

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

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

**EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE  
DES ANALYSES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE**

**RAPPORT GLOBAL**

**Examens de génétique**

**Détection de mutation du gène JAK2 dans le cadre de néoplasies  
myéloprolifératives chroniques**

**ENQUETE 2024/3**

**Sciensano/Examens génétique-5-FR**

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

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

<b>COMITE DES EXPERTS</b>
---------------------------

<b>Sciensano</b>					
Secrétariat		TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
		e-mail	ql_secretariat@sciensano.be		
Joséphine Lantoine	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642 53 94		
		e-mail:	<a href="mailto:Josephine.lantoine@sciensano.be">Josephine.lantoine@sciensano.be</a>		
Bernard China	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642 52 08		
		e-mail:	<a href="mailto:bernard.china@sciensano.be">bernard.china@sciensano.be</a>		
Vanessa Ghislain	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642 53 85		
		e-mail:	<a href="mailto:Vanessa.ghislain@sciensano.be">Vanessa.ghislain@sciensano.be</a>		
<b>Experts</b>	<b>Institution</b>				
Ina Benoy	Rode Kruis				
Elke Boone	AZ Delta				
Barbara Depreter	AZ Delta				
Evelien Heylen	ZNA				
Marie LeMercier	UZA				
Patrick Pauwels	UZA				
Freya Vaeyens	UZ Brussel				
Jacques Van Huysse	AZ Sint Jan Brugge				

Un draft de ce rapport a été transmis aux experts le 12/06/2024

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts du 23/05/2024.

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

**Date de publication : 19/06/2024**

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 MATIERES

1. ECHANTILLONS.....	4
2. PARTICIPATION.....	4
3. RÉSULTATS.....	4
3.1 Résultats par échantillon .....	4
3.2 Résultats par laboratoire.....	7
3.3 Distribution des fréquences alléliques .....	10
3.4 Commentaires.....	10
4. MÉTHODOLOGIES UTILISÉES .....	11

## 1. Echantillons

Les échantillons pour ce contrôle proviennent de la firme américaine Discovery Life Science (900 Hudson Way Huntsville, AL 35806). Dans le cadre de cette enquête, des aliquots de 1ml de "Bone marrow mononuclear cells" cryopréservées ont été commandés. L'ADN a été ensuite extrait des cellules par le laboratoire du service Qualité des laboratoires selon le protocole établi pour ce type d'échantillon. L'ADN a ensuite été distribué en 20 tubes de 25µl dont la concentration en ADN était de 17.1ng/µl.

## 2. Participation

17 laboratoires de biologie clinique et 1 laboratoire d'anatomopathologie étaient inscrits pour cette enquête.

Tous les laboratoires participants ont répondu.

## 3. Résultats

Les laboratoires ont reçu 1 tube de 25µl d'ADN élué dans H<sub>2</sub>O. Il leur était demandé de rechercher la présence de la mutation JAK2 V617F par des méthodes moléculaires et ce dans le cadre d'une recherche de néoplasies myéloprolifératives chroniques.

### 3.1 Résultats par échantillon

Echantillon	Statut mutationnel attendu (AF)	Mutation encodée	Nombre de laboratoire (%)
<b><u>JK2024</u></b>	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.4 (8.6%)	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3	8 (44)
		JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.4	6 (33)
		JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972	1 (5,5)
		JAK2 p.(Val617Phe)	1 (5,5)
		JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe);	1 (5,5)
		p.(Val617Phe)	1 (5,5)

### **Classifications Groupe PCR (13/18)**

Dans un but éducatif, sont affichées ci-dessous les classifications rendues par les laboratoires utilisant la PCR comme technique :

Echantillon	Classification biologique attendue	Classification biologique encodée	Nombre de laboratoire (%)
<b><u>JK2024</u></b>	pathogène	pathogène	11 (85)
		non mentionnée	2 (15)

Echantillon	Classification clinique attendue	Classification clinique encodée	Nombre de laboratoire (%)
<b><u>JK2024</u></b>	Tier I	Tier I	10 (77)
		Tier IA	1 (8)
		non mentionnée	2 (15)

### **Classifications Groupe NGS (5/18)**

Echantillon	Classification biologique attendue	Classification biologique encodée	Nombre de laboratoire (%)
<b><u>JK2024</u></b>	pathogène	pathogène	5 (100)

Echantillon	Classification clinique attendue	Classification clinique encodée	Nombre de laboratoire (%)
<b><u>JK2024</u></b>	Tier I	Tier I	4 (80)
		Tier IA	1 (20)

### **Conclusions thérapeutiques**

Echantillon	Conclusions thérapeutiques encodées	Nombre de laboratoire (%)
<b><u>JK2024</u></b>	Variant cardinal des syndromes myéloprolifératifs. Retrouvé dans 95%/97 % des polycytémies vera et 50%/57%/60% des thrombocytémies essentielles et myélofibroses primaires	4 (22)
	Absence de rémission si le patient est traité par un inhibiteur de JAK2	1 (5.5)
	Détection de ce variant soutient un diagnostic de NMP pouvant être ciblé par des inhibiteurs Janus kinase 1 et janus kinase 2	1 (5.5)
	Les inhibiteurs JAK2 (ruxolitinib et Fedratinib) sont indiqués pour le traitement de myélofibroses classées de « intermédiaire » à « à haut risque ». Ruxolitinib est aussi indiqué pour les patients atteints de polycytémie qui sont intolérant ou réfractaire à l'hydroxyurée.	1 (5.5)
	La présence d'une mutation JAK2 est associée à une sensibilité à un traitement avec les inhibiteurs JAK2	1 (5.5)

Echantillon	Conclusions thérapeutiques encodées (suite)	Nombre de laboratoire (%)
<b><u>JK2024</u></b>	Mutation retrouvé dans plus de 90% des patients avec des polycytémies vera et 60% des patients avec thrombocytémies essentielles et myélofibroses primaires. La présence de cette mutation est associée à une sensibilité à un traitement aux inhibiteur JAK.	1 (5.5)
	La présence de la mutation JAK2 est diagnostique pour une MPN à compléter par des résultats hématologiques morphologique et clinique pour DD_PV // ET_PMF// MDZ_MPN	1 (5.5)
	La présence de cette mutation est corrélée à des syndromes myéloprolifératifs de type ET, PRV et MF	1 (5.5)
	La présence d'un variant du gène JAK2 peut confirmer le diagnostic de syndrome de néoplasie myéloproliférative	1 (5.5)
	La détection d'une mutation JAK2 amène à un diagnostic menant à une décision thérapeutique	1 (5.5)
	non mentionnées	5 (28)

### 3.2 Résultats par laboratoire

Labo	Méthodes utilisées	Mutation détectée	Fréquence allélique (%)	Score génotypage	Classification biologique	Classification clinique	Score class.*
1	qPCR-Lightcycler480-Roche Ipsogen JAK2 MutaQuant-Qiagen	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe);	9,4	réussi	pathogénique	Tier IA	NA
2	qPCR-Quantstudio 6-Thermofisher Custom Taqman probes (Sidon et al.; Clinical Chemistry,2006) + ddPCR-QX2000-Bio-rad Mutation assay JAK2 V617F-Bio-rad	JAK2 p.(Val617Phe); ENST0000038165 2 (NM_004972.4)	8,1	réussi	pathogénique	Tier I	NA
3	ddPCR-QX2000-Bio-rad Mutation assay JAK2 V617F-Bio-rad	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972	9,3	réussi	pathogénique	impact clinique avéré	NA
4	qPCR-Lightcycler480-Roche Ipsogen JAK2 MutaScreen-Qiagen	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3	NA	réussi	NA	NA	NA
5	qPCR-Lightcycler-Roche Ipsogen JAK2 MutaQuant-Qiagen	p.(Val617Phe)	6,3	réussi	NA	NA	NA
6	ddPCR-QX2000-Bio-rad Mutation assay JAK2 V617F-Bio-rad	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3	8,8	réussi	pathogène	Tier IA	NA

\*Les laboratoires ayant une technique PCR ne sont pas évalués sur les classifications rendues.

Labo	Méthodes utilisées	Mutation détectée	Fréquence allélique (%)	Score génotypage	Classification biologique	Classification clinique	Score class.*
7	NGS-MiSeq-Illumina Trusight myeloid sequencing-Illumina	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3	9	réussi	pathogène	Tier I	réussi
8	NGS-NextSeq550Dx-Illumina QIAseq targeted DNA custom panel	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3	9,2	réussi	pathogène	Tier I	réussi
9	NGS-MiSeq-Illumina DNAseq targeted DNA custom panel-Qiagen LDT Custom probes	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.4	8,7	réussi	pathogène	Tier I	réussi
10	NGS-MiSeq-Illumina QIAseq targeted DNA custom panel	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.4	9,2	réussi	pathogène	Tier I	réussi
11	NGS-MiSeq-Illumina AmpliSeq Myeloid-Illumina	JAK2 p.(Val617Phe); NM_004972.3	7,73	réussi	pathogénique	Tier IA	réussi
12	ddPCR-QX2000-Bio-rad Mutation assay JAK2 V617F-Bio-rad	JAK2 p.(Val617Phe); NM_004972.4	8,6	réussi	pathogénique	Tier I	NA
13	qPCR- Rotor-gene Q-Qiagen LDT-Custom Taqman probes (Sidon et al.; Clinical Chemistry,2006)	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3	NA	réussi	pathogénique	Tier I	NA
14	qPCR Lightcycler 480-Roche Ipsogen JAK2 MutaQuant-Qiagen + NGS- MiseqDX-Illumina Trusight Myeloid sequencing-Illumina	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3	6	réussi	pathogène	Tier I	NA
15	qPCR-CFX96-BioRad In-house kit JAK2 mutant probe (B.Denys, JMD, 2010:512-519)	NM_004972.4: c.1849 G>T NP.004963.1:p.(Val617Phe)	5,4	réussi	pathogène	Tier I	NA

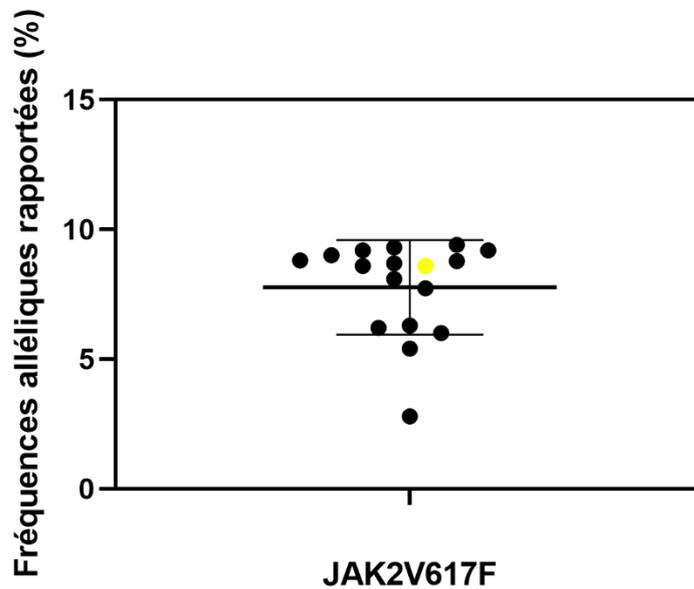
\*Les laboratoires ayant une technique PCR ne sont pas évalués sur les classifications rendues.

Labo	Méthodes utilisées	Mutation détectée	Fréquence allélique (%)	Score génotypage	Classification biologique	Classification clinique	Score class. *
16	qPCR-QuantStudio7 Flex-Life Technologies LDT (Denys et al., J Mol Diagn. 2010)	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3	2,8	réussi	pathogène	Tier I	NA
17	ddPCR-QX2000-Bio-rad Mutation assay JAK2 V617F-Bio-rad	JAK2 p.(Val617Phe)	8,78	réussi	pathogène	Tier I	NA
18	qPCR-CFX96-BioRad In-house kit (Denys et al., J Mol Diagn. 2010)	JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.4	6,2	réussi	pathogène	Tier I	NA

\*Les laboratoires ayant une technique PCR ne sont pas évalués sur les classifications rendues.

### 3.3 Distribution des fréquences alléliques

Ci-dessous le graphique montrant la distribution des fréquences alléliques encodées par les laboratoires pour la mutation JAK2 V617F. Le point en jaune correspond à la fréquence allélique donnée par le fournisseur pour cet échantillon.



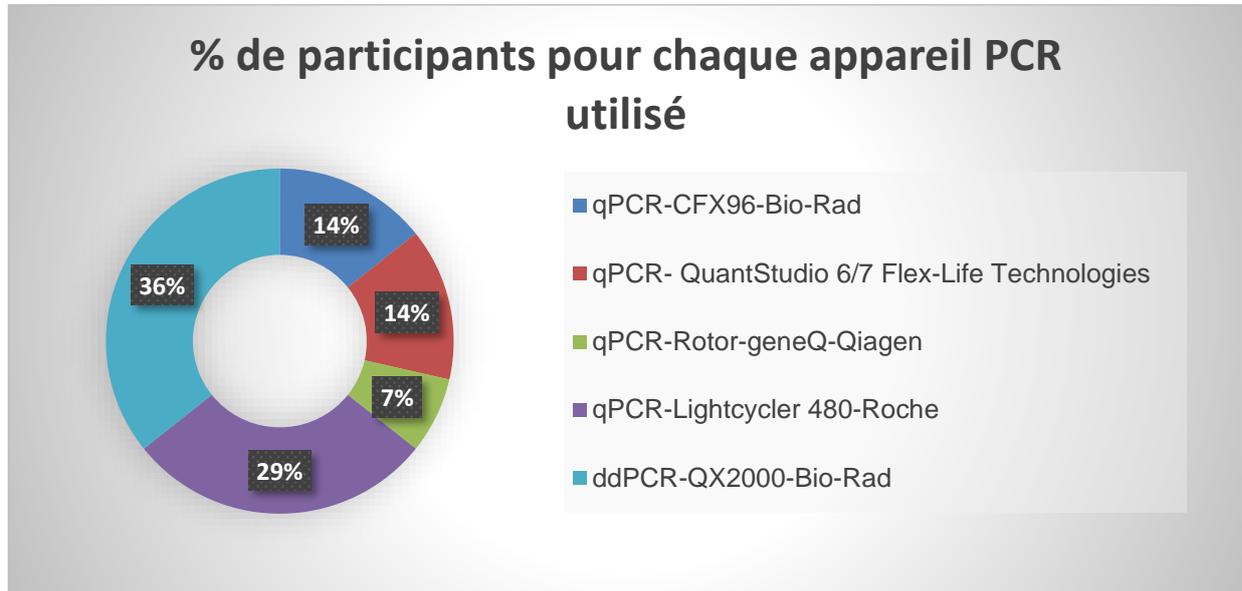
Seul un laboratoire ayant utilisé une technique PCR a rapporté une fréquence allélique beaucoup plus faible que la moyenne des fréquences alléliques rapportées par les laboratoires.

### 3.4 Commentaires

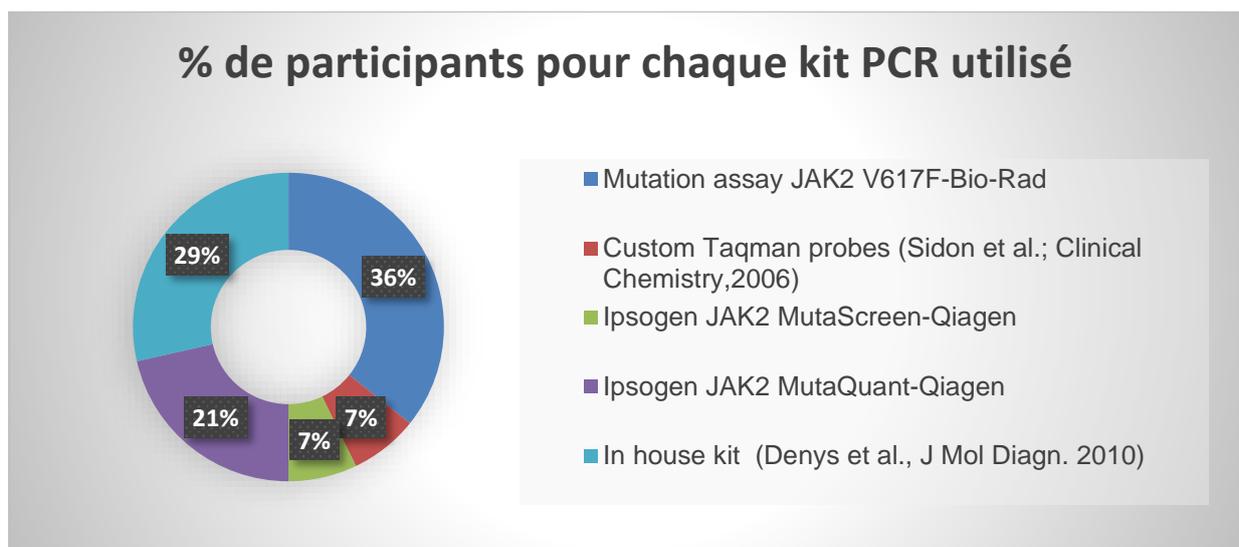
- L'ensemble des laboratoires a obtenu un score de « réussite » pour le volet génotypage ; ceux-ci ayant bien détecté la mutation JAK2 V617F dans l'échantillon.
- Pour le volet classifications biologique et clinique, les laboratoires utilisant le NGS comme technique ont tous obtenu un score de « réussite » pour ce volet. En ce qui concerne les utilisateurs d'une technique PCR, ceux-ci n'ont pas été évalués sur ce volet car il s'agit de classification définie par les guidelines NGS du Compermed mais 11 des 13 laboratoires ont indiqué des classifications correctes.

#### 4. Méthodologies utilisées

##### Groupe PCR



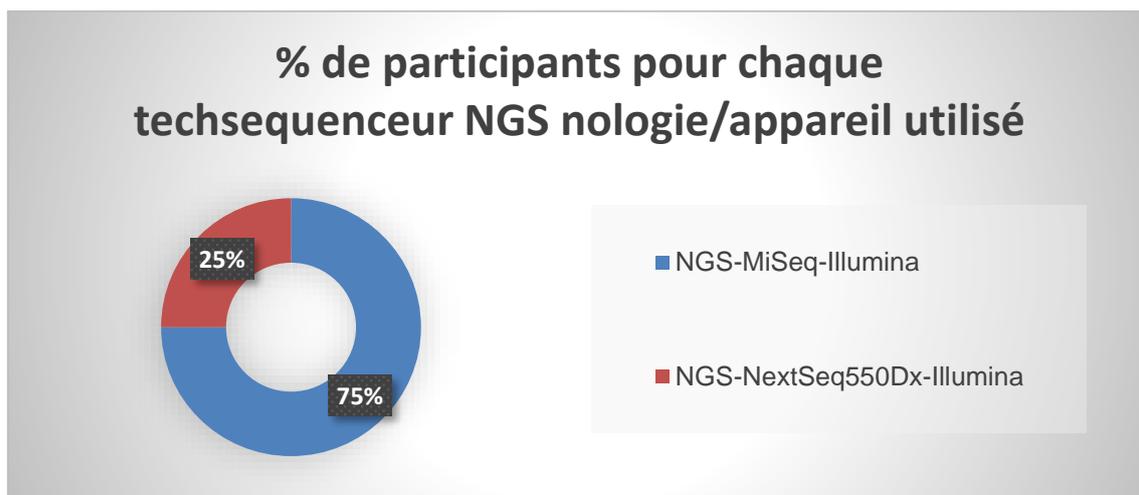
**Chart 1 : Distribution des laboratoires par technique PCR la détection de la mutation JAK2 V617F**



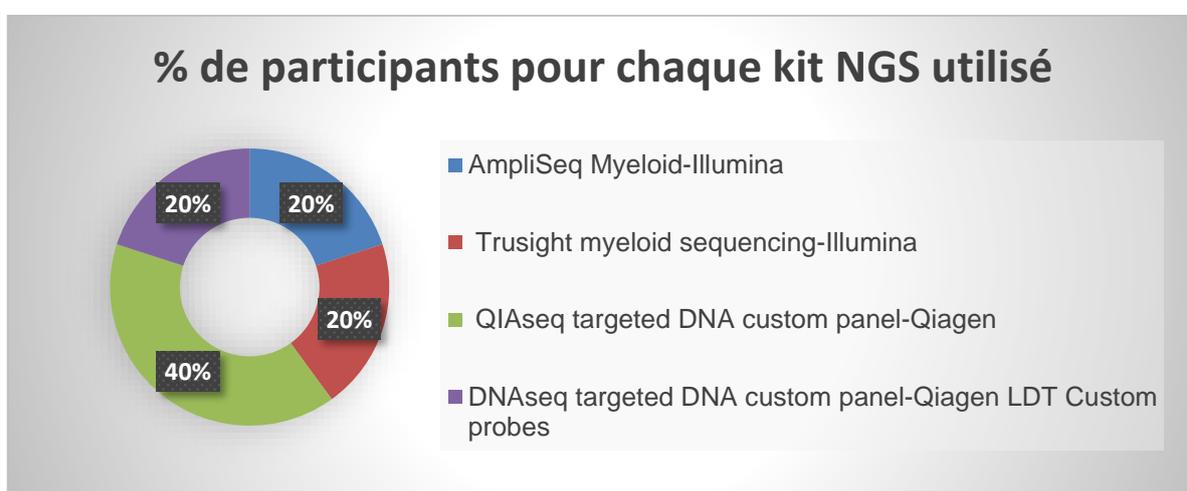
**Chart 2 : Distribution des laboratoires par kit PCR utilisé pour la détection de la mutation JAK2 V617F**

Veillez noter qu'un laboratoire a introduit 2 méthodes PCR.

## Groupe NGS



**Chart 3 : Distribution des laboratoires par technique NGS pour la détection de la mutation JAK2 V617F**



**Chart 4 : Distribution des laboratoires par kit NGS utilisé pour la détection de la mutation JAK2 V617F**

Veillez noter qu'un laboratoire a introduit une méthode PCR en plus d'une méthode NGS.

La technique la plus utilisée pour la recherche de la mutation ponctuelle JAK2 V617F est la technique de type digital droplet PCR avec le QX2000 de chez Bio-Rad et le kit le plus utilisé est le « Mutation assay JAK2 V617F » de chez Bio-Rad.

## **5. Conclusions sur les performances des laboratoires**

Les performances des laboratoires sont très satisfaisante pour cette enquête. L'ensemble des laboratoires participants ont détecté la mutation JAK2 V617F dans l'échantillon. Nous pouvons noter que la plupart des utilisateurs de PCR ont encodés des classifications biologique/clinique bien que les guidelines régissant ces classifications soient formulées pour les utilisateurs de NGS.

---

FIN

---

© Sciensano, Bruxelles 2024.

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.

Biologie moléculaire-examens de génétiques-détection mutation JAK2, rapport global 2024/3  
FORM 43/124/F V15

12/12