

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

COMITE DES EXPERTS *AD HOC*

RAPPORT GLOBAL
Next Generation Sequencing (NGS)
Benchmarking trial RNA-seq
Tumeurs pulmonaires
2022/3

Sciensano/Benchmarking trial-EEQ NGS/13-FR

COMITE DES EXPERTS AD HOC

Sciensano			
Secrétariat	TEL:	02/642.55.21	FAX: 02/642.56.45
	e-mail:	QL_secretariat@sciensano.be	
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: 26/01/2023.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts *ad hoc* le: 13/02/2023.

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 : 8/03/2023

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires>

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.....	7
2. RESULTATS.....	8
2.1. Participation.....	8
2.2. Aperçu des méthodes.....	8
2.3. Aperçu des résultats.....	12
2.3.1. NGS-2022-7	12
2.3.2. NGS-2022-8	14
2.3.3. NGS-2022-9	16
2.3.4. Taux de réussite des participants.....	18
3. ANNEXE	19
3.1. Aperçu des conclusions cliniques.....	19
3.1.1. NGS-2022-7	19
3.1.2. NGS-2022-8	21
3.1.3. NGS-2022-9	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-2022-7, NGS-2022-8 et NGS-2022-9.

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.inami.fgov.be/fr/professionnels/etablissements-services/laboratoires/Pages/oncologie-remboursement-biologie-moleculaire-ngs.aspx)

[https://www.compermed.be/fr/workflows#/
/](https://www.compermed.be/fr/workflows#/)

échantillon	Contexte clinique	gènes
NGS-2022-7 NGS-2022-8 NGS-2022-9	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://eqatoolkit.sciensano.be/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 14 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.

2. RESULTATS

2.1. Participation

Sur 17 laboratoires belges inscrits à l'étude, 14 laboratoires ont répondu dans les délais et sont repris dans l'analyse des résultats.

Aperçu des participants

Région	N
Région flamande	8
Région bruxelloise	4
Région wallonne	2
Total	14

Laboratoire	N
Anatomie pathologique	6
Biologie Clinique	6
Génétique humaine	2
Total	14

2.2. Aperçu des méthodes

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

Réponses	N
hg19/GRCh37	11
hg38/GRCh38	3

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

Réponses	N
Illumina --- MiSeq	8
Illumina --- NovaSeq 6000	2
Illumina --- NextSeq 550	1
Illumina --- NextSeq 550Dx	1
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
Ampliseq Focus RNA, Illumina	2
FusionPlex Comprehensive Thyroid & Lung (CTL), Archer	2
Oncomine Focus Assay, ThermoFisher	2
QIAseq Targeted RNA FusionXP 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	12
Probe-based	2

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

Réponses	N
Paired-end	11
Single-end	3

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

Réponses	N
75	1
80	1
100	1
120	1
150	3
151	3
200	1
230	2
Variable	1

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

Réponses	N
Archer Analysis Software	6
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-fusion + CTAT-splicing + HAMLET.

Q8. Quelles bases de données sont utilisées pour l'analyse tertiaire en dehors de celles utilisées par le software d'analyse secondaire? (annotation et filtres additionnels)

Réponses	N
PubMed	9
FusionGDB	8
COSMIC	6
Archer Quiver™	5
Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology	5
Analyse tertiaire réalisée par le software d'analyse secondaire - pas d'utilisation d'une database supplémentaire	4
Mitelman	4
Alamut	2
cBioPortal	2
ClinVar	2
OncoKB	2
Alamut	1
ChimerDB	1

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

Réponses	N
100	1
20000	2
200000	2
330000	1
500000	3
600000	1
1500000	1
9000000	1
NA	2

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

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

Réponses	N
3	2
5	4
10	3
14	1
20	2
49	1
NA	1

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

Réponses	N
Tissu paraffiné	14
Prélèvement de moelle	3
Sang	3
Tissu frais	2
Frottis	1
Liquide cytologique	1

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

Réponses	N
0-10ng	4
11-50ng	4
51-100ng	2
>101ng	4

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

Réponses	N
1	3
6.6	1
9	1
10	1
12.5	1
30	2
No minimum required	5

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

Réponses	N
Qubit	13
Quantus	1

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

Réponses	N
pas réalisé, quantification uniquement, QC NGS	7
qPCR	5
TapeStation, Agilent	3

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

Réponses	N
BELAC 2-405-NGS Rev 3-2021	14

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

Réponses	N
Oui 2021	7
Oui 2019	5
Non 2023	2

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

Réponses	N
GenQA	8
Aucun	3
ESP Lung EQA	3
UK NEQAS	2
CAP	1
ringtrials	1
ringtrials MD.be	1

Q19. Quelles sont les indications de la convention NGS analysées par RNA-seq par votre laboratoire?

Réponses	N
Carcinome du poumon	14
Carcinome de la thyroïde	12
Gliome	9
Sarcome	7

2.3. Aperçu des résultats

2.3.1. NGS-2022-7

type de la tumeur primaire et histologie adénocarcinome pulmonaire

Consensus des fusions à rapporter

- ETV6::

ETV6::<ntrk3; (nombre="")<="" 15="" 156.5="" 5;="" a:="" b="" b:="" de="" exon="" médian="" reads:="" t(12;15);=""></ntrk3;>	
Identification de la fusion	N
Oui	14
Non	0
Classification biologique	N
Pathogénique	14
Total	14

Commentaires: Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification de la fusion *ETV6::. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique.*

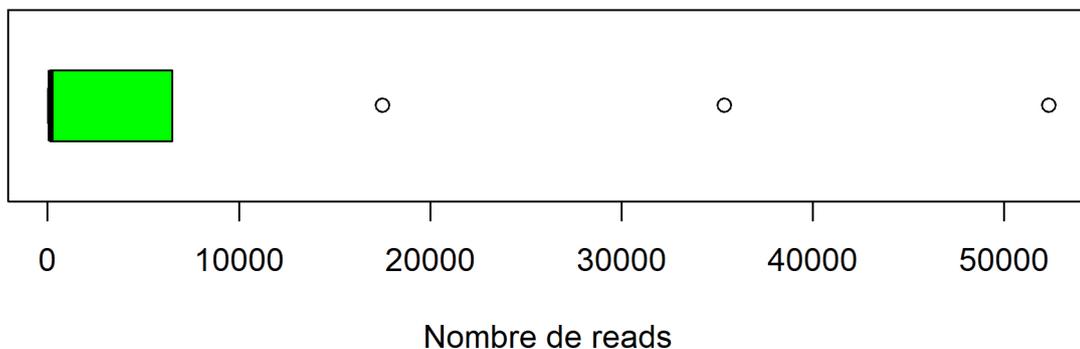
Analyse NM:

ETV6::<ntrk3 a="" b="" n<="" transcrit=""></ntrk3>	
NM_001987.4	5
NM_001987.5	5
NM_001987	3
NM_12022903	1

ETV6::<ntrk3 b="" n<="" transcrit=""></ntrk3>	
NM_002530	4
NM_002530.4	4
NM_001012338.3	3
NM_002530.3	2
NM_88483984	1

Nombre de reads avec la fusion séquencé par les participants:

ETV6::



Min	P25	Median	P75	Max	SD
10	124.25	156.5	4945.25	52350	3573.81

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 NTRK liée à la présence de la fusion <i>NTRK3</i> (Entrectinib, Larotrectinib) - Inhibiteurs de tyrosine kinase NTRK approuvés par le FDA et l'EMA pour les tumeurs solides avec fusion <i>NTRK</i> - Patient éligible à la thérapie avec inhibiteurs de tyrosine kinase NTRK liée à la présence de la fusion <i>NTRK3</i>	12
Informations sur les gènes testés	Réarrangements du gène <i>NTRK3</i> rares dans les NSCLCs (<1%)	5

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

- MET* exon 14 skipping; t(7;7); exon A: 13; exon B: 15

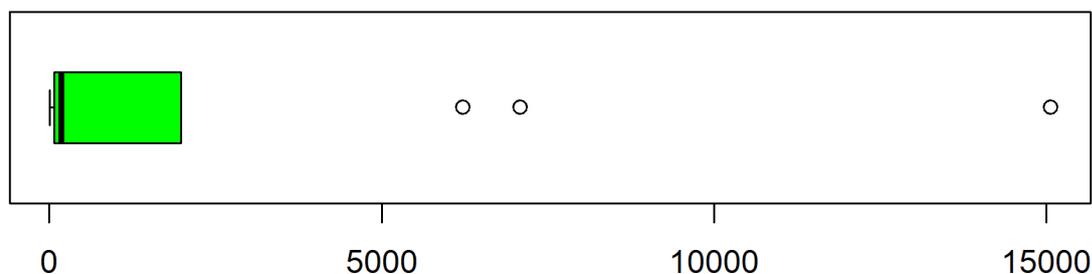
<i>MET</i> exon 14 skipping; t(7;7); exon A: 13; exon B: 15 (Nombre médian de reads: 186)	
Identification de la fusion	N
Oui	14
Non	0
Classification biologique	N
Pathogénique	14
Total	14

Commentaires: Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification du *MET* exon skipping; t(7;7); exon A: 13; exon B: 15. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique.

Analyse NM:

<i>MET</i> exon 14 skipping Transcrit A N	
NM_001127500.3	6
NM_001127500	4
NM:116411708	1
NM_000245.3	1
NM_001127500.1	1
NM_001127500.2	1
<i>MET</i> exon 14 skipping Transcrit B N	
NM_001127500.3	6
NM_001127500	4
NM:116414935	1
NM_000245.3	1
NM_001127500.1	1
NM_001127500.2	1

Nombre de reads avec la fusion séquencé par les participants:

MET exon 14 skipping; t(7;7); exon A: 13; exon B: 15

Min	P25	Median	P75	Max	SD
5	80.5	186	1621.75	15069	1142.53

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 MET liée à la présence du <i>MET</i> exon 14 skipping (Capmatinib, Tenotinib, Crizotinib) - Inhibiteurs de tyrosine kinase MET approuvés par le FDA et l'EMA pour les NSCLCs avec <i>MET</i> exon 14 skipping - Patient éligible à la thérapie avec inhibiteurs de tyrosine kinase MET liée à la présence du <i>MET</i> exon 14 skipping	12
Informations sur les gènes testés	<i>MET</i> exon 14 skipping décrits dans 3-4% des adénocarcinomes pulmonaires	3

type de la tumeur primaire et histologie adénocarcinome pulmonaire

Consensus des fusions à rapporter

- TP53::*NTRK1*; t(17;1); exon A: 8; exon B: 8

TP53::<i>NTRK1</i>; t(17;1); exon A: 8; exon B: 8 (Nombre médian de reads: 18.5)	
Identification de la fusion	N
Oui	10
Non	4
Classification biologique	N
Pathogénique	10
Total	10

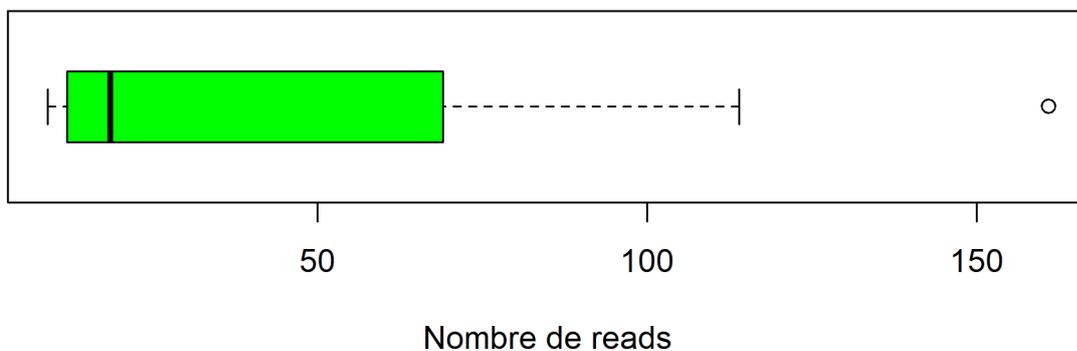
Commentaires: Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification de la fusion *TP53::*NTRK1*; t(17;1); exon A: 8; exon B: 8*. 4 laboratoires n'ont pas rapporté cette fusion en raison de l'absence de cette fusion dans leur panel. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique.

Analyse NM:

TP53::<i>NTRK1</i> Transcrit A N	
NM_000546.5	5
NM_000546	2
NM_000546.6	2
NM:7577019	1
TP53::<i>NTRK1</i> Transcrit B N	
NM_002529.3	4
NM_002529.4	2
NM:156843425	1
NM_001007792	1
NM_001007792.1	1
NM_002529	1

Nombre de reads avec la fusion séquencé par les participants:

TP53::*NTRK1*; t(17;1); exon A: 8; exon B: 8



Min	P25	Median	P75	Max	SD
9	12	18.5	46.5	161	25.57

Analyse bio-informatique des données des laboratoires n'ayant pas rapporté la fusion *NTRK1*:

Breakpoint: chr17:7577019,chr1:156843425 (hg19)

Breakpoint: chr17:7673701,chr1:156873633 (hg38)

Labs	lab.1	lab.2	lab.3	lab.4
in bed	no	no	no	no
in tsv				
panel used	Oncomine Focus Assay, ThermoFisher	Oncomine Focus Assay, ThermoFisher	Ampliseq Focus RNA, Illumina	Ampliseq Focus RNA, Illumina
single/paired-end	single	single	paired	paired
Gene partners of <i>NTRK1</i> covered	<i>MPRIP</i>	<i>MPRIP</i>	<i>MPRIP</i>	No BED
	<i>SQSTM1</i>	<i>SQSTM1</i>	<i>SQSTM1</i>	
	<i>SSBP2</i>	<i>SSBP2</i>	<i>SSBP2</i>	
	<i>TFG</i>	<i>TFG</i>	<i>TFG</i>	
	<i>TPM3</i>	<i>TPM3</i>	<i>TPM3</i>	
	<i>TPR</i>	<i>TPR</i>	<i>TPR</i>	
	<i>BCAN</i>	<i>BCAN</i>	<i>BCAN</i>	
	<i>LMNA</i>	<i>LMNA</i>	<i>LMNA</i>	
	<i>NFASC</i>	<i>NFASC</i>	<i>NFASC</i>	
	<i>RNF213</i>	<i>RNF213</i>	<i>RNF213</i>	
	<i>CD74</i>	<i>CD74</i>	<i>CD74</i>	
	<i>CEL</i>	<i>CEL</i>	<i>CEL</i>	
	<i>IRF2BP2</i>	<i>IRF2BP2</i>	<i>IRF2BP2</i>	
<i>DYNCH2H1</i>	<i>DYNCH2H1</i>	<i>DYNCH2H1</i>		

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 NTRK liée à la présence de la fusion <i>NTRK1</i> (Entrectinib, Larotrectinib) - Inhibiteurs de tyrosine kinase NTRK approuvés par le FDA et l'EMA pour les tumeurs solides avec fusion <i>NTRK</i> - Patient éligible à la thérapie avec inhibiteurs de tyrosine kinase NTRK liée à la présence de la fusion <i>NTRK1</i>	8
Informations sur les gènes testés	Réarrangements du gène <i>NTRK1</i> rares dans les NSCLCs (<1%)	4

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%)	10
2/3 (66,67%)	4
Taux de réussite total: 41/45 (91,11%)	

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 ou 2/2 (100%)	14
Taux de réussite total - classifications biologiques : 41/41 (100%)	

3. ANNEXE

3.1. **Aperçu des conclusions cliniques**

Ces données ont été extraites à partir des réponses faites sur le site internet <https://eqatoolkit.sciensano.be/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-2022-7

Er werd een NTRK fusie gevonden. Dit wijst op een vermoedelijk respons aan NTRK TKI behandeling.	1
Er wordt een ETV6::NTRK3 fusie transcript gedetecteerd: ETV6 [NM_001987.5] exon 5::NTRK3 [NM_001012338.3] exon 15. Conclusie: Aanwezigheid van een ETV6 (exon 5)::NTRK3 (exon 15) fusie. Patiënten met gevorderde of gemetastaseerde solide tumoren die een neurotrofe tyrosinereceptorkinase (NTRK)-genfusie vertonen kunnen in aanmerking komen voor behandeling met doelgerichte therapie zoals entrectinib of larotrectinib (Drilon A et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. NEJM 2018; Demetri GD et al. Updated Integrated Analysis of the Efficacy and Safety of Entrectinib in Patients With NTRK Fusion-Positive Solid Tumors. Clin Cancer Res 2022).	2
Réarrangement pathogénique détecté dans ce prélèvement.	3
Présence du transcript de fusion : ETV6 (exon 5) - NTRK3 (exon 15). Ce transcript est classé biologiquement comme pathogénique et est de signification clinique avérée dans cette pathologie. Réf : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33272813/ https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8968138/ https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34861380/	4
Les gènes de fusion impliquant un des 3 gènes NTRK (NTRK1, 2 ou 3) sont des altérations rarement décrites dans les tumeurs solides. Les gènes de fusions ETV6-NTRK3 ont déjà été rarement décrites dans les cancers pulmonaires. La FDA a approuvé l'usage du larotrectinib pour les patients présentant une tumeur solide avec une fusion d'un des gènes NTRK1, NTRK2 ou NTRK3. www.cbiportal.org Okamura et al., JCO (2018)	5
NTRK1/2/3 fusies zijn eerder zeldzaam in niet-kleincellige longkanker (<1%) (Liu et al. Front Oncol 2022). De aanwezigheid van een NTRK3 fusie wordt in het algemeen geassocieerd met een goede respons op TRK-inhibitoren waaronder larotrectinib of entrectinib (Doebele Lancet Oncol 2020, Drilon et al. NEJM 2018). ETV6::NTRK3 fusies zijn voornamelijk reeds beschreven in cellulaire congenitale mesoblastische nefromen, congenitale fibrosarcomen en secretorische borstkanker; maar ook reeds in niet-kleincellige longkanker (Liu et al. Front Oncol 2022, Knezevich et al. Cancer Res 1998, Tognon et al. Cancer Cell 2002, Farago et al. JCO Precis Oncol 2018).	6

<p>De aanwezigheid van dit type fusiegen is klinisch relevant (tier I) en maakt therapie op basis van NTRK inhibitoren mogelijk (PMID: 19883730, PMID: 30333516).</p>	7						
<p>Er werd een pathogene ETV6::NTRK3 genfusie gedetecteerd. NTRK fusies komen voor in 0,2% van de gevallen van NSCLC. De aanwezigheid van een NTRK fusie wijst op gevoeligheid voor NTRK inhibitoren [1].</p> <p>[1] NCCN guidelines Non-Small Cell Lung Cancer V6.2022</p>	8						
<p>RNA analyse in een staal waarbij geen enkele driver mutatie werd gevonden.</p> <p>Bevindingen met sterke klinische betekenis: In het onderzochte staal werd een NTRK fusie teruggevonden (ETV6::NTRK3). Tumoren met NTRK1/2/3 fusies hebben bewezen gevoeligheid voor NTRK inhibitietherapie (entrectinib, larotrectinib).</p> <p>Expressiecontroles voldoen aan de criteria.</p>	9						
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van een ETV6::NTRK3 fusietranscript. NTRK fusies komen voor in ongeveer 0.2% van patiënten met NSCLC. Deze generschikking is geassocieerd met respons op therapie met een TRK-inhibitor.</p> <p>NCCN guidelines Non-Small Cell Lung Cancer Version 5.2022</p>	10						
<p>NTRK-fusie positief. De aanwezigheid van deze fusie is indicatief voor klinische respons op selectieve NTRK inhibitie (eg. Larotrectinib en entrectinib) (Drilon et al., NEJM 2018).</p> <p>Geassocieerde therapeutische opties:</p> <table border="0" data-bbox="199 1108 949 1162"> <tr> <td>Afwijking</td> <td>Medicatie</td> <td>Gevoelig / Resistent OncoKB Level</td> </tr> <tr> <td>ETV6::NTRK3</td> <td>Larotrectinib</td> <td>Gevoelig 1</td> </tr> </table>	Afwijking	Medicatie	Gevoelig / Resistent OncoKB Level	ETV6::NTRK3	Larotrectinib	Gevoelig 1	11
Afwijking	Medicatie	Gevoelig / Resistent OncoKB Level					
ETV6::NTRK3	Larotrectinib	Gevoelig 1					
<p>Traitement possible avec un inhibiteur (pan)-TRK (larotrectinib, entrectinib, - liste non exhaustive).</p> <p>Breakpoints position : chr12:12022903 et chr15:88483984</p>	12						
<p>Les fusions concernant les gènes NTRK montrent des prévalences variables (Kim et al. PLoS One, 2014 ; Okamura et al. JCO Precis Oncol, 2018 ; Cocco et al. Nat Rev Clin Oncol, 2018)) : e.g : mélanome (0,21%), cancer colorectal (1%), adénocarcinome pulmonaire (0.2-3%), cancer des glandes salivaires analogue au carcinome mammaire sécrétoire (93-100%), gliomes de haut grade pédiatriques (10%), carcinome épidermoïde de la tête et du cou (0.5%), fibrosarcome infantile (70-90%), glioblastomes (1%).</p> <p>Les inhibiteurs TRK de première génération (Larotrectinib et Entrectinib) sont approuvés par l'EMA. Ces inhibiteurs montrent des taux de réponse et effets durables dans tout type de tumeur de type NTRK positif (ORR :75-87%, PFS : 67%, OS 72% (études cliniques NAVIGATE (NCT02576431), LOXO-TRK-14001 (NCT02122913) et SCOUT (NCT02637687)).</p> <p>Une nouvelle génération anti-TRK est en développement suite à l'apparition des résistances dans certains cas (LOXO-195 et Repotrectinib) (Siozopoulou et al. 2022, Pathol Oncol Res).</p>	13						
<p>Er werd een NTRK3 fusie type ETV6::NTRK3 gedetecteerd wat predictief is voor goede respons op TRK-inhibitoren.</p>	14						

3.1.2. NGS-2022-8

Er werd een MET exon 14 skipping gevonden. Patiënten met een MET exon 14 skipping kunnen respons vertonen op MET TKI therapie.	1
Er wordt een MET exon 14 skipping gedetecteerd. Conclusie: RNA sequencing toont aanwezigheid van een MET exon 14 skipping variant. Deze variant is predictief voor respons op selectieve MET inhibitoren (Frampton GM et al. Activation of MET via diverse exon 14 splicing alterations occurs in multiple tumor types and confers clinical sensitivity to MET inhibitors. Cancer Discov 2015; Schrock AB et al. Characterization of 298 patients with lung cancer harboring MET exon 14 skipping alterations. J Thorac Oncol 2016; Paik PK et al. Tepotinib in non-small-cell lung cancer with MET exon 14 skipping mutations. NEJM 2020).	2
Réarrangement pathogénique détecté dans ce prélèvement.	3
Présence d'un skipping de l'exon 14 du gène MET. Cet « exon 14 skipping » est classé biologiquement comme pathogénique et est de signification clinique avérée dans cette pathologie. Réf : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8290191/ https://ascopubs.org/doi/full/10.1200/PO.20.00516 https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa2002787 https://journals.lww.com/crst/Fulltext/2022/05020/MET__A_narrative_review_of_exon_14_skipping.18.aspx	4
Les altérations résultant en un skipping de l'exon 14 du gène MET sont décrites rarement dans différents types de tumeurs : 3-4 % cancers du poumon, 7% des cancers gastriques, 9% des cancers colorectaux. La perte du domaine juxtamembranaire de MET aurait pour effet d'activer la voie MET. La FDA approuve l'utilisation du capmatinib pour les NSCLC métastatique présentant un MET exon 14 skipping. cbioportal.org. Kong-Beltran et al. 2006 Lindeman et al. J Thor Oncol 2017 https://www.mycancergenome.org Cortot et al., JNCI 2017, 109 (5)	5
De aanwezigheid van een MET exon 14 splice variant wordt in het algemeen geassocieerd met een goede respons op MET inhibitoren in longadenocarcinomen waaronder tepotinib, capmatinib en crizotinib (Paik et al. Cancer Discov 2015, Drilon et al. Nat Med 2020, Paik et al. NEJM 2020, Wolf et al. NEJM 2020). Een medical need programma met tepotinib is momenteel lopende in België voor geavanceerde niet-kleincellige longkankerpatiënten met een MET exon 14 splice variant (https://www.fagg.be/nl/MENSELIJK_gebruik/geneesmiddelen/geneesmiddelen/onderzoek_ontwikkeling/gebruik_in_schrijvende_gevallen_medische_noodprogrammas).	6
De aanwezigheid van deze pathogene variant in NSCLC heeft significant klinisch belang (tier I) vermits deze geassocieerd is met een verhoogde sensitiviteit voor MET inhibitoren (NCCN guidelines NSCLC v3 2022).	7
De aanwezigheid van een pathogene MET exon 14 skipping variant werd aangetoond via NGS analyse. Skipping van exon 14 van het MET gen komt voor in 3–4% van de gevallen van long adenocarcinoom en is geassocieerd met gevoeligheid voor selectieve MET inhibitoren [1]. [1] NCCN guidelines Non-Small Cell Lung Cancer V6.2022	8

<p>RNA analyse in een staal waarbij geen enkele driver mutatie werd gevonden.</p> <p>Bevindingen met sterke klinische betekenis: Er werd een pathogene variant gedetecteerd in exon 14 van het MET gen (exon 14 skipping variant). Patiënten met niet kleincellige longtumoren met dergelijke variant komen in aanmerking voor behandeling met MET inhibitie therapie. Expressiecontroles voldoen aan de criteria.</p>	9												
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van een MET exon 14 skipping variant. MET exon 14 skipping mutaties komen voor in 3 - 4% van de patiënten met long adenocarcinoma. Deze variant is geassocieerd met repons op MET tyrosine kinase inhibitoren.</p> <p>NCCN guidelines Non-Small Cell Lung Cancer Version 5.2022</p>	10												
<p>MET exon 14 skipping gedetecteerd op RNA niveau. Indicatief voor MET/ALK selectieve inhibitie Tepotinib, Capmatinib).</p> <p>Referenties: Capmatinib (INC280) in MET^{ex14}-mutated advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): Efficacy data from the phase II GEOMETRY mono-1 study. Wolf et al., JCO 2019). Tepotinib in Non-Small-Cell Lung Cancer with MET Exon 14 Skipping Mutations. Paik et al., NEJM 2020.</p> <p>Geassocieerde therapeutische opties</p> <table border="1" data-bbox="199 891 917 972"> <thead> <tr> <th>Afwijking</th> <th>Medicatie</th> <th>Gevoelig / Resistent</th> <th>OncoKB Level</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>METx14del</td> <td>Capmatinib</td> <td>Gevoelig</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>METx14del</td> <td>Tepotinib</td> <td>Gevoelig</td> <td>1</td> </tr> </tbody> </table>	Afwijking	Medicatie	Gevoelig / Resistent	OncoKB Level	METx14del	Capmatinib	Gevoelig	1	METx14del	Tepotinib	Gevoelig	1	11
Afwijking	Medicatie	Gevoelig / Resistent	OncoKB Level										
METx14del	Capmatinib	Gevoelig	1										
METx14del	Tepotinib	Gevoelig	1										
<p>Les mutation "MET exon 14 skipping" sont associées à une activité clinique des inhibiteurs spécifiques du gène MET (crizotinib, capmatinib, ... - liste non exhaustive).</p> <p>Breakpoints position : chr7:116411708 et chr7:116414935</p>	12												
<p>La présence d'un évènement d'exon skipping dans l'exon 14 de MET est corrélée à une sensibilité accrue aux inhibiteurs de MET (Awad et al., JCO 2016; Reungwetwattana et al.2018 , Lung cance; Wuan et al. 2018, J Clin Onc ; Gowet al. 2018, Neoplasia.), tel que le Tepmetko® (molécule active : tepotinib) ou le Tabrecta® (molécule active : capmatinib)(approuvés par l'EMA). D'après l'étude clinique en Phase II « VISION » (2020), le tepotinib montre une ORR de 46% et une DOR de 11 mois. D'après l'étude en phase II, GEOMETRY, le capmatinib montre une ORR=41-68% et une DOR=10-13 mois.</p>	13												
<p>Er werd een MET exon 14 skipping mutatie gedetecteerd wat predictief is voor goede repons op MET-inhibitoren.</p>	14												

3.1.3. NGS-2022-9

<p>Er wordt een TP53::NTRK1 fusie transcript gedetecteerd: TP53 [NM_000546.6] exon 8::NTRK1 [NTRK1: NM_002529.4] exon 8.</p> <p>Conclusie: Aanwezigheid van een TP53 (exon 8)::NTRK1 (exon 8) fusie. Patiënten met gevorderde of gemetastaseerde solide tumoren die een neurotrofe tyrosinereceptorkinase (NTRK)-genfusie vertonen kunnen in aanmerking komen voor behandeling met doelgerichte therapie zoals entrectinib of larotrectinib (Drilon A et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. NEJM 2018; Demetri GD et al. Updated Integrated Analysis of the Efficacy and Safety of Entrectinib in Patients With NTRK Fusion-Positive Solid Tumors. Clin Cancer Res 2022).</p>	1												
<p>Réarrangement pathogénique détecté dans ce prélèvement.</p>	2												
<p>Présence du transcrit de fusion : TP53 (exon 8) - NTRK1 (exon 8).</p> <p>Ce transcript est classé biologiquement comme pathogénique et est de signification clinique avérée dans cette pathologie.</p> <p>Réf : https://www.nature.com/articles/s41416-021-01536-1.pdf?proof=t+target%3D https://www.jto.org/article/S1556-0864(22)01404-6/fulltext#relatedArticles https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2022.864666/full https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31761448/ https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34861380/</p>	3												
<p>NTRK1/2/3 fusies zijn eerder zeldzaam in niet-kleincellige longkanker (<1%) (Liu et al. Front Oncol 2022). De aanwezigheid van een NTRK1 fusie wordt in het algemeen geassocieerd met een goede respons op TRK-inhibitoren waaronder larotrectinib of entrectinib (Doebele Lancet Oncol 2020, Drilon et al. NEJM 2018). TP53::NTRK1 fusies werden reeds beschreven in spitz tumoren en spitzoïde melanomen (Wiesner et al. Nat Commun 2014).</p>	4												
<p>De aanwezigheid van dit type fusiegen is klinisch relevant (tier I) en maakt therapie op basis van NTRK inhibitoren mogelijk (PMID: 19883730, PMID: 30333516).</p>	5												
<p>Er werd een pathogene TP53::NTRK1 genfusie gedetecteerd. NTRK fusies komen voor in 0,2% van de gevallen van NSCLC. De aanwezigheid van een NTRK fusie wijst op gevoeligheid voor NTRK inhibitoren [1].</p> <p>[1] NCCN guidelines Non-Small Cell Lung Cancer V6.2022</p>	6												
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van een TP53::NTRK1 fusietranscript. NTRK fusies komen voor in ongeveer 0.2% van patiënten met NSCLC. Deze genherschikking is geassocieerd met respons op therapie met een TRK-inhibitor.</p> <p>NCCN guidelines Non-Small Cell Lung Cancer Version 5.2022</p>	7												
<p>TP53::NTRK1 fusie positief (exon8::exon9). De aanwezigheid van deze fusie is indicatief voor klinische respons op selectieve NTRK inhibitie (eg. Larotrectinib en Entrectinib, FDA-goedgekeurd) (Drilon et al., NEJM 2018).</p> <p>Geassocieerde therapeutische opties</p> <table border="1" data-bbox="159 1697 890 1787"> <thead> <tr> <th>Afwijking</th> <th>Medicatie</th> <th>Gevoelig / Resistent</th> <th>OncoKB Level</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>TP53::NTRK1</td> <td>Entrectinib</td> <td>Gevoelig</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>TP53::NTRK1</td> <td>Larotrectinib</td> <td>Gevoelig</td> <td>1</td> </tr> </tbody> </table>	Afwijking	Medicatie	Gevoelig / Resistent	OncoKB Level	TP53::NTRK1	Entrectinib	Gevoelig	1	TP53::NTRK1	Larotrectinib	Gevoelig	1	8
Afwijking	Medicatie	Gevoelig / Resistent	OncoKB Level										
TP53::NTRK1	Entrectinib	Gevoelig	1										
TP53::NTRK1	Larotrectinib	Gevoelig	1										
<p>Traitement possible avec un inhibiteur (pan)-TRK (larotrectinib, entrectinib, - liste non exhaustive).</p> <p>Breekpoints position : chr17:7577019 et chr1:156843425</p>	9												

<p>Les fusions concernant les gènes NTRK montrent des prévalences variables (Kim et al. PLoS One, 2014 ; Okamura et al. JCO Precis Oncol, 2018 ; Cocco et al. Nat Rev Clin Oncol, 2018)) : e.g : mélanome (0,21%), cancer colorectal (1%), adénocarcinome pulmonaire (0.2-3%), cancer des glandes salivaires analogue au carcinome mammaire sécrétoire (93-100%), gliomes de haut grade pédiatriques (10%), carcinome épidermoïde de la tête et du cou (0.5%), fibrosarcome infantile (70-90%), glioblastomes (1%).</p> <p>Les inhibiteurs TRK de première génération (Larotrectinib et Entrectinib) sont approuvés par l'EMA. Ces inhibiteurs montrent des taux de réponse et effets durables dans tout type de tumeur de type NTRK positif (ORR :75-87%, PFS : 67%, OS 72% (études cliniques NAVIGATE (NCT02576431), LOXO-TRK-14001 (NCT02122913) et SCOUT (NCT02637687)).</p> <p>Une nouvelle génération anti-TRK est en développement suite à l'apparition des résistances dans certains cas (LOXO-195 et Repotrectinib) (Siozopoulou et al. 2022, Pathol Oncol Res).</p>	10
<p>Er wordt een TP53::NTRK1 fusie transcript gedetecteerd: TP53 [NM_000546.6] exon 8::NTRK1 [NTRK1: NM_002529.4] exon 8.</p> <p>Conclusie: Aanwezigheid van een TP53 (exon 8)::NTRK1 (exon 8) fusie. Patiënten met gevorderde of gemetastaseerde solide tumoren die een neurotrofe tyrosinereceptorkinase (NTRK)-genfusie vertonen kunnen in aanmerking komen voor behandeling met doelgerichte therapie zoals entrectinib of larotrectinib (Drilon A et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. NEJM 2018; Demetri GD et al. Updated Integrated Analysis of the Efficacy and Safety of Entrectinib in Patients With NTRK Fusion-Positive Solid Tumors. Clin Cancer Res 2022).</p>	11
<p>Réarrangement pathogénique détecté dans ce prélèvement.</p>	12
<p>Présence du transcrit de fusion : TP53 (exon 8) - NTRK1 (exon 8).</p> <p>Ce transcript est classé biologiquement comme pathogénique et est de signification clinique avérée dans cette pathologie.</p> <p>Réf : https://www.nature.com/articles/s41416-021-01536-1.pdf?proof=t+target%3D https://www.jto.org/article/S1556-0864(22)01404-6/fulltext#relatedArticles https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2022.864666/full https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31761448/ https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34861380/</p>	13
<p>NTRK1/2/3 fusies zijn eerder zeldzaam in niet-kleincellige longkanker (<1%) (Liu et al. Front Oncol 2022). De aanwezigheid van een NTRK1 fusie wordt in het algemeen geassocieerd met een goede respons op TRK-inhibitoren waaronder larotrectinib of entrectinib (Doebele Lancet Oncol 2020, Drilon et al. NEJM 2018). TP53::NTRK1 fusies werden reeds beschreven in spitz tumoren en spitzoïde melanomen (Wiesner et al. Nat Commun 2014).</p>	14

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 **$|Z| > 3$** .
- 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 brochures qui sont disponibles sur notre site web à l'adresse suivante:

<https://www.sciensano.be/fr/evaluation-externe-de-la-qualite/sante-clinique-eeq-biologie-clinique>

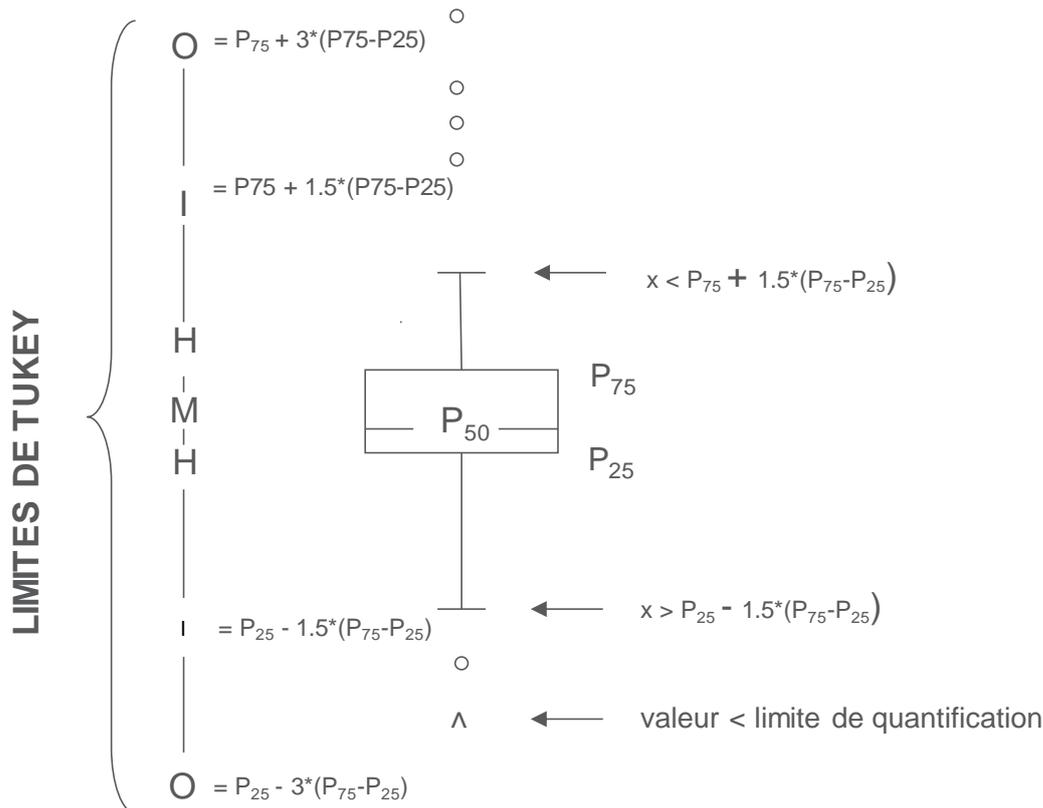
- Brochure d'information générale EEQ
- Méthodes statistiques appliquées à l'EEQ
- Traitement des valeurs censurées

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 2023.

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.