

# Qualitätssicherung für die Next-Generation-Sequencing-Diagnostik im Europäischen Referenznetzwerk für Seltene Neurologische Erkrankungen.

Holm Graessner<sup>1</sup>, Lena-Marie Urbanczik<sup>1</sup>, Aleš Maver<sup>2</sup>

1 Zentrum für Seltene Erkrankungen und Institut für Medizinische Genetik und Angewandte Genomik, Universität und Universitätsklinikum Tübingen, 2 Centre for Mendelian Genomics, Clinical Institute of Medical Genetics, University Medical Centre Ljubljana, Slovenia

## Einleitung

Next Generation Sequencing-Verfahren (NGS) werden zunehmend als grundlegender Ansatz für die Diagnose seltener neurologischer Erkrankungen (SNEs) eingesetzt. Angesichts der klinisch komplexen und sich überschneidenden Erscheinungsformen neurologischer Erkrankungen und ihrer großen genetischen Heterogenität bieten NGS-basierte Ansätze eine schnelle und kosteneffiziente Modalität zur Erstellung einer molekularen Diagnose. Obwohl die Vorteile von NGS bei der Diagnose von SNEs unbestritten sind, ist NGS ein komplexer diagnostischer Ansatz, der aus mehreren Schritten besteht, die sich auf das endgültige Diagnoseergebnis auswirken. Das Europäische Referenznetzwerk für seltene neurologische Erkrankungen (ERN-RND) wurde 2017 mit dem vorrangigen Ziel gegründet, die Versorgung von Patienten mit seltenen neurologischen Erkrankungen in der Europäischen Union zu verbessern. Im Rahmen dieses Ziels will das ERN-RND den Zugang zu qualitativ hochwertigen Gentests in diagnostischen Labors in ganz Europa verbessern. Um dies zu erreichen, hat das ERN-RND ein externes Qualitätsbewertungsschema für NGS-basierte Ansätze in der SNE-Diagnostik 2021 in Zusammenarbeit mit dem Europäischen Netzwerk für molekulare Qualität (EMQN) eingeführt.

## Funktionsweise des Schemas

Sowohl in der Pilotphase 2021 als auch in der anschließenden Phase 2022 des Programms wurden drei DNA-Proben von Patienten mit SNE an die Teilnehmer verteilt, zusammen mit hypothetischen Fallbeispielen (Tabelle 1).

## Bewertungskriterien

### 1. Technische Normen

Eindeutige Informationen über die Bibliotheksvorbereitung und den Sequenzierungsansatz

Angabe der Mindestleistungskriterien des Tests

Klare Aussage zu den Grenzen eines NGS-basierten Tests

### 2. Interpretationsstandards

Erklärung der bei der Interpretation verwendeten Kriterien für die Variantenbestätigung

Erklärung und Evidenz der Variantenklassifizierung

### 3. Standards für die Berichterstattung

Übereinstimmung des Ergebnisses mit der Indikation der Überweisung

Klare Erklärung der Relevanz des Befundes für die Referenzdiagnose

Bereitstellung der wichtigsten Informationen auf der ersten Seite des Berichts

Season	Case	Diagnosis	Validated result	Outcome
2021	1	Familial Parkinson's disease	Heterozygous for; NM_198578.4:c.6055G>A p.(Gly2019Ser)	A pathogenic heterozygous variant confirming the presence of LRRK2-linked Parkinson disease
2021	2	Spastic paraplegia	Heterozygous for LRG_714t1:c.1291C>T p.(Arg431Ter)	A pathogenic heterozygous SPAST variant confirming the diagnosis of SPAST-linked spastic paraplegia
2021	3	Amyotrophic lateral sclerosis	No pathogenic variants identified	No molecular cause identified
2022	1	Spastic paraplegia	Hemizygous deletion of LRG_1017t1 (ABCD1) exons 6-10	A pathogenic deletion in the ABCD1 gene, confirming a diagnosis of ABCD1-linked spastic paraplegia
2022	2	Early-onset frontotemporal dementia with skeletal features	Heterozygous for LRG_657t1 (VCP):c.464G>A p.(Arg155His)	A pathogenic variant was identified in the VCP gene, confirming a diagnosis of Inclusion body myopathy with early-onset Paget disease and frontotemporal dementia
2022	3	Primary brain calcification disorder	No pathogenic variants identified	No molecular cause identified

Tabelle 1. Übersicht über verwendete DNA Proben

## Resultate

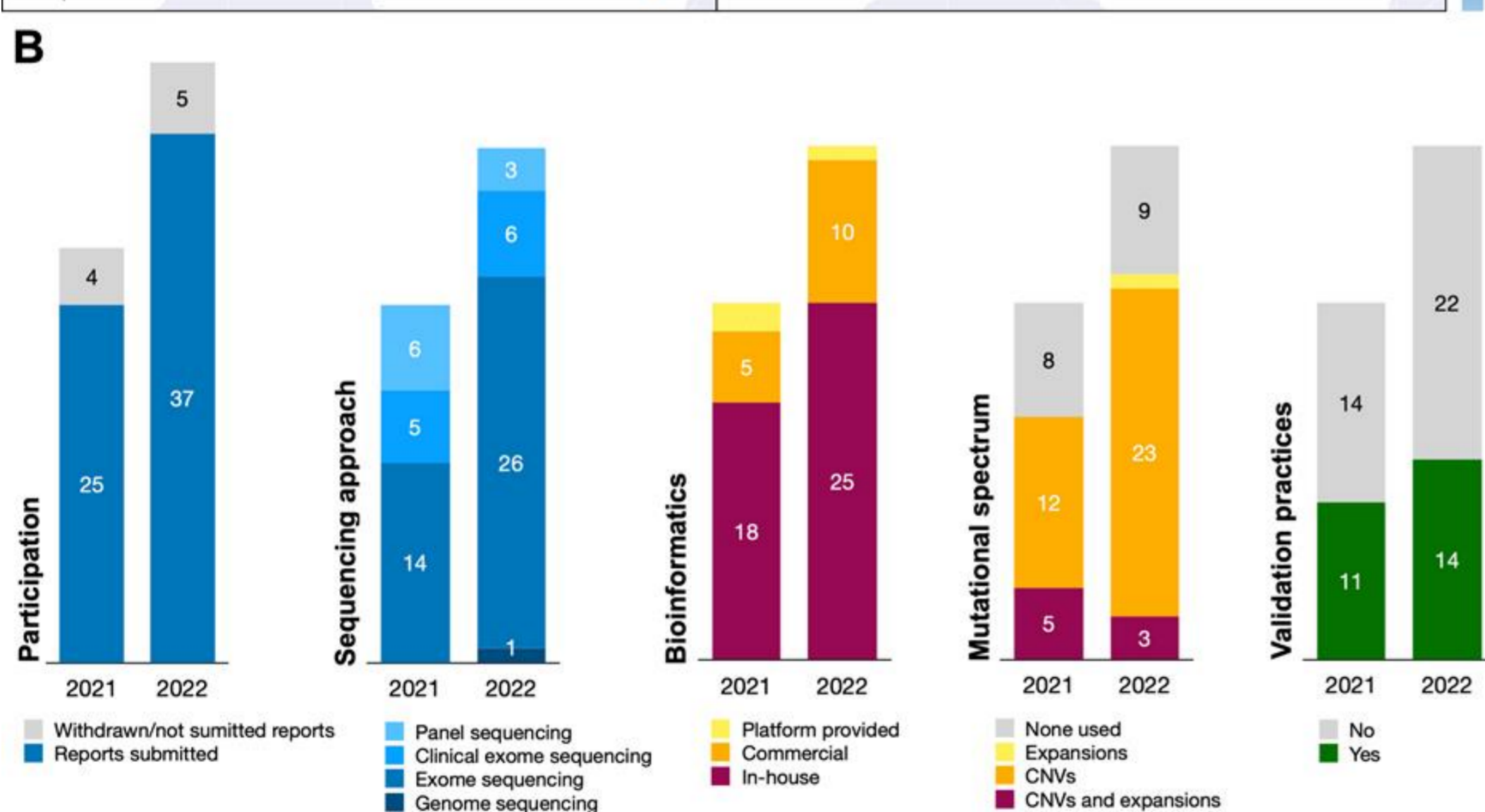
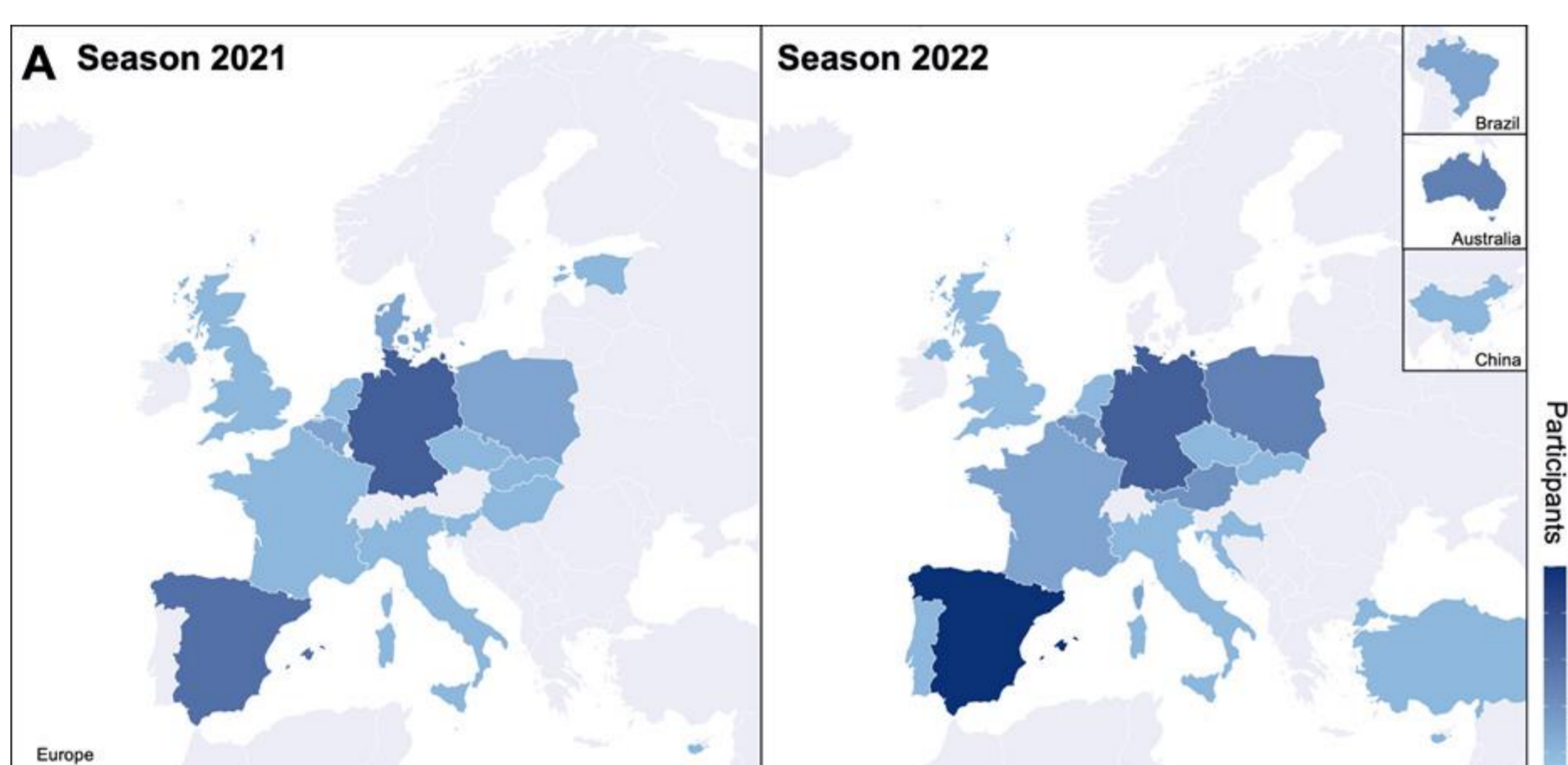


Abbildung 1. Am ERN-RND-QS-Pilotprojekt teilnehmende Länder. 1A - Anzahl der teilnehmenden Zentren aus jedem Land, 1B zeigt die Anzahl der teilnehmenden Zentren und Überblick über die von den Labors, die diese Informationen zur Verfügung gestellt haben, selbst angegebenen methodischen Ansätze bei der diagnostischen Untersuchung von SNEs.

## Diskussion

Die Ergebnisse der Bewertung zeigten eine relativ hohe Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Genotypisierungsergebnisse zwischen den teilnehmenden Labors, aber auch falsch-positive und falsch-negative Berichte. Neben dem diagnostischen Ergebnis wurde auch der Inhalt und die Darstellung der Ergebnisse im Bericht bewertet. Dabei wurden große Unterschiede in Bezug auf die Vollständigkeit der gemeldeten Qualitätskennzahlen, die bereitgestellten methodischen Informationen, die Qualität der Varianteninterpretation und die Berichterstattung der teilnehmenden Labors festgestellt.

Die große Variabilität der Ergebnisse des ERN-RND-Programms zwischen den teilnehmenden Labors unterstreicht die dringende Notwendigkeit, Aktivitäten zur Harmonisierung der NGS-basierten Tests zwischen den (europäischen) Labors zu initiieren und die Notwendigkeit klarer und direkter, auf Expertenmeinungen basierender Empfehlungen und/oder Leitlinien für bewährte Praktiken für die Berichterstattung über Ergebnisse von NGS-basierten Tests für SNEs zu betonen.

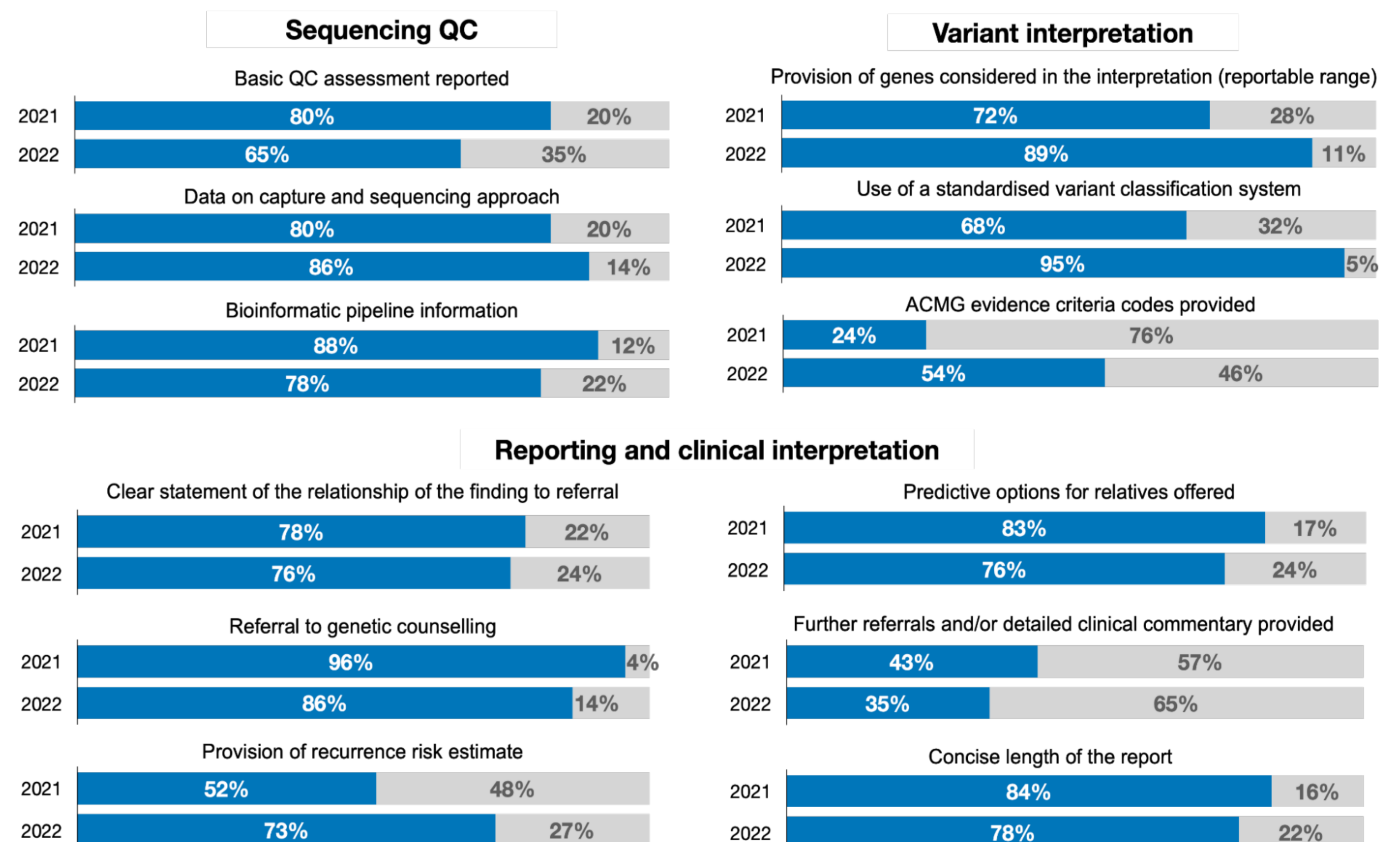


Abbildung 2: Überblick über die Ergebnisse des ERN-RND-Programms 2021 und 2022 im Bereich der NGS-basierten Sequenzierungs-QC, der Qualität der Varianteninterpretation und der Qualität der klinischen Interpretation und Berichterstattung. Die Diagramme zeigen den Anteil der Labors, die ein bestimmtes Kriterium erfüllt haben (in blau), im Vergleich zum Rest (in grau).