

**EXPERTISE ET PRESTATIONS DE SERVICES
QUALITE DES LABORATOIRES**

COMITE DES EXPERTS *AD HOC*

**RAPPORT GLOBAL DEFINITIF
Next Generation Sequencing (NGS)**

Hémopathies malignes

2021/2

Sciensano/EEQ NGS/9-FR

Expertise et prestations de services
Qualité des laboratoires
Rue J. Wytsman, 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.sciensano.be

COMITE DES EXPERTS AD HOC

Sciensano					
Secrétariat		TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
Aline Antoniou	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.55.27		
		e-mail:	Aline.Antoniou@sciensano.be		
Vanessa Ghislain	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	Vanessa.Ghislain@sciensano.be		
Experts	Institution				
Elke Boone	AZ Delta Hospital Roeselare				
Katrien De Mulder	AZ-St-Lucas Hospital Ghent				
Barbara Denys	UZ Ghent				
Barbara Dewaele	UZ Leuven				
Laurent Dewispelaere	LHUB-ULB				
Guy Froyen	Jessa Hospital Hasselt				
Barbara Lambert	IPG				
Marie Le Mercier	UZ Antwerp				
Matthijs Vynck	AZ Sint-Jan Brugge				
Thomas Delcourt	Sciensano				
Nicolas Loucheu	Sciensano				
Aline Hébrant	Sciensano				
Els Van Valckenborgh	Sciensano				
Mohamed Rida Soumali	Sciensano				
Marc Van Den Bulcke	Sciensano				

Les versions provisoires de ce rapport ont été transmises aux experts les: 16/09/2021, 23/09/2021, 29/09/2021 et 08/10/2021.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts *ad hoc* le: 05/10/2021.

Responsabilités :

Le comité d'experts *ad hoc* a été consulté pour avis au sujet du contenu du rapport global, de l'interprétation des résultats, des critères d'évaluation et de l'organisation des prochaines évaluations. La responsabilité du choix des échantillons utilisés et de la conception finale de l'enquête est portée par le service Qualité des laboratoires de Sciensano.

Autorisation de diffusion du rapport:

Par Aline Antoniou, coordinateur d'enquête NGS, le 26/11/2021.

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/NGS/fr/rapports_annee.htm

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION.....	5
1.1. Objectif de l'EEQ – hémopathies malignes	5
1.2. Activité sous-traitée.....	5
1.3. Matériel.....	5
1.4. Demande	5
1.5. Critères d'évaluation	7
2. RESULTATS.....	8
2.1. Participation.....	8
2.2. Aperçu des méthodes	8
2.3. Aperçu des résultats	11
2.3.1. NGS-2021-4.....	11
2.3.2. NGS-2021-5.....	13
2.3.3. NGS-2021-6.....	15
2.3.4. Taux de réussite des participants	17
3. ANNEXE.....	18
3.1. Aperçu des conclusions cliniques.....	18
3.1.1. NGS-2021-4.....	18
3.1.2. NGS-2021-5.....	20
3.1.3. NGS-2021-6.....	24
3.2. Interprétation du rapport individuel	27

1. INTRODUCTION

L'organisation des EEQ fait partie du projet pilote national relatif à l'introduction de la technologie NGS dans notre système de soins de santé qui a débuté en janvier 2016. Toutes les informations relatives à l'étude pilote NGS sont détaillées dans le NGS Roadbook :

<https://www.compermed.be/docs/Roadbook%20PersMed%20NGS%20FR.pdf>

1.1. **Objectif de l'EEQ – hémopathies malignes**

L'objectif de cette EEQ est d'établir l'état des lieux de la manière dont les variants somatiques dans les hémopathies malignes sont détectés, sélectionnés et rapportés dans les protocoles cliniques.

1.2. **Activité sous-traitée**

Les échantillons d'ADN génomique ont été produits par la firme SeraCare et sont distribués par la firme Sopachem.

1.3. **Matériel**

Le matériel transmis lors de cette étude comprenait :

- 3 tubes contenant de l'ADN génomique (Volume: 10µl, Concentration: environ 50 ng/µl) provenant de 3 échantillons différents avec les références suivantes: NGS-2021-4, NGS-2021-5 et NGS-2021-6.

L'homogénéité et la stabilité des échantillons ont été validées par le fournisseur.

1.4. **Demande**

Les échantillons devaient être analysés selon les procédures en vigueur au laboratoire pour les pathologies suivantes :

NGS-2021-4: Syndromes myélodysplasiques (MDS)

NGS-2021-5 : Leucémie aigüe myéloblastique (AML)

NGS-2021-6 : Myélofibrose primitive (PMF)

Pour chaque échantillon, il avait été demandé de répondre tous les variants à rapporter dans le rapport clinique du patient, selon les procédures en vigueur dans le laboratoire, mais uniquement pour les régions incluses dans la convention NGS et selon les workflows du ComPerMed (ne pas rapporter les autres variants éventuellement identifiés):

<https://www.inami.fgov.be/fr/professionnels/etablissements-services/laboratoires/Pages/oncologie-remboursement-biologie-moleculaire-ngs.aspx>

<https://www.compermed.be/fr/workflows#/>

Cependant, il avait été demandé de ne PAS rapporter les variants présents de manière identiques dans les 3 échantillons à analyser, tel que le variant DNMT3A ; NM_175629.2 ; c.2732G>A ; p.(Cys911Tyr). Il s'agit de variants liés au background génétique de la lignée cellulaire utilisée pour produire les échantillons et ne sont pas évalués.

échantillon	tumeur	gènes
NGS-2021-4	MDS	ASXL1 (exon 13 = dernier exon) DNMT3A (exon 8-23) EZH2 (exon 2-20 = entièrement) RUNX1 (exon 2-9 = entièrement) SF3B1 (exon 14, exon 15) SRSF2 (exon 1-codon 95) TET2 (exon 3, exon 9-11) TP53 (exon 2-11) U2AF1 (exon 2-codon 34, exon 6-codon 157)
NGS-2021-5	AML	ASXL1 (exon 13 = dernier exon) CEBPA (exon 1 = entièrement) DNMT3A (exon 8-23) FLT3 (exon 14, exon 15, exon 20-codon 835) IDH1 (exon 4-hotspot) IDH2 (exon 4-hotspot) KIT (exon 8, exon 10, exon 17) NPM1 (exon 11-codon 288) RUNX1 (exon 2-9 = entièrement) TET2 (exon 3, exon 9-11) TP53 (exon 2-11) WT1 (exon 7, exon 9)
NGS-2021-6	PMF	ASXL1 (exon 13 = dernier exon) CALR (exon 9) EZH2 (exon 2-20 = entièrement) IDH1 (exon 4-hotspot) IDH2 (exon 4-hotspot) JAK2 (exon 12-F537_I546, exon 14-codon 617) MPL (exon 10) SF3B1 (exon 14, exon 15) SRSF2 (exon 1-codon 95) TET2 (exon 3, exon 9-11) TP53 (exon 2-11) U2AF1 (exon 2-codon 34, exon 6-codon 157)

Il avait été également demandé de se référer aux recommandations du ComPerMed et de MolecularDiagnostics.be sur l'interprétation des variants et le contenu des rapports cliniques NGS publiées sur le site de Belac :

<https://economie.fgov.be/sites/default/files/Files/Publications/files/Belac-FR/2-405NGS-FR.pdf>

Sur le site internet de réponses : <https://qml.wiv-isp.be/NGS/20212>, il avait été demandé aux participants:

- De répondre au questionnaire concernant la méthode d'analyse.
- D'encoder les paramètres demandés pour chaque variant identifié et rapporté dans le rapport clinique:
 - Nom du gène et numéro NM associé (choix multiples)
 - Nomenclature de référence de la séquence ADN codante selon HGVSn : <http://varnomen.hgvs.org/>
 - Nomenclature de référence de la séquence protéique selon HGVSsp : <http://varnomen.hgvs.org/>
 - Fréquence allélique
 - Classification biologique (choix multiple)
 - Classification clinique (choix multiple)
- De rédiger une conclusion générale pour chaque cas clinique sous forme d'un texte libre.

A l'aide du lien belnet envoyé aux participants, il avait été demandé de transmettre les données brutes (fichiers fastq, bam, bai et vcf) pour chaque échantillon, le(s) fichier(s) BED contenant les régions ciblées par le panel utilisé, les fichiers contenant les positions et les séquences des primers utilisés lors de la stratégie d'enrichissement (MANIFEST, BED,...).

1.5. Critères d'évaluation

Ce rapport contient les résultats des 19 laboratoires participants. Pour l'identification des variants, les critères d'évaluation sont basés sur le consensus des laboratoires avec un seuil fixé à 2/3 des participants.

De manière détaillée, les critères d'évaluation sont :

1/ L'identification de tous les variants rapportés par au moins 2/3 des participants, présents dans les 3 échantillons: consensus des variants à rapporter. Les valeurs médianes des fréquences alléliques rapportées par les laboratoires pour ces variants sont fournies à titre indicatif ainsi que les valeurs SD.

2/ L'absence de signalement des variants rapportés par moins de 1/3 des participants, présents dans les 3 échantillons: consensus des variants à ne pas rapporter.

Remarques : Les variants rapportés entre 1/3 et 2/3 des laboratoires sont également détaillés dans les rapports et sont transmis à titre indicatif : pas de consensus. Les variants liés au background génétique des échantillons et présents dans les 3 échantillons ne sont pas non plus évalués. Un variant avec un consensus peut être non évalué si le groupe d'experts ne valide pas le consensus établi par les laboratoires pour ce variant.

Concernant les interprétations biologiques et cliniques, pour les variants du consensus des variants à rapporter, les réponses des laboratoires sont classées en "résultat attendu" (en vert), "acceptable" (en jaune), "non recommandé mais acceptable" (en orange), "non acceptable" (en rouge) ou "non évalué" (en gris). Ces catégories sont définies par le groupe d'experts en comparant les résultats du consensus des laboratoires aux résultats obtenus à l'aide des guidelines belges.

Le contenu des conclusions générales rapportées par les laboratoires est classé par informations types reprises par au moins 2 laboratoires.

2. RESULTATS

2.1. Participation

19 laboratoires belges sont repris dans l'analyse des résultats.

Aperçu des participants

Région	N
Région flamande	14
Région bruxelloise	3
Région wallonne	2
Total	19

Laboratoire	N
Anatomie pathologique	1
Biologie Clinique	16
Génétique humaine	2
Total	19

2.2. Aperçu des méthodes

Q1. Quel génome de référence utilisez-vous pour l'analyse ?

Réponses	N
hg18	2
hg19/GRCh37	16
hg38/GRCh38	1

Q2. Quel séquenceur utilisez-vous pour les analyses NGS sur hémopathies malignes (firme et plateforme)?

Réponses	N
Illumina - MiniSeq	1
Illumina - MiSeq	11
Illumina - MiSeqDx	1
Illumina - NextSeq 2000	1
Illumina - NextSeq 550	3
Illumina - NextSeq 550Dx	1
Illumina - NovaSeq 6000	1

Q3. Quels panels de gènes sont utilisés pour les analyses NGS sur ADN pour les hémopathies malignes (nom des kits commerciaux et/ou custom) ?

Réponses	N
Myeloid Solution (MYS), Sophia Genetics	1
TruSight Myeloid Sequencing panel, Illumina	2
AmpliSeq Myeloid panel, Illumina	2
Archer VariantPlex Myeloid	1
Custom panel, Ampliseq, Illumina	1
Custom panel, Haloplex, Agilent	1
Custom panel, QIASeq, Qiagen	5
Custom panel, SeqCap EZ HyperCap, Roche	5
Custom panel, SeqCap, Roche	1

Q4. Quelle stratégie d'enrichissement est utilisée pour les analyses NGS sur ADN pour les sur hémopathies malignes?

Réponses	N
Amplicon-based	11
Probe-based	8

Q5. Votre(vos) méthode(s) de séquençage est-elle single ou paired-end ?

Réponses	N
Paired-end	19

Q6. Quel est la longueur des reads générés par votre méthode ?

Réponses	N
100	1
151	12
251	1
340	3
360	1
Variable	1

Q7. Quels outils bio-informatiques sont utilisés pour l'analyse des données secondaires ? (alignement et variant calling)

Réponses	N
Archer DX software	1
Biomedical Genomics Workbench, Qiagen	1
CLC Genomics Workbench, Qiagen	4
Local Run Manager, Illumina	2
SeqNext, JSI medical systems	4
Sophia DDM, Sophia Genetics	2
Open source/in house development	7

Remarques : Les outils bio-informatiques ont été utilisés en *open source* selon les combinaisons suivantes: 1/BWA, GATK UnifiedGenotyper, 2/bcbio, 3/ vardict

Q8. Quels outils bio-informatiques sont utilisés pour l'analyse des données tertiaires ? (annotation des variants, filtres additionnels,...)

Réponses	N
Archer DX software	1
CLC Genomics Workbench, Qiagen	4
QCI Interpret-Somatic Cancer, Qiagen	1
SeqNext, JSI medical systems	4
Sophia DDM, Sophia Genetics	2
Variant Studio Software, Illumina	3
Open source/in house development	8

Remarques : Les outils bio-informatiques ont été utilisés en *open source* selon les combinaisons suivantes: 1/ Annovar, 2/bcbio, 3/ transvar, Pindel

Q9. Pour les SNV et les indels, quelle est la limite de détection validée pour la fréquence allélique du variant (VAF %) pour les hémopathies malignes?

VAF	-	2	5	Based on sequencing depth	Total
Indels (subtle insertions and deletions)	1	2	15	1	19
SNV (Single nucleotides variants)	1	2	15	1	19

Q10. Quels types d'échantillons sont séquencés par votre laboratoire pour la détection de variants somatiques?

Réponses	N
Prélèvement de moelle	19
Sang	19
Tissu frais	5
Tissu paraffiné	4
Liquide cytologique	1
Tissu congelé	1

Q11. Pour la recherche de variants somatiques sur les hémopathies malignes réalisée en routine sur ADN, séquencez-vous un échantillon normal du même patient en parallèle de l'échantillon tumoral?

Réponses	N
Non	18
Dans certains cas, si suspicion de mutation germinale (prélèvement : frottis des muqueuses buccales)	1

Q12. Quelle est la quantité minimum d'ADN génomique requise par votre laboratoire pour réaliser l'analyse NGS sur hémopathies malignes?

Réponses	N
0-10ng	3
11-50ng	8
51-100ng	3
101-200ng	2
> 201ng	3

Q13. Quelle est la concentration minimale d'ADN génomique requise par votre laboratoire pour réaliser l'analyse NGS sur hémopathies malignes? (ng/µl)

Réponses	N
-	1
0,8	1
1	3
2,5	1
5	3
7	4
8	1
10	4
20	1

Q14. Quelle est la méthode utilisée pour la quantification de l'ADN ?

Réponses	N
Qubit	11
NanoDrop	4
DropSens	3
Quantus	2

Q15. Quelles sont les guidelines utilisées pour l'interprétation des variants somatiques?

Réponses	N
BELAC 2-405-NGS Rev0-2018	1
BELAC 2-405-NGS Rev 1-2019	1
BELAC 2-405-NGS Rev 2-2019	3
BELAC 2-405-NGS Rev 3-2021	15
Standardization of Somatic Variant Classifications in Solid and Haematological Tumours by a Two-Level Approach of Biological and Clinical Classes: An Initiative of the Belgian ComPerMed Expert Panel. Froyen et al. Cancers, 2019 (PMID: 31888289)	14
Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists, Li et al., JMD, 2017, 19(1), (PMID: 27993330)	11
ACMG-AMP: Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology, Richard et al., Genet Med, 2015, 17(5), (PMID: 25741868)	8
World Health Organization guidelines	7
European LeukemiaNet guidelines	6
National Comprehensive Cancer Network Guidelines	2

2.3. Aperçu des résultats

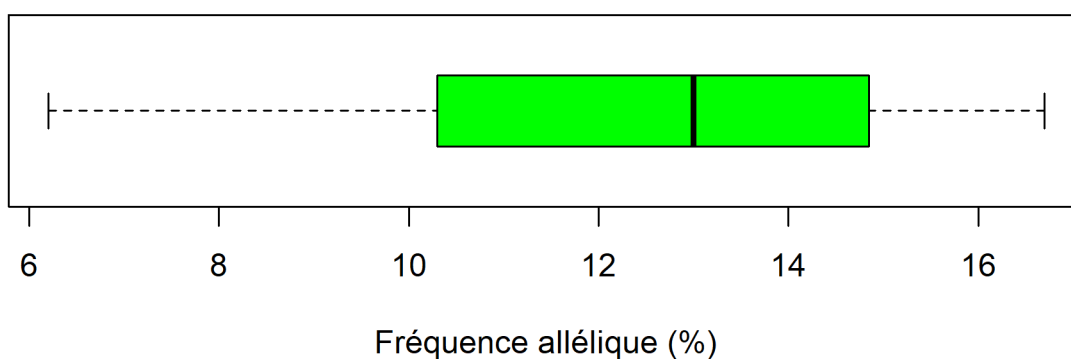
2.3.1. NGS-2021-4

Informations médicales	Syndromes myélodysplasiques (MDS)
-------------------------------	-----------------------------------

Consensus des variants à rapporter

- [SRSF2 NM_003016.4; c.284_307del; p.\(Pro95_Arg102del\)](#)

SRSF2 NM_003016.4; c.284_307del; p.(Pro95_Arg102del)



Min	P25	Median	P75	Max	SD
6.2	10.3	13	14.85	16.7	3.37

SRSF2 NM_003016.4 c.284_307del p.(Pro95_Arg102del) (Fréquence allélique médiane: 13 %)	
Identification du variant	N
Oui	19
Non	0
Classification biologique	N
Pathogénique	18
VUS	1
Total	19
Classification clinique	N
Tier I: Impact clinique avéré	16
Tier II: Impact clinique potentiel	2
Tier III: Impact clinique indéterminé	1
Total	19

Commentaires: Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification du variant SRSF2 NM_003016.4; c.284_307del; p.(Pro95_Arg102del). Concernant les références DNA: la nomenclature c.284_307del24, rapportée par un laboratoire, n'est pas valide selon les guidelines HGVS. Cette description est plus longue, elle contient des informations redondantes et les chances de faire une erreur augmentent. Concernant les références protéiques: la nomenclature p.Pro95_Arg102del, rapportée par un autre laboratoire, n'est pas recommandée selon les guidelines HGVS. Les prédictions protéiniques, c'est-à-dire sans preuve expérimentale (aucune séquence protéinique analysée), doivent être indiquées entre parenthèses. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique. La classification VUS est considérée comme non-acceptable. Dans les guidelines belges, ce variant est présent dans le tableau "Annex 1 Consensus Pathogenic Variants (CPV) in the Convention genes of solid and hematological tumors v2". Concernant les classifications cliniques, le résultat attendu pour ce variant est la classification Tier I en raison du consensus des

laboratoires. La classification Tier II est considérée comme acceptable car la distinction entre les classifications Tier I et Tier II n'est pas clairement définie lorsque le variant n'a pas d'implication thérapeutique. La classification Tier III est considérée comme non acceptable étant donné l'utilité diagnostique de ce variant.

Analyse des conclusions

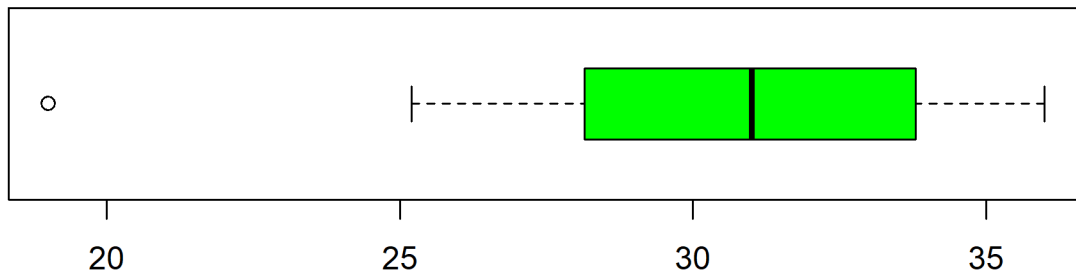
Informations types	Informations spécifiques au cas 4 et reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
Diagnostic	Variants SRSF2 récurrents dans les MDS - Profil mutationnel compatible avec diagnostic MDS	16
	Variants SRSF2 récurrents également dans d'autres pathologies myéloïdes - présence de variants SRSF2 seule est insuffisante pour le diagnostic MDS	7
	Variants SRSF2 également décrits comme CHIP ("clonal hematopoiesis of indeterminate potential")	2
Pronostic	Variants SRSF2 de pronostic défavorable dans les MDS	16
	Augmentation du risque de transformation en AML liée à la présence du variant SRSF2	6
Information sur gènes testés	Aucun autre variant d'importance clinique détecté	2
	Variant SRSF2 présent dans l'exon 1	3

informations médicales	Leucémie aigüe myéloblastique (AML)
------------------------	-------------------------------------

Consensus des variants à rapporter

- [IDH1 NM_005896.3; c.394C>T; p.\(Arg132Cys\)](#)

IDH1 NM_005896.3; c.394C>T; p.(Arg132Cys)



Fréquence allélique (%)

Min	P25	Median	P75	Max	SD
19	28.15	31	33.8	36	4.19

IDH1 NM_005896.3 c.394C>T p.(Arg132Cys) (Fréquence allélique médiane: 31 %)	
Identification du variant	N
Oui	19
Non	0
Classification biologique	N
Pathogénique	19
Total	19
Classification clinique	N
Tier I: Impact clinique avéré	17
Tier II: Impact clinique potentiel	2
Total	19

Commentaires: Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification du variant IDH1 NM_005896.3; c.394C>T; p.(Arg132Cys). Concernant les références protéiques: la nomenclature p.Arg132Cys, rapportée par deux laboratoires, n'est pas recommandée selon les guidelines HGVS. Les prédictions protéiques, c'est-à-dire sans preuve expérimentale (aucune séquence protéique analysée), doivent être indiquées entre parenthèses. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique. Concernant les classifications cliniques, le résultat attendu pour ce variant est la classification Tier I en raison du consensus des laboratoires. La classification Tier II est considérée comme non-acceptable étant donné le niveau d'évidence très élevé de ce variant (level A pour les indications thérapeutiques).

Analyse des conclusions

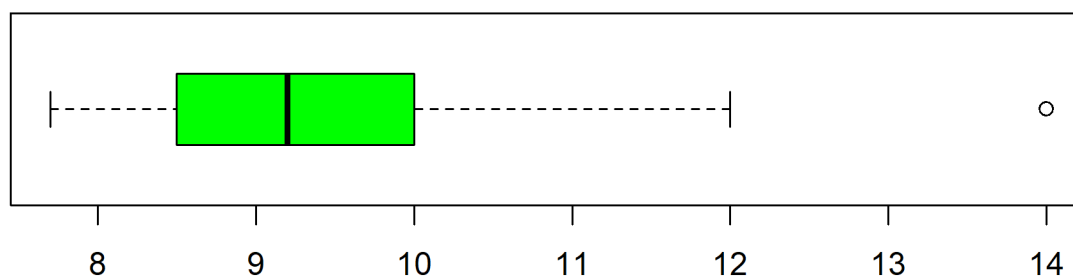
Informations types	Informations spécifiques au cas 5 et reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
Diagnostic	Variants IDH1 récurrents dans les AML - Profil mutationnel compatible avec le diagnostic AML	14
	Variant IDH1 plus fréquemment associé à un caryotype normal - à un variant NPM1 – à CEBPA wild-type – à l'absence d'anomalies FLT3	6
Pronostic	Variants IDH1 de signification pronostique controversée - inconnue - indéterminé	9
	Variants IDH1 de pronostic défavorable dans les AML (que ce soit en sous-groupes ou non)	6
Traitement	Indication de sensibilité aux inhibiteurs IDH1 (Ivosidenib)	14
	Indication de sensibilité aux inhibiteurs BCL2 (Venetoclax) - en association avec agent hypométhylant	3
	Etudes cliniques pour les patients atteints de AML avec variants IDH1 ou IDH2	4
Information sur gènes testés	Variant IDH1 présent dans l'exon 4	2
	Aucun autre variant d'importance clinique détecté	2

informations médicales	Myélofibrose primitive (PMF)
------------------------	------------------------------

Consensus des variants à rapporter

- [JAK2 NM_004972.3; c.1849G>T; p.\(Val617Phe\)](#)

JAK2 NM_004972.3; c.1849G>T; p.(Val617Phe)



Fréquence allélique (%)

Min	P25	Median	P75	Max	SD
7.7	8.5	9.2	10	14	1.11

JAK2 NM_004972.3 c.1849G>T p.(Val617Phe) (Fréquence allélique médiane: 9.2 %)	
Identification du variant	N
Oui	19
Non	0
Classification biologique	N
Pathogénique	19
Total	19
Classification clinique	N
Tier I: Impact clinique avéré	19
Total	19

Commentaires: Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification du variant JAK2 NM_004972.3; c.1849G>T; p.(Val617Phe). Concernant les références protéiques: la nomenclature p.Val617Phe, rapportée par deux laboratoires, n'est pas recommandée selon les guidelines HGVS. Les prédictions protéiniques, c'est-à-dire sans preuve expérimentale (aucune séquence protéinique analysée), doivent être indiquées entre parenthèses. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique. Concernant les classifications cliniques, le résultat attendu pour ce variant est la classification Tier I.

Analyse des conclusions

Informations types	Informations spécifiques au cas 6 et reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
Diagnostic	Variant JAK2 récurrent dans les MPN de type PMF, PV et ET - Profil mutationnel compatible avec diagnostic MPN - présence du variant JAK2, critère majeur de l'OMS dans le diagnostic des MPN	17
Pronostic	Dans PMF, variant JAK2 de pronostic plus favorable que les triple négatif mais moins favorable que les variants CALR - pronostic intermédiaire	9
	Modèles pronostiques intégrés des PMF: Scores de risque MIPSS70 et GIPSS	4
	Risque de thrombose plus élevé qu'avec le variant CALR	3
Traitement	Indication de sensibilité aux inhibiteurs JAK2 (Ruxolitinib)	6
Information sur gènes testés	Variant JAK2 "driver"	4
	Variant JAK2 présent dans l'exon 14	2
	Aucun autre variant d'importance clinique détecté	4
Autres	Analyses complémentaires suggérées nécessaires aux scores de risque MIPSS70 et GIPSS: caryotype, paramètres hématologiques, etc.	2

2.3.4. Taux de réussite des participants

Consensus des variants à rapporter

Taux de réussite basé sur le consensus des variants à rapporter	N
3/3 (100%)	19
Taux de réussite total: 57/57 (100%)	

Consensus des variants à ne pas rapporter

Aucun variant n'a été rapporté par moins d'un tiers des participants.

Classifications biologiques et cliniques

Taux de réussite des participants pour les classifications pour le consensus des variants à rapporter	N
Classifications biologiques	
3/3 (100%)	18
2/3 (66,67%)	1
Taux de réussite total - classifications biologiques : 56/57 (98,25%)	
Classifications cliniques *	
3/3 (100%)	16
2/3 (66,67%)	3
Taux de réussite total - classifications cliniques : 54/57 (94,74%)	

*Les résultats «acceptables» sont considérés comme réussis.

3. ANNEXE

3.1. Aperçu des conclusions cliniques

Ces données ont été extraites à partir des réponses faites sur le site internet <https://qml.wiv-isp.be/NGS/20212/>. Afin de ne pas introduire d'erreurs de traduction, les conclusions ont été conservées dans la langue utilisée par les laboratoires. Un laboratoire n'a pas répondu les conclusions générales demandées pour chaque échantillon.

3.1.1. NGS-2021-4

<p>SRSF2 transcript= NM_001195427.1, we hebben bovenstaand een ander transcript gekozen omdat het door ons gehanteerde transcript niet tot de keuzemogelijkheden behoort.</p> <p>Aanwezigheid van pathogene SRSF2 variant, geassocieerd met MDS (11-14% en CMML (28%) en slechtere prognose.</p>	1
<p>Met next generation sequencing werd 1 pathogene variant gevonden in SRSF2. Mutaties in SRSF2 zijn beschreven in MDS en zijn geassocieerd met een verhoogde kans op evolutie naar AML (Thol F et al., Blood 2012, WHO 2017).</p> <p>Mutaties in SRSF2 zijn ook beschreven als CHIP ("clonal hematopoiesis of indeterminate potential") en de aanwezigheid van deze mutaties alleen is niet voldoende voor de diagnose van MDS (Arber et al Blood, 2016; WHO 2017).</p>	2
<p>SRSF2 varianten zijn beschreven bij ongeveer 15% van de MDS patiënten, waarbij ze geassocieerd worden met een verminderde prognose.</p> <p>Referenties</p> <ol style="list-style-type: none">1. Arber et al. Blood 2016;127:2391-40522. Bejar et al. NEJM 2011;364:2496-5063. Bejar et al. Haematologica 2014;99:956-64	3
<p>Een mutatie in SRSF2 (exon 1) is recurrent bij MDS en wordt geassocieerd met een minder gunstige prognose.</p> <p>(Ref: Bejar et al., 2014. Haematologica 99(6): 956-964; Pellagatti et al., 2015. Eur. J. Haem. 95(9): 3-15)</p>	4
<p>Sur les 39 gènes séquencés, seuls les 9 gènes cibles suivants ont été interprétés : ASXL1, DNMT3A, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1. Toutefois, les éventuels variants pathogènes (ou probablement pathogènes) observés dans les 30 autres gènes seront rapportés ci-dessous dans le résumé du rapport s'ils ont un impact clinique avéré dans le cadre d'un syndrome myélodysplasique (MDS). Les variants sont classés biologiquement selon le principe de classification recommandé par Sciensano et Belac.</p> <p>Pour la description de chaque mutation se référer au tableau des résultats ci-joint.</p> <p>-Présence dans l'oncogène SRSF2 du variant pathogénique c.284_307del p.(Pro95_Arg102del) dont l'impact clinique est avéré. Les mutations dans SRSF2 sont observées dans les MDS (Incidence :10-15%) et plus fréquemment dans les CMML (Incidence : 40%) et sont associées à un pronostic défavorable (NCCN version3.2021).</p>	5
<p>SRSF2 variants are found in 10-15% of Myelodysplastic Syndromes (MDS) and 40% of Chronic myelomonocytic leukemia (CMML). In SMD, those variants are associated with a poor prognosis. ***</p> <p>*A novel scoring system integrating molecular abnormalities with IPSS-R can improve the risk stratification in patients with MDS. Siyu Gu, et al. BMC Cancer. 2021</p> <p>**Myelodysplastic syndromes, version 2.2017, NCCN clinical practice guidelines in oncology. Greenberg PL et al. J Natl Compr Canc Netw. 2017</p>	6
<p>De gevonden SRSF2 variant is recurrent in de context van MDS en MDS/MPN overlap syndroom. SRSF2 varianten worden geassocieerd met een minder gunstige prognose (Ref: Swerdlow et al., WHO 2017; Kennedy and Ebert, J Clin Onc 2017. 35(9):968-974).</p>	7

<p>Er werd een SRSF2 (NM_003016.4(SRSF2):c.284_307del (p.(Pro95_Arg102del)) pathogene in-frame deletie variant geïdentificeerd in exon 1.</p> <p>De aanwezigheid van dit type variant heeft significant klinische betekenis (tier I) gezien mutaties in SRSF2 frequent worden terug gevonden bij MDS patiënten (~15%) en geassocieerd zijn met een slechtere prognose en een hogere kans op transformatie naar AML (PMID: 22343920, 22389253, 9058730., NCCN MDS 2020)</p> <p>Er werden geen andere (vermoedelijk) pathogene varianten geïdentificeerd in de genen ASXL1, DNMT3A, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1.</p>	8
<p>Volgende variant werd waargenomen: SRSF2, c.284_307del p.(Pro95_Arg102del), 13% VAF: Pathogeen, gekende hotspot mutatie.</p> <p>Somatische varianten in het splicing factor gen, SRSF2, komen nagenoeg uitsluitend voor t.h.v. Proline 95 codon. Deze varianten komen voor in 10-15 % van de MDS patiënten, maar worden ook waargenomen bij myeloproliferatieve neoplasmata, myelodysplastische/myeloproliferatieve neoplasmata (MDS/MPN) en acute myeloïde leukemie (AML). In de meeste gevallen is SRSF2 niet het enige gemuteerde gen. SRSF2 mutaties komen ook voor bij CHIP, echter de aanwezigheid van een pathogene mutatie aan een VAF van >10% is geassocieerd met het ontwikkelen van een neoplasme. Bij MDS zijn SRSF2 varianten geassocieerd met een kortere overleving en een verhoogd risico op transformatie naar AML.</p>	9
<p>Er werd een pathogene mutatie in het SRSF2 gen geïdentificeerd: SRSF2 c.284_307del p.(Pro95_Arg102del). Deze mutatie heeft een significant klinisch belang (Tier I). Dit is een recurrente mutatie in de context van myelodysplastisch syndroom (MDS). Mutaties van SRSF2 komen voor in 10-15 % van de gevallen van MDS en zijn geassocieerd met een ongunstige prognose [1].</p> <p>Referenties: 1. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: myelodysplastic syndromes, version 3.2021.</p>	10
<p>Klinische indicatie: MDS</p> <p>NGS toont enkel aanwezigheid aan van een consensus pathogene in-frame deletie variant in het SRSF2 gen (VAF 15%): SRSF2 varianten worden bij 12-33% van de MDS patiënten teruggevonden. In MDS (univariaat analyse) zijn deze varianten geassocieerd met kortere algemene overleving en verhoogd risico voor progressie naar AML (Bersanelli et al., J Clin Oncology 2021; Wang et al., Meta-analyse in Medicine 2019; Thol et al., Blood 2012).</p> <p>Er konden geen varianten met een VAF >5% teruggevonden worden in de andere bij MDS klinisch belangrijke genen (ASXL1, DNMT3A, EZH2, RUNX1, SF3B1, TET2, TP53 en U2AF1 (opmerking: grote insertie/deletie varianten kunnen gemist worden.)</p> <p>Besluit: NGS profiel in overeenstemming met aanwezigheid MDS. Er konden geen varianten teruggevonden worden in 'ongunstige genen' (CBL, IDH2, ASXL1, DNMT3A en TP53) die zorgen voor een verhoging van de IPSS-R risico groep zoals beschreven door Hou et al. (Blood Cancer Journal 2018).</p>	11
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van 1 variant met een significant klinisch belang (TIER I): SRSF2 c.284_307del, p.(Pro95_Arg102del) (allel frequency 16.7%). Een mutatie in het SRSF2 gen (RNA spliceosoom gen) komt in 15% van de patiënten gediagnosticeerd met MDS voor (voornamelijk bij MDS-MLD, MDS-EB1 en MDS-EB2): te correleren met kliniek, cytomorfoloogisch en genetisch onderzoek. De aanwezigheid van deze mutatie is geassocieerd met een ongunstig prognostisch verloop.</p> <p>Bronnen: • Fenaux P, Haase D, Santini V, Sanz GF, Platzbecker U, Mey U; ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Myelodysplastic syndromes: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†?. Ann Oncol. 2021 Feb;32(2):142-156. doi: 10.1016/j.annonc.2020.11.002. Epub 2020 Nov 19. PMID: 33221366. • https://www.mycancergenome.org/content/gene/srsf2/ • WHO revised 4th edition; LYON 2017</p>	12
<p>Mutatieprofiel passend bij MDS met SRSF2 als dysplastische driver.</p>	13
<p>Er wordt enkel een mutatie in SRSF2 gedetecteerd. Mutaties in SRSF2 worden frequent terug gevonden bij MDS patiënten (10 - 15%) en zijn geassocieerd met een slechtere prognose en een hogere kans op transformatie naar AML (Damm et al., Blood 2012; Thol et al., Blood 2012 en NCCN guidelines MDS 1.2020).</p>	14

Variant pathogène repris dans la convention NGS. Délétion inframe au niveau de l'exon 1 de cet oncogène conférant un pronostic défavorable à ce syndrome myélodysplasique	15
La prévalence des mutations de SRSF2 est de 12-33% dans les SMD. L'impact pronostic porte sur la LFS et l'OS, réduites, et ce particulièrement dans les SMD de risque bas. Références: - McClure et al., JMD 2018 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=McClure+%3B+JMD+2018) - NCCN Guidelines v3.2021	16
A pathogenic SRSF2 mutation was detected. This mutation is considered as an adverse prognostic risk factor in MDS.	17
De aanwezigheid van de gedetecteerde SRSF2 hotspotmutatie, c.284_307del (p.(Pro95_Arg102del)), ondersteunt de diagnose van myelodysplastisch syndroom (MDS) en is geassocieerd met een ongunstige prognose. Verschillende studies hebben aangetoond dat patiënten met SRSF2-gemuteerde MDS doorgaans een lagere overlevingsduur (overall survival) en een grotere kans op leukemische transformatie hebben (Zheng et al., 2017. Prognostic value of SRSF2 mutations in patients with de novo myelodysplastic syndromes: A meta-analysis. PLoS ONE 12(9): e0185053.; Jafari et al., 2018. Prognostic significance of SRSF2 mutations in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia: a meta-analysis. Hematology, 23:10, 778-784).	18

3.1.2. NGS-2021-5

Aanwezigheid van significant klinisch belangrijke IDH1 variant geassocieerd met myelofibrose en met verhoogd risico op transformatie naar AML.	1
Met next generation sequencing werd een pathogene variant gevonden in IDH1. De prognostische betekenis van IDH1 mutatie is controversieel in de literatuur (Patnaik et al., Leukemia 2012; Thol et al., Blood 2012; WHO 2017). De aanwezigheid van IDH1/2 mutaties in AML is geassocieerd met een beter sensitiviteit voor de Bcl-2 inhibitor Venetoclax (Konopleva et al., Cancer Discovery 2016; DiNardo et al., Blood 2019). Er zijn ook klinische studies voor AML patiënten met IDH1/2 mutaties (clinicaltrials.gov).	2
Varianten in IDH1 zijn beschreven in ongeveer 6% van de AML patiënten, waarbij ze een negatieve impact hebben op de prognose. Referenties 1. Arber et al. Blood 2016;127:2391-4052 2. Schnittger et al. Blood 2010;116:5486-96	3
Mutaties in IDH1 zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie. De prognostische betekenis van IDH1 mutaties is onduidelijk. In AML patiënten met wild type NPM1 worden IDH1 mutaties geassocieerd met een ongunstige prognose. (Yamaguchi et al. EJM 2014, Patel et al. NEJM 2012.)	4
Sur les 39 gènes séquencés, seuls les 12 gènes cibles suivants ont été interprétés : ASXL1, CEBPa, DNMT3A, FLT3, IDH1, IDH2, KIT, NPM1, RUNX1, TET2, TP53, WT1. Toutefois, les éventuels variants pathogènes (ou probablement pathogènes) observés dans les 27 autres gènes seront rapportés ci-dessous dans le résumé du rapport s'ils ont un impact clinique avéré dans le cadre d'une Leucémie aigüe myéloblastique (AML). Les variants sont classés biologiquement selon le principe de classification recommandé par Sciensano et Belac. Pour la description de chaque mutation se référer au tableau des résultats ci-joint. -Présence dans l'oncogène IDH1 du variant pathogénique c.394C>T p.(Arg132Cys) compatible avec le diagnostic de AML et dont l'impact clinique est avéré mais dont l'impact pronostic n'est pas clarifié (NCCN v3 2021). Les variants dans IDH1 peuvent faire l'objet d'une thérapie ciblée (ivosidenib) (FDA ; NCCN v3 2021).	5

<p>Mutations in IDH1 have been reported in 6-9% of Acute Myeloid Leukemia (AML) cases with a higher frequency among patients with Normal Karyotype AML (NK-AML) (8-16%). IDH1 mutations were found to occur concurrently with NK-AML and NPM1 mutations. Additionally, these mutations have been associated with wild-type CEBPA and the absence of FLT3 abnormalities. Findings from published reports on the prognostic effects of IDH1 mutations have been inconsistent. Although some studies showed no prognostic effect of IDH1 mutations on OS when considering all IDH mutations (IDH1 and IDH2 combined) or in the overall patient population, IDH1 mutations correlated with significantly worse outcomes in the subgroup of NK-AML patients with favorable- or intermediate-risk disease. In the subgroup of patients younger than 60 years with favorable-risk AML (NPM1 mutation without FLT3-ITD), IDH1 mutations were associated with a significantly decreased 5-year DFS rate (42% vs. 59%) and a trend for decreased OS rate (50% vs. 63%) compared with patients who had wild-type IDH. In another study, IDH mutations (IDH1 and IDH2 combined) were associated with significantly inferior 5-year RFS rates (37% vs. 67%) and OS rates (41% vs. 65%) in the subgroup of patients with favorable-risk AML (NK-AML with NPM1 mutation without FLT3-ITD). ***</p> <p>AML carrying IDH1 mutations are susceptible to targeted treatment with ivosidenib.</p> <p>*Acquired mutations in the genes encoding IDH1 and IDH2 both are recurrent aberrations in acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value. Abbas S, Lugthart S, Kavelaars FG, et al. Blood 2010.</p> <p>**IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. Marcucci G, Maharry K, Wu YZ, et al. J Clin Oncol 2010</p>	6
<p>De gevonden IDH1 variant is recurrent in de context van AML. De prognostische betekenis is momenteel niet gekend (Ref: Döhner et al., Blood 2017. 129:1136-1152). De IDH1 kan gebruikt worden ikv "doelgerichte" therapie (Ref: Ball B. en Stein M., 2019. Haematologica, 104(8): 1521-1531).</p>	7
<p>Er werd een IDH1 (NM_005896.4(IDH1):c.394C>T (p.(Arg132Cys)) pathogene missense variant geïdentificeerd in exon 4.</p> <p>De aanwezigheid van de specifieke IDH1 variant heeft significant klinisch belang (tier I) in AML. Deze variant is geassocieerd met een verhoogde gevoeligheid voor IDH1 inhibitoren zoals ivosidenib (EMA approved, NCCN guidelines v3 2020, PMID: 31660152).</p> <p>Er werden geen andere (vermoedelijk) pathogene varianten geïdentificeerd in de genen ASXL1, CEBPA, DNMT3A, FLT3, IDH1, IDH2, KIT, NPM1, RUNX1, TET2, TP53, WT1.</p>	8
<p>Volgende variant werd waargenomen: IDH1, c.394C>T p.(Arg132Cys), 34% VAF: Pathogeen, gekende hotspot mutatie.</p> <p>IDH1 mutaties komen voor bij ongeveer 7-14% van de AML en zijn frequent geassocieerd aan een normaal karyotype, NPM1 en FLT3 mutaties. De prognostische implicatie van deze mutatie zou eerder ongunstig zijn, al blijft de literatuur vrij controversieel hierover. Het negatief prognostisch belang zou het meest uitgesproken zijn bij AML met een gunstig prognostisch profiel volgens de ELN2017 richtlijnen (normaal karyotype, NPM1 mutatie en normaal FLT3 gen). Therapeutisch gezien kunnen IDH inhibitoren overwogen worden.</p>	9

<p>Er werd een pathogene mutatie in het IDH1 gen geïdentificeerd: IDH1 c.394C>T p.(Arg132Cys). Deze mutatie heeft een significant klinisch belang (Tier I). Dit is een recurrente mutatie in de context van acute myeloïde leukemie (AML). Mutaties van IDH1 komen voor in 6-9 % van de gevallen van AML. Hoewel niet alle studies een prognostische impact tonen, zijn IDH1 mutaties geassocieerd met een minder goede prognose in de subgroep van AML met een normaal karyotype en een overigens gunstig of intermediair risicoprofiel [1]. De aanwezigheid van een IDH1 mutatie in AML is bovendien geassocieerd met gevoeligheid voor de IDH1 inhibitor ivosidenib en met gevoeligheid voor venetoclax in combinatie met een hypomethyleerderend geneesmiddel of venetoclax in combinatie met een lage dosis cytarabine [1]. Dit zijn nog geen standaardbehandelingen in België, maar deze therapeutische beschouwingen kunnen mogelijk wel relevant zijn in de context van een klinische studie of een "compassionate use" programma. Daarnaast kan een laag-intensieve behandeling met een hypomethyleerderend geneesmiddel (azacitidine of decitabine) een therapeutische optie zijn [1].</p> <p>Referenties: 1. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: acute myeloid leukemia, version 3.2021.</p>	10
<p>Klinische indicatie: AML</p> <p>NGS toont enkel aanwezigheid aan van de consensus pathogene missens variant Arg132Cys (R132C) in het IDH1 gen (VAF 36%): IDH1 varianten worden teruggevonden bij 7-14% AML patiënten, voornamelijk met een normaal karyotype. Het type IDH1 variant en het co-mutatie patroon verschilt naargelang het type AML: Arg132Cys (in casu) varianten vertonen een meer sAML genotype en zijn minder geassocieerd met NPM1 varianten (in casu) terwijl Arg132His meer geassocieerd is met de novo AML en co-mutatie met NPM1 (Falini et al., Leukemia 2019). Het effect op prognose is niet eenduidig (zowel een negatief effect als geen effect op de algemene overleving wordt gezien) mogelijk wegens verschillende studie designs (Medeiros et al., Leukemia 2017).</p> <p>Er konden geen varianten met een VAF >5% teruggevonden worden in de andere bij AML klinisch belangrijke genen (ASXL1, CEBPA, DNMT3A, FLT3, IDH2, KIT, NPM1, RUNX1, TET2, TP53 en WT1 (opmerking: grote insertie/deletie varianten zoals bij FLT3 of CEBPA kunnen gemist worden, voor FLT3 en CEBPA zie daarom ook resultaten fragment analyse).</p> <p>Besluit: NGS profiel in overeenstemming met aanwezigheid van AML. De aanwezigheid van de IDH1 variant is mogelijk een therapeutische target: IDH1 inhibitoren zoals ivosidenib (AG-120, TIBSOVO) werden goedgekeurd door de FDA voor relapsed of refractory AML (DiNardo et al., NEJM 2018) maar er zijn ook klinische trials in Europa voor handen (bv. HOVON 150). Wegens ontbreken van karyotype en resultaten van andere moleculaire analyses (bv. translocaties) is een risico-analyse volgens de ELN en NCCN guidelines niet mogelijk (Döhner et al., Leukemia 2017, NCCN guideline version 3.2020, AML).</p>	11
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van 1 variant met significant klinisch belang (TIER I): IDH1 c.394C>T, p.(Arg132Cys) (allel frequency 33.6%): Mutaties in het IDH1 gen komen voor bij 8 % van de patiënten gediagnosticeerd met AML. Er is geen significant verschil aangetoond in CRR (complete response rate), RR (response rate) en OS (overall survival) tussen patiënten met een IDH1 mutatie en patiënten met een wildtype IDH1 en IDH2. De patiënt komt in aanmerking voor therapie met een IDH1 inhibitor (cave resistentie bij monotherapie).</p> <p>Bronnen: • Heuser M, Ofran Y, Boissel N, Brunet Mauri S, Craddock C, Janssen J, Wierzbowska A, Buske C; ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Acute myeloid leukaemia in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2020 Jun;31(6):697-712. doi: 10.1016/j.annonc.2020.02.018. Epub 2020 Mar 17. Erratum in: Ann Oncol. 2021 Jun;32(6):821. PMID: 32171751. • https://www.mycancergenome.org/content/gene/idh1/ • Cerchione C, Romano A, Daver N, DiNardo C, Jabbour EJ, Konopleva M, Ravandi-Kashani F, Kadia T, Martelli MP, Isidori A, Martinelli G, Kantarjian H. IDH1/IDH2 Inhibition in Acute Myeloid Leukemia. Front Oncol. 2021 Mar 29;11:639387. doi: 10.3389/fonc.2021.639387. PMID: 33898313. • Issa GC, DiNardo CD. Acute myeloid leukemia with IDH1 and IDH2 mutations: 2021 treatment algorithm. Blood Cancer J. 2021 Jun 3;11(6):107. doi: 10.1038/s41408-021-00497-1. PMID: 34083508. • Norsworthy KJ, Luo L, Hsu V, Gudi R, Dorff SE, Przepiorka D, Deisseroth A, Shen YL, Sheth CM, Charlab R, Williams GM, Goldberg KB, Farrell AT, Pazdur R. FDA Approval Summary: Ivosidenib for Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia with an Isocitrate Dehydrogenase-1 Mutation. Clin Cancer Res. 2019 Jun 1;25(11):3205-3209. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3749. Epub 2019 Jan 28. PMID: 30692099. • WHO revised 4th edition; LYON 2017</p>	12

<p>Mutatieprofiel passend bij AML en geassocieerd met normale cytogenetica (CN-AML).</p> <p>Selectieve IDH inhibitie, al dan niet in combinatie met hypomethyleerende agentia, is onderwerp van klinische studies. (Liu et al., Isocitrate dehydrogenase inhibitors in acute myeloid leukemia. Biom Res 2019; Chaturvedi et al., Synergistic activity of IDH1 inhibitor BAY1436032 with azacitidine in IDH1 mutant acute myeloid leukemia. Haematologica 2021).</p>	13
<p>Er wordt enkel een mutatie in de hotspot van IDH1 gedetecteerd. IDH1 mutaties komen voor in ~7% van de AML patiënten en zijn vaak geassocieerd met een NPM1 mutaties. In de afwezigheid van NPM1 mutaties hebben IDH1 mutaties geen impact op de prognose. IDH1 mutaties bieden wel mogelijkheid tot doelgerichte therapie met IDH1 inhibitors.</p>	14
<p>Variant pathogène repris dans la convention NGS. Mutation missense au niveau de l'exon 4 de cet oncogène pouvant être ciblée par une thérapeutique. L'impact pronostique est déterminé par la présence concomitante d'autres variants non présents dans ce cas-ci.</p>	15
<p>Des mutations acquises (somatiques) du gène IDH1 ont été décrites avec une prévalence de 6-9 % des AML "de novo" avec une fréquence accrue dans le cadre des AML "de novo" à caryotype normal (AML-CN), 8-16%.</p> <p>La plupart des mutations d'IDH1 affectent le résidu R132 (6.2%) (Figuerola et al., Cancer Cell 2010). Ces mutations sont préférentiellement rencontrées chez les patients appartenant au groupe à risque cytogénétique dit "intermédiaire".</p> <p>Une coïncidence élevée avec les mutations du gène NPM1 a été rapportée, ce qui ne semble pas être le cas des mutations de CEBPA ou de FLT3-ITD.</p> <p>Pronostic: Les mutations affectant le codon 132 d'IDH1 (R132X) sont associées à une DFS significativement raccourcie pour les patients à caryotype normal ou appartenant au groupe à risque favorable ou intermédiaire de l'ELN (NPM1c+/FLT3-ITD-neg/pos-low). Sous traitement standard de type "3+7", le taux de rechute est significativement plus élevé chez les patients porteurs d'une mutation R132X d'IDH1 et NPM1c+-neg/CEBPA-muté/FLT3-ITD-neg.</p> <p>Prédictif: la mise en évidence d'une mutation R132X d'IDH1 est un facteur prédictif en faveur d'une réponse positive à l'ivosidenib. La FDA a de ce fait approuvé l'utilisation de cette drogue dans cette indication: https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-ivosidenib-relapsed-or-refractory-acute-myeloid-leukemia.</p> <p>Les indications de traitement à base de régimes chimiothérapeutiques incluant le Vénétoclax et hypométhylants (HMA) chez les patients IDH1 mutés ont été récemment revues par le NCCN v3.2021 (MS-46).</p> <p>Références: - NCCN Guidelines AML v3.2021</p>	16
<p>A pathogenic IDH1 mutation was detected. The presence of an IDH1 mutation predicts a good response to IDH1-inhibition therapy in AML (ivosidenib).</p>	17
<p>De gedetecteerde IDH1 hotspotmutatie c.394C>T (p.(Arg132Cys)) ondersteunt de diagnose van acute myeloïde leukemie (AML) en is geassocieerd met gevoeligheid aan isocitrate dehydrogenase-1 (IDH1) inhibitors. IDH1-gemuteerde AML wordt geassocieerd met een normaal karyotype (Chou et al., 2010. Distinct clinical and biological characteristics in adult acute myeloid leukemia bearing isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) mutation. Blood; 115: 2749–2754.; Ward et al., 2010. The common feature of leukemia-associated IDH1 and IDH2 mutations is a neomorphic enzyme activity converting alpha-ketoglutarate to 2-hydroxyglutarate. Cancer; 17:225–234.).</p>	18

3.1.3. NGS-2021-6

<p>Aanwezigheid van de klassieke pathogene JAK2 variant geassocieerd met PV (95-99%), ET (50-70%) en MF (40-50%).</p>	1
<p>Met next generation sequencing werd een pathogene variant gevonden in JAK2. De JAK2 mutatie is een majeur criterium in de diagnose van MPN (WHO 2017).</p>	2
<p>De gain-of-function variant JAK2 V617F komt voor in 50-60% van de patiënten met PMF. Overige varianten in JAK2 exon 12 of exon 14 worden eveneens beschreven bij PMF. De aanwezigheid van één van deze varianten vormt een majeur diagnostisch criterium voor PMF (WHO2016).</p> <p>Referenties: 1. Arber et al. Blood 2016;127:2391-405 2. Tefferi et al. Leukemia 2010;24:1128-38</p>	3
<p>De aanwezigheid van deze mutatie in JAK2 past bij de diagnose van myeloproliferatieve aandoening. (Ref. Swerdlow et al, WHO IARC 2017) Bij PMF zijn JAK2 mutaties geassocieerd met een minder gunstige prognose. (Ref: Guglielmelli et al., 2014. Leukemia 28(9): 1804-1810, Tefferi et al., 2014. Leukemia 28(7): 1494-1500)</p>	4
<p>Sur les 39 gènes séquencés, seuls les 11 gènes suivants ont été interprétés : ASXL1, CALR, EZH2, IDH1, IDH2, JAK2, MPL, SRSF2, SF3B1, TET2, TP53. Toutefois, les éventuels variants pathogéniques (ou probablement pathogéniques) observés dans les 28 autres gènes seront rapportés ci-dessous dans le résumé du rapport s'ils ont un impact clinique avéré dans le cadre d'une Myélobiose primitive (PMF). Les variants sont classés biologiquement selon le principe de classification recommandé par Sciensano et Belac.</p> <p>Pour la description de chaque mutation se référer au tableau des résultats ci-joint.</p> <p>- Présence dans l'oncogène JAK2 du variant pathogénique c.1849G>T p.(Val617Phe) dont l'impact clinique est avéré. C'est la « mutation "driver", la plus fréquemment observée dans les myélobioses et elle est associée à un pronostic plus favorable que les patients triples négatifs mais moins favorable que les patients CALR ou MPL muté (Tefferi ; Blood 2015-PMID 24402162 ; NCCN v1 2021).</p>	5
<p>The JAK2(V617F) mutation is a cardinal mutation in myeloproliferative neoplasia (MPN) found in 90-95% of Polycythemia vera (PV), 60% of essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF). JAK2 mutated PMF are associated with intermediate prognosis and higher risk of thrombosis compared to patients with type 1 CALR mutations. *** The absence of non-driver mutation is presumed to be favorable to survival in PMF.***</p> <p>*Clinical effect of driver mutations of JAK2, CALR, or MPL in primary myelofibrosis. Rumi e et al. Blood 2014 ** MIPSS70+ Version 2.0: Mutation and Karyotype-Enhanced International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis. Tefferi A et al: JCO 2018 ***A 27-Gene NGS Panel in Primary Myelofibrosis Identifies ASXL1, CBL, RUNX1 and SRSF2 Mutations As Being Unfavorable and Absence of Any Non-Driver Mutation As Being Favorable to Survival Ayalew Tefferi et al. Blood 2015</p>	6
<p>De gevonden JAK2 variant is recurrent in de context van primaire myelofibrose. In de context van primaire myelofibrose wordt de aanwezigheid van een "driver" mutatie in JAK2 geassocieerd met een minder gunstige prognose dan CALR. Geen bijkomende varianten.</p> <p>Prognostisch laag risico (MIPSS70 en MIPSS70+ score), intermediair-1 risico (GIPSS score) (Ref: Tefferi et al., Am J Hematol. 2018;93:1551-1560).</p>	7
<p>Er werd een JAK2 (NM_004972.4(JAK2):c.1849G>T (p.(Val617Phe)) pathogene missense variant geïdentificeerd in exon 14.</p> <p>De aanwezigheid van deze specifieke variant heeft significant klinisch belang (tier I). Deze driver mutatie komt voor bij 50% van de patiënten met primaire myelofibrose en is geassocieerd met een intermediaire prognose (NCCN guidelines v3. 2019; PMID: 15781101, 26697989, 29296803). Deze variant is geassocieerd met gevoeligheid aan JAK inhibitoren zoals Ruxolitinib (NCCN guidelines v3. 2019).</p> <p>Er werden geen andere (vermoedelijk) pathogene varianten geïdentificeerd in de genen ASXL1, CALR, EZH2, IDH1, IDH2, JAK2, MPL, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1.</p>	8

<p>Volgende variant werd waargenomen: JAK2, c.1849G>T p.(Val617Phe), 10% VAF: Pathogeen, gekende hotspot mutatie.</p> <p>JAK2 mutaties komen frequent voor bij PMF (50%-65%), maar ook bij andere MPN en MDS/MPN overlap aandoeningen. Hoewel niet essentieel, is de aanwezigheid van een JAK2 variant van diagnostisch belang bij PMF (zie WHO 2016). JAK2V617F is prognostisch ongunstiger dan CALR type 1-mutante PMF, doch heeft een betere prognose dan MPL gemuteerde en triple negative PMF. Prognostisch ongunstige mutaties in ASXL1, SRSF2, EZH2, IDH1/2 en U2AF1 werden niet waargenomen (cfr. MIPSS70+ en GIPSS score). JAK2-inhibitoren hebben een plaats binnen de behandeling PMF, en ook andere (MPN)- aandoeningen. Gezien JAK2-inhibitoren op specifieke wijze inflammatoire cytokines onderdrukken, is hun werking onafhankelijk van de aanwezigheid van JAK2 varianten.</p>	9
<p>Er werd een pathogene mutatie in het JAK2 gen geïdentificeerd: JAK2 c.1849G>T p.(Val617Phe). Deze mutatie heeft een significant klinisch belang (Tier I). De JAK2 c.1849G>T p.(Val617Phe) mutatie wordt aangetroffen in 50-60 % van de patiënten met primaire myelofibrose (PMF) [1,2]. De aanwezigheid van een JAK2 mutatie vormt een majeur WHO-criterium voor diagnose van PMF [1]. De JAK2 c.1849G>T p.(Val617Phe) mutatie is in PMF geassocieerd met een intermediaire prognose en een hoger risico op trombose in vergelijking met patiënten met een CALR mutatie [2,3].</p> <p>Referenties: 1. Swerdlow SH et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (revised 4th edition). IARC: Lyon 2017. 2. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: myeloproliferative neoplasms, version 1.2021. 3. PMID 24986690.</p>	10
<p>Klinische indicatie: PMF</p> <p>NGS toont enkel aanwezigheid aan van de gekende, consensus pathogene variant Val617Phe in het JAK2 gen (VAF 11%): aanwezigheid van deze variant is compatibel met aanwezigheid van een myeloproliferatieve neoplasie (PV, ET of PMF) maar kan ook passen bij MDS/MPN-RS-T. JAK2 varianten worden bij ongeveer 65% PMF patiënten teruggevonden (Tefferi et al., Am J Hematol 2018; zie review Palandri et al., Annals of Hematol. 2019).</p> <p>Er konden geen varianten met een VAF>5% teruggevonden worden in de andere bij PMF klinisch belangrijke genen (ASXL1, CALR, EZH2, IDH1/2, MPL, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53 en U2AF1 (opmerking: grote insertie/deletie varianten kunnen gemist worden.)</p> <p>Besluit: NGS profiel in overeenstemming met aanwezigheid van PMF. Wegens ontbreken van karyotype en hematologische paramaters is een risico-analyse volgens de MIPSS70, MIPSS70-plus v2.0 of GIPSS modellen niet mogelijk (Guglielmelli et al., JCO 2018; Tefferi et al., JCO 2018 en Tefferi et al., Leukemia 2018). Ook de klassificatie op basis van het totale genetisch profiel zoals beschreven door Grinfeld et al. (NEJM 2018) is niet mogelijk. De aanwezigheid van de JAK2 variant is een therapeutische target in verschillende klinische trials.</p>	11
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van 1 variant met significant klinisch belang (TIER I): JAK2 c.1849G>T, p.(Val617Phe) (allel frequency 7,7%). JAK2 p.(Val617Phe) mutatie komt voor bij ongeveer 50-60% van de patiënten met primaire myelofibrose (PMF). Aanwezigheid van een JAK2 mutatie bevestigt de clonaliteit van de proliferatie maar deze mutatie kan ook voorkomen bij polycythemia vera en essentiële trombocytose waardoor JAK2 niet diagnostisch is voor PMF. De patiënt komt in aanmerking voor JAK2 inhibitor therapie (Ruxolitinib).</p> <p>Bronnen: • Vannucchi AM, Barbui T, Cervantes F, Harrison C, Kiladjian JJ, Kröger N, Thiele J, Buske C; ESMO Guidelines Committee. Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative neoplasms: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2015 Sep;26 Suppl 5:v85-99. doi: 10.1093/annonc/mdv203. Epub 2015 Aug 4. PMID: 26242182. • WHO revised 4th edition; LYON 2017 • Schieber M, Crispino JD, Stein B. Myelofibrosis in 2019: moving beyond JAK2 inhibition. Blood Cancer J. 2019 Sep 11;9(9):74. doi: 10.1038/s41408-019-0236-2. PMID: 31511492; PMCID: PMC6739355. • Arana Yi C, Tam CS, Verstovsek S. Efficacy and safety of ruxolitinib in the treatment of patients with myelofibrosis. Future Oncol. 2015;11(5):719-33. doi: 10.2217/fon.14.272. PMID: 25757677; PMCID: PMC4920055.</p>	12
<p>Mutatieprofiel passend bij PMF met JAK2 als proliferatieve merker. Ruxolitinib is een JAK-remmer die is goedgekeurd voor gebruik bij patiënten met primaire myelofibrose (cfr. COMFORT-studie). (Cervantes et al. Does ruxolitinib prolong the survival of patients with myelofibrosis? Blood 2017)</p>	13

Er wordt enkel een mutatie in de hotspot van JAK2 gedetecteerd. De aanwezige JAK2 V617F mutatie resulteert finaal in een intermediate risk, maar nog verder te correleren met eventuele afwijkingen in het karyotype (Tefferi et al., Leukemia 2018).	14
Variant pathogène repris dans la convention NGS. Mutation missense au niveau de l'exon 14 de cet oncogène soutenant le diagnostic de syndrome myéloprolifératif et pouvant être ciblée par une thérapeutique.	15
La mutation JAK2 c.1849G>T (p.(Val617Phe)) est retrouvée chez 50 à 60% des patients atteints de myélofibrose primitive (PMF) [1,2]. La présence d'une mutation JAK2 est un critère majeur de l'OMS pour le diagnostic de la PMF [1]. La mutation JAK2 c.1849G>T (p.(Val617Phe)) dans le PMF est associée à un pronostic intermédiaire et à un risque plus élevé de thrombose par rapport aux patients porteurs d'une mutation CALR [2,3]. References: 1. Swerdlow SH et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (revised 4th edition). IARC: Lyon 2017. 2. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: myeloproliferative neoplasms, version 1.2021. 3. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24986690/	16
A JAK2 V617F mutation was detected which confirms the diagnosis of a primary myelofibrosis.	17
De gedetecteerde JAK2 hotspotmutatie c.1849G>T (p.(Val617Phe)) ondersteunt de diagnose van primaire myelofibrose (PMF). In de context van PMF wordt de aanwezigheid van een driver variant in JAK2 geassocieerd met een minder gunstige prognose dan CALR mutatie (Pei et al., 2016. Prognostic value of CALR vs. JAK2V617F mutations on splenomegaly, leukemic transformation, thrombosis, and overall survival in patients with primary fibrosis: a meta-analysis. Ann Hematol 95, 1391–1398).	18

3.2. Interprétation du rapport individuel

En plus de ce rapport global, vous avez également reçu un rapport individuel. Ci-dessous vous trouverez des informations qui peuvent aider à interpréter ce rapport. La position de vos résultats quantitatifs est donnée en comparaison avec tous les résultats de tous les participants et toutes méthodes confondues.

Les informations suivantes sont reprises:

2. Votre résultat (R)
3. La médiane (MAF):
la valeur centrale des résultats fournis par tous les laboratoires, toutes méthodes confondues.
4. L'écart-type global (SD):
mesure de la dispersion des résultats fournis par tous les laboratoires et toutes méthodes confondues.
- 1) Le score Z:
la différence entre votre résultat et la médiane (exprimée en unités d'écart type):
 $Z = (R - \text{MAF}) / \text{SD}$
Votre résultat est cité si **$|Z| > 3$** .
- 2) L'interprétation graphique de la position de votre résultat (R) en comparaison avec tous les résultats de tous les participants, basée sur la méthode de Tukey, pour chaque paramètre et pour chaque échantillon analysé.

Ces paramètres vous donnent une indication approximative de la position de votre résultat (R) par rapport aux médianes (MAF).

Vous pouvez trouver plus de détails dans les 3 brochures qui sont disponibles sur notre site web à l'adresse suivante:

https://www.wiv-isp.be/QML/index_fr.htm

(Choisir « brochures » dans le menu proposé)

ou directement à l'adresse suivante:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/brochures/fr/brochures.htm

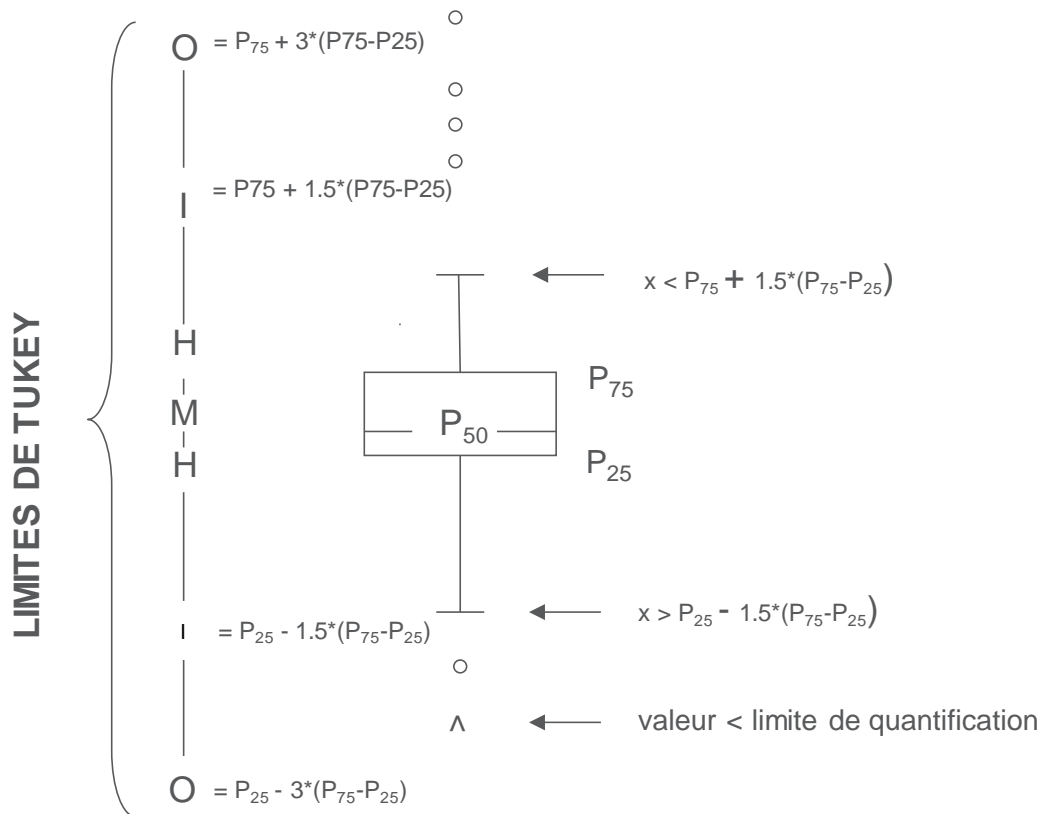
- Brochure d'information sur les programmes d'évaluation externe de la qualité pour les laboratoires cliniques (Brochure d'information générale sur l'évaluation externe).
- Brochure statistique (Procédure générale de calcul statistique mis au point par le professeur Albert).
- Traitement des valeurs censurées (Procédure de calcul statistique appliquée aux valeurs censurées rédigée par le Professeur Albert).

Représentation graphique

A côté des tableaux de résultats, une représentation graphique en "boîte à moustaches" est parfois ajoutée.

Elle reprend les éléments suivants :

- un rectangle qui va du percentile 25 (P_{25}) au percentile 75 (P_{75})
- une ligne centrale représente la médiane des résultats (P_{50})
- une ligne inférieure qui représente la plus petite valeur $x > P_{25} - 1.5 * (P_{75} - P_{25})$
- une ligne supérieure qui représente la plus grande valeur $x < P_{75} + 1.5 * (P_{75} - P_{25})$
- tous les points en dehors de cet intervalle sont représentés par un rond.



Limites correspondantes en cas de distribution normale

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2021.

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 d'experts ou du groupe de travail EEQ.