

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

COMITE DES EXPERTS *AD HOC*

RAPPORT GLOBAL

Next Generation Sequencing (NGS)

Tumeurs solides (Carcinome de la thyroïde) ARN

2023/3

Sciensano/EEQ NGS/16-FR

Risques biologiques pour la santé
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
		e-mail:	QL_secretariat@sciensano.be		
Aline Antoniou	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.55.27		
		e-mail:	Aline.Antoniou@sciensano.be		
Nicolas Loucheu	Analyse bio-informatique				
Mohamed Rida Soumali	Analyse statistique				
Vanessa Ghislain	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	Vanessa.Ghislain@sciensano.be		
Experts	Institution				
Patrick Pauwels	UZ Antwerp				
Brigitte Maes	Jessa Hospital Hasselt				
Freya Vaeyens	VUB				
Jacques Van Huysse	AZ Sint-Jan Brugge				
Pascal Vannuffel	IPG				

Les versions provisoires de ce rapport ont été transmises aux experts les: 23/01/2024 et 12/02/2024.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts *ad hoc* le: 09/02/2024.

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 : 11/03/2024

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:
<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires>

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	4
1.1. Objectif	4
1.2. Activité sous-traitée	4
1.3. Matériel	4
1.4. Demande	4
1.5. Critères d'évaluation	6
2. RESULTATS	7
2.1. Participation	7
2.2. Aperçu des méthodes	7
2.3. Aperçu des résultats	10
2.3.1. NGS-2023-7	11
2.3.2. NGS-2023-8	13
2.3.3. NGS-2023-9	15
2.3.4. NGS-2023-10	16
2.3.5. Taux de réussite des participants	17
3. ANNEXE	18
3.1. Aperçu des conclusions cliniques pour les échantillons avec fusion	18
3.1.1. NGS-2023-7	18
3.1.2. NGS-2023-8	20
3.1.3. NGS-2023-9	21
3.2. Interprétation du rapport individuel	23

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

L'objectif de cet EEQ 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

3 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) : NGS-2023-7, 8, 9.

Un échantillon tumoral a été fournis par la firme Discovery Life Science : NGS-2023-10.

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-2023-7, NGS-2023-8 et NGS-2023-9.

1 tube contenant 2 coupes FFPE coupées à 10µm provenant d'un échantillon tumoral avec la référence suivante: NGS-2023-10. Pourcentage tumoral en début et fin d'échantillon : 50%.

L'homogénéité et la stabilité des échantillons ont été validées par les fournisseurs.

1.4. Demande

Les échantillons devaient être analysés selon les procédures en vigueur au laboratoire pour les carcinomes de la thyroïde sans mutation driver.

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

[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#/>

échantillon	Contexte clinique	gènes
NGS-2023-7 NGS-2023-8 NGS-2023-9 NGS-2023-10	Carcinome de la thyroïde	<i>NTRK1, NTRK2, NTRK3</i> <i>RET</i> <i>PAX8/PPARγ</i>

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 publiés 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
 - Les chromosomes impliqués dans l'aberration chromosomique en suivant l'ordre recommandé dans la révision des guidelines BELAC 2-405-NGS-R4-2023, en l'occurrence: "In case the chromosomes are provided the standard rule for correct annotation, with the lowest number first, has to be used (e.g. t(4;12))".
 - Le numéro NM du transcrit A (5')
 - L'exon du transcrit A (5') impliqué dans l'aberration chromosomique
 - Le numéro NM du transcrit B (3')
 - L'exon du transcrit B (3') impliqué dans l'aberration chromosomique
 - Nombre de reads supportant la fusion
 - 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(s) 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.

2. RESULTATS

2.1. Participation

15 laboratoires belges ont répondu dans les délais et sont repris dans l'analyse des résultats.

Aperçu des participants

Région	N
Région flamande	9
Région bruxelloise	3
Région wallonne	3
Total	15

Laboratoire	N
Anatomie pathologique	7
Biologie Clinique	7
Génétique humaine	1
Total	15

2.2. Aperçu des méthodes

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

Réponses	N
hg19/GRCh37	12
hg38/GRCh38	3

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

Réponses	N
Illumina --- MiSeq	4
Illumina --- NextSeq 550	2
Illumina --- NextSeq 550Dx	2
Illumina --- NovaSeq	2
Illumina --- MiSeqDx	1
Illumina --- NextSeq 500	1
Illumina --- NovaSeq 6000	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 Comprehensive Thyroid & Lung (CTL), Archer Dx	2
FusionPlex Lung, Archer Dx	2
QIAseq Targeted RNA FusionXP Custom, Qiagen	2
Trusight Oncology 500 High-Throughput, Illumina	2
FusionPlex Lung, Archer	1
FusionPlex Pan Solid Tumor v2, Archer Dx	1
Ion AmpliSeq RNA Custom panel Ion Torrent, ThermoFisher	1
KAPA HyperPETE Lung Cancer Fusion Panel, Roche	1
Oncomine Comprehensive Assay Plus, ThermoFisher	1
SureSelect XT HS2 RNA, Agilent	1
Trusight RNA Pan-Cancer Panel, Illumina	1
Twist custom, Twist Bioscience	1

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

Réponses	N
Amplicon-based	11
Probe-based	4

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

Réponses	N
Paired-end	12
Single-end	3

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

Réponses	N
74	1
80	1
100	1
101	1
120	1
150	3
151	2
200	1
230	2
251	1
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
Ion Reporter (ThermoFisher)	2
Open source/in house development	2
TruSight Oncology 500 Local App	2
SeqOne Genomics	1
SEQUENCE Pilot JSI	1

Remarques : Les outils bio-informatiques ont été utilisés en open source selon les combinaisons suivantes: 1) STAR-Fusion, CTAT splicing, rose-dt et 2) arriba, FusionCatcher, pizzly, SQUID, STAR-Fusion.

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
FusionGDB	10
PubMed	9
Mitelman	8
Archer Quiver™	6
Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology	6
COSMIC	6
Alamut	4
ClinVar	3
Analyse tertiaire réalisée par le software d'analyse secondaire - pas d'utilisation d'une database supplémentaire	2
cBioPortal	2
OncoKB	2
ChimerDB	1
Civic	1
IGV	1

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

Réponses	N
100	1
20000	2
100000	2
500000	3
900000	1
1500000	2
2800000	1
3500000	1
5000000	2

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

Réponses	N
3	2
4	1
5	5
10	4
20	1
30	1
200	1

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

Réponses	N
Tissu paraffiné	15
Prélèvement de moelle	2
Sang	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	6
11-50ng	6
51-100ng	1
>101ng	2

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

Réponses	N
1	4
5	3
10	2
30	2
No minimum required	4

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

Réponses	N
Qubit	14
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	3
TapeStation, Agilent	3
Bioanalyser	2

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

Réponses	N
BELAC 2-405-NGS Rev 3-2021	15
Richards, S et al. 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. Genet Med 2015, 17(5): 405-424	1
Li, MM et al. 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. J Mol Diagn 2017, 19: 4-23.	1

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

Réponses	N
Oui, 2018	1
Oui, 2019	2
Oui, 2021	6
Oui, 2023	2
Non, pour 2024	4

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

Réponses	N
GenQA	8
Aucun	5
ESP Lung EQA	3
UK NEQAS	3

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

Réponses	N
Carcinome du poumon	15
Carcinome de la thyroïde	14
Sous-types spécifiques de gliomes	10
Prolifération mélanocytaire atypique (MELTUMP, IAMPUS, STUMP,)	9
Sarcome	8
Carcinome rénal défini moléculairement	7
Tumeur de la glande salivaire	6

2.3. Aperçu des résultats

2.3.1. NGS-2023-7

type de la tumeur primaire et histologie Carcinome de la thyroïde

Consensus des fusions à rapporter

NCOA4::RET, t(10;10), exon A: 7, exon B: 12

NCOA4::RET, t(10;10), exon A: 7, exon B: 12 (Nombre médian de reads: 18)	
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 NCOA4::RET, t(10;10), exon A: 7, exon B: 12. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique.

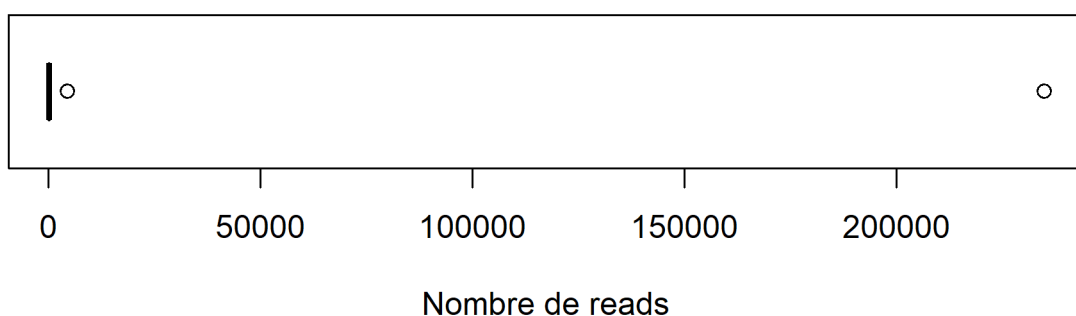
Analyse NM:

NCOA4::RET Transcrit A	
NM_005437	5
NM_005437.3	4
NM_001145260	2
NM_001145263.2	2
NM_00145263.2	1
NM_005437.4	1

NCOA4::RET Transcrit B	
NM_020975.6	7
NM_020975.4	3
NM_020975	3
NM_020630.5	1
NM_020630	1

Nombre de reads avec la fusion séquencé par les participants:

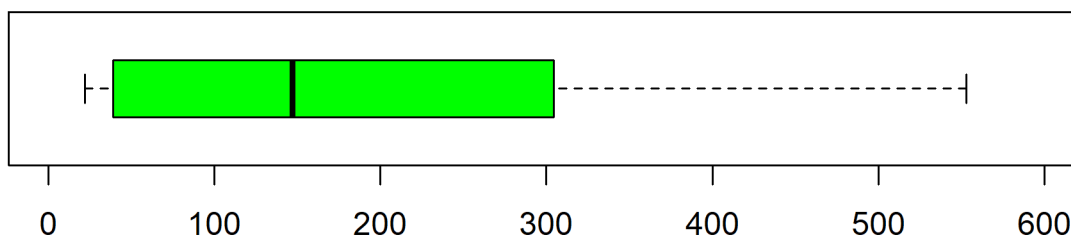
NCOA4::RET, t(10;10), exon A: 7, exon B: 12



Min	P25	Median	P75	Max	SD
22	39	147	304.5	234992	196.82

Zoom

NCOA4::RET, t(10;10), exon A: 7, exon B: 12



Min	P25	Median	P75	Max	SD
22	39	147	304.5	234992	196.82

Analyse des conclusions :

Informations types	Informations spécifiques au cas 1 et reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
Diagnostic	Fusion récurrente dans les carcinomes papillaires de la thyroïde ou peu différenciés	10
	Fusion récurrente dans les carcinomes de la thyroïde radio-induits	2
Traitement	Indication de sensibilité aux inhibiteurs de tyrosine kinase RET (Pralsetinib, Selpercatinib)	14
Autre	À corrélér avec l'histologie	3

type de la tumeur primaire et histologie Carcinome de la thyroïde**Consensus des fusions à rapporter**PAX8::PPARG, t(2;3), exon A: 9, exon B: 2

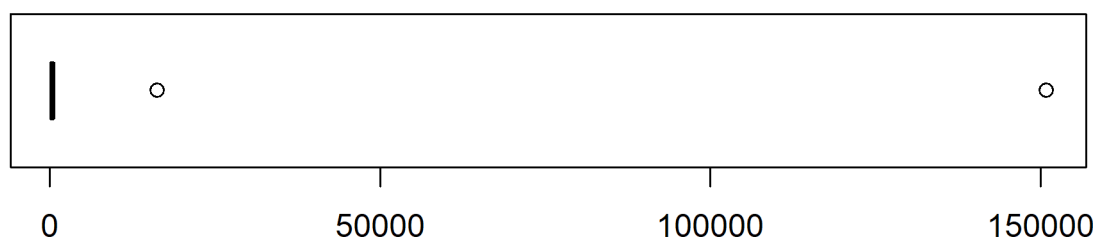
PAX8::PPARG, t(2;3), exon A: 9, exon B: 2 (Nombre médian de reads: 22.5)	
Identification de la fusion	N
Oui	12
Non	3
Classification biologique	N
Pathogénique	12
Total	12

Commentaires: Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification de la fusion *PAX8::PPARG, t(2;3), exon A: 9, exon B: 2*. 3 laboratoires n'ont pas rapporté cette fusion en raison de l'absence de cette fusion dans leur panel. Les panels utilisés par ces laboratoires ne sont pas adaptés à l'analyse des tumeurs de la thyroïde selon les termes de la convention NGS. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique.

Analyse NM:

<i>PAX8::PPARG</i> Transcrit A	N
NM_003466.4	7
NM_003466	3
NM_003466.3	1
NM_003466.2	1
<i>PAX8::PPARG</i> Transcrit B	N
NM_015869.4	4
NM_015869.5	3
NM_015869	1
NM_138712	1
NM_138711	1
NM_138711.6	1
NM_005037.5	1

Nombre de reads avec la fusion séquencé par les participants:

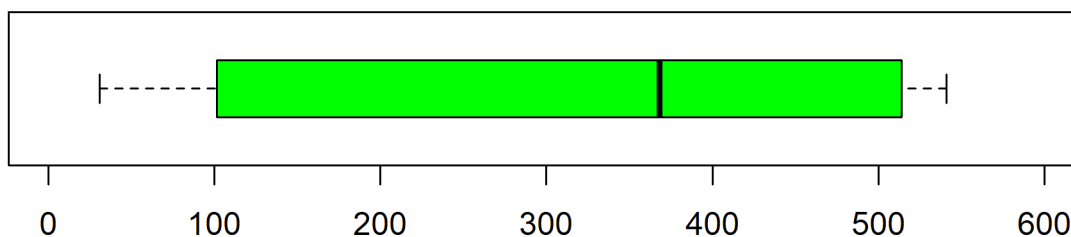
PAX8::PPARG, t(2;3), exon A: 9, exon B: 2

Nombre de reads

Min	P25	Median	P75	Max	SD
31	126.25	368	500.5	150898	277.43

Zoom

PAX8::PPARG, t(2;3), exon A: 9, exon B: 2



Nombre de reads

Min	P25	Median	P75	Max	SD
31	126.25	368	500.5	150898	277.43

Analyse des conclusions :

Informations types	Informations spécifiques au cas 2 et reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
Diagnostic	Fusion récurrente dans les carcinomes folliculaires de la thyroïde, dans les carcinomes papillaires à présentation folliculaire et dans les adénomes folliculaires	11
Traitement	Sensibilité incertaine aux agonistes PPARG (Pioglitazone) (essais cliniques en cours d'étude)	4
Autre	À corrélér avec l'histologie	4

Consensus des fusions à rapporterTPM3::*NTRK1*, t(1;1), exon A: 7, exon B: 10

TPM3::<i>NTRK1</i>, t(1;1), exon A: 7, exon B: 10 (Nombre médian de reads: 25)	
Identification de la fusion	N
Oui	13
Oui, <i>TPM3P8::<i>NTRK1</i>, t(1;2), exon A:1, exonB:9</i>	1
Non	1
Classification biologique	N
Pathogénique	14
Total	14

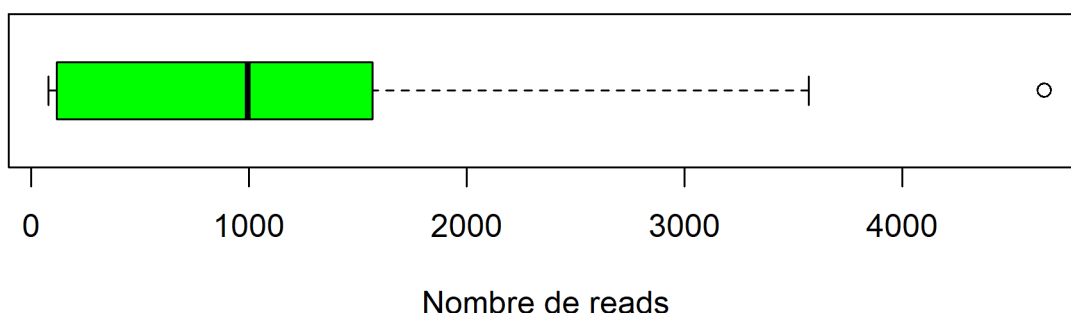
Commentaires: Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification de la fusion *TPM3::*NTRK1*, t(1;1), exon A: 7, exon B: 10*. Un laboratoire n'a pas détecté la fusion *NTRK1*, malgré l'utilisation d'un test qui couvre les isoformes de gènes de fusion spécifiques, y compris celle présente dans cet échantillon et malgré la présence de la fusion dans les données brutes du participant. La fusion a donc été détectée par leurs outils bio-informatiques mais a ensuite été filtrée, manuellement ou à l'aide de leur outil d'analyse tertiaire. Un autre laboratoire a rapporté la fusion *NTRK1* avec le partenaire *TPM3P8*. Il s'agit d'un pseudogène du gène *TPM3*, génomiquement distinct de ce gène. Nous avons considéré la réponse comme non recommandée mais acceptable puisque l'impact thérapeutique est basé uniquement sur le gène *NTRK1*. Cependant, nous invitons ce laboratoire à revoir attentivement son analyse afin d'affiner leurs processus bio-informatiques, en particulier pour améliorer la sensibilité et la précision. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique.

Analyse NM:

TPM3::<i>NTRK1</i> Transcrit A	N
NM_001043353.2	4
NM_0010433353.2	2
NM_153649.4	2
NM_152263.4	2
NM_001043353	1
NM_001364679.1	1
NM_152263	1
NM_153649	1
TPM3::<i>NTRK1</i> Transcrit B	N
NM_002529.3	8
NM_002529.4	2
NM_002529	2
NM_002529.2	1
NM_001007792	1

Nombre de reads avec la fusion séquencé par les participants:

TPM3::NTRK1, t(1;1), exon A: 7, exon B: 10



Min	P25	Median	P75	Max	SD
80	280.25	996.5	1551	4654	942.01

Analyse des conclusions :

Informations types	Informations spécifiques au cas 3 et reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
Diagnostic	Fusion décrite dans les carcinomes de la thyroïde	5
	Fusion rare dans les tumeurs solides	3
Traitement	Indication de sensibilité aux inhibiteurs TRK (Larotrectinib, Entrectinib)	13
Pronostic	Fusion de pronostic plus agressif	2
Autre	À corrélér avec l'histologie	3

2.3.4. NGS-2023-10

type de la tumeur primaire et histologie Carcinome de la thyroïde

Consensus des fusions à ne pas rapporter

Absence de fusion identifiée dans les gènes d'intérêt

Absence de fusion identifiée dans les gènes d'intérêt	N
Oui	15
Non	0

Commentaires: Pour cet échantillon, le consensus établi est l'absence de fusion. Aucune fusion n'a été détectée par l'ensemble des participants.

2.3.5. 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%)	11
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%)	15
Taux de réussite total - classifications biologiques : 41/41 (100%)	

3. ANNEXE

3.1. **Aperçu des conclusions cliniques pour les échantillons avec fusion**

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.

3.1.1. NGS-2023-7

RET fusies komen voor bij papillaire schildklier carcinoemen. Dit wijst op een vermoedelijke respons aan RET TKI behandeling. @1@	1
Er wordt een pathogene fusie in het RET gen aangetroffen: NCOA4 (NM_005437.3 exon7)::RET (NM_020975.6exon12). Deze fusie is beschreven in schildklier carcinoom waaronder papillair schildklier carcinoom en weinig gedifferentieerd schildklier carcinoom. Deze fusie is vaak geassocieerd aan radiatie-geassocieerde schildklier carcinoemen. Tumoren met een RET fusie kunnen in aanmerking komen voor therapie met een selectieve RET inhibitor zoals selpercatinib (Dovopivec, Ther Adv Med Oncol 2022). Dezelfde fusie is ook in borstcarcinooma, colorectaal carcinooma, longadenocarcinoom, intraductaal speekselklier carcinoom en in spindle cell tumor of soft tissues aangetoond. Dit moet derhalve gecorreleerd worden met de histologie van de tumor. (Santoro et al, Genes 2020; 11(4):424. @1@	2
Aanwezigheid van een NCOA4 (exon 7)::RET (exon 12) fusie. RET fusies zijn recurrent in schildklier carcinoemen. Indien klinisch geïndiceerd kunnen dergelijke tumoren mogelijk in aanmerking komen voor doelgerichte therapie met RET-inhibitoren. We verwijzen naar het pathologieverslag voor een definitieve interpretatie van deze gegevens in het licht van morfologische/immunologische gegevens. @1@	3
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@1@	4
Présence du transcrit de fusion : NCOA4::RET Ce transcrit pathogène est de signification clinique avérée. Réf : https://www.nature.com/articles/s41574-021-00470-9 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32326537/ https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2020/fda-selpercatinib-thyroid-lung-cancer-ret-alterations#:~:text=RET%20alterations%20are%20rare%20in%20cancer%20overall%20but,of%20another%20gene%2C%20known%20as%20RET%20fusion%E2%80%93positive%20cancer. Remarque : Les gènes PAX8/PPAR? ne sont pas inclus dans le panel utilisé. @1@	5
Er werd een pathogene NCOA4::RET fusie gedetecteerd. De aanwezigheid van deze fusie in schildklier carcinooma heeft significant klinisch belang (tier I) aangezien activerende RET fusies geassocieerd zijn met een verhoogde gevoeligheid aan RET inhibitor Selpercatinib en Pralsetinib (NCCN guidelines Thyroid cancer v4.2023; PMID:32846061, 34118198, 35756966). @1@	6

De gedetecteerde pathogene fusie NCOA4::RET is een indicatie voor gevoeligheid aan RET tyrosine kinase inhibitoren (Pralsetinib, Selpercatinib, FDA goedgekeurd) in schildkliercarcinomen (NCCN 4.2023). RET-fusies komen bij ongeveer 10-20% van alle sporadische papillaire schildkliercarcinoma voor. RET-fusies komen vaker voor na regelmatige blootstelling aan radiatie (PMID: 32326537). Suggestieve clinical trial (niet in België); LIBRETTO-001 (NCT03157128).@1@	7
NGS analyse toont de aanwezigheid van een NCOA4::RET fusietranscript. RET fusies komen frequent voor in papillair schildkliercarcinoom en zijn eerder zeldzaam in andere subtypes van schildkliercarcinoom [1]. Deze genherschikking is geassocieerd met verhoogde gevoeligheid voor specifieke RET-selectieve inhibitoren [2]. [1] PMID: 32326537 [2] NCCN Guidelines Thyroid carcinoma v4.2023@1@	8
In het onderzochte staal werd een fusie gedetecteerd van het RET gen, met bewezen gevoeligheid aan RET inhibitotherapie. Te correleren met histologische resultaten en kliniek. Kwaliteit van het staal voldoet aan de criteria.@1@	9
Er werd een pathogene NCOA4::RET genfusie gedetecteerd met een significant klinisch belang (Tier I). RET fusies komen frequent voor in papillair schildkliercarcinoom, maar zijn eerder zeldzaam in andere subtypes [1]. De aanwezigheid van een RET fusie wijst op gevoeligheid voor specifieke RET-selectieve inhibitoren [2]. [1] PMID: 32326537 [2] NCCN Guidelines Thyroid carcinoma v4.2023@1@	10
Besluit Pathogene NCOA44::RET fusie gedetecteerd. Het gebruik van selectieve RET-inhibitoren (selpercatinib en pralsetinib) is door de FDA goedgekeurd voor de behandeling van volwassen en pediatrische patiënten met gemetastaseerde RET-fusie-schildkliertumoren. Geassocieerde therapeutische opties Afwijking Medicatie Gevoelig / Resistent OncoKB Level NCOA4::RET Selpercatinib Gevoelig 1 NCOA4::RET Pralsetinib Gevoelig 1@1@	11
Présence d'une fusion NCOA4::RET, caractéristique des carcinomes thyroïdiens. Thérapie ciblée avec des inhibiteurs spécifiques de RET (p.ex. selpercatinib, prasetinib,...) recommandée. Points de cassure : chr10:51582939,chr10:43612032 Fusion "in frame".@1@	12
Nous avons recherché par RNASeq des translocations impliquant les gènes repris à la fin du protocole. Une translocation de type NCOA4::RET a été détectée dans ce prélèvement. Les fusions de RET sont rencontrées dans 6 à 10% des carcinomes papillaires de la thyroïde et environ 6% des carcinomes peu différenciés de la thyroïde. (Vodopivec et al., Ther Adv Med Oncol 2022). Impact clinique avéré : Des études cliniques rapportent une réponse positive après traitement par des inhibiteurs spécifiques de RET chez des patients dont la tumeur présente une fusion de RET, après une première ligne de traitement par des inhibiteurs multikinases (Etudes ARROW et LIBRETTO-OO1). L'utilisation du selpercatinib en cas de cancer thyroïdien avancé après traitement par sorafenib et/ou lenvatinib est approuvée par l'EMA, et cette utilisation fait partie des recommandations de l'ESMO et de la NCCN (Filetti et al., ESMO guidelines 2022, NCCN guidelines version 4.2023). Le prélèvement a été analysé avec le kit LUNG FusionPlex (ARCHER®) pour la détection des translocations reprenant les 14 gènes de la liste suivante : ALK, BRAF, EGFR, FGFR1, FGFR2, FGFR3, MET, KRAS, NRG1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, RET, ROS1.@1@	13
Prédicatif de sensibilité pour les inhibiteurs sélectifs de la voie RET (de type Selpercatinib) dans les carcinomes thyroïdiens métastatiques. Ce type de fusion impliquant le gène RET est retrouvé préférentiellement dans les carcinomes thyroïdiens anaplasiques et carcinomes papillaires et/ou peu différenciés et a été détectée avec la technique utilisée (RNA Seq).@1@	14
Met NGS op RNA werd een fusie van RET, een receptor tyrosine kinase, type NCOA4::RET, gedetecteerd. RET fusies worden gezien in +/- 4 % van de papillair schildklier carcinomen. Dit resultaat is predictief voor een goede respons op RET-inhibitoren, zoals selpercatinib en pralsetinib.@1@	15

3.1.2. NGS-2023-8

PAX8-PPARG fusies worden voornamelijk waargenomen bij folliculaire schildklierkanker.@1@	1
Er wordt een PAX8/PPARG fusie aangetroffen. Deze fusie is recurrent in folliculair schildkliercarcinoom en is ook beschreven in papillair schildkliercarcinoom en in een aantal folliculaire adenomen. Dit moet gecorreleerd worden met de histologie van de tumor.@1@	2
De aanwezigheid van een PAX8 (exon 9)::PPARG (exon 2) fusie kan passen bij de diagnose van folliculair schildkliercarcinoom. We verwijzen naar het pathologieverslag voor een definitieve interpretatie van deze gegevens in het licht van morfologische/immunologische gegevens.@1@	3
Les réarrangements PAX8-PPARG sont fréquemment décrits dans les NIFTP, dans les carcinomes folliculaires de la thyroïde ainsi que dans un sous-groupe de carcinomes papillaires à présentation folliculaire. Ils sont décrits également dans 5-10% des adénomes folliculaires. Il existe des essais cliniques avec un agoniste de PPARG, la pioglitazone. Son efficacité n'est pas encore connue. clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT01655719 Raman et Koenig, Nat.Rev.Endocrinol. 2014 : 10 (10) : 616-623 Amendoeira et al., Endocrine-Related Cancer 2018 : R247-R258. Who Blue Book@1@	4
Er werd een pathogene PAX8::PPARG fusie geïdentificeerd met mogelijks klinisch belang (tier II). PAX8::PPARG fusies komen voor in 30-35% van de patiënten met folliculaire schildkliercarcinoom en in een subset van de folliculaire variant van papillair schildkliercarcinoom. Op basis van preklinische studies is er mogelijks repons op PPARG agonisten (PMID: 25069464, PMID: 29373711).@1@	5
De gedetecteerde pathogene PAX8::PPARGgamma-fusie komt bij ongeveer 30-35% van alle folliculaire schildkliercarcinoma voor (PMID: 25069464). De aanwezigheid van de pathogene PAX8::PPARGgamma-fusie is een mogelijke indicatie voor gevoeligheid aan Pioglitazone, maar dit dient nog onderbouwt te worden door bijkomend onderzoek (PMID: 29373711, PMID: 29373711).@1@	6
NGS analyse toont de aanwezigheid van een PAX8::PPARG fusietranscript. PAX8::PPARG fusies komen voor in 30-35% van de gevallen van folliculair schildkliercarcinoom, alsook in een subset van folliculaire varianten van papillair schildkliercarcinoom [1-2]. [1] PMID: 25069464 [2] PMID: 24798894@1@	7
In het onderzochte staal werd een PAX8::PPARG fusie teruggevonden. Te correleren met histologische resultaten en kliniek. Kwaliteit van het staal voldoet aan de criteria.@1@	8
Er werd een pathogene PAX8::PPARG genfusie gedetecteerd met een significant klinisch belang (Tier I). PAX8::PPARG fusies komen voor in 30-35% van de gevallen van folliculair schildkliercarcinoom, alsook in folliculaire varianten van papillair schildkliercarcinoom.[1-2] [1] PMID: 25069464 [2] PMID: 24798894@1@	9
Besluit: Pathogene PAX8::PPARG fusie gedetecteerd. PAX8::PPARG fusie als diagnostische merker voor schildklier neoplasie (Raman P et al. PAX8::PPARG fusion protein in thyroid carcinoma. Nature Rev Endocrinol 2014). Histologisch te correleren.@1@	10
La présence de cette fusion est diagnostique des carcinomes thyroïdiens folliculaires (intérêt diagnostique) et a été détectée avec la technique utilisée (RNA Seq).@1@	11
Met NGS op RNA werd de PAX8::PPARG fusie gedetecteerd. Deze fusie wordt gezien in 1 op 3 van de folliculaire schildkliercarcinomen, alsook soms in folliculair-variant papillaire schildkliercarcinomen. De PPAR-? agonist pioglitazone is in klinische ontwikkeling als targeted drug in deze setting.@1@	12

3.1.3. NGS-2023-9

<p>Er wordt een pathogene fusie aangetroffen: TPM3 (NM_153649.4 exon7)::NTRK1 (NM_002529.3 exon 10). NTRK fusies zijn beschreven in papillair schildkliercarcinoom, vooral in pediatrische patiënten, in weinig gedifferentieerd schildkliercarcinoom en anaplastisch schildkliercarcinoom. Schildkliertumoren met een NTRK1 fusie zijn geassocieerd met multifocale letsels en meer agressief biologisch gedrag. (Pekova et al, Cancers 2021; 13(8):1932.) Dit moet gecorreleerd worden met de histologie van de tumor en de kliniek. Schildkliertumoren met een NTRK1 fusie kunnen in aanmerking komen voor therapie met een TRK inhibitor zoals larotrectinib.</p> <p>Disclaimer: het staal is suboptimaal: toont iets te weinig reads maar wel goede kwaliteit RNA waardoor de fusie wel weerhouden werd voor rapportering.@1@</p>	1
<p>Aanwezigheid van een TPM3 (exon 7)::NTRK1 (exon 10) fusie. Patiënten met vaste tumoren waarbij pathogene fusies voorkomen met betrokkenheid van NTRK1, een receptor tyrosine kinase, kunnen in aanmerking komen voor behandeling met doelgerichte therapie (Drilon A et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. NEJM 2018).We verwijzen naar het pathologieverslag voor een definitieve interpretatie van deze gegevens in het licht van morfologische/immunologische gegevens.@1@</p>	2
<p>Les gènes de fusion impliquant un des 3 gènes NTRK (NTRK1, 2 ou 3) sont des altérations rarement décrites dans les tumeurs solides. 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.cbioportal.org Okamura et al., JCO (2018)@1@</p>	3
<p>Présence du transcrit de fusion : TPM3::NTRK1</p> <p>Ce transcrit pathogène est de signification clinique avérée.</p> <p>Réf : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33923728/ https://ascopubs.org/doi/full/10.1200/PO.21.00442</p> <p>Remarque : Les gènes PAX8/PPAR? ne sont pas inclus dans le panel utilisé.@1@</p>	4
<p>Er werd een pathogene TPM3::NTRK1 fusie geïdentificeerd De aanwezigheid van dit type fusiegen heeft significant klinisch belang (tier I) in schildkliercarcinoom gezien de associatie met verhoogde gevoeligheid op TRK inhibitoren zoals entrectinib en larotrectinib (NCCN guidelines Thyroid cancer v4.2023; PMID: 29466156, 31838007, 37548775).@1@</p>	5
<p>NTRK1/2/3-fusies komen voor in verschillende tumortypes met een incidentie van ongeveer 0.1-2%. De aanwezigheid van de pathogene TPM3::NTRK1 fusie is een biomarker voor de respons op TRK kinases inhibitoren waaronder larotrectinib en entrectinib (op voorwaarde dat er geen gekende resistentie mechanismes aanwezig zijn). Suggestieve clinical trial; TAPISTRY (NCT04589845)@1@</p>	6
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van een TPM3::NTRK1 fusietranscript. NTRK fusies zijn recurrent in schildkliercarcinoom en zijn geassocieerd met verhoogde gevoeligheid voor NTRK-selectieve inhibitoren [1-2].</p> <p>[1] PMID: 31375766 [2] NCCN Guidelines Thyroid carcinoma v4.2023@1@</p>	7
<p>In het onderzochte staal werd een NTRK fusie teruggevonden. Tumoren met NTRK1/2/3 fusies hebben bewezen gevoeligheid voor NTRK inhibitotherapie. Te correleren met histologische resultaten en kliniek. Kwaliteit van het staal voldoet aan de criteria.@1@</p>	8
<p>Er werd een pathogene TPM3::NTRK1 genfusie gedetecteerd met een significant klinisch belang (Tier I). NTRK fusies zijn recurrent in schildkliercarcinoom [1-2]. De aanwezigheid van een NTRK fusie wijst op gevoeligheid voor NTRK-selectieve inhibitoren [2].</p> <p>[1] PMID: 31375766 [2] NCCN Guidelines Thyroid carcinoma v4.2023@1@</p>	9
<p>Besluit Pathogene TPM3::NTRK1 fusie gedetecteerd. De aanwezigheid van een pathogene NTRK1 fusie is indicatief voor klinische respons op selectieve NTRK inhibitie (eg. Larotrectinib en</p>	10

<p>Entrectinib) (Drilon et al. NEJM 2018).</p> <p>Geassocieerde therapeutische opties Afwijking Medicatie Gevoelig / Resistent OncoKB Level TPM3::NTRK1 Entrectinib Gevoelig 1 TPM3::NTRK1 Larotrectinib Gevoelig 1@1@</p>	
<p>Présence d'une fusion NTRK (1) caractérisant un carcinome thyroïdien cliniquement plus agressif. Thérapie avec des inhibiteurs sélectifs de Trk recommandée (p.ex. larotrectinib, entrectinib, ...)</p> <p>Points de cassure : chr1:154142876,chr1:156844363 Fusion "in frame".@1@</p>	11
<p>Nous avons recherché par RNASeq des translocations impliquant les gènes repris à la fin du protocole.</p> <p>Une fusion de type TPM3::NTRK1 a été détectée dans ce prélèvement.</p> <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> <p>Le prélèvement a été analysé avec le kit LUNG FusionPlex (ARCHER®) pour la détection des translocations reprenant les 14 gènes de la liste suivante : ALK, BRAF, EGFR, FGFR1, FGFR2, FGFR3, MET, KRAS, NRG1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, RET, ROS1.@1@</p>	12
<p>Ce gène de fusion, préférentiellement retrouvé dans les cancers papillaires, est prédictif de sensibilité aux inhibiteurs NTRK1 tels que larotrectinib et entrectinib dans les carcinomes thyroïdiens de stade avancé, récurrents et ou métastatiques et a été détecté avec la technique utilisée (RNA Seq)..@1@</p>	13
<p>Met NGS op RNA werd een fusie van NTRK1, een receptor tyrosine kinase, type TPM3::NTRK1, gedetecteerd. NTRK1 fusies zijn zeldzaam in schildklieren (< 1 %). Dit resultaat is predictief voor een goede respons op TRK-inhibitoren, zoals larotrectinib en entrectinib.@1@</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 **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.sciensano.be/fr/evaluation-externe-de-la-qualite/sante-clinique-eeq-biologie-clinique>

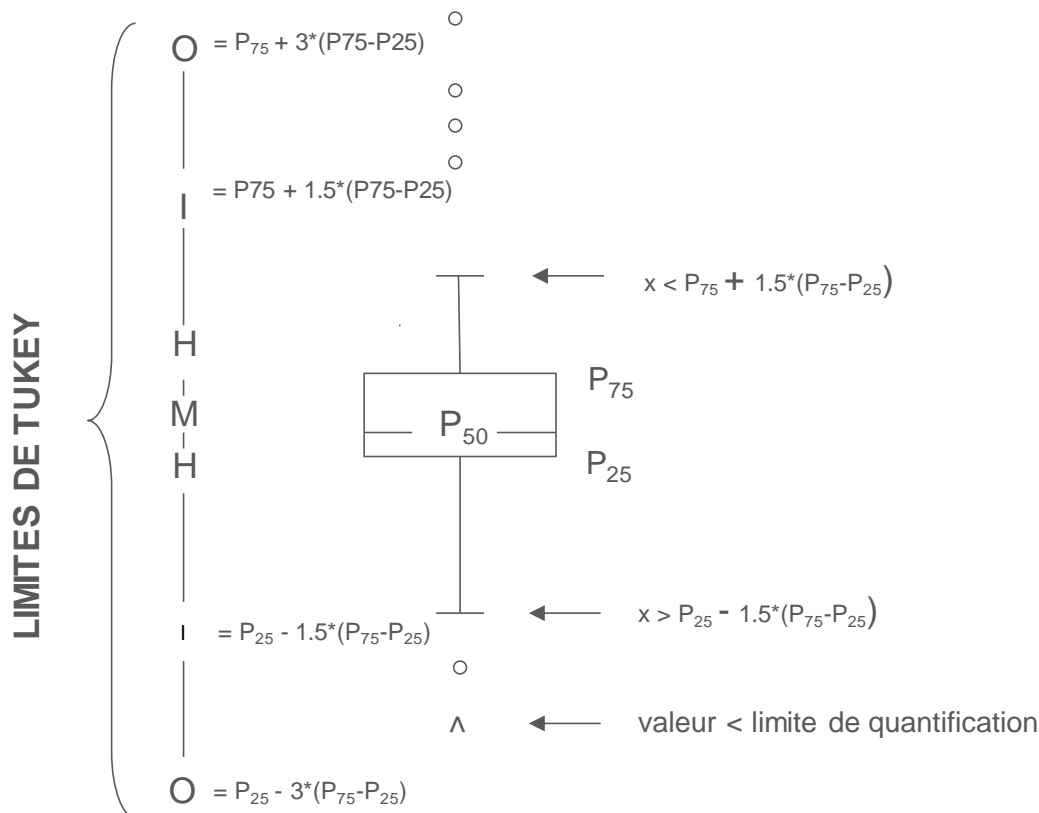
- Brochure d'information générale EEQ
- Méthodes statistiques appliquées à l'EEQ
- Traitement des valeurs censurées

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 2024.

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