

## PROVRAPPORTENS UTFORMNING

För molekyllärgenetiska analyser rekommenderas att laboratoriet följer riktlinjer angivna i "OECD Guidelines for quality assurance in molecular genetic testing från 2007" ([www.OECD.org](http://www.OECD.org)) och "Guidelines for diagnostic next generation sequencing" (EuroGentest 2014) ([www.eurogentest.org](http://www.eurogentest.org)). För mikroarray, cytogenetik och FISH rekommenderas att följa European Cytogenetics Association guidelines.

### Allmänt

Resultatet ska så långt det är möjligt tolkas i relation till angiven frågeställning och symtombild.

Rapporten ska utformas på ett sådant sätt att analysresultatet och slutsatsen tydligt framgår. Standard svar bör användas i största möjliga mån.

Om svaret avser en analys som utförts vid annat laboratorium ska kopia av originalsvaret bifogas.

Databaserade remissvar ska vara låsta så att original svar och eventuella senare ändringar kan spåras. Vid kompletteringar eller ändringar av svarsrapport ska ändringar markeras eller på annat sätt uppmärksammas.

### Rapporten ska innehålla information om:

- a) Patientens namn och patient-ID (personnummer).
- b) Provtagningsdatum och ankomstdatum när prov inkom till laboratoriet.
- c) Laboratoriets provnummer.
- d) Remitterande instans till vilken rapporten ställs.
- e) Vilken typ av prov som analyserats samt vilket utgångsmaterial som använts (t.ex. DNA eller mRNA/cDNA).
- f) Frågeställning till varför analysen utförts.
- g) I de fall det är känt bör förväntat diagnostiskt utfall anges. Med diagnostiskt utfall menas hur stor andel av patienterna som har patogen variant i analyserade gener, t ex "Patogen variant i analyserade gener kan påvisas i X% av patienterna med *aktuell frågeställning*". I de fall analysen omfattar ett stort antal gener i en panel eller ett helt exom/genom är det diagnostiska utfallet ofta inte känt vilket då kan anges i svarsrapporten.
- h) I de fall det är aktuellt och känt bör eventuell reducerad penetrans eller variabel expressivitet av sjukdomen anges. Likaså om andra genetiska mekanismer finns kända vilka kan påverka tolkningen av analysresultatet.

- i)** En kort beskrivning av vilken metod som använts. Detta för att möjliggöra framtida utvärdering av interna analyser samt utvärdering av analyser utförda vid annat laboratorium.

Vid NGS bör teknik anges som används för selektion/anrikning av aktuella genregioner om sådan använts. Namn på reagenskit, ev. versionsnummer och även vilket företag som tillverkat produkten bör anges. För efterföljande sekvensering bör instrument anges. Laboratoriet ska kunna tillhandahålla information om mjukvarors namn, versionsnummer och tillverkare samt även med vilka bioinformatiska verktyg sekvensdata bearbetats. Har del av analys utförts externt bör laboratoriet som utfört analysen anges.

- j)** Analysens omfattning (t.ex. test för specifik variant el vilka gener/exon som analyserats).

Vid NGS kan analys av en panel med bestämda gener utföras alternativt helexom/helgenom-analys eller annan typ av analys. Genpaneler kan även *in silico* filtreras från helexom/helgenom-data eller från större genpaneler. Finns högriskgener eller gener med hög klinisk relevans med i panelen bör analysen av dessa regioner vara fullständig.

Är ett stort antal gener inkluderade i panelen kan det finnas svårigheter att ange alla i svaret. Om det inte framgår i svarsrapporten vilka gener som analyserats ska laboratoriet i dessa fall kunna tillhandahålla denna information vid efterfrågan, vilket också bör nämnas i svarsrapporten.

Hur fullständig och hur djupgående sekvensdata som erhållits bör anges, antingen som ett medelvärde för hela genpanelen/helexomet/helgenomet eller specificerad per gen/region/referens-sekvens. Detta kan anges som vertikal- och horisontell täckning (se tabell för förslag på hur detta kan anges i olika situationer).

- k)** Analysens specificitet, i de fall detta är möjligt.
- l)** Analysens eventuella begränsningar bör anges. Om den aktuella metoden inte detekterar större deletioner/duplikationer och/eller insertioner eller andra kända avvikelser ska detta tydligt anges i svarsrapporten.
- m)** Resultat av analysen.

En generell rekommendation är att laboratorierna använder ACMGs riktlinjer vid beskrivning och bedömning av varianter (Richards et al. (2015) *Genet Med* 17(5):405-24). Vid analys med större paneler eller helexom/helgenomanalys bör endast varianter som är relevanta för den aktuella patientens frågeställning rapporteras (se även dokument om oväntade fynd). Varianter bör bedömas efter patientens specifika fenotyp.

- n)** Varianter namnges enligt HGVS (Human Genome Variation Society) nomenklatur och med lämplig referenssekvens (inklusive versionsnummer). Exonnummer bör ej anges då denna lätt kan bli fel. Det är också viktigt att ange vilken version av humana genomet som använts som referens (tex GRCh37/hg19 eller GRCh38)

- o)** Slutsats.

- p)** Rekommendationer om uppföljande familjeutredning, t.ex. med segregationsanalys, där så är tillämpligt bör anges.
- q)** Rekommendationer om genetisk vägledning ska anges och även möjlighet att ingå i ett kliniskt kontrollprogram om sådant finns utarbetat.
- r)** Rekommendation kan också göras om fortsatt utredning där så är tillämpligt, t.ex. om inte någon sjukdomsorsakande variant påvisats och där ytterligare analyser kan erbjudas. Har en bioinformatisk avgränsning gjorts av tidigare rapporterad data kan en utökad analys av befintlig data erbjudas.

Rapporten bör också innehålla en rekommendation till inremitterande att ånyo kontakta laboratoriet gällande varianter av oklar signifikans (VUS:ar) då ny information kan framkomma som klargör deras patogenicitet.

- s)** Vid NGS-analyser där gener utöver de efterfrågade eller gener icke relevanta för aktuell fenotyp har analyserats/värderats, ska dessa gener samt resultatet av denna analys anges i rapporten (se även dokument om oväntade fynd).
- u)** Datum för rapportens upprättande.
- v)** Laboratoriets kontaktuppgifter.
- x)** Besvarande läkares och/eller sjukhusgenetikens (handskrivna eller elektroniska) signatur/signaturer.

Dokumentet upprättat av SFMG:s arbetsgrupp för NGS-baserad diagnostik vid ärftliga tillstånd 5 oktober 2016.

**Tabell 1:** Exempel på hur vertikal- och horisontell täckning av en NGS analys kan anges i svarsrapporten.

ANALYS	HORISONTELL TÄCKNING	VERTIKAL TÄCKNING
För mindre paneler (< ca 50 gener)	Analysen täcker <i>t ex 100 %</i> av genernas kodande regioner och splice-sites	Antalet sekvensläsningar/reads (eller vertikal täckningsgrad) över ingående regioner var som lägst <i>t ex 30x</i>
För mindre paneler (< ca 50 gener)	Analysen täcker angiven procent av nedan listade geners kodande regioner och splice-sites ( <i>Gen A (X %) [NM_XX.X], Gen B (Y%) [NM_XX.X] .....</i> )	Antalet sekvensläsningar/reads (vertikal täckningsgrad) över ingående regioner var som medelvärde <i>t ex 20x</i> ”
För större paneler (> ca 50 gener)		Som lägst erhöles <i>t ex 30</i> sekvensläsningar/reads i <i>t ex 95%</i> av de regioner som ingått i analysen
För större paneler (> ca 50 gener)		En <i>t ex 30x</i> vertikal täckningsgrad uppnåddes i <i>t ex 90%</i> av analyserade regioner
Helexom/helgenomanalys		Som lägst erhöles <i>t ex 20</i> sekvensläsningar/reads i <i>t ex 90%</i> av de regioner som ingått i analysen
Helexom/helgenomanalys	Täckningsgrad (%), andel baser som är sekvenserade med ett djup över en specificerad gräns ( <i>t ex 10x</i> )	
Helexom/helgenomanalys	Täckning av referenssekvens: andelen av referenssekvenserna som är komplett täckta, dvs 100% täckningsgrad med <i>t ex 10x</i> .	