

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

COMITE DES EXPERTS *AD HOC*

RAPPORT GLOBAL DEFINITIF
Next Generation Sequencing (NGS)
Benchmarking trial RNA-seq
Tumeurs pulmonaires
2021/3

Sciensano/Benchmarking trial-EEQ NGS/10-FR

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				
Anne-France Dekairelle	UCL				
Koen Jacobs	AZ-St-Lucas Hospital Ghent				
Suzan Lambin	UZ Antwerp				
Brigitte Maes	Jessa Hospital Hasselt				
Sara Vander Borght	UZ Leuven				
Suzanne Vanhauwaert	UZ Ghent				
Pascal Vannuffel	IPG				
Stefanie Vermeire	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: 17/01/2022, 28/01/2022.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts *ad hoc* le: 01/02/2022.

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 du rapport : par Aline Antoniou, coordinateur d'enquête

Date de publication : 07/03/2022

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.....	5
1.2. Activité sous-traitée	5
1.3. Matériel	5
1.4. Demande	5
1.5. Critères d'évaluation	6
2. RESULTATS	8
2.1. Participation	8
2.2. Aperçu des méthodes.....	8
2.3. Aperçu des résultats.....	12
2.3.1. NGS-2021-7.....	12
2.3.2. NGS-2021-8.....	14
2.3.3. NGS-2021-9.....	16
2.3.4. Taux de réussite des participants.....	18
3. ANNEXE	19
3.1. Aperçu des conclusions cliniques.....	19
3.1.1. NGS-2021-7.....	19
3.1.2. NGS-2021-8.....	21
3.1.3. NGS-2021-9.....	23
3.2. Interprétation du rapport individuel	25

1. INTRODUCTION

L'organisation des Benchmarking trials 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

L'objectif de ce Benchmarking trial est d'établir l'état des lieux de la manière dont les fusions et les sauts d'exons sont détectés, sélectionnés et rapportés dans les protocoles cliniques.

1.2. Activité sous-traitée

Les échantillons d'ARN artificiel ont été produits par la firme SeraCare et sont distribués par la firme Sopachem (mélange d'ARN total de la lignée cellulaire de référence (GM24385) et d'ARN transcrit in vitro).

1.3. Matériel

Le matériel transmis lors de cette étude comprenait :

3 tubes contenant de l'ARN (Volume: 10µl, Concentration: 35 ng/µl, Tampon d'éluion: 1mM Tris HCl) provenant de 3 échantillons différents avec les références suivantes: NGS-2021-7, NGS-2021-8 et NGS-2021-9.

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 adénocarcinomes pulmonaires.

Pour chaque échantillon, il avait été demandé de répondre toutes les fusions et les sauts d'exons à rapporter dans le rapport clinique du patient, selon les procédures en vigueur dans le laboratoire, mais uniquement pour les gènes inclus dans la convention NGS et selon les workflows du ComPerMed (ne pas rapporter les autres fusions 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#/>

échantillon	Contexte clinique	gènes
NGS-2021-7 NGS-2021-8 NGS-2021-9	Adénocarcinome pulmonaire	ALK MET exon 14 skipping NTRK1, NTRK2, NTRK3 RET ROS1

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/EQA-NGS/>, il avait été demandé aux participants:

- De répondre au questionnaire concernant la méthode d'analyse.
- D'encoder les paramètres demandés pour chaque fusion ou saut d'exons identifié(e) et rapporté(e) selon les procédures du laboratoire dans le rapport clinique, suivant l'exemple donné et selon les recommandations Belac:
 - Nom des gènes de la fusion ou du saut d'exons
 - Le(s) chromosome(s) impliqué(s) dans l'aberration chromosomique
 - Le numéro NM du transcrit A
 - L'exon du transcrit A impliqué dans l'aberration chromosomique
 - Le numéro NM du transcrit B
 - L'exon du transcrit B impliqué dans l'aberration chromosomique
 - La classification biologique (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) pour chaque échantillon, le fichier contenant les fusions détectées (TSV) et le(s) fichier(s) BED contenant les régions ciblées par le(les) panel(s).

1.5. Critères d'évaluation

Ce rapport contient les résultats des 15 laboratoires participants. Pour l'identification des fusions et saut d'exons, 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 toutes les fusions et tous les sauts d'exons rapportés par au moins 2/3 des participants, présents dans les 3 échantillons: consensus des fusions/sauts d'exons à rapporter.
- 2/ L'absence de signalement des fusions et des sauts d'exons rapportés par moins de 1/3 des participants: consensus des fusions/sauts d'exons à ne pas rapporter.

Les fusions et les sauts d'exons rapportés entre 1/3 et 2/3 des laboratoires sont également détaillés dans les rapports et sont transmis à titre indicatif : pas de consensus. Une fusion ou un saut d'exons avec un consensus peut être non évalué(e) si le groupe d'experts ne valide pas ce consensus établi par les laboratoires.

Le nombre de reads qui supporte l'évènement identifié par chaque laboratoire est représenté dans les boxplots du rapport. Ce nombre dépend de la technologie utilisée et de la profondeur de séquençage réalisée par les participants Il ne s'agit donc pas d'une valeur cible de détection de l'évènement.

Concernant les interprétations biologiques, pour le consensus des fusions/sauts d'exons 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.

Les numéros NM utilisés par les laboratoires sont détaillés dans un tableau avec le numéro NM des guidelines belges indiqué en bleu. Le contenu des conclusions générales rapportées par les laboratoires est classé par informations types reprises par au moins 2 laboratoires. Ces données ne sont pas évaluées.

Règles de nomenclature pour la description des fusions : Les règles de nomenclature utilisées dans ce rapport proviennent des guidelines belges. Cependant, les règles de nomenclature HGVS recommandent l'utilisation du sigle "::" pour désigner des jonctions de point de rupture impliquant des séquences de chromosomes différents (<http://varnomen.hgvs.org/>). Exemple: CCDC6::RET. Une adaptation de la nomenclature sera proposée lors de la prochaine révision des guidelines.

2. RESULTATS

2.1. Participation

Sur 17 laboratoires belges inscrits à l'étude, 15 laboratoires sont repris dans l'analyse des résultats. Un laboratoire a décidé d'annuler sa participation après le début de l'enquête et un autre laboratoire n'utilisait pas la technique NGS pour l'analyse des fusions présentes dans les échantillons envoyés et a été exclu de l'étude.

Aperçu des participants

Région	N
Région flamande	9
Région bruxelloise	4
Région wallonne	2
Total	15

Laboratoire	N
Anatomie pathologique	7
Biologie Clinique	6
Génétique humaine	2
Total	15

2.2. Aperçu des méthodes

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

Réponses	N
hg19/GRCh37	12
hg38/GRCh38	2
hg18	1

Q2. Quel séquenceur utilisez-vous pour les analyses RNA-seq (firme et plateforme)?

Réponses	N
Illumina - MiSeq	9
Illumina - MiSeqDx	1
Illumina - NextSeq 550	1
Illumina - NovaSeq 6000	2
ThermoFisher/Ion Torrent - Ion GeneStudio S5	1
ThermoFisher/Ion Torrent - Ion S5	1

Q3. Quels panels sont utilisés pour les analyses RNA-seq (nom des kits commerciaux et/ou custom) ?

Réponses	N
FusionPlex Lung, Archer	4
FusionPlex Comprehensive Thyroid & Lung (CTL), Archer	3
Ampliseq Focus RNA, Illumina	2
Oncomine Focus Assay, ThermoFisher	2
QIAseq Targeted RNAscan Custom Panel, Qiagen	2
TruSight Oncology 500 HT, Illumina	1
Twist custom panel, Twist Bioscience	1

Q4. Quelle stratégie d'enrichissement est utilisée pour les analyses RNA-seq?

Réponses	N
Amplicon-based	13
Probe-based	2

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

Réponses	N
Paired-end	13
Single-end	2

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

Réponses	N
100	1
115	1
120	2
150	4
151	4
200	1
230	2

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

Réponses	N
Archer Analysis Software	7
CLC Genomics Workbench (Qiagen)	2
Illumina Local Run manager RNA Amplicon module	2
Ion Reporter (ThermoFisher)	2
Open source/in house development	1
TruSight Oncology 500 Local App	1

Remarques : Les outils bio-informatiques utilisés en *open source* sont : STAR / STARFUSION / CTAT splicing. Le laboratoire qui utilise TruSight Oncology 500 Local App réalise le demultiplexing in-house.

Q8. Quelles bases de données sont utilisées pour l'analyse tertiaire? (annotation et filtres additionnels)

Réponses	N
PubMed	8
COSMIC	6
Analyse tertiaire réalisée par le software d'analyse secondaire	5
Archer Quiver™	5
FusionGDB	5
Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology	3
cBioPortal	3
ClinVar	3
Mitelman	3
Alamut	1
ChimerDB	1

Q9. Quel est le nombre de reads total minimum par échantillon par analyse RNA-seq?

Réponses	N
5 000 000	1
1 500 000	1
1 000 000	1
600 000	1
500 000	3
200 000	2
20 000	2
165 000 on-target reads	1
NA	3

Q10. Combien de reads doivent supporter une fusion pour que cette dernière soit effectivement rapportée ?

Réponses	N
3	1
5	5
6	1
10	3
14	1
20	2
49	1
variable	1

Remarques Q9 et Q10: Pour certains laboratoires, un critère additionnel est utilisé pour valider les fusions : « average sequencing depth of reference genes ».

Q11. Quels types d'échantillons sont séquencés par votre laboratoire pour la détection des fusions par RNA-seq?

Réponses	N
Tissu paraffiné	15
Frottis	2
Liquide cytologique	1
Prélèvement de moelle	1
Sang	1
Tissu frais	1

Q12. Quelle est la quantité minimale d'ARN total requise par votre laboratoire pour réaliser une analyse RNA-seq?

Réponses	N
0-10ng	5
11-50ng	7
51-100ng	3

Q13. Quelle est la concentration minimale d'ARN requise par votre laboratoire pour réaliser l'analyse RNA-seq (ng/µl)?

Réponses	N
1ng/µl	7
20ng/µl	2
En cours de validation	1
NA	5

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

Réponses	N
Qubit	13
NanoDrop	1
Quantus	1

Q15. Quelle est la méthode utilisée pour contrôler la qualité de l'ARN ?

Réponses	N
Pas réalisé, quantification + QC NGS	6
qPCR	5
TapeStation, Agilent	3
Bioanalyser	1
Pas réalisé, en cours de validation	1

Q16. Quelles sont les guidelines utilisées pour l'interprétation des fusions identifiées?

Réponses	N
BELAC 2-405-NGS Rev 3-2021	15

Q17. la technique RNA-seq est-elle réalisée sous accréditation ?

	Depuis 2019	Depuis 2021	Prévue pour 2022	Date indéterminée	Total
Non	0	0	2	1	3
Oui	6	6	0	0	12

Q18. Quels sont les autres EEQ auxquels vous participez pour cette technique?

Réponses	N
GenQA/ UK NEQAS	10
ESP Lung EQA	3
CAP	2
ringtrials MD.be	1

2.3. Aperçu des résultats

2.3.1. NGS-2021-7

type de la tumeur primaire et histologie adénocarcinome pulmonaire

Consensus des fusions à rapporter

- [CCDC6-RET; t\(10;10\); exon A: 1; exon B: 12](#)

CCDC6-RET; t(10;10); exon A: 1; exon B: 12 (Nombre médian de reads: 723)	
Identification de la fusion	N
Oui	15
Non	0
Classification biologique	N
Pathogénique	15
Total	15

Commentaires: Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification de la fusion CCDC6-RET; t(10;10); exon A: 1; exon B: 12. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique.

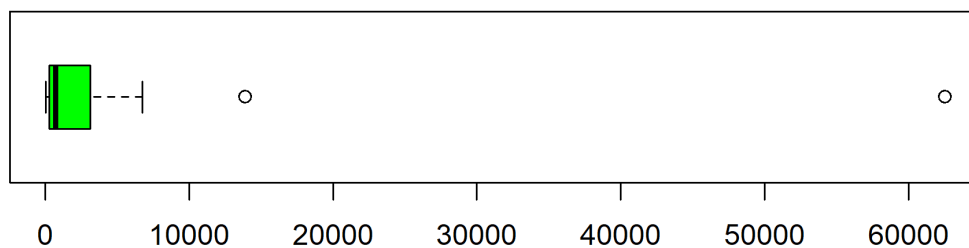
Analyse NM:

CCDC6-RET Transcrit A	N
NM_005436.4	6
NM_005436.5	5
NM_005436	3
NM_019063.5	1

CCDC6-RET Transcrit B	N
NM_020975.4	6
NM_020975.6	3
NM_020630	2
NM_020630.4	1
NM_020630.6	1
NM_020975	1
NM_020975.5	1

Nombre de reads avec la fusion séquencé par les participants:

CCDC6-RET; t(10;10); exon A: 1; exon B: 12



Min	P25	Median	P75	Max	SD
30	262.5	723	3146	62560	2137.54

Analyse des conclusions :

Informations types	Informations spécifiques au cas 1 et reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires	
Traitement	Indication de sensibilité aux inhibiteurs de tyrosine kinase RET liée à la présence de la fusion RET (Pralsetinib, Selpercatinib) - Pralsetinib et Selpercatinib approuvés par le FDA pour les NSCLCs métastatiques - Patient éligible à la thérapie avec inhibiteurs de tyrosine kinase RET liée à la présence de la fusion RET (Pralsetinib, Selpercatinib)	10	
	Indication de sensibilité aux inhibiteurs de multikinases liée à la présence de la fusion RET (Cabozantinib, Vandetanib) - Patient éligible à la thérapie avec inhibiteurs de multikinases liée à la présence de la fusion RET (Cabozantinib, Vandetanib)		4
	Sensibilité incertaine aux inhibiteurs de tyrosine kinase RET ou aux inhibiteurs de multikinases liée à la présence de la fusion RET (en cours d'étude)		2
Informations sur les gènes testés	Réarrangements du gène RET décrits dans 1 à 2% des NSCLCs	4	

type de la tumeur primaire et histologie adénocarcinome pulmonaire**Consensus des fusions à rapporter**

- EML4-ALK; t(2;2); exon A: 13; exon B: 20

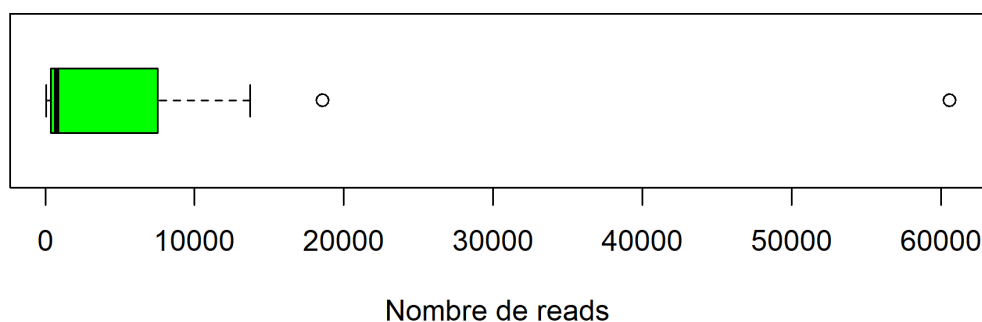
EML4-ALK; t(2;2); exon A: 13; exon B: 20 (Nombre médian de reads: 762)	
Identification de la fusion	N
Oui	15
Non	0
Classification biologique	N
Pathogénique	15
Total	15

Commentaires: Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification de la fusion EML4-ALK; t(2;2); exon A: 13; exon B: 20. Un laboratoire a inversé les valeurs de l'exon A et de l'exon B. Il s'agit probablement d'une erreur de retranscription sur notre site internet puisque les exons sont correctement identifiés dans les données brutes (TSV) du laboratoire concerné. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique.

Analyse NM:

EML4-ALK Transcrit A N	
NM_019063.4	6
NM_019063.5	4
NM_019063	2
NM_004304.5	1
NM_0109063	1
NM_019063.3	1
EML4-ALK Transcrit B N	
NM_004304.4	7
NM_004304.5	4
NM_004304	3
NM_019063.5	1

Nombre de reads avec la fusion séquencé par les participants:

EML4-ALK; t(2;2); exon A: 13; exon B: 20

Min	P25	Median	P75	Max	SD
46	380.5	762	7550	60611	5314.76

Analyse des conclusions :

Informations types	Informations spécifiques au cas 2 et reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
Traitement	Indication de sensibilité aux inhibiteurs de tyrosine kinase ALK liée à la présence de la fusion ALK (Alectinib, Brigatinib, Ceritinib, Crizotinib) - Patient éligible à la thérapie avec inhibiteurs de tyrosine kinase ALK liée à la présence de la fusion ALK (Alectinib, Brigatinib, Ceritinib, Crizotinib)	13
Informations sur les gènes testés	Réarrangements du gène ALK décrits dans 1-5% des NSCLCs	3

type de la tumeur primaire et histologie adénocarcinome pulmonaire**Consensus des fusions à rapporter**

- CD74-ROS1; t(5;6); exon A: 6; exon B: 34

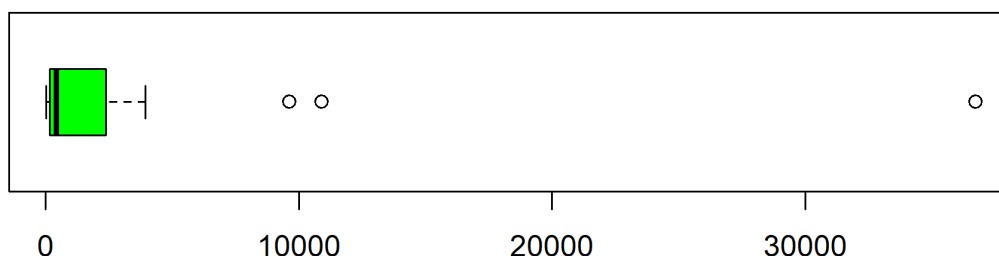
CD74-ROS1; t(5;6); exon A: 6; exon B: 34 (Nombre médian de reads: 433)	
Identification de la fusion	N
Oui	15
Non	0
Classification biologique	N
Pathogénique	15
Total	15

Commentaires: Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification de la fusion CD74-ROS1; t(5;6); exon A: 6; exon B: 34. L'exon B numéro 24 rapporté par un laboratoire, n'est pas correct. Il s'agit probablement d'une erreur de retranscription sur notre site internet puisque l'exon est correctement identifié dans les données brutes (TSV) du laboratoire concerné. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique.

Analyse NM:

CD74-ROS1 Transcrit A N	
NM_001025159.2	8
NM_001025159	2
NM_004355.3	2
NM_001025159.3	1
NM_001364083.3	1
NM_004355	1
CD74-ROS1 Transcrit B N	
NM_002944.2	10
NM_002944	3
NM_002944.3	2

Nombre de reads avec la fusion séquencé par les participants:

CD74-ROS1; t(5;6); exon A: 6; exon B: 34

Min	P25	Median	P75	Max	SD
14	168	433	2383.5	36730	1642.35

Analyse des conclusions :

Informations types	Informations spécifiques au cas 3 et reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
Traitement	Indication de sensibilité aux inhibiteurs de tyrosine kinase ROS1 liée à la présence de la fusion ROS1 (Crizotinib, Entrectinib, Ceritinib) - Patient éligible à la thérapie avec inhibiteurs de tyrosine kinase ROS1 liée à la présence de la fusion ROS1 (Crizotinib, Entrectinib, Ceritinib)	13
Informations sur les gènes testés	Réarrangements du gène ROS1 décrits dans 1-2% des NSCLCs	3

2.3.4. Taux de réussite des participants

Consensus des fusions à rapporter

Taux de réussite basé sur le consensus des fusions à rapporter	N
3/3 (100%)	15
Taux de réussite total: 45/45 (100%)	

Consensus des fusions à ne pas rapporter

Aucune fusion n'a été rapportée par moins d'un tiers des participants.

Classifications biologiques

Taux de réussite des participants pour les classifications pour le consensus des fusions à rapporter	N
Classifications biologiques	
3/3 (100%)	15
Taux de réussite total - classifications biologiques : 45/45 (100%)	

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/EQA-NGS/>. 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-2021-7

The CCDC6-RET fusion was detected in this sample. Early-phase clinical trials to evaluate multikinase inhibitors of RET and, more recently, selective RET inhibitors (Pralsetinib or Selpercatinib) have demonstrated moderate antitumor activity and a tolerable toxicity profile.	1
Er werd een RET fusie gevonden. Dit wijst op een vermoedelijke respons aan RET TKI behandeling.	2
Er wordt een CCDC6::RET fusie transcript gedetecteerd: CCDC6 [NM_005436.5] exon 1::RET [NM_020975.6] exon 12. Conclusie Aanwezigheid van een CCDC6 (exon 1)::RET (exon 12) fusie. De predictieve en prognostische betekenis van een RET genherschikking en specifiek het effect op de respons op RET- inhibitoren wordt uitvoerig bestudeerd (Drilon A et al. Efficacy of Selpercatinib in RET Fusion-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. NEJM 2020). Verschillende klinische studies zijn lopende (o.a. NCT04194944).	3
CCDC6 ex1 à RET ex12 (chr10:61665880,chr10:43612032)	4
Présence du transcrite de fusion : CCDC6 (exon 1) - RET (exon 12). Ce transcript est classé biologiquement comme pathogénique et est de signification clinique avérée dans cette pathologie. Réf : Nat Med. 2012 Feb 12;18(3):378-81. PMID: 22327623 J Clin Oncol. 2012 Dec 10;30(35):4352-9. PMID: 23150706 Cancer Discov. 2013 Jun;3(6):630-5. PMID: 23533264 Oncologist. 2013;18(7):865-75. PMID: 23814043	5
Des réarrangements du gène RET sont décrits dans 1 à 2% des carcinomes pulmonaires non à petites cellules. La FDA a récemment approuvé l'utilisation du selpercatinib et du pralsetinib pour le traitement des NSCLC métastatiques possédant une fusion du gène RET. L'EMA a récemment approuvé l'utilisation du selpercatinib (Retsevmo) en monothérapie dans le cas d'un cancer bronchique non à petites cellules avancé possédant une fusion du gène RET après traitement par immunothérapie et/ou chimiothérapie à base de platine. Drilon et al. Cancer Discovery (2013), 3 : 630-635. Ferrara et al., J. Thor. Oncol. (2017) 13 (1) : 27-45. Mycancergenome.org	6
RNA NGS solide tumor 26 genpanel: - CCDC6::RET fusie De aanwezigheid van een RET fusie wordt in het algemeen geassocieerd met een goede respons op RET inhibitoren waaronder selpercatinib en prasetinib in NSCLC (Drilon et al. NEJM 2020, NCCN guidelines non-small cell lung cancer version 4.2021).	7
Met massieve parallel sequentie (MPS)-analyse kon in deze patiënt een pathogeen fusietranscript aangetoond worden (zie tabel). Het is aangewezen om dit resultaat te verifiëren met een alternatieve methode of op een ander staalafname. De aanwezigheid van deze pathogene CDCC6-RET fusie in NSCLC heeft significant klinisch belang (tier I) vermits deze is in het algemeen is geassocieerd met gevoeligheid voor RET inhibitoren (Cabozantinib, Vandetanib) (NCCN guidelines NSCLC v3.2020).	8

<p>Er werd een CCDC6-RET fusietranscript geïdentificeerd. Een RET generschikking wordt aangetroffen in 1 tot 2 % van de gevallen van niet-kleincellig longcarcinoom, waarbij het CCDC6 gen een frequente fusiepartner is. Het fusie-eiwit leidt typisch tot een ongepaste signalisatie via het RET kinasedomein. De identificatie van een CCDC6-RET fusietranscript heeft een klinisch belang: dit wijst op gevoeligheid voor behandeling met RET tyrosine kinase inhibitoren. Ook werd aangetoond dat patiënten met een RET generschikking meestal niet reageren op immuun checkpoint inhibitoren.</p> <p>Referentie: National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: non-small cell lung cancer, version 7.2021.</p>	9
<p>Bevindingen met sterke klinische betekenis: Er werd een RET fusie (CCDC6-RET) gedetecteerd. Patiënt komt hierdoor mogelijks in aanmerking voor deelname in studie in 1e lijn met selpercatinib (open voor inclusie in AZ delta).</p> <p>Coverage van de expressiecontroles voldoet aan de vooropgestelde criteria.</p>	10
<p>De aanwezigheid van een RET fusie wijst op vermoedelijke respons op RET TKI behandeling.</p>	11
<p>RET-fusie positief. Pralsetinib/ Selpercatinib zijn FDA approved voor de behandeling van gemetastaseerde RET-fusie positieve NSCLC (Gainor et al., JCO 2020; Markham et al., Drugs 2020).</p>	12
<p>Breakpoint position: chr10:61665880::chr10:43612032</p> <p>Ce patient pourrait bénéficier d'une thérapie basée sur des inhibiteurs anti-RET ou multikinase tels que - liste non exhaustive- cabozantinib, vandetanib ou lenvatinib.</p>	13
<p>Détection d'un gène de fusion correspondant à l'une des translocations récurrentes associées à des marqueurs moléculaires d'intérêt clinique en vue de l'inclusion dans une étude clinique*.</p> <p>Les réarrangements du gène RET sont rares dans les NSCLCs (0.6-2%) ainsi que chez les patients atteints d'adénocarcinome (1.2-2%), le gène KIF5B étant le partenaire le plus fréquemment rencontré (90%). Les translocations chromosomiques impliquant RET sont associées à une activité tyrosine kinase constitutive et sont mutuellement exclusives avec les aberrations impliquant les gènes EGFR, KRAS, ALK, HER2 ou BRAF. (Lindeman et al.2018 J Thoracic Onc; Rosell et al. 2016, Lancet Respir Med).</p> <p>Votre patient est donc susceptible de bénéficier d'un traitement par inhibiteur de RET, du type inhibiteurs multikinase (Cabozantinib et Vandetanib).</p> <p>Des études cliniques de phase II montrent une réponse de 28 et 55% respectivement, avec des temps de survie compris entre 4.7 et 5.5 mois (Rosell et al.2016, Lancet Respir Med). Un case report complémentaire montre également une réponse partielle au Cabozantinib (PFS >9mois), sans effets adverses considérables (Wang et al, 2019, Medecine).</p> <p>Les fusions RET-CCDC6 et RET-ERC1 représentent toutefois des facteurs de mauvais pronostic : on n'observe pas de corrélation positive suite au traitement par inhibiteurs mutlikinase.</p> <p>*suivant les guidelines du CAP/IASLC/AMP (2018).</p>	14
<p>Er werd een aberrante RET-fusie, type CCDC6::RET, gedetecteerd. RET fusies komen voor in 1 à 2 % van de longcarcinomen en zijn predictief voor een goede respons op RET-inhibitoren.</p>	15

3.1.2. NGS-2021-8

The EML4-ALK fusion was detected in this sample. The presence of this fusion confers sensitivity to ALK TKI's.	1
Er werd een ALK fusie gevonden. Dit wijst op een vermoedelijke respons aan ALK TKI behandeling.	2
Er wordt een EML4::ALK fusie transcript gedetecteerd: EML4 [NM_019063.5] exon 13::ALK [NM_004304.5] exon 20. Conclusie: Aanwezigheid van een EML4 (exon 13)::ALK (exon 20) fusie. Patiënten waarbij deze fusie voorkomt kunnen in aanmerking komen voor behandeling met ALK tyrosine kinase inhibitoren (Camidge DR et al. Updated efficacy and safety data and impact of the EML4-ALK fusion variant on the efficacy of alectinib in untreated ALK-positive advanced non-small cell lung cancer in the global phase III ALEX study. J Thorac Oncol 2019).	3
EML4 ex13 à ALK ex 20 (chr2:42522656, chr2:29446394)	4
Présence du transcrit de fusion : EML4 (exon 13) - ALK (exon 20). Ce transcript est classé biologiquement comme pathogénique et est de signification clinique avérée dans cette pathologie. Réf: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=18242762%2C19383809%2C20855837%2C24443522%2C24955213%2C25384085%2C25813404%5Buid%5D	5
La présence de réarrangement du gène ALK est associée à une réponse aux inhibiteurs de ALK. Camidge D. et al. (2012), 13 (10) : 1011-1019	6
RNA NGS solide tumor 26 genpanel: - EML4::ALK fusie Een ALK fusie wordt in het algemeen geassocieerd met een goede respons op ALK inhibitoren waaronder crizotinib, ceritinib, alectinib, brigatinib en lorlatinib in NSCLC (Peters et al. NEJM 2017, oncokb (Chakravarty et al. JCO PO 2017), NCCN guidelines non-small cell lung cancer version 4.2021).	7
Met massieve parallel sequentie (MPS)-analyse kon in deze patiënt een pathogeen fusietranscript aangetoond worden(zie tabel). Het is aangewezen om dit resultaat te verifiëren met een alternatieve methode of op een ander staalafname. De aanwezigheid van deze pathogene EML4-ALK fusie in NSCLC heeft significant klinisch belang (tier I) vermits deze in het algemeen geassocieerd is met gevoeligheid voor ALK inhibitoren (Alectinib, Brigatinib, Ceritinib, Crizotinib) (NCCN guidelines NSCLC v3.2020).	8
Er werd een EML4-ALK fusietranscript geïdentificeerd. Een ALK genherschikking wordt aangetroffen in ongeveer 5 % van de gevallen van niet-kleincellig longcarcinoom, waarbij het EML4 gen de meest frequente fusiepartner is. Het fusie-eiwit leidt typisch tot een ongepaste signalisatie via het ALK kinasedomein. De identificatie van een EML4-ALK fusietranscript heeft een klinisch belang: dit wijst op gevoeligheid voor behandeling met ALK tyrosine kinase inhibitoren. Ook werd aangetoond dat patiënten met een ALK genherschikking doorgaans niet reageren op immuun checkpoint inhibitoren. Referentie: National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: non-small cell lung cancer, version 7.2021.	9
Bevindingen met sterke klinische betekenis: Er werd een ALK fusie (EML4-ALK) teruggevonden, met bewezen gevoeligheid voor ALK TKI. Coverage van de expressiecontroles voldoet aan de vooropgestelde criteria.	10
De aanwezigheid van deze ALK fusie wijst op vermoedelijke respons op ALK TKI behandeling.	11
ALK-fusie positief. Indicatief voor respons op ALK TKI behandeling (Kwak et al., NEJM (2017)).	12
Bearkpoint position : chr2:29446394::chr2:42522656 Ce patient pourrait bénéficier d'une thérapie par des inhibiteurs anti-Alk tels que - liste non exhaustive - crizotinib, alectinib ou brigatinib	13

<p>Détection d'un gène de fusion correspondant à l'une des translocations récurrentes classiquement associées au diagnostic de cancer de poumon non à petites cellules (NSCLC) pouvant bénéficier d'une thérapie ciblée*.</p> <p>Les réarrangements d'ALK sont impliqués (se rencontrent) dans 5% des NSCLC et conduisent à une surexpression de l'activité tyrosine kinase.</p> <p>Les translocations d'ALK sont généralement mutuellement exclusives avec les mutations des gènes EGFR et KRAS.</p> <p>Le traitement à base de Crizotinib (inhibiteur de ALK et MET tyrosin kinases) montre une réponse de 65%, avec une PFS de 11 mois. Des résistances au Crizotinib peuvent apparaître après 8-11 mois. Des inhibiteurs de deuxième génération tels que le Ceritinib ou l'Alectinib, montrent une corrélation positive (RR 55-56%, PFS 7-8 mois%) (Arbour and Riely, Hematol Oncol Clin North Am 2018).</p> <p>*suivant les guidelines du CAP/IASLC/AMP (2018).</p>	14
<p>The EML4-ALK fusion was detected in this sample. The presence of this fusion confers sensitivity to ALK TKI's.</p>	15

3.1.3. NGS-2021-9

The CD74-ROS1 fusion was detected in this sample. The presence of this fusion confers sensitivity to targeted Tyrosine Kinase Inhibitors.	1
Er werd een ROS1 fusie gevonden. Dit wijst op een vermoedelijke respons aan ROS1 TKI behandeling.	2
Er wordt een CD74::ROS1 fusie transcript gedetecteerd: CD74 [NM_001025159.2] exon 6::ROS1 [NM_002944.2] exon 34. Conclusie Aanwezigheid van een CD74 (exon 6)::ROS1 (exon34) fusie. Patiënten waarbij deze fusie voorkomt kunnen in aanmerking komen voor een behandeling met ROS1 inhibitoren zoals crizotinib.	3
CD74 ex6 à ROS1 ex 34 (chr5:149784243, chr6:117645578)	4
Présence du transcrit de fusion : CD74 (exon 6) - ROS1 (exon 34). Ce transcript est classé biologiquement comme pathogénique et est de signification clinique avérée dans cette pathologie. Réf : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=18083107%2C22140546%2C22215748%2C22327623%2C22661537%2C22919003%2C23724914%2C23788756%2C24700479%2C25384085%5Buid%5D	5
La présence de réarrangement du gène ROS1 est associée à une réponse au crizotinib. Shaw AT et al., N Engl J Med. 2014 Nov 20;371(21):1963-71. Mazières J et al., J Clin Oncol. 2015 Mar 20;33(9):992-9.	6
RNA NGS solide tumor 26 genpanel: - CD74::ROS1 fusie Een ROS1 fusie wordt in het algemeen geassocieerd met een goede respons op ROS1 inhibitoren waaronder crizotinib en entrectinib in NSCLC (Shaw et al. NEJM 2014, Drilon et al. Cancer Discov 2017, oncokb (Chakravarty et al. JCO PO 2017), NCCN guidelines non-small cell lung cancer version 4.2021).	7
Met massieve parallel sequentie (MPS)-analyse kon in deze patiënt een pathogeen fusietranscript aangetoond worden (zie tabel) Het is aangewezen om dit resultaat te verifiëren met een alternatieve methode of op een ander staalafname. De aanwezigheid van deze pathogene CD74-ROS1 fusie in NSCLC heeft significant klinisch belang (tier I) vermits deze is in het algemeen geassocieerd met gevoeligheid voor ROS1 inhibitoren (Crizotinib, Entrectinib, Ceritinib) (NCCN guidelines NSCLC v3.2020).	8
Er werd een CD74-ROS1 fusietranscript geïdentificeerd. Een ROS1 genherschikking wordt aangetroffen in 1 tot 2 % van de gevallen van niet-kleincellig longcarcinoom, waarbij het CD74 gen een frequente fusiepartner is. Het fusie-eiwit leidt typisch tot een ongepaste signalisatie via het ROS1 kinasedomein. De identificatie van een CD74-ROS1 fusietranscript heeft een klinisch belang: dit wijst op gevoeligheid voor behandeling met ROS1 tyrosine kinase inhibitoren. Ook werd aangetoond dat patiënten met een ROS1 genherschikking meestal niet reageren op immuun checkpoint inhibitoren. Referentie: National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: non-small cell lung cancer, version 7.2021.	9
Bevindingen met sterke klinische betekenis: Er werd een ROS1 (CD74-ROS1) fusie teruggevonden, met bewezen gevoeligheid voor ALK TKI. Coverage van de expressiecontroles voldoet aan de vooropgestelde criteria.	10
De aanwezigheid van deze ROS1 fusie wijst op een vermoedelijke respons op ROS1 TKI.	11
ROS1-fusie positief. Crizotinib en entrectinib zijn door de FDA goedgekeurd voor de behandeling van ROS1-fusie positieve NSCLC.	12
Breakpoint position : chr5:49784243::chr6:117645578 Ce patient serait éligible pour un traitement avec des molécules dirigées contre ROS1 telles que -liste non exhaustive - crizotinib, ceritinib ou brigatinib.	13

<p>Détection d'un gène de fusion correspondant à l'une des translocations récurrentes classiquement associées au diagnostic de cancer de poumon non à petites cellules (NSCLC) pouvant bénéficier d'une thérapie ciblée*.</p> <p>Les réarrangements de ROS1 sont impliqués dans 2% des NSCLC and 3% des adénocarcinomes pulmonaires.</p> <p>Les translocations de ROS1 dans les NSCLC, sont associés à une survie prolongée en comparaison de la survie observée chez des patients atteints de cette pathologie porteurs de tout autre type de mutation (Scheffler et al. Oncotarget, 2015).</p> <p>Le traitement à base de Crizotinib est corrélé à une réponse positive (72-80%) et une PFS de 9-19 mois (Lindeman et al ; J Thoracic Onc, 2018).</p> <p>*suivant les guidelines du CAP/IASLC/AMP (2018).</p>	14
<p>The CD74-ROS1 fusion was detected in this sample. The presence of this fusion confers sensitivity to targeted Tyrosine Kinase Inhibitors.</p>	15

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):
 $Z = (R - MAF) / SD$
Votre résultat est cité si **IZI > 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 brochures qui sont disponibles sur notre site web à l'adresse suivante:

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

→ choisir dans le menu proposé :

BROCHURE D'INFORMATION GENERALE EEQ

→ choisir dans le menu proposé "Brochures":

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

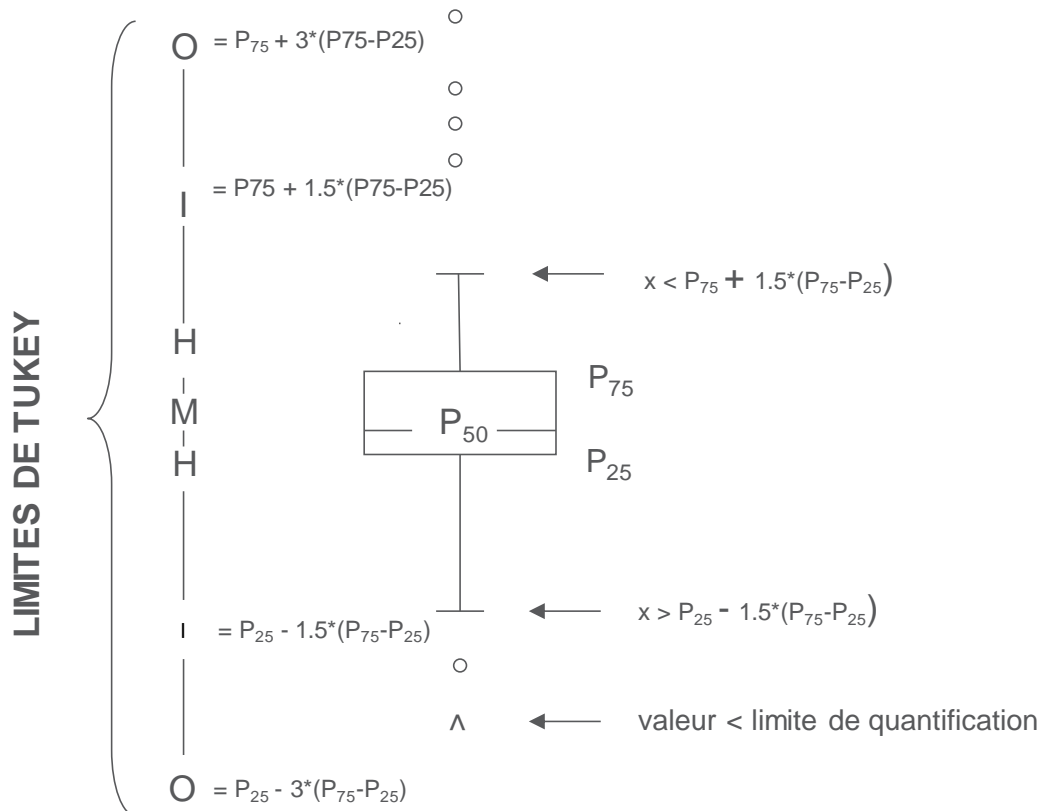
- Méthodes statistiques appliquées à l'EEQ
- Traitement des valeurs censurées

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 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 d'experts ou du groupe de travail EEQ.