, so sind diese oft plattform- und instrumentenabhängig, weshalb es sinnvoll ist, sie in die Datenbank aufzunehmen, damit sie leicht erkannt werden können.

Die Klassifizierung und Auswahl der Varianten, über die in der Hämato-onkologie berichtet werden soll, erfolgt anders als sowohl in der konstitutionellen Genetik, die 5 Klassen verwendet, als auch in der Pathologie, die 4 Klassen verwendet [19-21]. Alle Varianten müssen im Kontext der klinischen Situation

(Diagnose/Differenzialdiagnose) und des Patienten interpretiert werden, damit die Kliniker die richtigen Behandlungsoptionen festlegen können. Die molekulare Klassifikation der Variante muss nicht in den Analysebericht aufgenommen werden. Die Varianten müssen jedoch unter dem Gesichtspunkt der Kompatibilität mit der/den Diagnose(n), der prognostischen Auswirkungen und des Ansprechens/der Resistenz auf eine Behandlung interpretiert werden, wenn diese mit Sicherheit festgelegt ist [18]. Somatische Varianten, die nicht eindeutig als pathogen klassifiziert wurden, sind in der Regel nicht ursächlich für die Neoplasie, sind aber dennoch interessant zu berichten, um die klonale Entwicklung zu verfolgen oder als Marker zur Überwachung des Ansprechens auf eine Behandlung zu verwenden [18].

Besondere Aufmerksamkeit sollte der klonalen Hämatopoese mit unbestimmtem Potenzial ("clonal hematopoiesis of indeterminate potential", CHIP) gewidmet werden. Somatische Mutationen treten mit zunehmendem Alter auch bei klinisch gesunden Personen auf und dürfen nicht mit Mutationen gleichgesetzt werden, die für maligne Hämopathien ursächlich sind. Im Zweifelsfall (z. B. wenn die Mutation die einzige Anomalie ist und sich in Genen befindet, die stark zu CHIP-Mutationen neigen - *ASXL1*, *DNMT3A*, *TET2*, *TP53* usw.) oder wenn die Mutation nicht passend zur Diagnose vorliegt, sollte ein Satz mit dem Hinweis, dass es sich bei der Mutation möglicherweise um eine CHIP Mutation handelt, in den Analysebericht aufgenommen werden [22, 23].

Eine Allelfrequenz von etwa 50% kann auf das Vorhandensein einer konstitutionellen Variante hindeuten, die einen Zufallsbefund darstellen könnte. Die Vorgehensweise hängt vom klinischen Kontext und dem betroffenen Gen ab. Wenn es sich um einen älteren Patienten handelt und das Gen nicht dafür bekannt ist, dass es für hämatologische Neoplasien prädisponiert, sollte im Bericht erwähnt werden, dass eine potenziell konstitutionelle Variante entdeckt wurde. Eine Nachuntersuchung in Remission kann dies in der Regel bestätigen oder ausschliessen. Handelt es sich hingegen um einen jungen Patienten oder einen Patienten mit anderen Familienmitgliedern, die an Leukämie oder anderen Krebsarten erkrankt sind und eine Mutation haben, von der bekannt ist, dass sie für hämatologische Erkrankungen prädisponiert, sollten Empfehlungen für einen Test zur Bestätigung der Variante in den Bericht aufgenommen werden. Ein Test zur Bestätigung, dass die Variante erworben wurde, kann unter Aufsicht eines FAMH-Spezialisten für medizinisch-genetische Labormedizin an DNA durchgeführt werden, die idealerweise kultiviert aus Fibroblasten oder einem anderen Gewebe extrahiert wurde, das nicht mit hämatologischen Zellen kontaminiert ist (z. B. Mundschleimhautabstrich). In diesem Rahmen werden die Varianten gemäss der in der Konstitutionsgenetik verwendeten Klassifizierung klassifiziert [19, 20]. Dagegen erfordert der Nachweis der Mutation in einem solchen Gewebe die Mitteilung der Resultate im Rahmen einer genetischen Beratung durch einen Spezialisten FMH für medizinische Genetik oder einen Spezialisten für die betreffende Krankheit.

### 3.3 Qualitätskontrolle

Die spezifischen Empfehlungen für HDS sind in den entsprechenden Bonnes Pratiques im Kontext der hereditären Erkrankungen beschrieben [1]. Insbesondere:

- Die Gesamtheit des Analyseprozesses, welcher Probenempfang und -vorbereitung, die Hochdurchsatz-Sequenzierung, die bioinformatische Analyse, die Datenaufbewahrung sowie die Berichtserstellung umfasst, müssen durch ein standardisiertes Vorgehen vorgegeben sein (SOP -Standard operation procedure) welches im Rahmen einer Inspektion der SAS bzw. der Swissmedic gutgeheissen wird.

Bei somatischen genetischen Analysen ist die Datenqualität von besonderer Bedeutung, um kleine mutierte Klone zu erkennen und diese von Sequenzierungsartefakten zu unterscheiden. Ausserdem können nachgewiesene Mutationen nicht durch Sanger-Sequenzierung bestätigt werden, da zum einen die Resultate schnell vorliegen müssen, um für den Kliniker von Bedeutung zu sein (TAT 10-14 Tage), und zum anderen Mutationen mit einer Allelfrequenz von <20% mit dieser Technik nicht nachweisbar sind. Daher müssen Qualitätsparameter auf der Ebene des gesamten Laufs, jeder Probe und jeder Variante festgelegt werden, um eine zuverlässige Sequenzierung zu gewährleisten. Bei der Durchführung von HDS-Analysen in der somatischen Genetik im Bereich der Hämato-onkologie sollte den folgenden Punkten besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden:

- Die Coverage ist bei somatischen Analysen von grosser Bedeutung. Eine wesentlich höhere Coverage als bei konstitutionellen Analysen ist notwendig, um Mutationen mit tiefer Allelfrequenz zuverlässig zu erkennen. Eine zu hohe Coverage kann jedoch zu falsch-positiven Resultaten führen, weshalb ein Mittelweg von jedem Labor bei der Validierung in Abhängigkeit von der zu detektierenden Allelfrequenz festgelegt werden muss.
- Referenzproben sollten definiert und als interne Qualitätskontrollen verwendet werden. Beispielsweise sollte eine kommerzielle Referenz-DNA, die ein breites Spektrum der analysierten Gene und der gesuchten Mutationen mit definierten VAFs mit niedriger Allelfrequenz abdeckt, regelmässig zusammen mit den Patientenproben sequenziert werden, um mögliche Qualitätsschwankungen zu erkennen, welche die Zuverlässigkeit der Analysen beeinträchtigen könnten.
- Labore, die HDS Analysen durchführen, müssen jedes Jahr an spezifischen externen Qualitätskontrollen teilnehmen, die möglichst von Qualitätskontrollzentren durchgeführt werden, die von der Qualab ([www.qualab.swiss](http://www.qualab.swiss)) anerkannt und/oder nach ISO 17043 akkreditiert sind, um die Qualität der Resultate zu gewährleisten und akkreditiert zu arbeiten. Diese Qualitätskontrollen sollten nach Möglichkeit auch die Schritte im Zusammenhang mit der Interpretation der Varianten umfassen.
- Eine Methode zur Identifizierung von Patienten innerhalb eines Runs (z. B. SNP-IDs) wird dringend empfohlen, um eine Vermischung der Proben zu vermeiden und im Falle eines Fehlers die Proben zurückverfolgen zu können [24]. Die Verwendung von SNP-IDs ist im Kontext der Hämato-onkologie ein interessantes Werkzeug. Denn neben der Kontrolle, dass in einem Run keine Proben vermischt wurden, ermöglichen SNP-IDs auch die Kontrolle der Identität eines Patienten im Verlauf der Nachuntersuchungen oder die Visualisierung einer Transplantation durch eine Profiländerung.

## 4 Bericht der Analyse mittels HDS

Der Bericht einer HDS Analyse im Bereich der Hämato-onkologie muss von einem Inhaber des FAMH-Titels für Labormedizin in medizinischer Genetik oder Hämatologie, wie in Kapitel 4.1. definiert, validiert und unterzeichnet werden [25].

Er sollte folgende Elemente enthalten [24-27]:

- Name und Adresse des Labors, das die Analyse durchführt
- Identifikation des Patienten (Name, Vorname, Geburtsdatum, Geschlecht)
- Identifikation der Probe (Art der Probe, Datum der Entnahme)
- Analysennummer, die der Probe vom Labor zugewiesen wurde.
- Diagnose oder Grund für die Analyse
- Status (Diagnose, Verlauf, Rezidiv, usw.)
- Anfordernder Arzt (Name und Adresse)
- Datum des Berichts
- Resultate
- Interpretation der Resultate im klinischen Kontext/Schlussfolgerung.
- Unterschrift
- Technische Informationen, einschliesslich:
  - Referenzgenom
  - Genliste mit analysierten Exons und Transkripten der nachgewiesenen Varianten.
  - Genomische Grösse der analysierten Region in kb
  - Verwendete Technologie und Art des Instruments
  - Name des Panels, falls kommerzielles Panel

- Verwendete Datenbanken und Version
- Details zur bioinformatischen Analyse unter Angabe der verwendeten Bioinformatik-Pipeline und ihrer Version
- Technische Limitationen einschliesslich der Sensitivität der Analyse
- Die Angabe von Details zur Datenqualität wird dringend empfohlen (z. B. durchschnittliche Coverage)
- Anzahl der Seiten

Der Bericht sollte kurz, verständlich und möglichst nicht länger als eine Seite sein. Die Resultate können in Form einer Tabelle zusammengefasst werden. Sie müssen jedoch auch im Interpretationsteil des Berichts klar beschrieben werden, wo sie in den Kontext der Krankheit gestellt und im Hinblick auf die Vereinbarkeit mit der Diagnose, die prognostische Auswirkung, die spezifische Behandlung, falls relevant, usw. diskutiert werden müssen (siehe Kapitel 4.2).

Die Referenzsequenz und die HGVS-Nomenklatur (Human Genome Variation Society) sollten verwendet werden, um die Varianten eindeutig zu beschreiben [28]. Es wird empfohlen, wo angebracht, die alten Genbezeichnungen anzugeben, um den Bericht für die Person, die den Test verordnet hat zu verdeutlichen.

Wenn externe Referenzen verwendet werden (z. B. PubMed), müssen diese im oder am Ende des Berichts angegeben werden.

Wenn zutreffend, müssen Fälle, die an Dritte vergeben wurden, im Abschlussbericht klar erwähnt werden, indem die spezifischen Schritte der Analyse, die von Dritten durchgeführt wurden, angegeben werden.

## 5 Rechnungsstellung

Gemäss der Analysenliste des BAG ist die Rechnungsstellung auf der Grundlage der analysierten genomischen Grösse in Kilobasen (kb) zu erstellen (und nicht auf der Grundlage der Anzahl der Gene oder der sequenzierten genomischen Grösse in kb). Wenn beispielsweise ein Panel von 40 Genen sequenziert wird, aber nur fünf Gene analysiert werden, darf nur die genomische Grösse dieser fünf Gene für die Abrechnung berücksichtigt werden. Ebenso kann, wenn nur ein Teil eines Gens analysiert wird (z. B. nur die Exons, die wiederkehrende Mutationen enthalten), nur der analysierte Teil in Rechnung gestellt werden. Die analysierte genomische Grösse in kb muss im Bericht eindeutig angegeben werden.

## 6 Datenspeicherung

Im Bereich der Hämato-onkologie ist die Speicherung von Daten besonders wichtig. Da sich die Allelfrequenz der Mutationen mit der Zeit und den Behandlungen ändert, ist es wichtig, auf die Daten früherer Analysen zurückgreifen zu können. Tritt z. B. im Verlauf der Krankheit eine neue Mutation auf, muss man feststellen können, ob sie bereits seit Beginn der Krankheit in niedriger Frequenz vorhanden war oder ob es sich tatsächlich um ein neues Ereignis handelt.

Auf gesetzlicher Ebene ist die Datensicherheit identisch mit der der konstitutionellen Genetik [1]. Insbesondere wird die Datensicherheit durch das Bundesgesetz über den Datenschutz (DSG) [29] definiert. Die Prozesse und Systeme zur Datenverarbeitung und -speicherung müssen den ISO-Normen ISO/IEC 27001:2013-11 (Informationstechnologie - IT-Sicherheitstechniken - Managementsysteme für die Informationssicherheit - Anforderungen) und ISO/IEC 27002:2013-11 (Informationstechnologie - IT-Sicherheitstechniken - Leitfaden für das Management der

Informationssicherheit) entsprechen. Das Labor, das den medizinischen Auftrag annimmt, übernimmt die Verantwortung dafür, dass ein Datenbearbeitungsreglement gemäss Artikel 11 der Verordnung zum Bundesgesetz über den Datenschutz (VDSD) [30] eingeführt und auf dem neusten Stand gehalten wird. Falls das Labor selbst nicht nach ISO 27001 zertifiziert ist, werden die Systeme und Prozesse regelmässig von einer spezialisierten Prüfinstitution auditiert. Diese Institution ist entweder nach ISO 9001 zertifiziert oder von der Schweizerischen Akkreditierungsstelle SAS als Prüfinstitution akkreditiert. Falls die verschiedenen Schritte einer HDS Analyse in verschiedenen Institutionen durchgeführt wurden, ist der Leiter des Labors, das den Auftrag erhalten hat, für die Speicherung der Daten der gesamten Analyse verantwortlich.

## 7 Referenzen

- 1 SGMG *Bonnes Pratiques Für die klinische Anwendung der Hochdurchsatz-Sequenzierung(HDS) – Schweizerisches Konsensdokument der Schweizerischen Gesellschaft für Medizinische Genetik (SGMG)*. 2014.
- 2 Daver, N., et al., *Targeting FLT3 mutations in AML: review of current knowledge and evidence*. *Leukemia*, 2019. **33**(2): p. 299-312.
- 3 Bergaggio, E. and R. Piva, *Wild-Type IDH Enzymes as Actionable Targets for Cancer Therapy*. *Cancers (Basel)*, 2019. **11**(4).
- 4 Schuh, A., et al., *Clinically actionable mutation profiles in patients with cancer identified by whole-genome sequencing*. *Cold Spring Harb Mol Case Stud*, 2018. **4**(2).
- 5 Kamps, R., et al., *Next-Generation Sequencing in Oncology: Genetic Diagnosis, Risk Prediction and Cancer Classification*. *Int J Mol Sci*, 2017. **18**(2).
- 6 Vainchenker, W. and R. Kralovics, *Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms*. *Blood*, 2017. **129**(6): p. 667-679.
- 7 Ustun, C., et al., *Advanced systemic mastocytosis: from molecular and genetic progress to clinical practice*. *Haematologica*, 2016. **101**(10): p. 1133-1143.
- 8 Swerdlow, S.H., *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. 2017, Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- 9 Bullinger, L., K. Dohner, and H. Dohner, *Genomics of Acute Myeloid Leukemia Diagnosis and Pathways*. *J Clin Oncol*, 2017. **35**(9): p. 934-946.
- 10 Greenberg, P.L., et al., *Myelodysplastic Syndromes, Version 2.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology*. *J Natl Compr Canc Netw*, 2017. **15**(1): p. 60-87.
- 11 Patnaik, M.M. and A. Tefferi, *Chronic myelomonocytic leukemia: 2018 update on diagnosis, risk stratification and management*. *Am J Hematol*, 2018. **93**(6): p. 824-840.
- 12 Nasha A et al., *Incorporation of Molecular Data Into the Revised International Prognostic Scoring System in Treated Patients With Myelodysplastic Syndromes*. *Leukemia* 2016. **30**(11): 2214-2220.
- 13 Gerstung M. et al., *Precision Oncology for Acute Myeloid Leukemia Using a Knowledge Bank Approach*. *Nat Genet*. 2017. **49**(3): 332-340.
- 14 Cerrano, M. and R. Itzykson, *New Treatment Options for Acute Myeloid Leukemia in 2019*. *Curr Oncol Rep*, 2019. **21**(2): p. 16.
- 15 *Bundesgesetz über die universitären Medizinalberufe (Medizinalberufegesetz, MedBG) vom 23 Juni 2006 - 811.11. 2006* [cited 2020 08.01.2020]; Available from: <https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/2007/537/de>.
- 16 Li, M.M., et al., *Points to Consider for Reporting of Germline Variation in Patients Undergoing Tumor Testing: A Statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)*. *Genet Med.*, 2020. **22**(7): 1142-1148.
- 17 Dohner, H., et al., *Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel*. *Blood*, 2017. **129**(4): p. 424-447.
- 18 Scarpelli I, M.F., Mattioli F, Schoumans J, *Next-Generation Sequencing-Based Testing in Diagnostic Oncohematology: Untangling the Knots*. *OBM Genetics*, 2019. **3**(3).
- 19 Richards, S., et al., *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*. *Genet Med*, 2015. **17**(5): p. 405-24.
- 20 Wallis, Y., Payne, S., McAnulty, C., Bodmer, D., Sistermeans, E., Robertson, K., Moore, D., Abbs, S., Deans, Z., Devereau, A. *Practice Guidelines for the Evaluation of Pathogenicity and the Reporting of Sequence Variants in Clinical Molecular Genetics*. 2013 [cited 2020 01/08/2020]; Available from: [https://www.acqs.uk.com/media/10791/evaluation\\_and\\_reporting\\_of\\_sequence\\_variants\\_bpgs\\_june\\_2013\\_-\\_finalpdf.pdf](https://www.acqs.uk.com/media/10791/evaluation_and_reporting_of_sequence_variants_bpgs_june_2013_-_finalpdf.pdf)
- 21 Li, M.M., et al., *Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists*. *J Mol Diagn*, 2017. **19**(1): p. 4-23.
- 22 Abelson, S., et al., *Prediction of acute myeloid leukaemia risk in healthy individuals*. *Nature*, 2018. **559**(7714): p. 400-404.
- 23 Bejar, R., *CHIP, ICUS, CCUS and other four-letter words*. *Leukemia*, 2017. **31**(9): p. 1869-1871.

- 24 Matthijs, G., et al., *Guidelines for diagnostic next-generation sequencing*. Eur J Hum Genet, 2016. **24**(1): p. 2-5.
- 25 Claustres, M., et al., *Recommendations for reporting results of diagnostic genetic testing (biochemical, cytogenetic and molecular genetic)*. Eur J Hum Genet, 2014. **22**(2): p. 160-70.
- 26 Smith, K. *General Genetic Laboratory Reporting Recommendations*. 2015; Available from: [https://www.acqs.uk.com/media/10758/acqs\\_general\\_genetic\\_laboratory\\_reporting\\_recommendations\\_2015.pdf](https://www.acqs.uk.com/media/10758/acqs_general_genetic_laboratory_reporting_recommendations_2015.pdf)
- 27 Silva, M., et al., *European guidelines for constitutional cytogenomic analysis*. Eur J Hum Genet, 2019. **27**(1): p. 1-16.
- 28 den Dunnen, J.T., et al., *HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update*. Hum Mutat, 2016. 37(6): p. 564-9.
- 29 Bundesgesetz über den Datenschutz (DSG, RS 235.1)  
[https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/1993/1945\\_1945\\_1945/de](https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/1993/1945_1945_1945/de)
- 30 Verordnung zum Bundesgesetz über den Datenschutz (VDSG, RS 235.11):  
[https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/1993/1962\\_1962\\_1962/de](https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/1993/1962_1962_1962/de)