

**RISQUES BIOLOGIQUES POUR LA SANTE  
QUALITE DES LABORATOIRES**

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE/ D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE  
COMITE DES EXPERTS**

**EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE  
DES ANALYSES DE BIOLOGIE CLINIQUE/ D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE**

**RAPPORT ANNUEL GLOBAL DEFINITIF**

**Biologie Moléculaire  
Hémato-oncologie et examens génétiques  
Art. 33 bis et 33 ter**

**2022**

**Sciensano/Programme EEQ/15-FR**

Risques biologiques pour la santé  
Qualité des laboratoires  
Rue J. Wytsman, 14  
1050 Bruxelles | Belgique

[www.sciensano.be](http://www.sciensano.be)

## COMITE DES EXPERTS

<b>Sciensano</b>			
Secrétariat		TEL:	02/642 55 22
		FAX:	02/642 56 45
Nom coordinateur d'enquête	Joséphine Lantoine	TEL:	02/642 53 94
		e-mail:	<a href="mailto:Josephine.lantoine@sciensano.be">Josephine.lantoine@sciensano.be</a>
Nom coordinateur d'enquête remplaçant	Bernard China Vanessa Ghislain	TEL:	02/642 53 85 et 02/642 52 08
		e-mail:	<a href="mailto:Vanessa.ghislain@sciensano.be">Vanessa.ghislain@sciensano.be</a> <a href="mailto:bernard.china@sciensano.be">bernard.china@sciensano.be</a>
<b>Experts</b>	<b>Institution</b>		
Barbara Denys	UZGENT		
Evelien Heylen	ZNA		
Frédéric Lambert	CHU LIEGE		
Brigitte Maes	Jessa Ziekenhuis		
Freya Vaeyens	UZ Brussel		
Jacques Van Huysse	AZ Sint Jan		
Roberto Salgado	GZA		
Patrick Pauwels	UZA		
Pierre Heimann	LHUB		
Barbara Depreter	UZ Brussel		

Une version provisoire de ce rapport a été transmise aux experts le : 27/01/2023.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts du : NA-discussion par email

**Autorisation du rapport** : par Joséphine Lantoine, coordinateur d'enquête

**Date de publication** : 09/03/2023

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web :

<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires/eeq-biologie-moleculaire-hemato-oncologie>

# TABLE DES MATIERES

## Table des matières

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>4</b>
<b>DÉTECTION D'ANTIGÈNE AUTRES QUE ABO ET RH + DÉTECTION DE D FAIBLE ET/OU D VARIANT</b> .....	<b>5</b>
ECHANTILLON.....	5
PARTICIPATION.....	5
RÉSULTATS.....	5
CONCLUSIONS SUR LES PERFORMANCES DES LABORATOIRES.....	9
<b>RAS</b> .....	<b>10</b>
ECHANTILLONS.....	10
PARTICIPATION.....	10
RÉSULTATS.....	10
CONCLUSIONS SUR LES PERFORMANCES DES LABORATOIRES.....	21
<b>KIT</b> .....	<b>22</b>
ECHANTILLON.....	22
PARTICIPATION.....	22
RÉSULTATS.....	22
CONCLUSIONS SUR LA PERFORMANCE DES LABORATOIRES.....	26
<b>NIPT</b> .....	<b>27</b>
ECHANTILLON.....	27
PARTICIPATION.....	27
RÉSULTATS.....	27
CONCLUSIONS SUR LA PERFORMANCE DES LABORATOIRES.....	32
<b>FLT3-TP53</b> .....	<b>33</b>
ECHANTILLONS.....	33
PARTICIPATION.....	33
RÉSULTATS.....	33
CONCLUSIONS SUR LES PERFORMANCES DES LABORATOIRES.....	42
<b>HER 2</b> .....	<b>43</b>
ECHANTILLON.....	43
PARTICIPATION.....	43
RÉSULTATS.....	43
CONCLUSIONS SUR LES PERFORMANCES DES LABORATOIRES.....	49
<b>ALK-ROS1</b> .....	<b>50</b>
ECHANTILLONS.....	50
PARTICIPATION.....	50
RÉSULTATS.....	51
CONCLUSIONS SUR LES PERFORMANCES DES LABORATOIRES.....	53
<b>EVALUATION EXTERNALISÉE : DÉTECTION DE MUTATIONS DANS LE GÈNE DU FACTEUR II ET LE GÈNE DU FACTEUR V (ECAT)</b> .....	<b>54</b>
ECHANTILLONS.....	54
PARTICIPATION.....	54
RÉSULTATS.....	54
CONCLUSIONS SUR LES PERFORMANCES DES LABORATOIRES.....	55

## INTRODUCTION

En 2022, nous avons organisé 7 enquêtes portant sur les art.33 bis et 33 ter de la nomenclature INAMI.

L'enquête 2022/1 portait sur la détermination d'autres antigènes d'érythrocytes que ABO et Rh et la détermination d'un D faible ou variant.

L'enquête 2022/2 portait sur la détection des mutations des gènes RAS en cas de carcinome colorectal.

L'enquête 2022/3 portait sur la détection de mutations du gène KIT dans le cadre de tumeurs stromales gastro-intestinales.

L'enquête 2022/4 portait sur le dépistage prénatal de la trisomie 21 à partir de la 12<sup>ième</sup> semaine de grossesse.

L'enquête 2022/5 portait sur la détection de mutations FLT3-TKD en cas de leucémie myéloïde aiguë, de mutations FLT3-IDT en cas de leucémie myéloïde aiguë et de mutations TP53 en cas de leucémie lymphatique chronique.

L'enquête 2022/6 portait sur la détection de l'amplification du gène HER2 en cas de cancer du sein (non métastatique ou métastatique).

L'enquête 2022/7 portait sur le réaménagement du gène ALK en cas de carcinome du poumon non squameux non à petites cellules avancé (détection via FISH).

L'enquête 2022/8 portait sur le réaménagement du gène ROS1 en cas de cancer du poumon non squameux non à petites cellules avancé (détection via FISH).

Pour la détection des mutations dans les gènes facteur II et facteur V, les laboratoires ont été inscrits auprès de l'organisme partenaire ECAT. Les performances des laboratoires à cette EEQ sont discutées en page 54.

## Détection d'antigène autres que ABO et RH + détection de D faible et/ou D variant

### Echantillon

L'ADN a été extrait par le laboratoire du service « *Qualité des laboratoires* » via un kit commercial *QIAamp DNA Blood Mini Kit* à partir du sang prélevé chez un donneur sain. La concentration en ADN et la pureté de l'échantillon ont été mesurées via la technique de quantification spectrophotométrique, Nanodrop. La concentration en ADN de l'échantillon a été mesurée à 67.4 ng/µl et sa pureté (A260/A280) était de 1.84.

### Participation

9 laboratoires de biologie clinique étaient inscrits pour cette enquête. 1 Laboratoire s'est uniquement inscrit pour la détermination d'autres antigènes que ABO et Rh.

### Résultats

Les laboratoires ont reçu 1 tube de 140 µl d'ADN génomique humain extrait à partir de sang extrait avec un kit commercial. La concentration en ADN de l'échantillon ainsi que sa pureté leur étaient données. Il leur était demandé de déterminer la présence d'autres antigènes que ABO et Rh et de déterminer la présence d'un D faible ou d'un D variant par une méthode de biologie moléculaire.

#### 1. Résultats par (anti)gènes

Echantillon	Système	Résultats encodés*	Nombre de laboratoires (N)
<b><u>ABO2022</u></b>	MNS	MN SS	6/9
		MN SS UvarNY- PZ-	1/9
		GYP A*M GYP A*N GYP B*S	2/9
	Lutheran	LubLub	4/9
	Kell	kk	5/9
		kk KpbKpb Js bJs b	4/9
	Duffy	FybFyb	6/9
		FY*B FY*B	3/9
	Kidd	JkaJkb	6/9
		JK*AJK*B	3/9
	Diégo	DibDib	3/9
		DibDib WrbWrb	1/9
	Scianna	ScaSca	1/9
	Dombrock	DobDob	4/9
		Do*BDo*B	1/9
		DobDob Hy Joa	1/9
	Colton	CoaCoa	4/9
	Landsteiner-Weiner	LwaLwa	2/9
	VEL	Vel +	3/9
		Vel*01	2/9
	RhCe	CC ee	3/9
		RHCE*C RHCE*e	1/9
		CC ee Cw-	2/9
Cartwright	YtaYta	3/9	
Knops	KnaKna	1/9	

\*Les résultats sont présentés selon la nomenclature usuelle.

Echantillon	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (N)
<b>ABO2022</b>	pas de D faible ; RhD +	2/8
	absence de D faible ; absence de D variant Rh:1 (RhD+)	1/8
	pas de D faible ; pas de D variant	1/8
	Négatif ; RhD	1/8
	Négatif ; pas de variance	1/8
	absence de variant détectable "D normal"	1/8
	RhD allèle	1/8

## 2. Résultats par laboratoire

ABO2022													
Lab	Méthodes utilisées ABO/Rh	MNS	Lutheran	Kell	Duffy	Kidd	Diégo	Scianna	Dombrock	Colton	Landsteiner-Wiener	VEL	Autre
1	PCR-SSP RBC fluo gene Verify / RBC fluogene Rare (inno-train)	MN SS	Lub Lub	kk Kpb Kpb Jsb Jsb	FybFyb	JkaJkb	DibDib Wrb Wrb		DobDob	CoaCoa	LwaLwa		RhCE: CC ee Knops: KnaKna Cartwright: YtaYta
2	BioArray HEA Beaschips	M/N S/S	Lub/Lub	k/k Kpb/Kpb Jsb /Jsb	Fyb/Fyb	Jka/Jkb	Dib/Dib	Sca/Sca	Dob/Dob Hy Joa	Coa/Coa	Lwa/Lwa		
3	PCR-SSP BAGene kit (BAG diagnostics)	MN SS	Lub Lub	kk Kpb Kpb Jsb Jsb	FybFyb	JkaJkb	DibDib		DobDob	CoaCoa		Vel+	Cartwright: YtaYta
4	PCR-SSP Kit RBC Ready gene VERYfy (inno-train)	GYPA*M GYPA*N GYPB*S		KEL*02	FY*B FY*B	Jk*AJK*B			Do*B Do*B			VEL*01	RHCE: CC ee Cw-
5	PCR-SSP BAGene kit (BAG diagnostics)	M/N S/S	Lub/Lub	k/k Kpb/Kpb Jsb /Jsb	Fyb/Fyb	Jka/Jkb	Dib/Dib			Coa/Coa		Vel+	Cartwright: Yta/Yta
6	PCR-SSP RBC fluogene kit VERYfy (inno-train)	MNS (MNS1, MNS2, MNS3)		k (KEL2)	FyB (Fy02)	JKAJKB (JK1 JK2)			DoB (Do2)				RHCE: C e

7	PCR-SSP Kit RBC Ready gene VERYfy (innotraining)	M N SS		kk	FybFyb	JkaJkb			DobDob			Vel+	RhCE: CC ee
8	PCR-SSP Kit RBC Ready gene VERYfy (innotraining)	GYPA* M GYPA*N GYPB*S		KEL*02	FY*B	Jk*AJK*B			Do*B			VEL*01	RHD*01 RHCE*C RHCE*e
9	PCR-SSP RBC fluogene kit VERYfy (innotraining)	MN SS UvarNY-PZ-		kk	FybFyb	JkaJkb			DobDob				RHCE:CC ee Cw-

Labo	Méthodes utilisées D faible	Méthodes utilisées D variant	ABO2022	
			D faible	D variant
1	PCR-SSP Weak D BAGene kit (BAG diagnostics)	PCR-SSP Partial D type BAGene kit + Rh-type BAGene Kit (BAG diagnostics)	pas de D faible	RhD +
2	BioArray RHD beadchips	BioArray RHD beadchips	absence de D faible Rh:1 (RhD+)	absence de D variant Rh:1 (RhD+)
3	PCR-SSP Weak D BAGene kit (BAG diagnostics)	PCR-SSP Partial D type BAGene kit (Bag diagnostics)	pas de D faible	Pa s de D variant
4	PCR-SSP RBC ready gene Weak D kit (inno-train)	PCR-SSP RBC ready gene CDE kit (inno-train)	négatif	RhD
5	PCR-SSP Weak D BAGene kit (BAG diagnostics)	PCR-SSP Partial D type BAGene kit (Bag diagnostics)	absence de variant détectable "D normal"	absence de variant détectable "D normal"
6	PCR-SSP RBC fluogene Weak D kit (inno-train)	PCR-SSP RBC fluogene CDE kit (inno-train)	RHD allèle	RHD allèle
7	PCR-SSP RBC ready gene Weak D kit (inno-train)	PCR-SSP RBC ready gene CDE kit (inno-train)	négatif	pas de variance
8	PCR-SSP RBC RBC fluogene Weak D kit (inno-train)	PCR-SSP RBC fluogene CDE kit (inno-train)	pas de D faible détecté	RhD + pas de variant détecté

### 3. Commentaires

- 4 laboratoires ont été recontactés directement après l'envoi de leur formulaire car ils n'avaient pas suivi les instructions pour l'encodage des résultats, à savoir l'utilisation de la nomenclature usuelle et le rapportage des génotypes.  
Il semble donc que cela n'était pas encore assez clair pour l'ensemble des laboratoires.  
Le formulaire du cycle prochain sera donc adapté en conséquences avec des exemples.

### 4. Méthodes utilisées

#### A. Détermination d'autres gènes que ABO et Rh

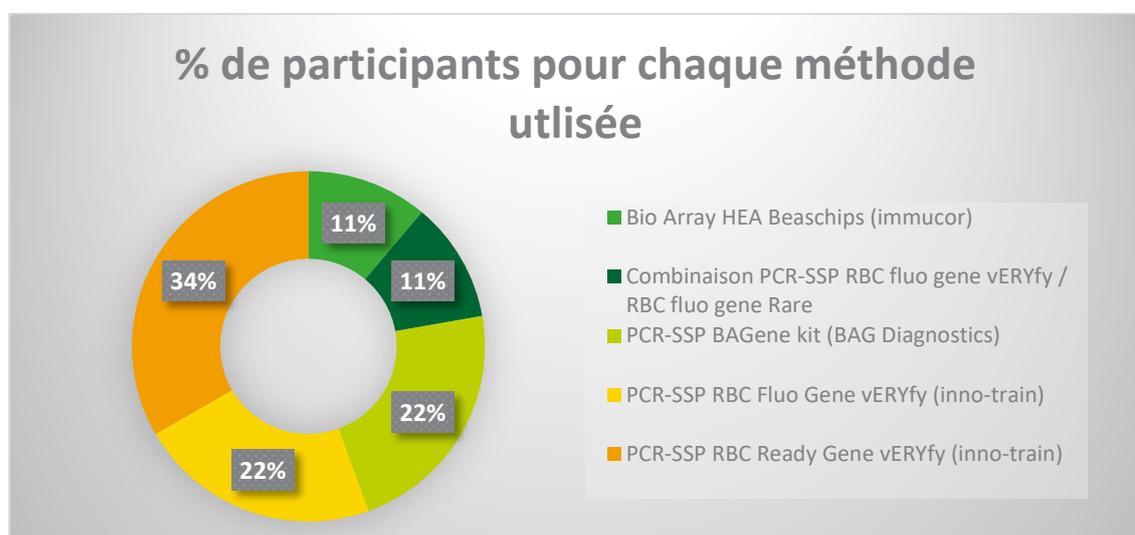


Chart 1 : Distribution des laboratoires par méthode pour la détection d'autres gènes que ABO et Rh

La méthode/kit la plus utilisée pour la détermination d'antigènes autre que ABO et Rh est la méthode PCR-SSP RBC Ready Gene vERYfy de chez inno-train suivie par les méthodes PCR-SSP RBC Fluo-Gene vERYfy de chez inno-train et PCR-SSP BAGene kit de chez BAG diagnostics.

## B. Détermination de la présence d'un D variant

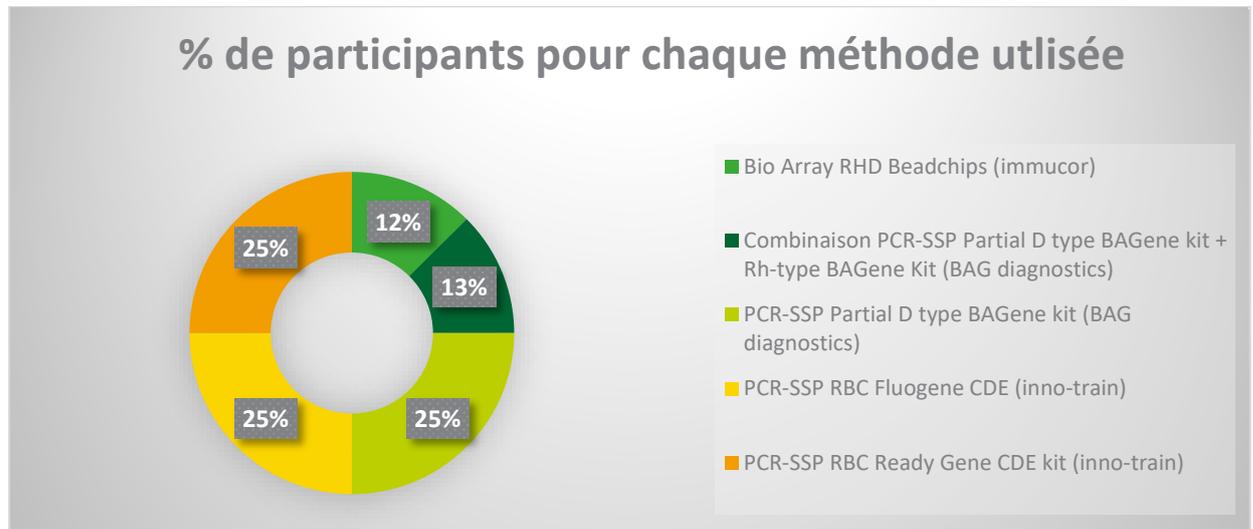


Chart 2 : Distribution des laboratoires par méthode pour la détermination d'un D variant

Pour la recherche d'un D variant, ce sont les kits RBC Fluo Gene CDE, RBC Ready Gene CDE de chez inno-train ainsi que le kit partial D type de chez BAG Diagnostics.

## C. Détermination de la présence d'un D faible

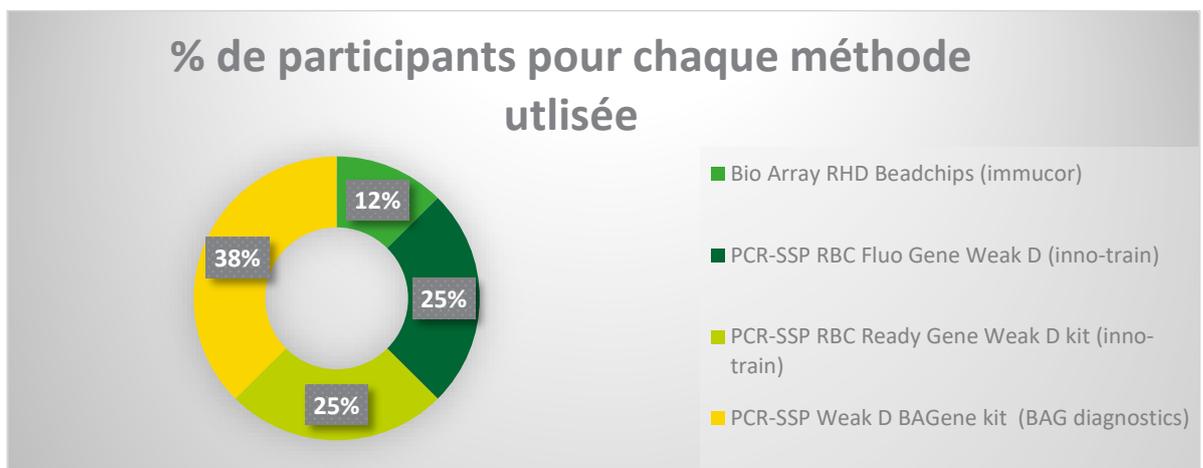


Chart 3 : Distribution des laboratoires par méthode pour la détermination d'un D faible

La méthode/kit la plus utilisée pour la détermination de D faible est la PCR-SSp WEAK D BAGene de chez BAG Diagnostics suivie par les méthodes/kits PCR-SSp RBC Ready Gene WEAK D et PCR-SSp RBC Fluo Gene WEAK D de chez inno-train.

## Conclusions sur les performances des laboratoires

Tous les laboratoires inscrits ont participé à l'enquête. Nous n'avons pas observé de discordance entre les résultats rendus par les laboratoires.

# RAS

## Echantillons

Les échantillons sont des coupes FFPE de 5 µm d'épaisseur provenant de biopsies de cancers colorectaux. Ils proviennent de la biobanque Discovery Life Science (3509 Elgin St, Suite 300 Houston, TX 77004-USA).

Les échantillons sont accompagnés des données cliniques relatives à chaque patient : âge, sexe, race, site de la tumeur, type de tumeur, données pathologiques, indications sur le traitement reçu par le patient (si disponible) et le statut mutationnel KRAS et NRAS.

Cas clinique F00118836 : Femme de 73 ans présentant un adénocarcinome mucineux au niveau du colon transverse de stade IIA (TNM : T3N0M0). La tumeur a envahi le tissu péricolorectal (pT3). Il n'y a pas de signe d'invasion lymphovasculaire ou périneurale (LVI0, PNI0). Il n'y pas de croissance de la tumeur au niveau des marges de la résection (R0). 12 ganglions lymphatiques ont été examinés sans présence de métastases (pN0).

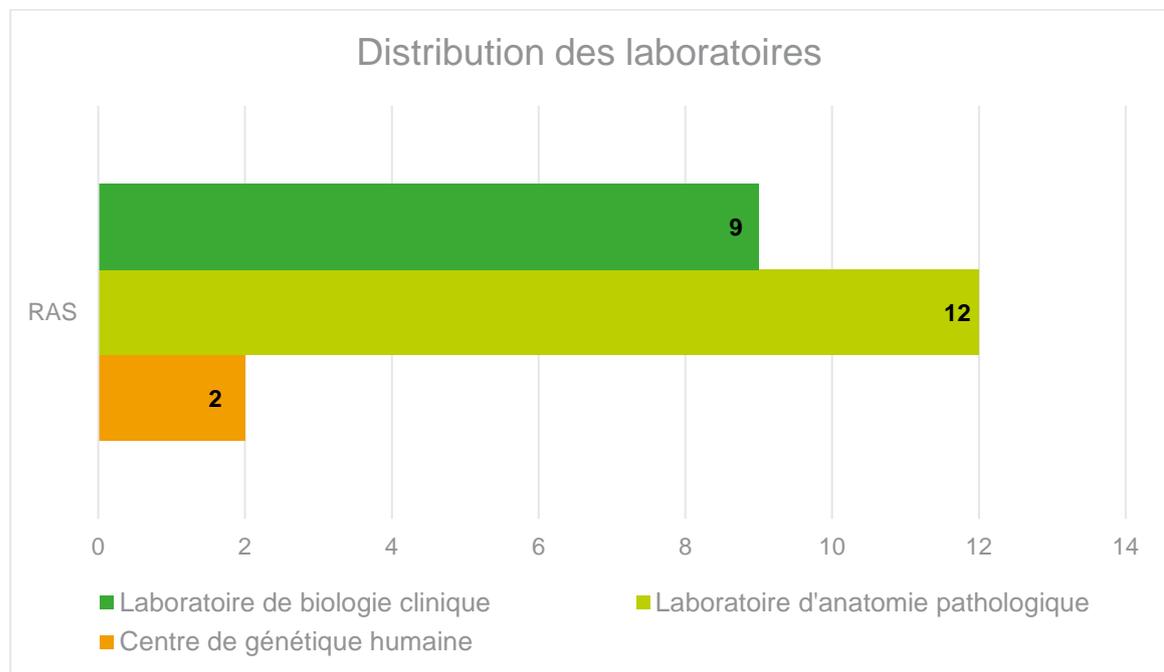
Il était demandé aux laboratoires de détecter la présence de mutations du gène KRAS.

Cas clinique F00231138 : Homme de 63 ans présentant un adénocarcinome de grade G2 avec invasion du tissu adipeux fibreux. Il n'y pas de présence de néoplasmes malins au niveau des ganglions lymphatiques (R0).

Il était demandé aux laboratoires de détecter la présence de mutations du gène NRAS.

## Participation

23 laboratoires se sont inscrits pour l'enquête RAS. La distribution des laboratoires inscrits en fonction des paramètres s'effectue comme suit :



*Chart 4 : Distribution des laboratoires inscrits par spécialité*

Tous les laboratoires inscrits ont participé à l'enquête.

## Résultats

Les laboratoires participants ont reçu 3 lames FFPE pour chaque cas clinique. Ceux-ci ont dû rechercher la présence de mutations des gènes KRAS et NRAS par des méthodes moléculaires. Il était également demandé aux laboratoires d'indiquer la fréquence allélique si déterminée ainsi que la méthode utilisée pour la détection de la mutation.

## 1. Résultats par échantillon

**Veillez noter que le nombre de laboratoires par résultats encodés pour le cas F00118836 a été modifié par rapport au rapport préliminaire.**

Echantillon	Résultats attendus (VAF)	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<b><u>F00118836</u></b>	KRAS c.436 G>A p.(Ala146Thr) A146T présente (20.44%)	KRAS c.436 G>A p.(Ala146Thr) A146T présente	15
		KRAS c.436 G>A p.(Ala146Thr) A146T <b>ou</b> KRAS c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P <b>ou</b> c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V présente*	7
		KRAS c.436 G>C (Ala146Pro) A146P présente	1
<b><u>F00231138</u></b>	NRAS c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R présente (41.8%)	NRAS c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R présente	22
		NRAS c.183 A>T p.(Gln61His) Q61H <b>ou</b> c.183 A>c p.(Gln61His) Q61H <b>ou</b> c.181 C>A p.(Gln61Lys) Q61K <b>ou</b> c.182 A>T p.(Gln61Leu) Q61L <b>ou</b> c.182 A>C p.(Gln61Pro) Q61P <b>ou</b> c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R présente*	1

\*La méthode utilisée ne permet pas d'identifier individuellement ces variants.

Echantillon	Interprétations encodées	Nombre de laboratoires (/23)
<b><u>F00118836</u></b>	Classe 1	1
	Mutation pathogène à impact clinique avéré-absence de réponse aux inhibiteurs EGFR (cetixumab et panitumab)	1
	Avéré-intérêt clinique significatif (Tier I)- résistance aux anticorps monoclonaux anti-EGFR (cetixumab et panitumab)	5
	Intérêt clinique significatif (Tier I)	1
	Mutation pathogène-résistante aux EGFR TKIs et aux anticorps EGFR	1
	plus agressif-pronostic faible- sensibilité aux anticorps EGFR amoindrie	1
	Réponse aux anticorps anti-EGFR plus faible	1
	Patient non éligible pour une thérapie	1
	Patient porteur du gène KRAS muté	1
	Résistance aux anticorps monoclonaux anti-EGFR	6
	Variant pathogène Tier IA	1
	Variant pathogène	1
	Variant pathogène-résistance aux anti-EGFR	1
Variant pathogène classe 1-résistance à la thérapie anti-EGFR	1	

Echantillon	Interprétations encodées	Nombre de laboratoires (/23)
<b><u>F00231138</u></b>	Classe 1	1
	Mutation pathogène à impact clinique avéré-absence de réponse aux inhibiteurs EGFR dans le cadre d'un CRC métastatique	1
	Avéré-intérêt clinique significatif (Tier I)- résistance aux anticorps monoclonaux anti-EGFR (cetixumab et panitumab)	5
	Intérêt clinique significatif (Tier I)	1
	Mutation pathogène-résistante aux EGFR TKIs et aux anticorps EGFR	1
	plus agressif-pronostic faible- sensibilité aux anticorps EGFR amoindrie	1
	Réponse aux anticorps anti-EGFR plus faible	1
	Patient non éligible pour une thérapie	1
	Patient porteur d'une mutation du gène NRAS	1
	Résistance aux anticorps monoclonaux anti-EGFR	6
	Variant pathogène Tier IA	1
	Variant pathogène	1
	Variant pathogène-résistance aux anti-EGFR	1
	Variant pathogène classe 1-résistance à la thérapie anti-EGFR	1

## 2. Résultats par laboratoire

Lab.	Méthodes utilisées	LOD (%)		F00118836		Interprétations cliniques
		SNV	Indels	Mutations KRAS (AF)	Autres mutations détectées	
1	qPCR-Idylla KRAS mutation test-Biocartis	NA	NA	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T <b>ou</b> c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P <b>ou</b> c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Pathogénique-présence de mutation A146T associée avec une résistance à la thérapie anti-EGFR
2*	NGS-Illumina Miseq Panel custom Qiaseq Qiagen	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (35%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (51%) APC c.4280del p.(pro1427Lev Fs*46) P1427L+ (25%) APC c.2413c>T p.(Arg805*) (26%)	Impact Clinique avéré (Tier I)- résistance à une thérapie EGFR
3	NGS-Illumina Miseq Panel Ampliseq focus DNA	3	3	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (46%)		Variant pathogénique- Tier IA
4*	NGS-Illumina Miseq Panel custom Qiaseq-Qiagen	NA	NA	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (42%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (55%) APC c.4280del p.(pro1427Lev Fs*46) P1427L+ (24%) APC c.2413c>T p.(Arg805*) (28%)	Impact Clinique avéré (Tier I)- résistance à une thérapie EGFR
5	NGS-Illumina Miseq Panel custom Ampliseq	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (29.9%)		Variant pathogène
6	NGS-Illumina Miseq Panel STS-Sophia Genetics	6	6	NM_004985.4 c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (31%)		Pathogénique-Impact Clinique avéré- absence de réponse aux inhibiteurs EGFR dans les cancers du côlon métastatique
7	qPCR-Idylla KRAS mutation Test-Biocartis	NA	NA	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T <b>ou</b> c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P <b>ou</b> c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Pathogénique Tier IA- prédictif pour une résistance au traitement par anti-EGFR
	Confirmation par NGS-Illumina Miseq Dhs101z Panel Qiagen	NA	NA	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (35.86%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (42%)	Une recherche de MSI est conseillée. Une biopsie liquide est conseillée vu le caractère agressif des adénocarcinome mucineux.

Lab.	Méthodes utilisées	LOD (%)		F00118836		Interprétations cliniques
		SNV	Indels	Mutations KRAS (AF)	Autres mutations détectées	
8	NGS-Illumina Miseq Panel Ampliseq focus	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (31%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (37%) APC c.4280del p.(pro1427Lev Fs*46) P1427L+ (21%)	Prédictif pour une résistance aux Cetixumab et Panitumab
9	qPCR-Idylla KRAS mutation test- Biocartis	NA	NA	<b>c.436 G&gt;A p.(Ala146Pro) A146P</b>		Patientte porteuse du gène KRAS muté
10	qPCR- Cobas KRAS mutation test V.2-Roche	NA	NA	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T <b>ou</b> c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P <b>ou</b> c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Mutation KRAS dans le codon 146 associée à une résistance à la thérapie anti-EGFR
11	qPCR- Idylla KRAS mutation test-Biocartis	NA	NA	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T <b>ou</b> c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P <b>ou</b> c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Mutation associée à une résistance aux anticorps anti-EGFR dans les cancers du colon métastatique
12	NGS-Illumina Novaseq 6000 Panel custom seqCAP EZ hyperCap Capture panel protocol-Roche	5	5	NM_004985.5 c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (26%)		Impact clinique avéré Tier IA
13	NGS-Illumina Novaseq 6000 Panel custom	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (37%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (46%) APC c.4280del p.(pro1427Lev Fs*46) P1427L+ (24%) APC c.2413c>T p.(Arg805*) (24%) APC c.5584_5592del p.(Ser1863_Leu1865del) (19%) POLE c.2683G>A p.(Ala895Thr) (58%)	Classe 1
14	NGS-Illumina Miseq Panel Ampliseq cancer hotspot V.2	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (31.2%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (37.4%) APC c.4280del p.(pro1427Lev Fs*46) P1427L+ (15.2%) MET c.3394+1G>T* (20.1%)	Impact clinique avéré Tier I-résistance aux anti-EGFR

Lab.	Méthodes utilisées	LOD (%)		F00118836		Interprétations cliniques
		SNV	Indels	Mutations KRAS (AF)	Autres mutations détectées	
15	NGS-Illumina Miseq Panel custom Qiagen	4	4	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (32.5%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (44.6%)	Impact Clinique avéré Tier I- Résistance aux Cétixumab et Panitumab
16	qPCR- Idylla KRAS mutation test-Biocardis	NA	NA	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T <b>ou</b> c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P <b>ou</b> c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Mutation associée à une résistance aux anti-EGFR
17	qPCR- Idylla KRAS mutation test-Biocardis	NA	NA	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T <b>ou</b> c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P <b>ou</b> c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Plus agressif-prognostic faible sensibilité aux anticorps EGFR (Cetixumab) amoindrie
18	NGS-Illumina Nextseq550DX Panel custom-Qiagen	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (36%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (39%) APC c.4280del p.(pro1427Lev Fs*46) P1427L+ (17%) APC c.2413c>T p.(Arg805*) (21%) BRCA1 c.1367 T>C p.(Ile456Thr)* (50%) PTEN c.834C>G p.(Phe278Leu) (12%)	Pathogénique- résistance aux EGFR TKI et aux anticorps EGFR
19	qPCR- Idylla KRAS mutation test-Biocardis	NA	NA	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T <b>ou</b> c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P <b>ou</b> c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Patient non éligible pour une thérapie
20	NGS-Ion Torrent S5XL Panel custom CP alpha V03_CRC	2.5	2.5	NM_004985.5 c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (44%)		Pathogénique Tier I-résistance aux anticorps monoclonaux anti-EGFR
21	NGS-Illumina Nextseq 500 Panel seqCAP EZ hyperCap capture protocol-Roche	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (31%)		Pathogène classe 1- résistance à la thérapie EGFR

22	NGS-Illumina Nextseq 2000 Panel Kapa HyperCap custom solid (73 gènes)-Roche	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (18.53%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (18%) APC c.2413c>T p.(Arg805*) (8.9%)	Faible réponse aux anticorps anti-EGFR dans le cadre d'un cancer colorectal métastatique (Douillard NJEM 2013)
23	NGS-Illumina Nextseq 6000 Panel custom Kapa HyperCap-Roche	5	5	NM_004985.5 c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (43.6%)		Résistance aux anticorps EGFR monoclonaux (NCN guidelines)

Labo.	Méthodes utilisées	LOD (%)		F00231138		Interprétations cliniques
		SNV	Indels	Mutations NRAS (AF)	Autres mutations détectées	
1	qPCR- Idylla NRAS-BRAF mutation test-Biocardis	NA	NA	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Pathogénique-thérapie aux anti-EGFR non efficace pour les patients avec un carcinome colorectal NRAS +
2*	NGS-Illumina Miseq Panel custom Qiaseq-Qiagen	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (38%)	HIST1H3C c.121 C>T p.(Arg41Cys) (7.9%)	Impact Clinique avéré (Tier I)- résistance à une thérapie EGFR
3	NGS-Illumina Miseq Panel Ampliseq focus DNA	3	3	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (32%)		Variant pathogénique- Tier IA
4*	NGS-Illumina Miseq Panel custom Qiaseq-Qiagen	NA	NA	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (36%)		Impact Clinique avéré (Tier I)- résistance à une thérapie EGFR
5	NGS-Illumina Miseq panel custom Ampliseq	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (22.9%)		Variant pathogène
6	NGS-Illumina Miseq Panel STS-Sophia Genetics	6	6	NM_002524.4 c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (29%)		Pathogénique-Impact Clinique avéré- absence de réponse aux inhibiteurs EGFR dans les cancers du côlon métastatique. Une recherche d'instabilité microsatellites est conseillée. Une biopsie liquide est conseillée vu le caractère agressif des adénocarcinomes mucineux
7	qPCR- Idylla NRAS-BRAF mut. Test - Biocardis	NA	NA			Pathogénique Tier IA- prédictif pour une résistance au traitement par anti-EGFR Une recherche d'instabilité microsatellites est conseillée. Une biopsie liquide est conseillée vu le caractère agressif des adénocarcinomes mucineux
	Confirmation par NGS- Panel Genereader AIT DNA UMI-Qiagen	3	3	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (26.23%)		

Labo.	Méthodes utilisées	LOD (%)		F00231138		Interprétations cliniques
		SNV	Indels	Mutations NRAS (AF)	Autres mutations détectées	
8	NGS-Illumina Miseq Panel Ampliseq focus	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (28%)	TERT c.124C>T (C228T) (19%)	Prédicatif pour une résistance aux Cetixumab et Panitumab
9	qPCR- Idylla NRAS BRAF mutation test- Biocartis	NA	NA	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Patient porteur d'une mutation du gène NRAS
10	qPCR- Cobas NRAS-BRAF mutation test- Roche	NA	NA	c.183 A>T p.(Gln61His) Q61H <b>ou</b> c.183 A>C p.(Gln61His) Q61H <b>ou</b> c.181 C>A p.(Gln61Lys) Q61K <b>ou</b> c.182 A>T p.(Gln61Leu) Q61L <b>ou</b> c.182 A>C p.(Gln61Pro) Q61P <b>ou</b> c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Mutation NRAS dans le codon 61 associée avec une résistance à la thérapie anti-EGFR
11	qPCR- Idylla NRAS-BRAF mutation test- Biocartis	NA	NA	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Mutation associée à une résistance aux anticorps anti-EGFR dans les cancers du colon métastatique
12	NGS-Illumina Novaseq 6000 Panel custom seqCAP EZ HyperCap Capture panel protocol-Roche	5	5	NM_002524.5 c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (27%)		Impact clinique avéré Tier IA
13	NGS-Illumina Novaseq 6000 Panel Custom	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (41%)		Classe 1
14	NGS-Illumina Miseq Panel Ampliseq cancer hotspot V.2	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (26.5%)	TP53 c.743G>A p.(Arg248Gln) (27.3%) APC c.4037C>A p.(Ser1346*) (13.2%) KIT p.I1662Leu Fs*7 * (10.5%)	Impact clinique avéré Tier I- résistance aux anti-EGFR
15	NGS-Illumina Miseq Panel custom-Qiagen	4	4	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (49.7%)	TP53 c.743G>A p.(Arg248Gln) (47.2%)	Impact Clinique avéré Tier I- résistance aux Cétixumab et Panitumab
16	qPCR- Idylla NRAS-BRAF mutation test- Biocartis	NA	NA	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Mutation associée à une résistance aux anti-EGFR

Labo.	Méthodes utilisées	LOD (%)		F00231138		Interprétations cliniques
		SNV	Indels	Mutations NRAS (AF)	Autres mutations détectées	
17	qPCR- Idylla NRAS-BRAF mutation test- Biocartis	NA	NA	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Plus agressif-prognostic faible sensibilité aux anticorps EGFR (Cetuximab) amoindrie
18	NGS-Illumina Nextseq 550DX Panel custom Qiagen	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (37%)	APC c.834+1 G>T (14%) APC c.4037C>A p.(Ser1346*) (13%) DPYD c.1280 T>C p.(Val427Ala)** (38%) TP53 c.743G>A p.(Arg248Gln) (31%)	Pathogénique- résistance aux EGFR TKI et aux anticorps EGFR
19	qPCR- Idylla NRAS-BRAF mutation test- Biocartis	NA	NA	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Patient non éligible pour une thérapie
20	NGS-Ion Torrent S5XL Panel custom CP alpha V03_CRC	2.5	2.5	NM_002524.5 c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (22.5%)		Pathogénique Tier I-résistance aux anticorps monoclonaux anti-EGFR
21	NGS-Illumina Nextseq 500 Panel seqCAP EZ HyperCap capture protocol- Roche	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (27%)		Pathogène classe 1- résistance à la thérapie EGFR
22	NGS-Illumina Nextseq 2000 Panel Kapa HyperCap custom solid (73 gènes)- Roche	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (32.81%)	TP53 c.743G>A p.(Arg248Gln) (35%) TERT c.124C>T p.( ?) (22.3%) PDGFRB c.2811 G>A p.(Met937Ile) (49.23%) ARID1A c.740 C>T p.(Ala247Val) (52%) APC c.4037C>A p.(Ser1346*) (9.8%) DPYD c.1280 T>C p.(Val427Ala) (39.65%)	Faible réponse aux anticorps anti-EGFR dans le cadre d'un cancer colorectal métastatique (Douillard NJEM 2013)
23	NGS-Illumina Nextseq 6000 Panel custom Kapa HyperCap-Roche	5	5	NM_002524.5 c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (26%)		Résistance aux anticorps EGFR monoclonaux (NCN guidelines)-pronostic plus faible que pour un CRC NRAS WT ou KRAS muté

\*Analyse réalisée sous réserve suite à la qualité suboptimale d'ADN extrait

\*\*Indiqué comme VUS

## Distribution des fréquences alléliques rapportées pour la détection de la mutation KRAS A146T

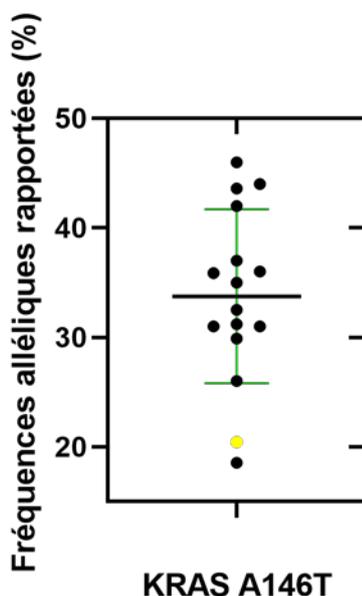


Chart 5: Distribution des fréquences alléliques pour la détection de la mutation KRAS A146T dans l'échantillon. Le point jaune correspond à la fréquence allélique donnée par le fournisseur

3 laboratoires utilisant la technologie NGS ont rapporté une fréquence allélique largement supérieur à la moyenne des fréquences allélique rapportées. Un laboratoire utilisant également le NGS a rapporté une fréquence allélique assez inférieure à cette moyenne et donc proche de la fréquence allélique donnée par le fournisseur. Néanmoins, il est à noter que la moyenne des fréquences alléliques rapportées est nettement supérieure à la fréquence allélique donnée par le fournisseur.

Selon la firme *Discovery Life Science* qui produit les échantillons, des différences peuvent apparaitre entre plateformes et de plus, un seul échantillon par patient est testé. Des copeaux de paraffine sont réalisés à partir de l'échantillon et la fréquence allélique mesurée est appliqué à l'ensemble des échantillons du patient collecté à cette date ou après.

2 autres échantillons CRC étant référencés pour le patient en plus de celui utilisé pour le contrôle de qualité ci-discuté, il est probable que la fréquence allélique donnée par le fournisseur n'est pas été mesurée à partir d'un copeau provenant de cet échantillon.

## Distribution des fréquences alléliques rapportées pour la détection de la mutation NRAS Q61R

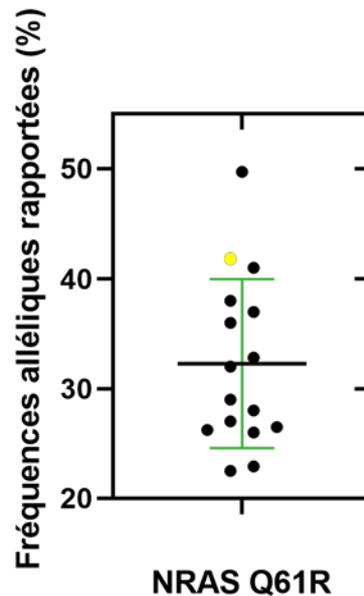


Chart 6 : Distribution des fréquences alléliques rapportées pour la détection de la mutation NRAS Q61R dans l'échantillon. Le point jaune correspond à la fréquence allélique donnée par le fournisseur

1 laboratoire utilisant la technologie NGS a rapporté une fréquence allélique largement supérieure à la moyenne des fréquences allélique rapportées. 2 Laboratoires utilisant la technologie NGS ont rapporté une fréquence allélique largement inférieure à la moyenne des fréquences allélique rapportées. La fréquence allélique donnée par le fournisseur est ici supérieure à la moyenne des fréquences rapportées.

Selon la firme *Discovery Life Science* qui produit les échantillons, des différences peuvent apparaitre entre plateformes et de plus, un seul échantillon par patient est testé. Des copeaux de paraffine sont réalisés à partir de l'échantillon et la fréquence allélique mesurée est appliqué à l'ensemble des échantillons du patient collecté à cette date ou après.

1 autre échantillon CRC étant référencé pour le patient en plus de celui utilisé pour le contrôle de qualité ci-discuté, il est probable que la fréquence allélique donnée par le fournisseur n'est pas été mesurée à partir d'un copeau provenant de cet échantillon

### 3. Commentaires

- 1 laboratoire ayant utilisé la technique qPCR Biocartis Idylla Roche (KRAS mutation test) a détecté la présence de la mutation c.436 G>C (Ala146Pro) hors cette méthode ne permet pas d'identifier individuellement la présence des variant suivant : KRAS c.436 G>A p.(Ala146Thr) A146T // KRAS c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P // c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V. Cette réponse n'a pas d'impact clinique grave pour le patient. Après contact, le laboratoire nous a indiqué qu'en effet il aurait dû répondre A146 P/T/V au lieu de A146P. Sur le rapport clinique de l'échantillon QC c'est d'ailleurs A146 P/T/V qui est repris. Une non-conformité a été introduite dans leur système qualité.

#### 4. Méthodes utilisées

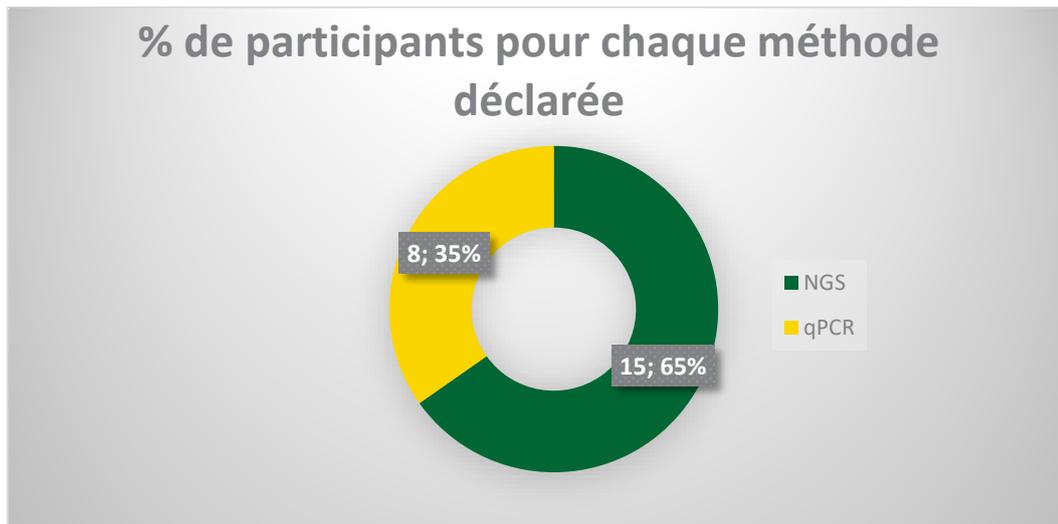


Chart 7 : Distribution des laboratoires par méthode pour la détection de mutations des gènes KRAS et NRAS.

Les méthodes les plus utilisées sont l'Idylla et le NGS. Le détail par kit/panel utilisés est présenté sur le graphe suivant :

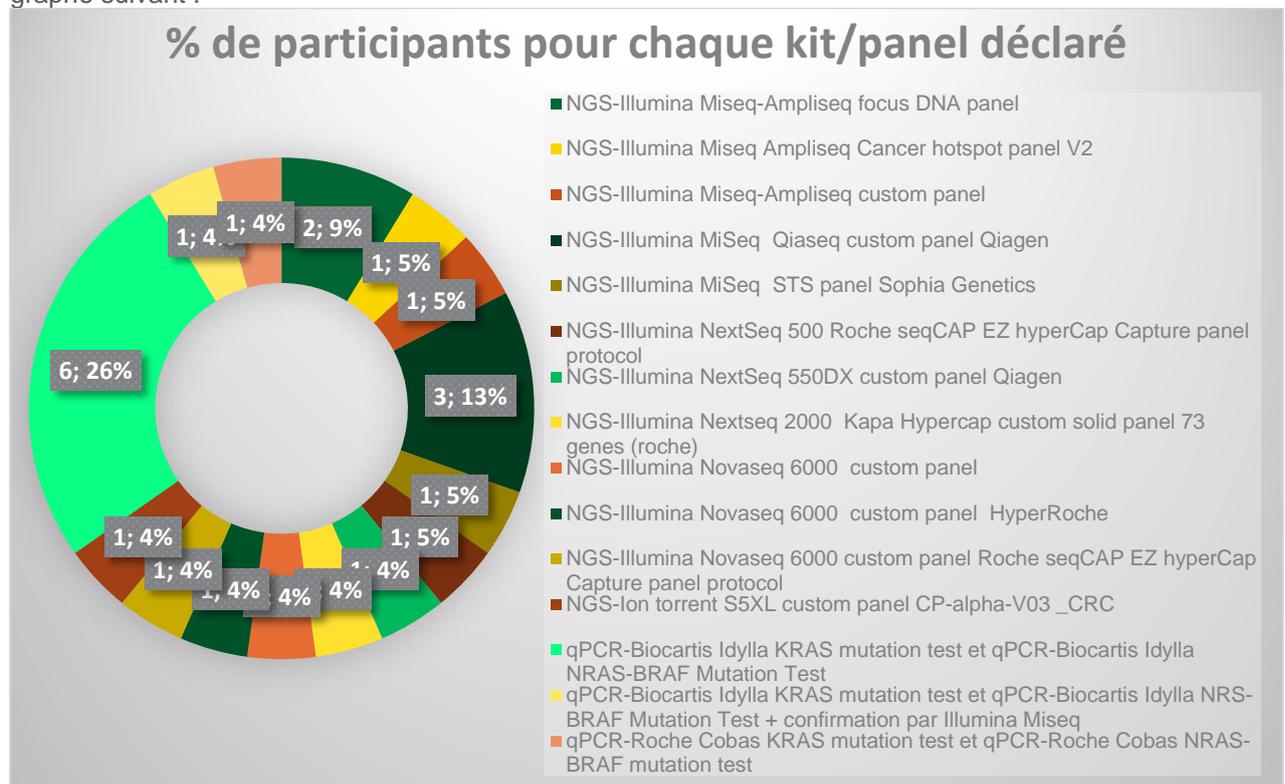


Chart 8 : Distribution des laboratoires par kits/panels utilisés par méthode pour la détection de mutations des gènes KRAS et NRAS.

Veillez noter qu'un laboratoire utilisant en 2021 la technique NGS avec le panel *Ion torrent* « Colon and Lung Panel V2 » a cette année utilisé la technique qPCR avec le kit *Biocardis* « Idylla KRAS mutation test ». A contrario, un laboratoire utilisant en 2021 la technique qPCR avec les kits *Biocardis* « Idylla KRAS mutation test » et « NRAS-BRAF mutation test » a utilisé en 2022 la technique NGS avec le panel *Roche* « seqCAP EZ hyperCap Capture ».

#### Conclusions sur les performances des laboratoires

Concernant les gènes KRAS et NRAS, les performances des laboratoires sont globalement satisfaisantes. Aucune faute cliniquement grave n'a été faite par les laboratoires. Le laboratoire n'ayant pas indiqué le non différenciation de variants avec sa méthode Idylla pour le gène KRAS a introduit une non-conformité dans son système qualité.

# KIT

## Echantillon

La fabrication des échantillons d'ADN a été sous-traitée à la firme Sopachem (Nieuwe Steenweg 20A 9810 Nazareth BE) qui travaille avec la firme US SeraCare (37 Birch St, Milford, MA 01757, USA).

Dans le cadre de cette enquête, il s'agit d'un tube de 300µl de gDNA dans un buffer Tris-EDTA concentré à 47.6 ng/µl avec la mutation c.1961 T>C p.V654 (VAF 40%). La distribution de ce tube en des tubes de 15µl a été réalisée au sein du laboratoire du service « *Qualité des laboratoires* ».

## Participation

17 laboratoires étaient inscrits à l'enquête. La distribution des laboratoires s'effectue comme suit :



Chart 9 : Distribution des laboratoires inscrits par spécialités

Tous les laboratoires participants ont répondu.

## Résultats

Les laboratoires ont reçu 1 tube de 15µl d'ADN génomique concentré à 47.6 ng/µl dans un buffer Tris-EDTA. En plus de la méthode utilisée, nous leur avons demandé les interprétations/classifications biologiques et cliniques pour l'échantillon ainsi que la fréquence allélique des mutations trouvées si déterminées.

### 1. Résultats par échantillon

Echantillon	Résultats attendus (AF)	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<b><u>KIT-2022</u></b>	Présence de la mutation KIT c.1961 T>C p.V654 (40%) Pathogénique-Tier IA	KIT c.1961 T>C p.(Val654Ala) présente	17 (100)
		KIT 1983_1984ins (AF :13.5%)*	1 (6)

\*indiquée comme VUS

Afin de scorer les classifications biologiques et cliniques, le comité d'expert de biologie moléculaire a défini pour cette enquête le scoring suivant :

**Bon**  
**Acceptable**  
**Non évaluable**

Classification biologiques encodées	Classifications cliniques encodées	Nombre de participants (%)
Pathogénique	Tier I(A)	14 (82)
Pathogénique	Tier II	2 (12)
Pathogénique	Pathogénique	1 (6)

82% des laboratoires ont un score « bon » à la fois pour la classification biologique et pour la classification clinique. 12% des laboratoires présentent 1 score « acceptable » pour la classification clinique mais « bon » pour la classification biologique. 1 laboratoire présente quant à lui une classification clinique « non évaluable », celui-ci n'ayant pas répondu par une classification Tier.

Pour les conclusions thérapeutiques éventuellement indiquées par les laboratoires, le comité n'a pas défini de scoring. Elles sont présentées ci-dessous à titre informatif :

Conclusions thérapeutiques encodées	Nombre de participants (%)
Aucune indication de conclusion thérapeutique	4 (23)
Éligible pour une thérapie aux TKIs	1 (6)
Éligible pour une thérapie aux TKIs / résistance à l'Imatinib; sensibilité au Sunitinib	6 (35)
Résistant à l'Imatinib; réponse partielle aux autres TKIs	1(6)
Sensible à l' Imatinib, Regorafenib et au Sunitinib	1(6)
Sensible aux TKIs; Imatinib	1(6)
Bénéfice limité avec l'Imatinib	1(6)

## 2. Résultats par laboratoire

Labo	Méthodes utilisées	LOD (%)		Résultats encodés		
		Séquenceur/ panel	SNV	Indels	Mutations KIT (AF)	Classification biologique
1	NGS-Illumina Miseq panel custom qiaseq	5	5	c.1961 T>C p.(Val654Ala) (51%)	Pathogénique	Tier I : impact clinique avéré. Appuie le diagnostic d'un GIST. Sensibilité à une thérapie aux TKIs
2	NGS-Illumina Miseq Panel Focus ampliseq for Illumina	3	3	NM_000222.3 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (50%)	Pathogénique	Tier IA
3	NGS-Illumina Miseq panel Custom Qiaseq- Qiagen	5	5	NM_000222.3 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (56%)	Pathogénique	Tier I impact clinique avéré- résistance à l'Imatinib et Repotrectinib. Sensibilité au sunitinib

	Méthodes utilisées	LOD		Résultats encodés		
Labo	Séquenceur/ panel	SNV	Indels	Mutations KIT (AF)	Classification biologique	Classification clinique
4	NGS-Illumina NextSeq panel Twist Custom-Twistbioscience	2	2	NM_000222 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (45.8%)	Pathogénique	Tier II
5	NGS- Illumina Miseq STS panel-Sophia Genetics	6	6	NM_000222.2 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (49%)	Pathogénique	Potentiel-bénéfice limité pour l' Imatinib
6	NGS-Illumina Miseq- panel Human Actionable Solid Tumor (DHS 101Z) -Qiagen	3-5	3	NM_000222.3 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (51%)	Pathogénique	Tier IA- résistance à l'Imatinib et réponse partielle aux autres TKIs
7	NGS-Illumina Miseq ampliseq focus panel	5	5	c.1961 T>C p.(Val654Ala) (51%)	Pathogénique	Tier IA- Sensible au Sunitinib. Variants généralement acquis suite au traitement avec l'Imatinib
8	NGS- ThermoFisher- Panel Oncomine focus assay- Thermofischer	5	5	NM_000222 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (49%)	Pathogénique	Tier I Appuie le diagnostic d'un GIST. Résistant à l'Imatinib et Regorafenib Sensibilité au Sunitinib
9	NGS-Illumina Novaseq- SeqCap EZ HyperCap capture panel protocol-Roche	5	5	NM_000222.2 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (46%)	Pathogénique	Tier I impact clinique avéré
10	NGS-Illumina Novaseq 6000 custom panel	5	5	NM_000222.3 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (46%)	Pathogénique	Classe I
11	NGS-Illumina Miseq panel Ampliseq Cancer hotspot	5	5	NM_000222.2 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (50.4%) NM_000222.2 1983_1984ins (13.5%)	Pathogénique  VUS	Pathogénique  VUS
12	NGS-Ion Torrent S5Gene studio- Panel custom Ampliseq	4	4	NM_000222.3 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (50%)	Pathogénique	Variant détecté dans les GIST résistants à l'Imatinib. Sensibilité au Sunitinib et Nilotinib
13	NGS-Illumina Miseq custom qiaseq panel	4	4	NM_000222.2 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (52%)	Pathogénique	Avéré Tier I sensibilité à l' Imatinib, au Regorafenib et au Sunitinib
14	NGS-Illumina Miseq custom qiaseq panel	5	5	NM_000222.2 c.1961 T>C (50%)	Pathogénique	Impact clinique avéré. Variant associé à une résistance à l'Imatinib mais sensible au Sunitinib (Boweretal, 2021 PMID 34322382



#### 4. Méthodes utilisées



Chart 11 : Distribution des laboratoires par séquenceur utilisé pour la détection de mutation du gène KIT

Le séquenceur le plus utilisé est le séquenceur Illumina Miseq de chez Illumina.

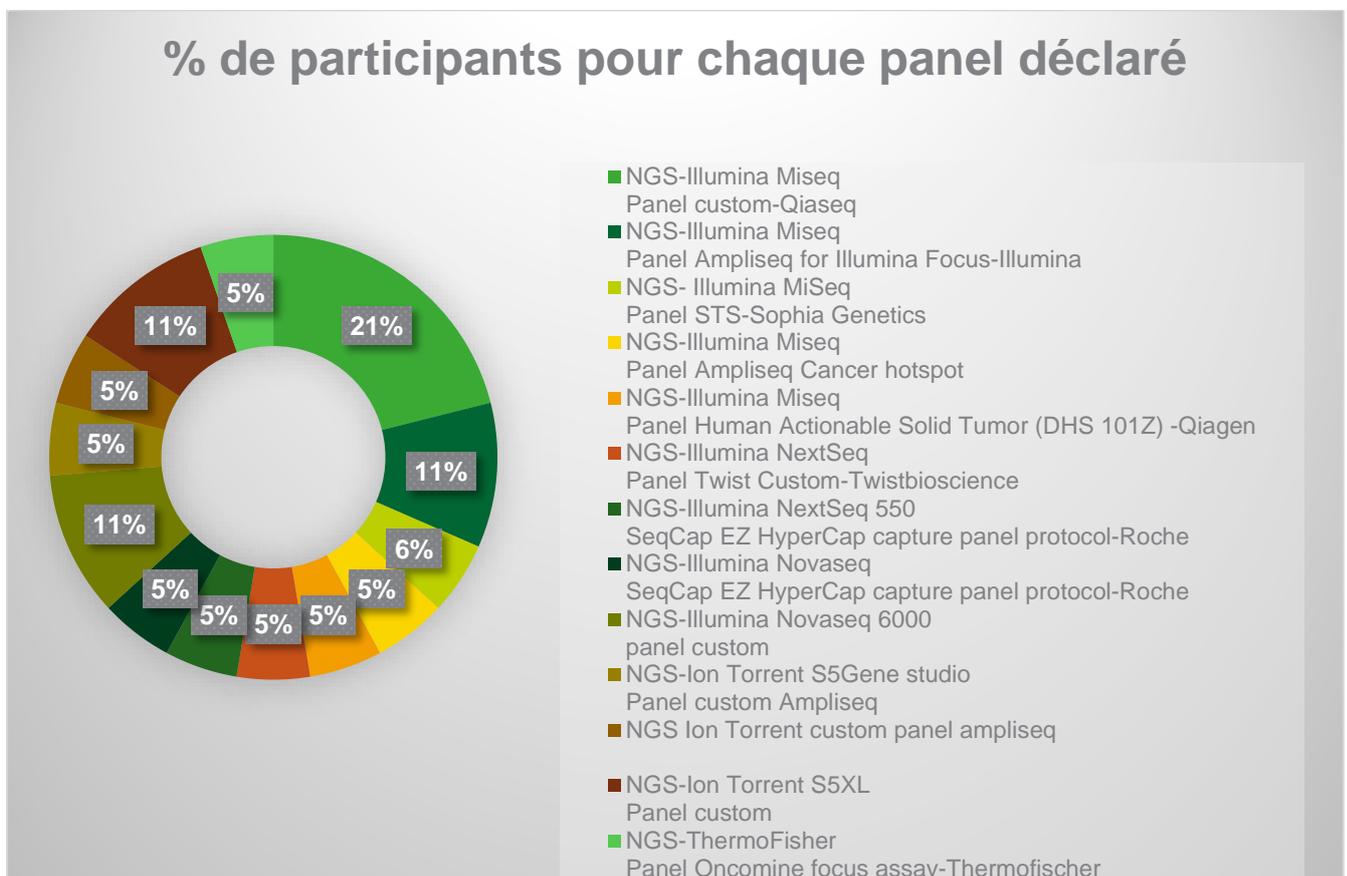


Chart 12 : Distribution des laboratoires par panel pour la détection de mutation du gène KIT

Les panels les plus utilisées sont les panels custom ainsi que le panel Ampliseq for Illumina focus de chez Illumina.

#### Conclusions sur la performance des laboratoires

Les performances des laboratoires participants sont globalement satisfaisantes.

Afin d'être clair pour l'ensemble des laboratoires, le formulaire de réponse sera adapté. La classification clinique sera remplacée par une demande de la classification Tier.

# NIPT

## Echantillon

Les échantillons pour ce contrôle proviennent de la firme Sopachem (Nieuwe Steenweg 20A 9810 Nazareth BE) qui s'occupe de la vente de échantillons Seracare (Seracare (37 Birch St, Milford, MA 01757, USA) pour la Belgique. Ce sont des échantillons (1ml) d'ADN encapsulé dans du plasma simulé (Matribase). La concentration en ADN fœtal est de 20ng/ml.

L'échantillon était accompagné d'un cas clinique précisant : nom, prénom, âge de la patiente, la raison de l'analyse, la date de la collecte ainsi que l'âge gestationnel au moment de la collecte.

Cas clinique : Bianca Castaphiore (28/02/1982) est envoyée par son gynécologue dans le cadre de sa 1ère grossesse vu l'âge parental avancé. La prise de sang a été effectuée le 26/04/2022. L'âge gestationnel au moment de la collecte est de 13 semaines et 3 jours.

Il était demandé au laboratoires de rechercher la présence de trisomie 21 selon des méthodes moléculaires. En plus du formulaire de réponse demandant des précisions sur la méthode utilisée, il leur était demandé de fournir le rapport clinique associé à l'échantillon.

## Participation

15 laboratoires de biologie clinique étaient inscrits à l'enquête.

Tous les laboratoires participants ont répondu.

## Résultats

Chaque laboratoire a reçu un ou deux échantillons d'ADN encapsulé selon les résultats de l'enquête préliminaire réalisée en 2021 sur les techniques utilisées par les laboratoires et la quantité d'ADN requis pour l'analyse.

### 1. Résultats par échantillon

#### 1.A Interprétation

Sont présentés ci-dessous les différentes interprétations cliniques communiquées par les laboratoires sur le rapport patient :

Echantillon	Résultats attendus	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<b>NIPT2022</b>	Haut risque de trisomie 21	Divergent-probabilité de trisomie 21	4 (28.6)
		Forte probabilité de trisomie 21 (>99,99%)	1 (7.1)
		Haut risque de trisomie 21	6 (42.8)
		Non concluant-demande d'un nouvel échantillon ou test invasif *	1 (7.1)
		Suspicion d'une anomalie chromosomique des autosomes suivants 47;XY;21	1 (7.1)
		Trisomie chromosome 21 détectée-valeur prédictive 93%	1 (7.1)

\*Le laboratoire nous a indiqué l'incompatibilité entre sa technique (Targeted sequencing-Clarigo V2 kit) et l'échantillon de plasma simulé.

### 1.B Obligation de confirmation par un test invasif

Est présenté ci-dessous le nombre de laboratoires ayant indiqué dans le rapport patient l'obligation de confirmation par un test invasif suite au résultat de « haut risque de trisomie 21 » :

Echantillon	Résultats attendus	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
NIPT2022	Test invasif requis	Mentionnée sur le rapport	12 (85.7)
		Mentionnée sur le rapport ainsi qu'un conseil génétique	1 (7.1)
		<b>Aucune mention</b> mais mention d'une échographie 3D et d'un conseil génétique	<b>1 (7.1)</b>

### 1.C Limites de l'analyse NIPT

Est présenté ci-dessous le nombre de laboratoires ayant indiqué dans le rapport patient les limites de l'analyse NIPT :

Echantillon	Résultats attendus	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<u>NIPT2022</u>	Notifiées sur le rapport	Notifiées clairement sur le rapport	14 (100)

Dans un but éducationnel, la précision au niveau des données administratives reprises dans le rapport clinique a également été analysée :

### 1.D Identification du patient

Est présenté ci-dessous le nombre de laboratoires ayant correctement identifié le patient dans le rapport :

Echantillon	Résultats attendus	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<u>NIPT2022</u>	Bianca Castaphiore (28/02/1982 ou 29/02/1982)	Identification correcte (NOM-PRENOM-DDN)	10 (71.4)
		<b>Identification incorrecte (QCE-NIPT-DDN)</b>	<b>4 (28.6)</b>

### 1.E Date de collecte (26/04/2022) /Date de réception/ Date de rapport

Est présenté ci-dessous le nombre de laboratoires ayant clairement indiqué la date de collecte, la date de réception de l'échantillon ainsi que la date du rapport dans le rapport. Pour la date de collecte, la mention correcte de celle-ci est également prise en compte :

Echantillon	Résultats attendus	Résultats	Nombre de laboratoires (%)
<u>NIPT2022</u>	Mention des 3 dates sur le rapport	Mention des 3 dates sur le rapport	7 (50)
		<b>Date de collecte incorrecte (27/04/2022 ou 28/04/2022)/ Date de réception et de rapport mentionnées</b>	<b>7 (50)</b>

## 1.F Age gestationnel

Est présenté ci-dessous le nombre de laboratoires ayant fait mention dans le rapport de l'âge gestationnel correct au moment de la collecte :

Echantillon	Résultats attendus	Résultats	Nombre de laboratoires (%)
<b><u>NIPT2022</u></b>	13s et 3j	13s et 3j	11 (78.6)
		13 s et 4j	2 (14.3)
		Aucune mention	1 (7.1)

NB : 5 laboratoires ont mentionné un âge gestationnel au moment de la collecte correcte bien qu'ils aient mentionné une date de collecte erronée.

## 2. Résultats par laboratoire

Labo	Méthodes utilisées	NIPT2022	Obligation de test invasif	Limites de détection	Identification patient	Age gestationnel au moment de la collecte	Date de collecte/réception/rapport
		Indication O/N	Indication O/N	Indication O/N			
1	Targeted sequencing-Agilent+ Miseq Clarigo V2	non concluant- demande d'un nouvel échantillon ou test invasif	O	O	O	O	O/O/O
2	Shallow Sequencing-Illumina NextSeq500-Veriseq NIPT solution V2	trisomie chromosome 21 détectée-valeur prédictive 93%	O	O	O	O	O/O/O
3	in house Shallow whole genome sequencing-Illumina HiSeq4000 of Novaseq + custom bioinformatics analysis	divergent- probabilité de trisomie 21	O	O	O	N	O/O/O
4	in house Shallow whole genome sequencing-Illumina HiSeq4000 of Novaseq + custom bioinformatics analysis	divergent- probabilité de trisomie 21	O	O	QC NIPT	13s et 4j	N/O/O
5	in house Shallow whole genome sequencing-Illumina HiSeq4000 of Novaseq + custom bioinformatics analysis	divergent- probabilité de trisomie 21	O	O	O	O	O/O/O
6	NGS-Illumina NextSeq550Dx-Veriseq NIPT solution V2	haut risque de trisomie 21	O	O	O	O	O/O/O
7	NGS-Illumina NextSeq500-Veriseq NIPT solution V2	divergent-haut risque de trisomie 21	O	O	O	O	N/O/O
8	Harmony Prenatal test-Roche diagnostics	divergent-haut risque de trisomie 21	O	O	O	O	N/O/O

Labo	Méthodes utilisées	NIPT2022	Obligation de test invasif Indication O/N	Limites de détection Indication O/N	Identification patient	Age gestationnel au moment de la collecte	Date de collecte/réception/rapport Indication O/N
9	NGS-Illumina NextSeq550Dx-Veriseq NIPT solution V2	haut risque de trisomie 21	O	O	EKE NIPT	O	O/O/O
10	NGS-Illumina NextSeq550Dx-Veriseq NIPT solution V2	divergent-haut risque de trisomie 21	O <i>conseil génétique</i>	O	QC NIPT	O	N/O/O
11	Harmony Harmony prenatal test- Roche diagnostics	forte probabilité de trisomie 21 (>99,99%)	O	O	O	O	N/O/O
12	NGS-Illumina NextSeq Veriseq NIPT solution	divergent-haut risque de trisomie 21	O	O	O	13s et 4j	N/O/O
13	in house Shallow whole genome sequencing- Illumina HiSeq4000 of Novaseq + custom bioinformatics analysis	divergent- probabilité de trisomie 21	O	O	O	O	O/O/O
14	NGS-Nextseq550 DX- NextSeq500/550 DX high output KIT	suspicion d'une anomalie chromosomique des autosomes suivants 47;XY;21	N <i>échographie 3D et conseil génétique</i>	O	QC NIPT	N	N/O/O

### 3. Commentaires

- Un laboratoire a relevé une suspicion d'anomalie chromosomique mais n'a pas clairement indiqué sur le rapport le haut risque de trisomie 21 tel que recommandé par les guidelines en vigueur. De même, ce laboratoire n'a pas indiqué la nécessité d'un test invasif mais a recommandé une échographie 3D et un conseil génétique.
- A titre d'information, 4 laboratoires n'ont pas correctement identifié la patiente sur le rapport clinique, 2 ont indiqué un âge gestationnel erroné et 7 laboratoires ont indiqué une date de collecte erronée.

### 4. Méthodes utilisées

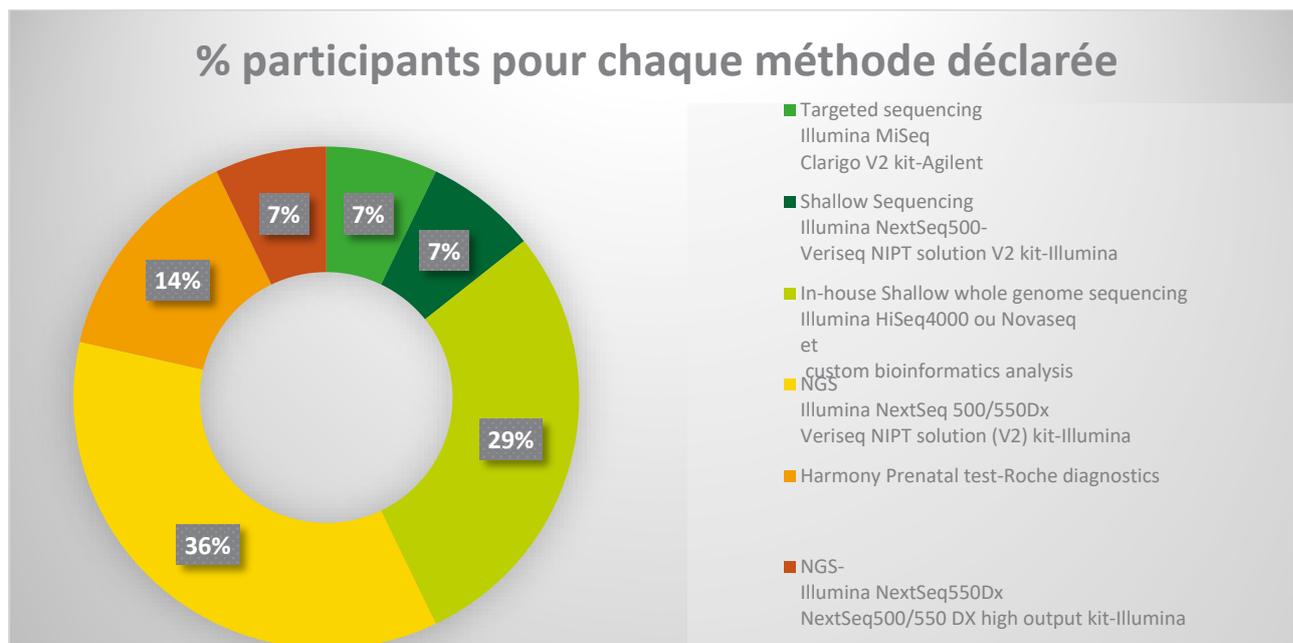


Chart 13 : Distribution des laboratoires par méthode pour la détection de la trisomie 21 dans l'échantillon NIPT2022.

La méthode la plus utilisée par les laboratoires pour la détection de la trisomie 21 est le NGS avec le kit Veriseq NIPT solution V.2 d'Illumina.

### Conclusions sur la performance des laboratoires

L'ensemble des points évalués /analysés lors de cette enquête sont basées sur différents guidelines belges et européennes permettant de déterminer les éléments critiques du rapport clinique dans le cadre de l'analyse NIPT. Vous trouverez ci-dessous les références de ces divers documents :

- ISO15189:2012-Medical laboratories — Requirements for quality and competence
- BeSHG Prenatal Committee, NIPT good clinical practice guidelines. 2017
- Deans ZC. et al. Chapter 11: Best Practices for Integrating Cell-Free DNA-Based NIPT Into Clinical Practice, in Non Invasive Prenatal testing (NIPT). Lieve Page-Christiaens and Hanns-Georg Klein, 2018; 191–205
- Deans ZC, Allen S, Jenkins L, et al. Ensuring high standards for the delivery of NIPT world-wide: Development of an international external quality assessment scheme. Prenatal Diagnosis. 2019; 39:379–387

Les performances des laboratoires participants sont globalement satisfaisantes. Seul 1 laboratoire n'as pas répondu correctement à l'enquête en ne suivant pas les guidelines établies pour le rapportage de résultats d'un test de dépistage prénatal de la trisomie 21. En effet, celui-ci n'a pas rapporté le dépistage de la trisomie 21 en terme de haut risque (haute probabilité) et n'a pas non plus indiqué qu'un test invasif était requis pour la patiente conformément aux guidelines belges en vigueur.

## FLT3-TP53

### Echantillons

Les échantillons FLT3-TP53 ont été fournis par la firme Amplitech (8 Av. Flandres Dunkerque, 60200 Compiègne, FR) qui est un revendeur des échantillons produits par Horizon Discovery Ltd. (Waterbeach, UK). L'échantillon contient différentes mutations pour différents gènes d'intérêts impliqués dans les leucémies myéloïdes. Les échantillons sont fournis avec un certificat garantissant la présence ou l'absence de la mutation ainsi que la fréquence allélique de la mutation.

### Participation

16 laboratoires se sont inscrits pour l'enquête. La distribution des participants en fonction des paramètres s'effectue comme suit :

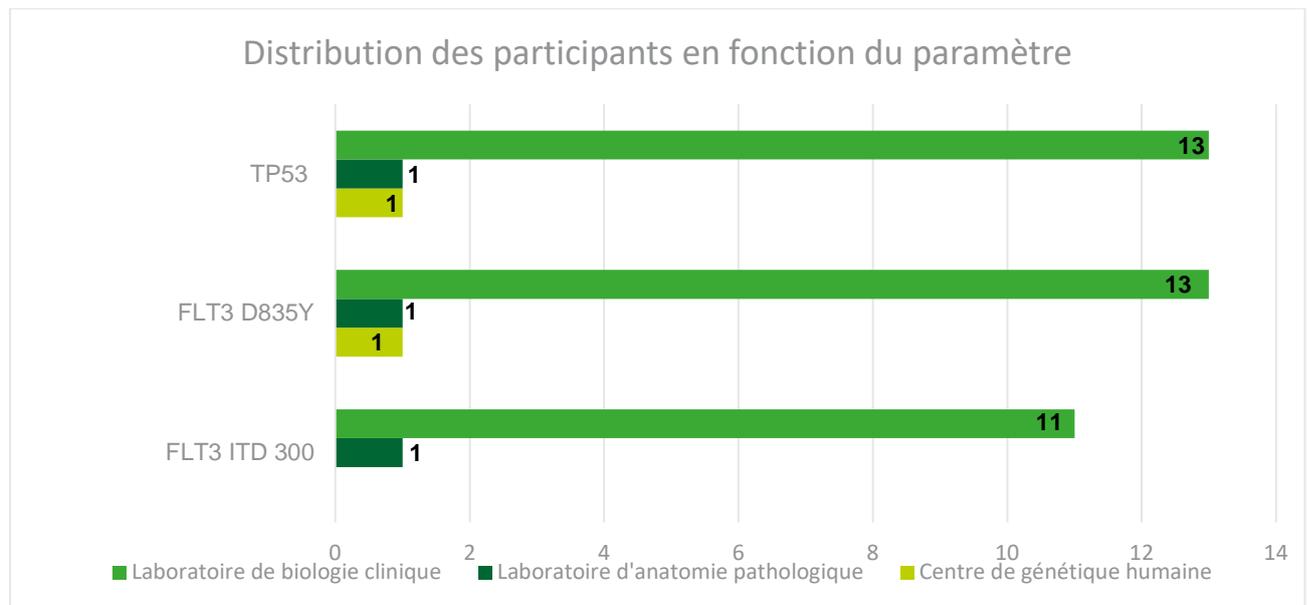


Chart 14 : Distribution des laboratoires par spécialités

4 laboratoires ont rendu des résultats pour FLT3 D835Y alors qu'ils n'étaient pas inscrits initialement.

### Résultats

Les laboratoires ont reçu un tube contenant 20 µl d'ADN dans du Tris-EDTA (concentration en ADN : 25 ng/µl). Nous leur avons demandé de rechercher la présence des mutations FLT3 D835Y ; FLT3 ITD300 ainsi que la présence de mutations du gène TP53 par des méthodes moléculaires selon ce qui est applicable pour leur laboratoire en fonction des prestations pour lesquelles ils s'étaient inscrits

## 1. Résultats par échantillon

Echantillon	Résultats attendus (AF)	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<b>MYE2022</b>	FLT3 ITD 300bp (AF=4.8%)	Présente	4 (33.3)
		Absente	7 (58.3)
	Pathogénique Impact clinique avéré	Non déterminée	1 (8.3)*
		FLT3 c.2503G>T (p.Asp835Tyr) (AF=4.79%)	Présente
	Pathogénique Impact clinique avéré		Présence d'une mutation FLT3 indéterminée dans les codons 835-836
	TP53 c.722C>T (p.Ser241Phe) (AF=5.03%) Probablement pathogénique Impact clinique avéré	Présente	15 (100)

\*Méthode non validée pour 300bp

Autres TP53 mutations détectées :

Mutations détectées	Nombre de participants
TP53 c.1101-2 A>C splice site (4.87%)	12
TP53 c.215 c>G p.(Pro72Arg) (93%)	1

## 2. Résultats par laboratoire

### 2.1 FLT3 ITD

Labo.	Méthodes utilisées	LOD (%)	MYE2022	
			FLT3 ITD300bp	Interprétation clinique
1	PCR + analyse de fragment Veriti Seq Studio kit in house		Non détectée	Absence associée avec un meilleur pronostic
2	PCR+analyse de fragment (CE) ABI analyzer Dx3500		Présente (ratio: 0,02)	Pathogénique
3	PCR + analyse de fragment (CE) ABI analyzer 3730 kit in house		Absente	/
4	QF-PCR + analyse de fragment (CE) ABI 3130XL kit in house		Absente	/
5	PCR-RFLP + analyse de fragment (CE) ABI analyzer 3500 XL kit custom		Absente	Jeune patient (<60) OS significativement plus haute si FLT3 absent

			MYE2022	
Labo.	Méthodes utilisées	LOD (%)	FLT3 ITD300bp	Interprétation clinique
6	NGS-Illumina Nextseq 550DX - Custom Qiaseq panel et PCR + analyse de fragment (CE) ABI analyzer 3500 XL kit custom	2	Sous la limite de détection (VAF=0,07%) pas investigué avec PCR-CE	Non détectée
7	NA			
8	PCR + analyse de fragment (CE) ABI analyzer3130XL - kit in house	20	Non détectée	/
9	Non communiquée		Non Déterminé- méthode validée jusque 126bp	/
10	NGS-Illumina Novaseq custom panel et PCR+analyse de fragment (CE) ABI analyzer 3500 XL kit custom	5	Présente (VAF=4,2%)	Pathogénique
11	PCR multiplex + analyse de fragment (CE) ABI analyzer 3500		Présente (VAF=2%)	Impact clinique avéré Pronostic prédictif Tier I
12	NA			
13	Analyse de fragment CEQ		Non détectée	/
14	ddPCR-QX200 Biorad custom primers and probe		Présente (VAF=2%)	Pathogénique
15	NA			

## 2.2 FLT3 D835Y

			MYE2022	
Labo.	Méthodes utilisées	LOD (%)	NM_004119.3(FLT3):c.2503G>T (p.Asp835Tyr) (VAF)	Interprétation clinique
1	PCR-analyse de fragment Veriti Seq Studio kit in house		Mutation indéterminée détectée dans les codon 835-836 (10%)	Haute sensibilité pour les FLT3 TKI midostaurin et gilterinitib
2	NGS Illumina Miseq kit Trusight Myeloid	5	Présente (5,80%)	Pathogénique
3	NGS Illumina Miseq Panel custom-Qiagen	5	Présente VAF=3.80%	Pathogénique impact clinique avéré
4	NGS Illumina MiseqDx panel custom Qiaseq targeted	5	Présente (3,50%)	Pathogénique
5	PCR-RFLP + analyse de fragment (CE) ABI analyzer 3500 XL kit custom		Faiblement présente (0,07%)	Eligible pour une thérapie aux midostaurin et gilterinitib-défavorable si associé à une mutation TP53
6	NGS Illumina Nextseq 550DX panel custom Qiaseq	2	Présente (4,90%)	Pathogénique mutation hotspot connue

			MYE2022	
Labo.	Méthodes utilisées	LOD (%)	NM_004119.3(FLT3):c.2503G>T (p.Asp835Tyr) (VAF)	Interprétation clinique
7	NGS Illumina Miseq panel custom targeted DNA Qiaseq	3	Présente (4%)	Pathogénique Tier I- Intérêt clinique significatif- sensibilité aux inhibiteurs FLT3 (ex.Midostaurin)
8	NGS Illumina Miseq paneAmpliseq Myeloid I for Illumina	SNV: 2 INDEL: 2-5	Présente (5,50%)	Pathogénique (classification biologique)
9	NGS Illumina Miseq panel custom targeted DNA Qiaseq	3	Présente (4,10%)	Pathogénique Tier I- Intérêt clinique significatif- sensibilité aux inhibiteurs FLT3 Prognostic faible
10	Capture based NGS Nextseq 550dx panel custom twist	2%(rapportage apd 5%)	Présente (5,30%)	Sensibilité aux midostaurin et gilterinitib + haute dose de chimiothérapie
11	NGS Illumina Novaseq custom panel Et PCR-CE ABI analyzer 3500 XL kit custom	5	Présente (5,20%)	Pathogénique
12	NGS Illumina Miseq Panel custom Haloplex somatique AML	5	Présente (4%)	Tier I-Impact clinique avéré (LMA) Pronostic prédictif
13	NA			
14	NGS Illumina Miseq Panel Ampliseq Myeloid for Illumina	5	Présente (5%)	Prédictif pour une réponse aux inhibiteurs FLT3 (ex.Midostaurin) bien que faible VAF
15	NGS Illumina Nextseq 500 panel Variant plex Core myeloid - Archer DX	5	Présente (2%)	Pathogénique
16	Capture based NGS Illumina Novaseq 6000 panel custom	5	Présente (4,20%)	Tier I- Sensibilité aux midostaurin et gilterinitib- Prognostic faible

## Distribution des fréquences alléliques rapportées pour la détection de la mutation FLT3 D835Y

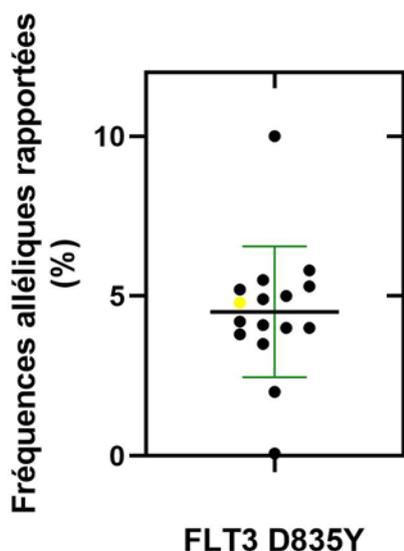


Chart 15 : Distribution des fréquences alléliques rapportées pour la détection de la mutation FLT3 D835Y dans l'échantillon MYE2022. Le point jaune correspond à la fréquence allélique donnée par le fournisseur

1 laboratoire qui a utilisé une technique PCR a rapporté une fréquence allélique largement plus haute que la moyenne des fréquences alléliques rapportées. Un autre laboratoire a lui rapporté une fréquence allélique nettement inférieure à la moyenne des fréquences alléliques rapportées.

### 2.3 TP53

Labo.	Méthodes utilisées	LOD (%)	MYE2022			Interprétations cliniques
			Mutations TP53 détectées (AF)			
1	NGS Illumina Miseq Panel custom Haloplex HS	5%	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5.5%)			Variant probablement pathogène
2	NGS Illumina Miseq kit Trusight Myeloid	5%	c.722 C>T p(Ser241Phe) (6.8%)	c.1101-2 A>C splice site (4.6%)		Pathogène / Variant probablement pathogène
3	NGS Illumina Miseq panel custom Qiagen	5%	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5.4%)	c.1101-2 A>C splice site (5.9%)		Probablement pathogénique Impact clinique avéré AML / Probablement pathogénique Impact clinique avéré AML
4	NGS Illumina MiseqDx panel custom targeted Qiaseq	5%	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5%)			Probablement pathogénique
5			NA			
6	NGS Illumina Nextseq 550DX Qiaseq custom panel	2%	c.722 C>T p(Ser241Phe) (4.9%)	c.1101-2 A>C splice site (6.5%)		Mutation pathogène / Mutation probablement pathogénique

MYE2022

Labo.	Méthodes utilisées	LOD (%)	Mutations TP53 détectées (AF)			Interprétations cliniques
7	NGS-Illumina Miseq Qiaseq panel custom targeted DNA	3	c.722 C>T p(Ser241Phe) (4.8%)	c.1101-2 A>C splice site (4.8%)		Tier I-Intérêt clinique significatif- lié à un mauvais pronostic
8	NGS Illumina Miseq panel Ampliseq Myeloid for Illumina	SNV:2 INDEL:2-5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5%)	c.1101-2 A>C splice site (4.1%)		Pathogène / Mutation probablement pathogénique
9	NGS Illumina Miseq panel custom targeted DNA Qiaseq	3	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5%)	c.1101-2 A>C splice site (4.1%)		Pathogène Tier I intérêt clinique significatif pronostic moins bon / Mutation probablement pathogénique- Tier I intérêt clinique significatif pronostic moins bon
10	Capture based NGS Nextseq550dx panel custom twist	2 (limite de rapportage: 5%)	c.722 C>T p(Ser241Phe) (4.1%)	c.1101-2 A>C splice site (6.1%)		Pathogène
11	NGS Illumina Novaseq panel custom	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (4%)	c.1101-2 A>C splice site (5.2%)		Variant probablement pathogénique / Variant probablement pathogénique
12	NGS Illumina Miseq Panel Haloplex	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (6%)	c.1101-2 A>C splice site (4%)		Impact clinique avéré Pronostic Tier I / Impact clinique avéré Pronostic Tier I
13	NGS Illumina Miseq panel BRCA somatic 1032 Qiagen + NGS panel Genereader BRCA advanced	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5.11%)	c.1101-2 A>C splice site (4.13%)		Pathogénique d'impact clinique avéré (Tier IA) / Probablement pathogénique
14	NGS Illumina Miseq Panel Ampliseq for Illumina Myeloid	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (6%)		c.215 c>G p.(Pro72Arg) (4.4%)	Pronostic inquiétant / Pronostic inquiétant

			MYE2022			
Labo.	Méthodes utilisées	LOD (%)	Mutations TP53 détectées (AF)		Interprétations cliniques	
15	NGS Ion Torrent Ampliseq panel custom Ion Genestudio S5 prime	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5%)	c.1101-2 A>C splice site (93%)	Probablement pathogénique /benin	
16	Capture based NGS Illumina Novaseq 6000 custom panel	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5.6%)	c.1101-2 A>C splice site (4.7%)	Pronostic faible- sensibilité à la chimiothérapie et aux "hypomethylating agents"	

### Distribution des fréquences alléliques rapportées pour la détection de la mutation TP53 S241F

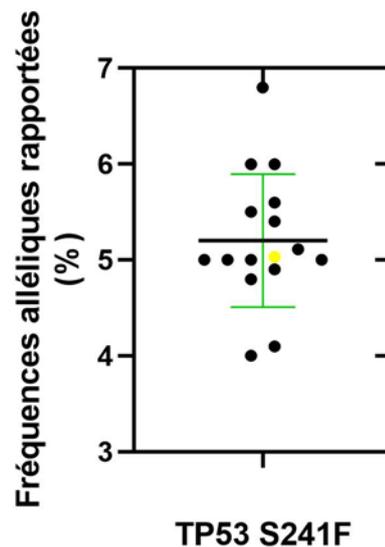


Chart 16 : Distribution des fréquences alléliques rapportées pour la détection de la mutation TP53 S241F dans l'échantillon MYE2022. Le point jaune correspond à la fréquence allélique donnée par le fournisseur

1 laboratoire qui a utilisé une technique NGS a rapporté une fréquence allélique largement plus haute que la moyenne des fréquences alléliques rapportées. 2 laboratoires utilisant aussi le NGS ont eux rapporté une fréquence allélique inférieure à la moyenne des fréquences alléliques rapportées.

### 3. Commentaires

- 7 laboratoires n'ont pas détecté la présence de « l'internal tandem duplication FLT3 » de 300bp. La mutation était présente avec une fréquence allélique de 4.8%, ce qui est en dessous de la limite de détection de la plupart des laboratoires ayant utilisé le NGS. Comparé à l'enquête réalisé en 2020, la plupart des laboratoires qui n'ont pas détecté la mutation ont utilisé la technique PCR suivi d'une analyse de fragment.

#### 4. Méthodes utilisées

##### A. FLT3 ITD et FLT3 D835Y

###### A.1 FLT3 ITD

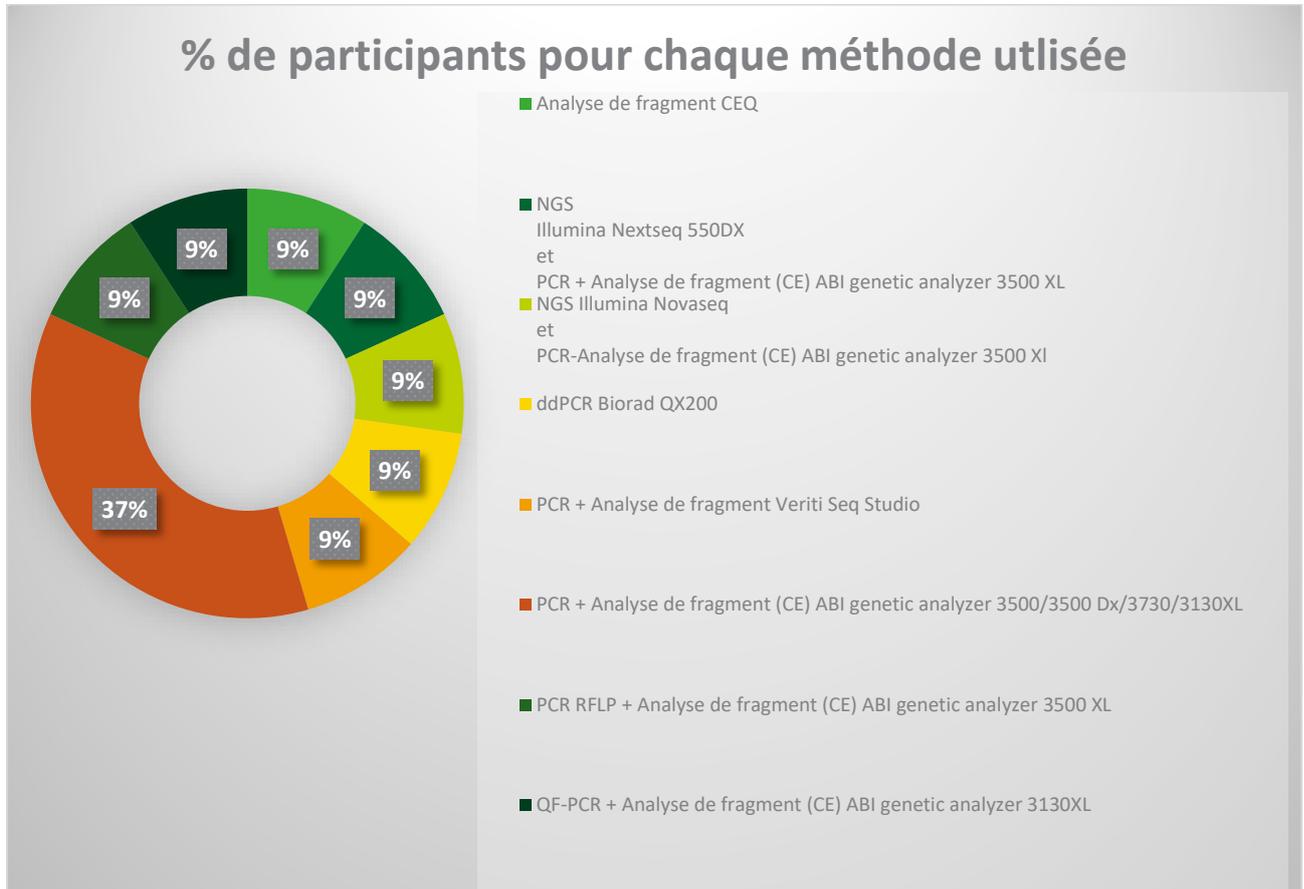


Chart 17: Distribution des laboratoires par méthode pour la détection de la mutation FLT3 ITD 300bp..

La technique la plus utilisée est la technique PCR-RFLP combinée à de l'analyse de fragment. Les kits/panels utilisés sont pour la plupart des panels custom.

###### A.2 FLT3 D835Y

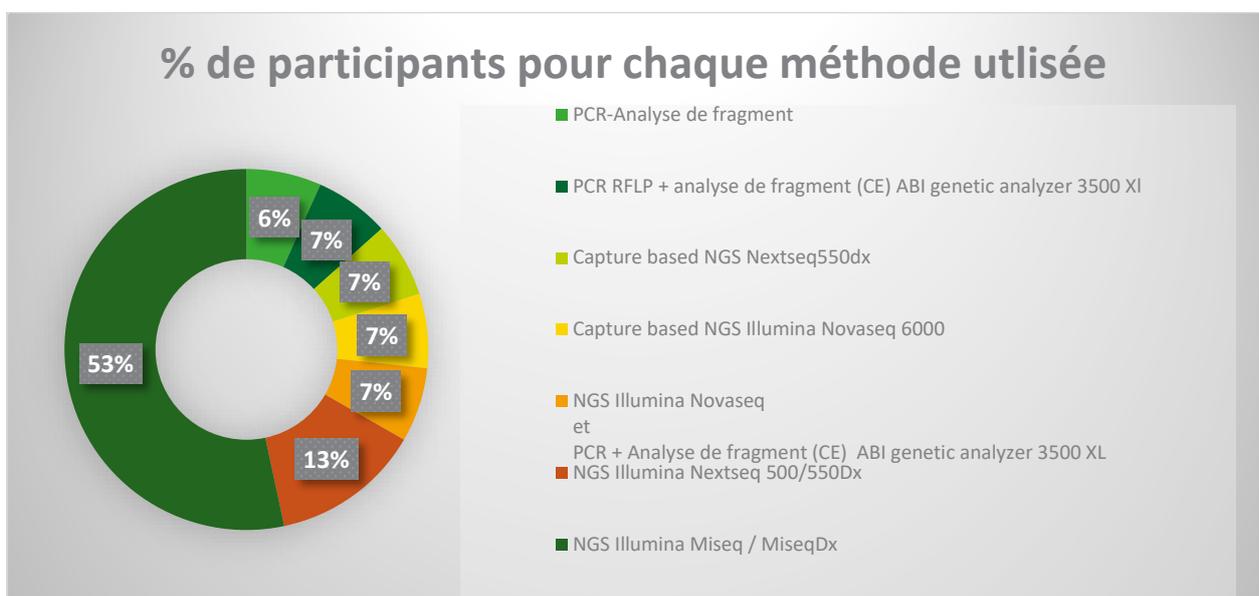


Chart 18 : Distribution des laboratoires par méthode pour la détection de la mutation FLT3 D835Y..

La technique la plus utilisée pour la détection de la mutation FLT3 D835Y est la technique NGS. Les séquenceurs les plus utilisés sont les séquenceurs Miseq et Nextseq 550DX de chez Illumina.

La distribution des participants par panel utilisé est représentée ci-dessous :

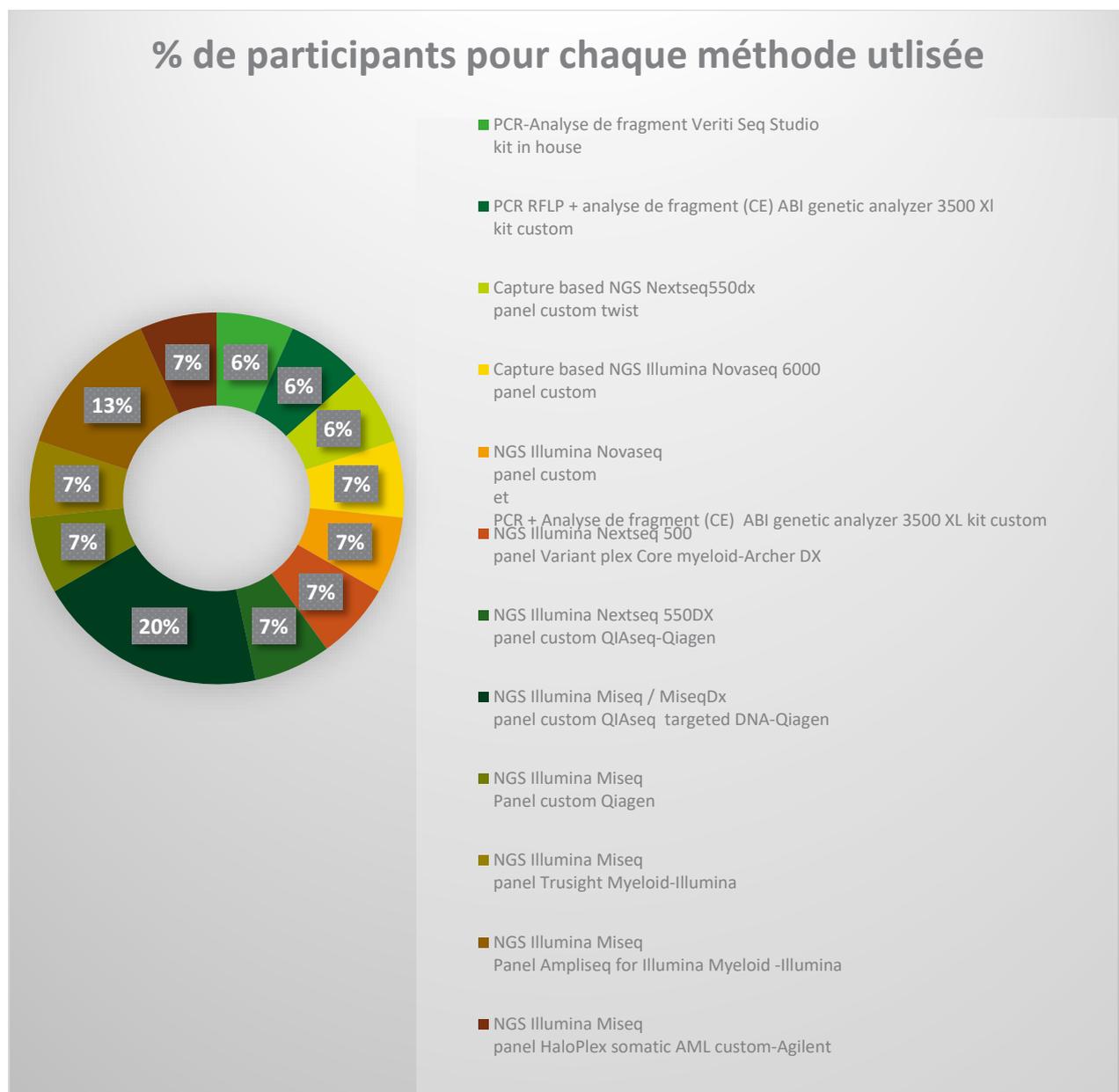


Chart 19 : Distribution des laboratoires par panel/kit utilisé pour la détection de la mutation FLT3 D835Y..

Le panel NGS le plus utilisé est le panel custom QIAseq targeted DNA de chez Qiagen.

Veuillez noter que 2 laboratoires ont changé de méthode par rapport à la précédente enquête réalisée en 2020. 1 des laboratoires utilisait précédemment la méthode NGS avec le panel « Trusight Myeloid sequencing » de chez *Illumina* et utilise maintenant le panel « Ampliseq Myeloid » de chez *Illumina*. L'autre laboratoire utilisait quant à lui la méthode NGS avec le panel « SureMaster CLL » de chez *Agilent* et utilise maintenant le panel somatique « AML custom Haloplex » de chez *Agilent*.

## B. TP53



Chart 20 : Distribution des laboratoires par séquenceur utilisé pour la détection de la mutation TP53 S241F.

La technique la plus utilisée pour la détection de mutations du gène TP53 est la technique NGS. Les séquenceurs les plus utilisés sont les séquenceurs Miseq et Nextseq 550DX de chez Illumina.

La distribution des participants par panel utilisé est représentée ci-dessous :

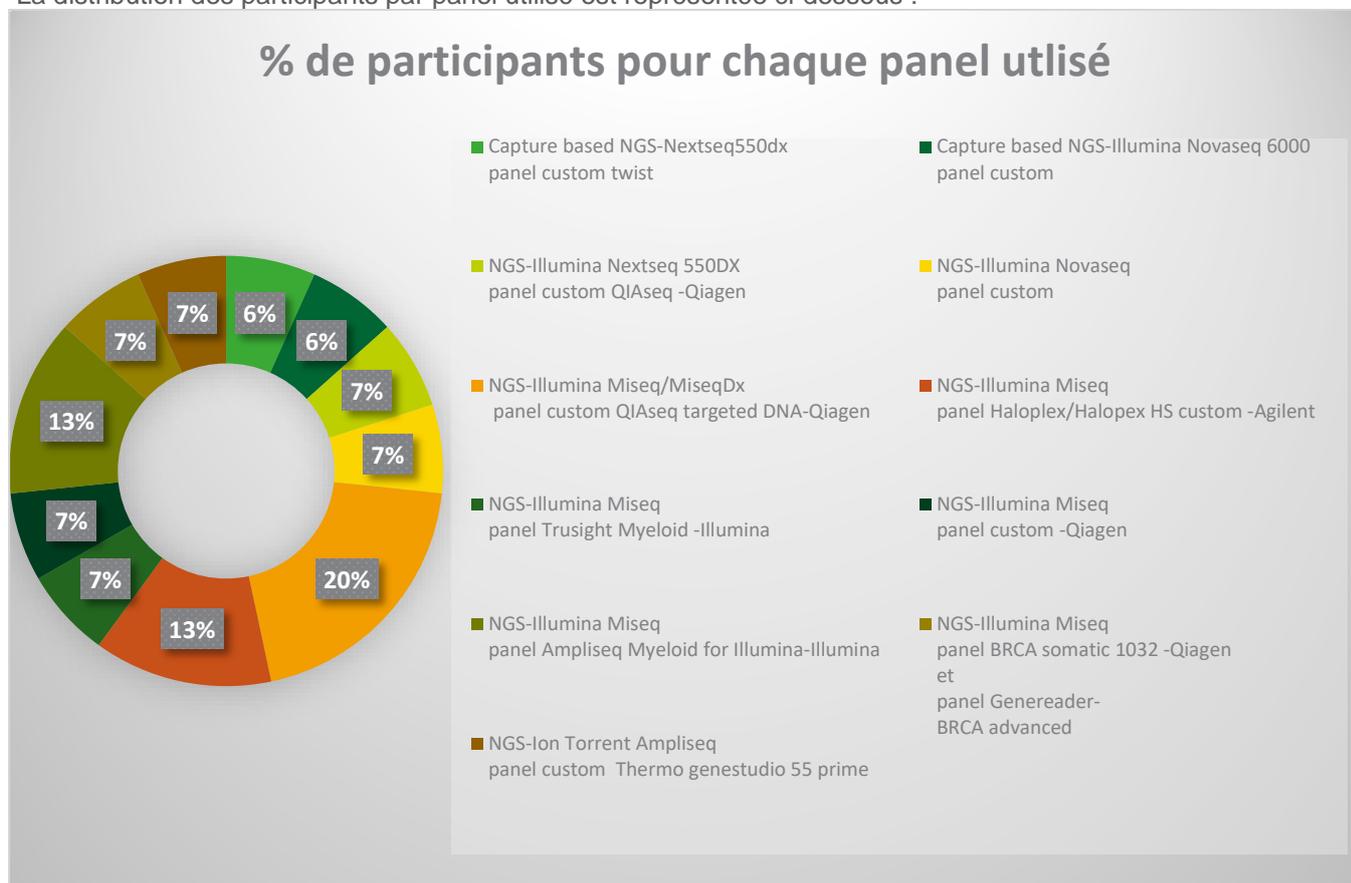


Chart 21 : Distribution des laboratoires par panel NGS utilisé pour la détection de la mutation TP53 S241F.

Le panel NGS le plus utilisé est le panel custom QIAseq targeted DNA de chez Qiagen.

### Conclusions sur les performances des laboratoires

Concernant la détection de la mutations FLT3 ITD, la plus grande fréquence d'erreurs peut provenir de la faible fréquence allélique de la mutation dans l'échantillon. La plupart des laboratoires n'ayant pas détecté la mutation ont utilisé une technique PCR.

Concernant la détection de mutations du gène TP53, les performances des laboratoires participants sont satisfaisantes. L'ensemble des laboratoires participants a détecté la présence de la mutation attendue.

## HER 2

### Echantillon

Les échantillons sont des coupes FFPE de 4 µm d'épaisseur provenant de biopsies de carcinomes mammaires. Ils proviennent de la biobanque Discovery Life Science (3509 Elgin St, Suite 300 Houston, TX 77004-USA).

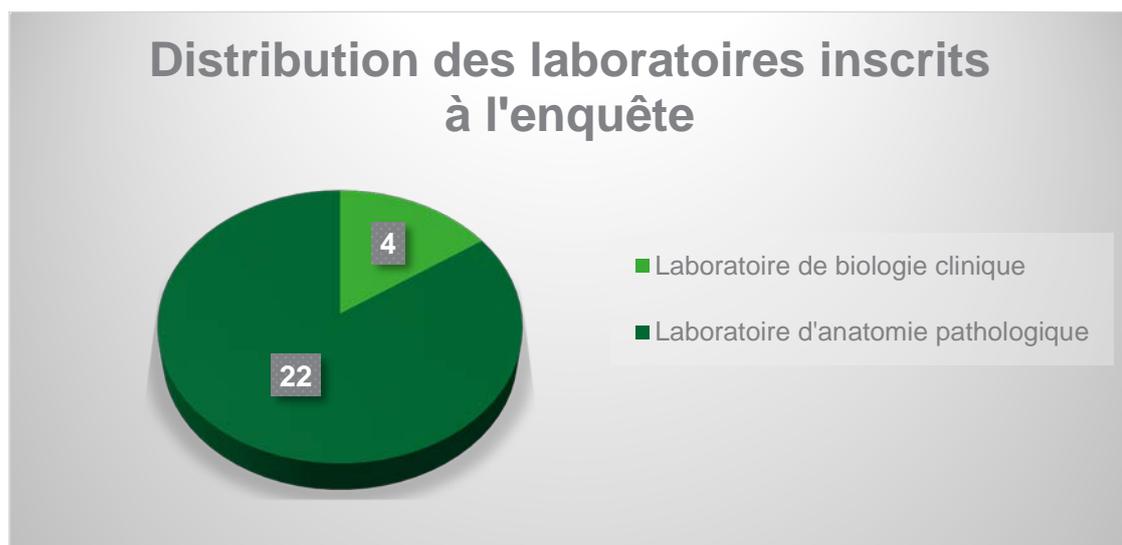
Les échantillons sont accompagnés des données cliniques relatives à chaque patient : âge, sexe, race, site de la tumeur, type de tumeur, données pathologiques, indications sur le traitement reçu par le patient (si disponible) ainsi que les résultats de l'IHC et le statut de HER2 (amplifié ou non) sauf pour le cas équivoque IHC 2+.

Cas clinique F00122614 : Femme de 55 ans présentant un carcinome ductal, invasif au niveau du sein droit de stade II-A. La tumeur est de classe T2 NO MO. Le résultat de l'immunohistochimie pratiquée en amont est IHC 2+ (ER-négatif et PR-négatif).

Cas clinique F00117380 : Femme de 61 ans présentant un carcinome invasif de type NST de stade II-A au niveau du sein gauche. La tumeur est de classe T2 NO MO. Le résultat de l'immunohistochimie pratiquée en amont est IHC 3+ (ER-positif et PR-négatif).

### Participation

26 laboratoires étaient inscrits à l'enquête. La distribution des laboratoires s'effectue comme suit :



*Chart 22 : Distribution des laboratoires inscrits par spécialités*

Tous les laboratoires inscrits ont participé à l'enquête. 1 laboratoire n'a pas été évalué car il n'a pas utilisé une technique de type ISH mais une méthode NGS.

### Résultats

Les laboratoires ont reçu 3 lames FFPE pour 2 cas cliniques différents. Il leur était demandé de détecter l'amplification du gène HER2 par des méthodes moléculaires de type ISH. Les résultats des tests immunohistochimiques précédemment réalisés leur étaient communiqués.

Il était également demandé aux laboratoires la méthode utilisée pour la détection de la mutation ainsi que les guidelines suivies.

## 1. Résultats par échantillon

Echantillon	Résultats attendus	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<b>F00117380</b>	HER2 amplifié (éligible pour une thérapie anti-HER2)	HER2 amplifié	23 (92)
		HER2 non amplifié	2 (8)**
<b>F00122614</b>	HER2 non amplifié (non éligible pour une thérapie anti-HER2)*	HER2 non amplifié	23 (92)
		HER2 amplifié	2 (8)**

### \*Déterminé par consensus des réponses des laboratoires participants

\*\* Après contact les 2 laboratoires ayant initialement répondu « non amplifié » pour le cas 380 et « amplifié » pour le cas 614, l'un d'eux nous a confirmé une erreur lors du rapportage des résultats et nous a envoyé ses données brutes. De plus, les interprétations cliniques et biologiques rapportées allaient dans le sens de l'amplification attendue. Pour l'autre il s'agit d'une erreur de remplissage des fichiers en interne par 2 des 3 pathologistes ayant évalué les cas. Le laboratoire nous a envoyés les données brutes de l'évaluation du dernier pathologiste.

Pour information, la distribution des ratios éventuellement donnés par les laboratoires est disponible ci-dessous. Ces informations données appuient le fait que le statut des cas est clair et qu'il n'y a pas de doute possible quant à celui-ci.

Echantillon	Ratio	Nombre laboratoires
<b>F00117380</b>	2-4	1
	4-7	5
	≥ 7	6
<b>F00122614</b>	<1	2
	1-1,3	10

## 2. Résultats par laboratoire

		F00117380		
Labo	Méthodes utilisées	Statut	Interprétations biologiques	Interprétations cliniques
1	FISH- Leica Bond III Leica HER2 Fish system_30test-Leica biosystems	Amplifié	Pathogénique	Tier IA indication pour une thérapie ciblant HER2
2	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)- Ventana	Amplifié	Pathogénique	Éligible pour une thérapie anti HER2
3	FISH PathVision HER2-DNA probe kit-Abbott	Amplifié	Positif	Prédictif pour une réponse à la thérapie ciblant HER2
4	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)- Ventana	Amplifié	Lum B (Luminal B breast cancer)	Lum B (Luminal B breast cancer)

F00117380				
Labo	Méthodes utilisées	Statut	Interprétations biologiques	Interprétations cliniques
5	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)- Ventana	Amplifié	HER2 amplifié	HER2 positif
6	FISH PathVision HER2-DNA probe kit-Abbott	Amplifié	Ratio HER2/CEP17= 10	NA
7	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)- Ventana	Amplifié	HER2 amplifié	Positif
8	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)- Ventana	Amplifié	Ratio HER2/CEP17= 7	Ratio HER2/CEP17= 7
9	FISH HER2 Fish PharmDX-Agilent	Amplifié	Ratio HER2/CEP17= 3,89	
10	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)- Ventana	Amplifié	HER2 +	Positif
11	FISH HER2 IQFish PharmDX-Agilent	Amplifié	Ratio HER2/CEP17= 5,80	
12	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)- Ventana	Amplifié	Groupe 1- Ratio HER2/CEP17 = 7,3	
13	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)- Ventana	Amplifié	Ratio HER2/CEP17 = 6,3	Amplification du gène HER2
14	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)- Ventana	Amplifié	Ratio HER2/CEP17 = 7,15	Positif
15	FISH HER2 IQFish PharmDX-Agilent	Amplifié	Groupe 1- Ratio HER2/CEP17 >2; HER2 copy moyen >4	Prédictif pour une réponse aux thérapies ciblant HER2
16	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)- Ventana	Amplifié	Groupe 1 HER2 ISH amplifié	Statut HER2 positif
17	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)- Ventana	Amplifié	Ratio HER2/CEP17 = 5,6	Positif
18	FISH HER2 Fish PharmDX-Agilent	Amplifié	Ratio HER2/CEP17 = 6,3	Positif

F00117380				
Labo	Méthodes utilisées	Statut	Interprétations biologiques	Interprétations cliniques
19	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay 3 (new 2020)- Ventana	Amplifié	Ratio HER2/CEP17 = 5,88	
20*	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay 3 (new 2020)- Ventana	<b>Non- Amplifié</b> Après relecture des données brutes : <b>AMPLIFIE</b>	Groupe 1	
21	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay 3 (new 2020)- Ventana	<b>Non-Amplifié</b> Après confirmation par 3ieme path. : <b>AMPLIFIE</b>	Négatif	Pas de thérapie
22	FISH PathVision HER2- DNA probe kit-Abbott	Amplifié	Ratio HER2/CEP17 = 7,9	Positif
23	FISH HER2 Fish PharmDX-Agilent	Amplifié	Amplification gène HER2/neu	Patient éligible pour le traitement à l'Herceptine
24	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay 3 (new 2020)- Ventana	Amplifié	Positif	Positif
25	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay 3 (new 2020)- Ventana	Amplifié	Ratio HER2/CEP17 = 7,10	

F00122614				
Labo	Méthodes utilisées	Statut	Interprétations biologiques	Interprétations cliniques
1	FISH- Leica Bond III Leica HER2 Fish system_30test-Leica biosystems	Non-Amplifié	bénin	Tier IA aucune indication pour une thérapie ciblant HER2
2	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay 3 (new 2020)- Ventana	Non-Amplifié	NA	pas d'indication pour une thérapie anti HER2
3	FISH PathVision HER2- DNA probe kit-Abbott	Non-Amplifié	négatif	
4	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay 3 (new 2020)- Ventana	Non-Amplifié	TNBC (Triple-negative breast cancer)	TNBC ( Triple- negative breast cancer)
5	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay 3 (new 2020)- Ventana	Non-Amplifié	HER2 non amplifié	HER2 négatif

F0122614				
Labo	Méthodes utilisées	Statut	Interprétations biologiques	Interprétations cliniques
6	FISH PathVision HER2-DNA probe kit-Abbott	Non-Amplifié	Ratio HER2/CEP17= 1,2	NA
7	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)-Ventana	Non-Amplifié	HER2 non amplifié	HER2 négatif
8	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)-Ventana	Non-Amplifié	Ratio HER2/CEP17 = 1	Ratio HER2/CEP17 = 1
9	FISH HER2 Fish PharmDX-Agilent	Non-Amplifié	Ratio HER2/CEP17= 1,06	
10	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)-Ventana	Non-Amplifié	HER2 -	négatif
11	FISH HER2 IQFish PharmDX-Agilent	Non-Amplifié	Ratio HER2/CEP17= 1,14	
12	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)-Ventana	Non-Amplifié	Groupe 5 Ratio HER2/CEP17 = 1,12	
13	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)-Ventana	Non-Amplifié	Ratio HER2/CEP17 =1,03	absence d'amplification du gène HER2
14	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)-Ventana	Non-Amplifié	Ratio HER2/CEP17 =1,09	négatif
15	FISH HER2 IQFish PharmDX-Agilent	Non-Amplifié	Groupe 5 Ratio Ratio HER2/CEP17 <2. HER2 copy moyen <4	patiente non éligible pour une thérapie
16	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)-Ventana	Non-Amplifié	Groupe 5 HER2 ISH pas d'amplification	Statut HER2 négatif
17	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)-Ventana	Non-Amplifié	Ratio HER2/CEP17 = 1,04	négatif
18	FISH HER2 Fish PharmDX-Agilent	Non-Amplifié	Ratio HER2/CEP17 = 0,92	négatif
19	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay <sup>3</sup> (new 2020)-Ventana	Non-Amplifié	Ratio HER2/CEP17 = 0,97	

F0122614				
Labo	Méthodes utilisées	Statut	Interprétations biologiques	Interprétations cliniques
20*	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay 3 (new 2020)- Ventana	<b>Amplifié</b> Après relecture des données brutes : NON AMPLIFIE	Groupe 5	
21*	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay 3 (new 2020)- Ventana	<b>Amplifié</b> Après confirmation par un 3ieme path. : NON AMPLIFIE	Positif	Thérapie
22	FISH PathVision HER2- DNA probe kit-Abbott	Non-Amplifié	Ratio HER2/CEP17 = 1,3	Négatif
23	FISH HER2 Fish PharmDX-Agilent	Non-Amplifié	Pas d'amplification du gène HER2/neu	Pas de traitement à l'Herceptine
24	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay 3 (new 2020)- Ventana	Non-Amplifié	Négatif	Négatif
25	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay 3 (new 2020)- Ventana	Non-Amplifié	Ratio HER2/CEP17 = 1,015	

\*voir section 3. Commentaires

### 3. Commentaires

- Concernant les laboratoires n'ayant pas correctement répondu à l'enquête pour le statut HER2 des différents cas, les laboratoires ont vérifié leurs données brutes et nous les ont communiquées. Le premier s'est trompé lors du remplissage du statut. Pour l'autre il s'agit d'une erreur de remplissage de fichier en interne par deux des trois pathologistes. Les données brutes du troisième pathologiste nous ont été communiquées. Les deux laboratoires ont introduit une non-conformité dans le système qualité.
- En ce qui concerne la variabilité des réponses données au niveau des interprétations biologiques et cliniques, le comité d'experts a fait remarquer lors de sa réunion du 5/12/2022 que le rapport clinique ne mentionne généralement pas la conclusion thérapeutique (interprétation clinique) mais juste l'amplification du gène HER2. Cela peut donc expliquer que les réponses attendues pour ces champs n'étaient pas claires pour les laboratoires. Le formulaire de réponse sera donc adapté en demandant uniquement le ratio HER2/CEP17 ainsi que le statut HER2.

#### 4. Méthodes utilisées

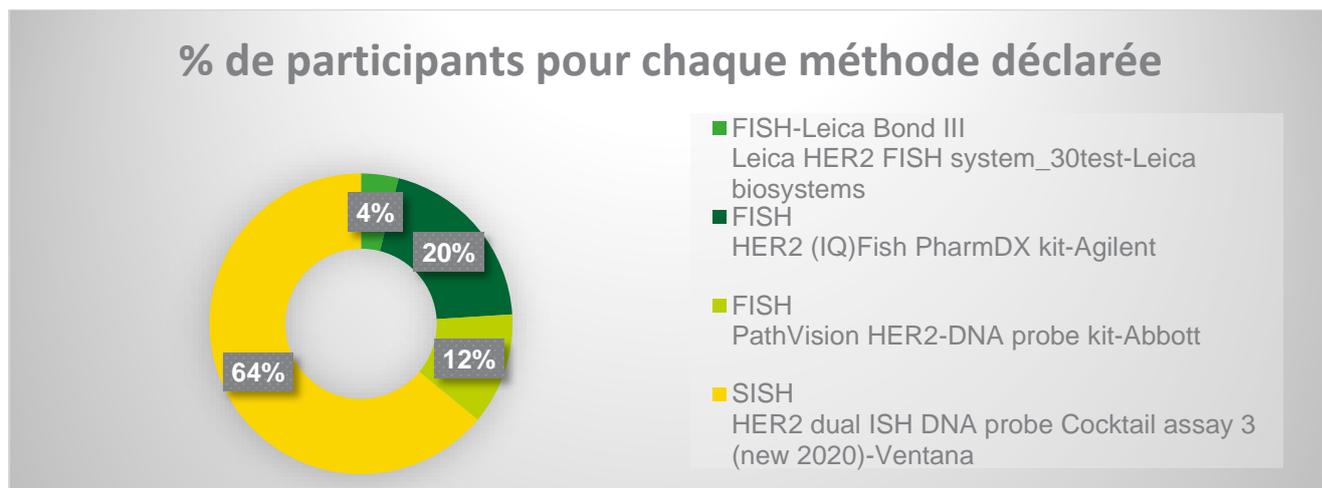


Chart 23: Distribution des laboratoires par méthode pour la détection de l'amplification du gène HER2

La méthode la plus utilisée par les participants pour la détection de l'amplification du gène HER2 est la méthode Ventana HER2 Dual ISH.

Veuillez noter qu'un laboratoire a changé de méthode. En 2021, celui-ci utilisait une méthode FISH avec le kit « PathVision HER2-DNA probe kit » de chez *Abbott* et il a utilisé en 2022 une méthode FISH mais avec le kit « Leica HER2 FISH-systel\_30test » de *Leica biosystems*.

#### 5. Guidelines utilisées

Les guidelines les plus suivies pour établir le statut HER2 sont les guidelines ASCO-CAP 2017-2018.

#### Conclusions sur les performances des laboratoires

Les performances des laboratoires sont très satisfaisantes pour cette enquête. Les deux laboratoires s'étant trompé lors du remplissage du formulaire et en interne mais dont les données brutes sont correctes, ont notifié cet incident dans leur système qualité. Il est également important de souligner que les résultats de ces laboratoires aux précédentes enquêtes concernant la détection de l'amplification du gène HER2 étaient satisfaisants. Il n'y avait alors pas eu de fautes commises lors de la retranscription des résultats.

## ALK-ROS1

### Echantillons

La fabrication des échantillons ALK et ROS1 a été sous-traitée à la firme Sanbio (Frontstraat 2-C, 5405 PB Uden, NL) qui travaille avec la firme Histocyte (Neon Building Quorum Business Park Benton Lane, Newcastle upon Tyne NE12 8BU, UK). Dans le cadre de ces enquêtes, 75 lames en verre positivement chargées et présentant 2 coupes FFPE de 4 µm d'épaisseur réalisées à partir de lignées cellulaires (adénocarcinome du poumon ou du sein) nous ont été fournies pour chaque paramètre.

Chaque lame présente donc deux spots l'un Wild-type et l'autre présentant la mutation (gène de fusion EML4-ALK ou translocation SLC34A2-ROS1).

ALK-Cas clinique spot A : Homme de 65 ans présentant un carcinome du poumon non squameux à composante ADC pour lequel aucune mutation driver n'est trouvée (avec NGS ou autre technique moléculaire).

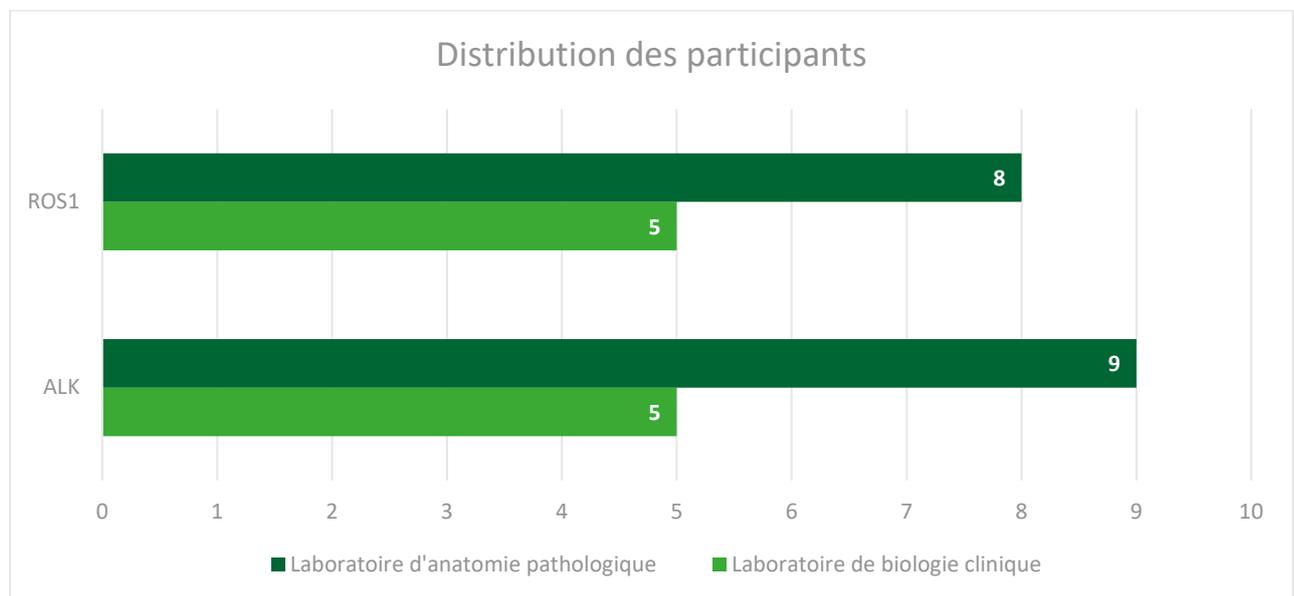
ALK- Cas clinique spot B : Femme 70 ans présentant un carcinome du poumon non squameux à composante ADC pour lequel aucune mutation driver n'est trouvée (avec NGS ou autre technique moléculaire).

ROS1-Cas clinique spot A : Femme de 68 ans présentant un carcinome du poumon non squameux à composante ADC pour lequel aucune mutation driver n'est trouvée (avec NGS ou autre technique moléculaire).

ROS1- Cas clinique spot B : Homme 72 ans présentant un carcinome du poumon non squameux à composante ADC pour lequel aucune mutation driver n'est trouvée (avec NGS ou autre technique moléculaire).

### Participation

15 laboratoires se sont inscrits pour les enquêtes. La distribution des participants s'effectue comme suit :



*Chart 24 : Distribution des laboratoires inscrits par spécialités*

4 laboratoires se sont désinscrits après l'envoi des échantillons.

NB : 1 laboratoire a utilisé une technique non validée (qPCR) pour ces échantillons. Il n'a pas été pris en compte dans l'évaluation mais ces résultats sont indiqués dans ce rapport à titre informatif.

## Résultats

Les laboratoires ont reçu 4 coupes FFPE de 4 µm d'épaisseur réalisées à partir de lignées cellulaires. Chaque lame présente deux spots comme illustré ci-dessous. Chaque spot correspond à un cas clinique différent.



### 1. Résultats par échantillon

Echantillon	Résultats attendus	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<b>ALK-2022</b> <b>SPOT A</b>	Présence du gène de fusion	Présence du gène de fusion	10 (100)
<b>ALK-2022</b> <b>SPOT B</b>	WT	WT	10 (100)

Echantillon	Résultats attendus	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<b>ROS1-2022</b> <b>SPOT A</b>	Présence d'un réarrangement	Présence d'un réarrangement	10 (100)
<b>ROS1-2022</b> <b>SPOT B</b>	WT	WT	10 (100)

### 2. Résultats par laboratoire

Labo	Méthodes utilisées	ALK-2022	
		SPOT A	SPOT B
1	FISH-Leica Bond III-Kreatech FISH probes ALK (2p23) Break-XL for Bond	ALK fusionné	ALK WT
2*	qPCR- <i>Idylla -gene fusion kit-Biocartis</i>	ALK fusionné	ALK WT
3	FISH-Méthode manuelle-Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit-Abbott	ALK fusionné	ALK WT
4	FISH-VP2000-Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit-Abbott	ALK fusionné	ALK WT
5	FISH-DAKO OMNIS-ALK IQFISH Break apart probe-Agilent	ALK fusionné	ALK WT
6	FISH-Thermobrite Abbott Molecular-Vysis ALK break apart FISH probe kit-Abbott	ALK fusionné	ALK WT
7	FISH-méthode manuelle- Vysis ALK break apart FISH probe kit- ABBOTT	ALK fusionné	ALK WT
8	FISH-méthode manuelle- Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit-ABBOTT	ALK fusionné	ALK WT
9	FISH-méthode manuelle- Vysis ALK break apart FISH probe kit- ABBOTT	ALK fusionné	ALK WT
10	FISH-méthode manuelle-ALK IQFISH Break apart probe-Agilent	ALK fusionné	ALK WT

\*Ce laboratoire a utilisé une technique non validée pour le type d'échantillons. Nous n'avons pas tenu compte de ce laboratoire dans le rapport préliminaire.

Labo	Méthodes utilisées	ROS1-2022	
		SPOT A	SPOT B
1	FISH-Leica Bond III-Kreatech FISH probes ROS1 (6q22) Break-XL for Bond	ROS1 réarrangé	ROS1 WT
2*	qPCR- <i>Idylla -gene fusion kit-Biocardis</i>	ROS1 réarrangé	ROS1 WT
3	FISH-méthode manuelle- Vysis 6q22 ROS1 Break Apart FISH Probe kit-Abbott	ROS1 réarrangé	ROS1 WT
4	FISH-VP2000-ON ROS1 (6q22) Break probe-Leica	ROS1 réarrangé	ROS1 WT
5	FISH-DAKO OMNIS-ROS1 IQFISH Break apart probe-Agilent	ROS1 réarrangé	ROS1 WT
6	FISH-Thermobrite Abbott Molecular-Kreatech ROS1 (6q22) break FISH probe-Leica biosystems	ROS1 réarrangé	ROS1 WT
7	FISH-méthode manuelle-Kreatech ROS1 break FISH probe-Leica biosystems	ROS1 réarrangé	ROS1 WT
8	FISH-méthode manuelle-Vysis ROS1 Break Apart FISH Probe Kit abbott	ROS1 réarrangé	ROS1 WT
9	FISH-méthode manuelle- ZytoLight SPEC ROS1 Dual Color Break Apart Probe-Zytovision-ForLab	ROS1 réarrangé	ROS1 WT

\*Ce laboratoire a utilisé une technique non validée pour le type d'échantillons. Nous n'avons pas tenu compte de ce laboratoire dans le rapport préliminaire.

### 3. Commentaires

- Un laboratoire a utilisé une méthode non validée pour le type d'échantillon envoyé. Ce laboratoire a encodé des résultats en concordance avec les résultats attendus pour les 2 paramètres, ALK et ROS1.

### 4. Méthodes utilisées

#### 4.1 ALK

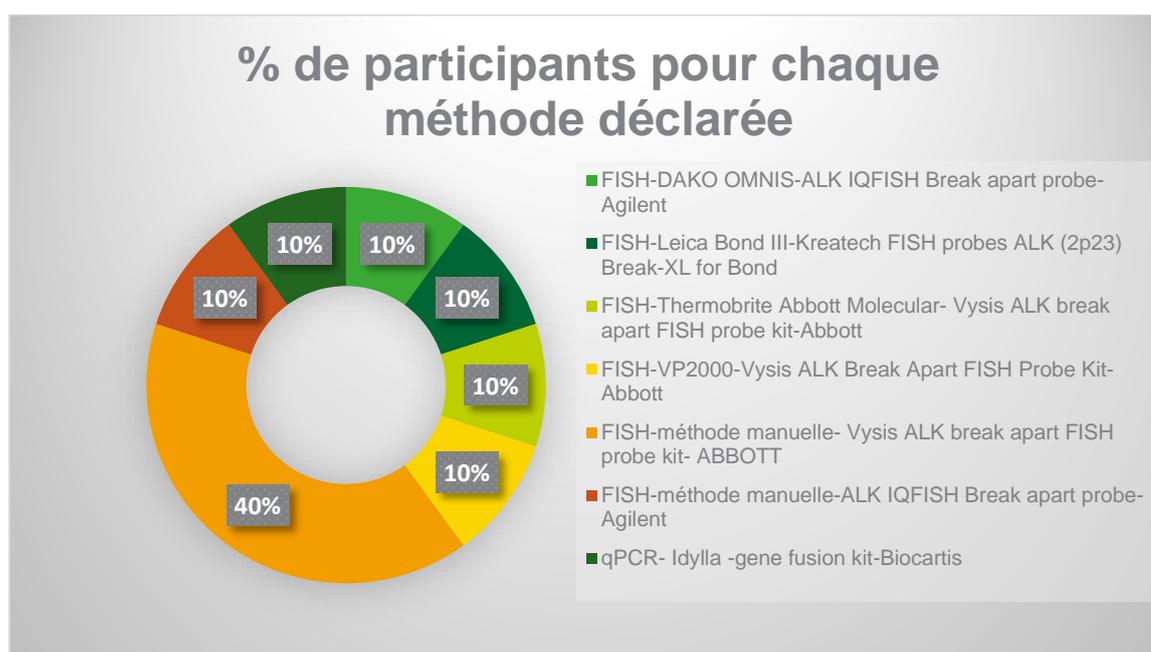


Chart 25 : Distribution des laboratoires par méthode pour la détection du gène fusion *EML4-ALK*.

Parmi les laboratoires ayant utilisé une méthode FISH pour la détection du gène de fusion ALK, la méthode manuelle avec une sonde Vysis ALK break apart FISH probe de chez Abbott est la plus utilisée.

## 4.2 ROS1

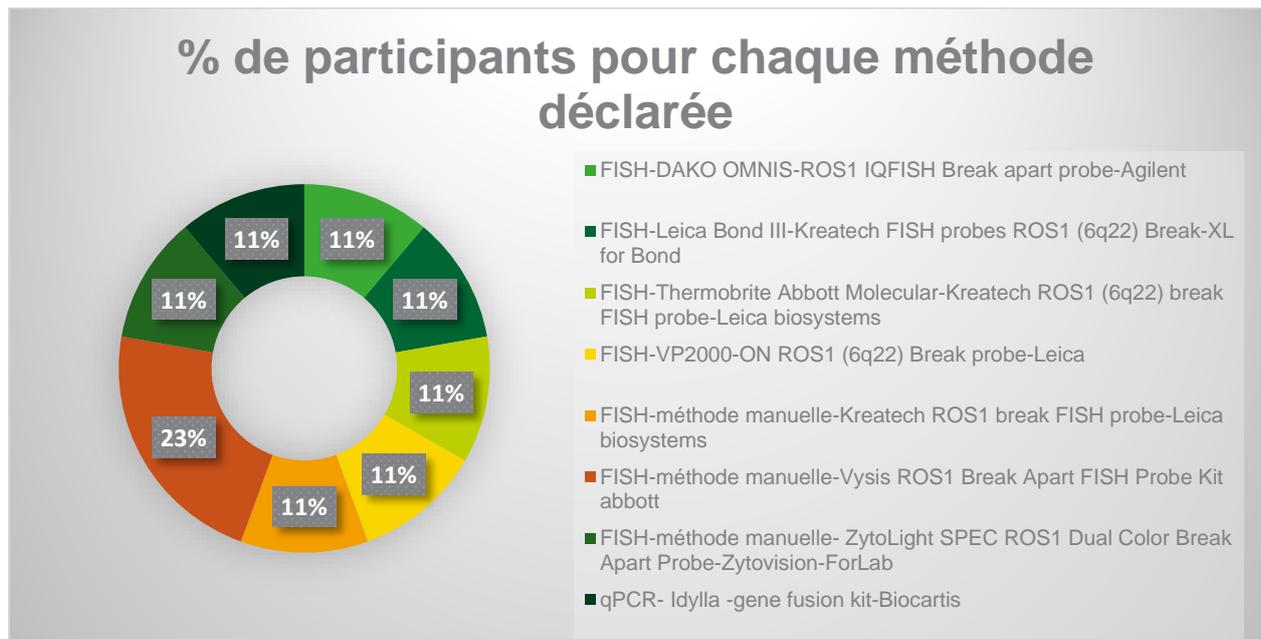


Chart 26 : Distribution des laboratoires par méthode pour la détection de la translocation *SLC34A2-ROS1*.

Parmi les laboratoires ayant utilisé une méthode FISH, la méthode manuelle avec une sonde Vysis ROS1 break apart FISH probe de chez Abbott.

### Conclusions sur les performances des laboratoires

Les performances des laboratoires pour la détection des réarrangements des gènes ALK et ROS1 sont très satisfaisantes. Nous pouvons noter que le laboratoire ayant utilisé une technique PCR a encodés des résultats en concordance avec les résultats attendus et avec les laboratoires ayant utilisé une technique FISH validée pour ce type d'échantillon.

## Evaluation externalisée : Détection de mutations dans le gène du facteur II et le gène du facteur V (ECAT)

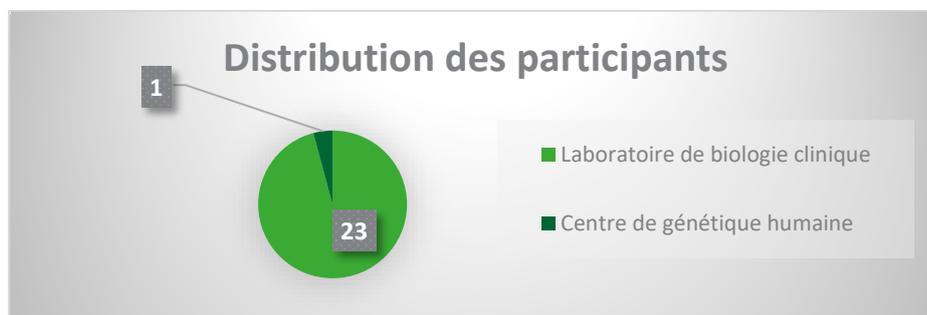
L'enquête a été externalisée auprès de notre fournisseur européen partenaire, *ECAT-External quality Control of diagnostic Assays and Tests* (<https://www.ecat.nl/>). Les participants belges ont été inscrits par Sciensano chez notre partenaire. Celui-ci a ensuite contacté *RfB-Reference institut for Bioanalytic* (<https://www.rfb.bio/cgi/surveys>) qui est l'organisateur des enquêtes de génétique moléculaire que l'ECAT propose.

### Echantillons

Les participants belges ont été inscrits à l'enquête « Molecular genetics 1-SET A » comprenant l'analyse d'un échantillon d'ADN lyophilisé pour la détection de la mutation du gène de la prothrombine (Facteur II) et la détection de la mutation du gène du Facteur V-Leiden.

### Participation

24 Laboratoires étaient inscrits à l'enquête. La distribution des laboratoires inscrits s'effectue comme suit :



6 laboratoires ne nous ont pas envoyés leurs résultats et sont donc considérés comme non participants à l'enquête.

### Résultats

Nous avons demandé aux laboratoires de nous envoyer leurs résultats et ce en tant que sponsor de cette EEQ. Les documents envoyés par les laboratoires ne font pas mention de la technique utilisée mais uniquement des résultats attendus et rapportés par le laboratoire pour chaque gène.

#### 1. Résultats par échantillon

Mutation à détecter pour le gène du Facteur II/prothrombine : **NM\_000506.5(F2):c.\*97G>A (Gly202010Ala)**

Round 1-Avril 2022

Facteur II (prothrombine)	Résultats attendus (AF)	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<b><u>Echantillon 1</u></b>	G/A (heterozygote: G20210A)	G/G	0
		<b>G/A</b>	16 (100)*
		A/A	0
<b><u>Echantillon2</u></b>	G/G (homozygote WT)	<b>G/G</b>	15 (94)*
		G/A	0
		<b>A/A</b>	1 (6)*

\*Veuillez noter que certains laboratoires ne participent qu'à 1 des 2 rounds organisés par an.

Facteur II (prothrombine)	Résultats attendus (AF)	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<b>Echantillon 1</b>	G/A (heterozygote: G20210A)	G/G	0
		<b>G/A</b>	15 (100)*
		A/A	0
<b>Echantillon2</b>	G/G (homozygote WT)	<b>G/G</b>	15 (100)*
		G/A	0
		A/A	0

\*Veuillez noter que certains laboratoires ne participent qu'à 1 des 2 round organisés par an.

Mutation à détecter dans le gène du Facteur V : **NM\_000130.4(F5):c.1601G>A (p.Arg534Gln)**

Round 1-Avril 2022

Facteur V-Leiden	Résultats attendus (AF)	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<b>Echantillon 1</b>	Q/Q (homozygote: R506Q)	R/R	0
		R/Q	0
		<b>Q/Q</b>	16 (100)*
<b>Echantillon 2</b>	R/R (homozygote WT)	<b>R/R</b>	16 (100)*
		R/Q	0
		Q/Q	0

\*Veuillez noter que certains laboratoires ne participent qu'à 1 des 2 round organisés par an.

Round 2-Septembre 2022

Facteur V-Leiden	Résultats attendus (AF)	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<b>Echantillon 1</b>	R/Q (heterozygote: R506Q)	R/R	0
		<b>R/Q</b>	16 (100)*
		Q/Q	0
<b>Echantillon 2</b>	R/R (homozygote WT)	<b>R/R</b>	16 (100)*
		R/Q	0
		Q/Q	0

\*Veuillez noter que certains laboratoires ne participent qu'à 1 des 2 round organisés par an.

## 2. Commentaires

- Round 1 : 1 laboratoire n'a pas détecté que l'échantillon 2 pour le gène du facteur II était homozygote Wild-type. Il a indiqué celui-ci comme homozygote muté. Le certificat envoyé par RfB indique donc que celui-ci a rempli les exigences pour la détection de mutation du Facteur V-Leiden mais pas pour la détection de mutation du Facteur II.

## Conclusions sur les performances des laboratoires

Les résultats que nous avons obtenus de la part des laboratoires participants sont satisfaisants. Seul un laboratoire n'a pas rempli les exigences de performances pour la détection de mutation dans le gène du Facteur II.

---

FIN

---

© Sciensano, Bruxelles 2022.

Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de Sciensano. Les résultats individuels des laboratoires sont confidentiels. Ils ne sont transmis par Sciensano ni à des tiers, ni aux membres de la Commission, des comités des experts ou du groupe de travail EEQ.