

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIES VOOR KLINISCHE BIOLOGIE/PATHOLOGISCHE ANATOMIE
EXPERTENCOMITE**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSES KLINISCHE BIOLOGIE/PATHOLOGISCHE ANATOMIE**

DEFINITIEF GLOBAAL JAARRAPPORT

**MOLECULAIRE BIOLOGIE
HEMATO-ONCOLOGIE EN GENETISCHE
ONDERZOEKEN**

Art 33 bis en 33 ter

2022

Sciensano/Moleculaire Biologie/15-NL

Biologische gezondheidsrisico's
Kwaliteit van laboratoria
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.sciensano.be

EXPERTENCOMITE

Sciensano					
Secretariaat		TEL:	02/642 55 22	FAX:	02/642 56 45
Naam enquêtecoördinator	Joséphine Lantoine	TEL:	02/642 53 94		
		e-mail:	Josephine.lantoine@sciensano.be		
Naam vervanger enquêtecoördinator	Bernard China Vanessa Ghislain	TEL:	02/642 53 85 en 02/642 52 08		
		e-mail:	Vanessa.ghislain@sciensano.be bernard.china@sciensano.be		
Experten	Instelling				
Barbara Denys	UZGENT				
Evelien Heylen	ZNA				
Frédéric Lambert	CHU LIEGE				
Brigitte Maes	Jessa Ziekenhuis				
Freya Vaeyens	UZ Brussel				
Jacques Van Huysse	AZ Sint Jan				
Roberto Salgado	GZA				
Patrick Pauwels	UZA				
Pierre Heimann	LHUB				
Barbara Depreter	UZ Brussel				

Een voorlopige versie van dit rapport werd voorgelegd aan de experts op: 27/01/2023.

Dit rapport werd besproken in de vergadering van het experts van:
NVT-discussie per email

Autorisatie van het rapport: door Joséphine Lantoine, enquêtecoördinator

Publicatiedatum: 09/03/2023

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

<https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria/eke-moleculaire-biologie-hemato-oncologie>

INHOUDSTAFEL

INHOUDSTAFEL

INLEIDING	4
BEPALING VAN ANDERE ANTIGENEN DAN ABO EN RH + BEPALING VAN ZWAKKE/VARIANT D	5
STALEN.....	5
DEELNEMERS.....	5
RESULTATEN.....	5
CONCLUSIES OVER DE RESULTATEN VAN DE LABORATORIA	9
RAS	10
DEELNEMERS	10
RESULTATEN.....	10
CONCLUSIES OVER DE RESULTATEN VAN DE LABORATORIA	21
KIT	22
STALEN.....	22
DEELNEMERS.....	22
RESULTATEN.....	22
CONCLUSIES OVER DE RESULTATEN VAN DE LABORATORIA	26
NIPT	27
STALEN.....	27
DEELNEMERS	27
RESULTATEN.....	27
CONCLUSIES OVER DE RESULTATEN VAN DE LABORATORIA	32
FLT3-TP53	33
STALEN.....	33
DEELNEMERS.....	33
RESULTATEN.....	33
CONCLUSIES OVER DE RESULTATEN VAN DE LABORATORIA	43
HER 2	44
STALEN.....	44
DEELNEMERS	44
RESULTATEN.....	44
CONCLUSIES OVER DE RESULTATEN VAN DE LABORATORIA	50
ALK-ROS1	51
STALEN.....	51
DEELNEMERS.....	51
RESULTATEN.....	52
CONCLUSIES OVER DE RESULTATEN VAN DE LABORATORIA	54
UITBESTEDE EVALUATIE: DETECTIE VAN DE MUTATIES VAN DE FACTOR V EN PROTROMBINE GENEN (ECAT)	55
STALEN.....	55
DEELNEMERS	55
RESULTATEN.....	55
CONCLUSIES OVER DE RESULTATEN VAN DE LABORATORIA	56

INLEIDING

In 2022, hebben we 7 enquêtes betreffende de art.33 bis en 33 ter van de RIZIV-nomenclatuur georganiseerd.

De enquête 2022/1 ging over de bepaling van andere erythrocyten antigenen dan ABO en Rh en de bepaling van zwakke of variant D.

De enquête 2022/2 ging over de detectie van RAS genen mutaties in een colorectaal carcinoom.

De enquête 2022/3 ging over de detectie van KIT gen mutatie in een gastrointestinale stromale tumor.

De enquête 2022/4 ging over de prenatale opsporing van trisomie 21 door middel van een moleculaire biologische methode vanaf de 12de zwangerschapsweek.

De enquête 2022/5 ging over de detectie van FLT3-TKD mutaties bij acute myeloïde leukemie; van FLT3-ITD mutaties bij acute myeloïde leukemie en van TP53 mutaties bij chronische lymfatische leukemie.

De enquête 2022/6 ging over de detectie van HER2 gen amplificatie bij (niet) gemetastaseerde borstkanker.

De enquête 2022/7 ging over de detectie van ALK genherschikking bij een ALK-positief (IHC) gevorderd (niet-reseceerbaar of gemetastaseerd) niet-squameus niet-kleincellig longcarcinoom (detectie via ISH).

De enquête 2022/8 ging over de detectie van ROS1 genherschikking bij een ROS1 positief (IHC) gevorderd (niet-reseceerbaar of gemetastaseerd) niet-squameus niet-kleincellig longcarcinoom (detectie via ISH).

Voor de detectie van de mutaties in de genen factor II en factor V, werden de laboratoria bij onze partnerorganisatie ECAT ingeschreven. De performanties van de laboratoria in deze EKE worden besproken op pagina 55.

BEPALING VAN ANDERE ANTIGENEN DAN ABO EN RH + BEPALING VAN ZWAKKE/VARIANT D

Stalen

Het DNA was afkomstig van een gezonde donor en werd met een commerciële kit *QIAamp DNA blood Mini kit* door het laboratorium van de dienst “Kwaliteit van laboratoria” geëxtraheerd. De concentratie en de zuiverheid werden met de spectrofotometrie Nanodrop methode gemeten. De DNA-concentratie van het staal was 67.4 ng/μl en de zuiverheid (A260/ A280) was 1.84.

Deelnemers

9 klinische biologie laboratoria waren voor deze enquête ingeschreven. 1 laboratorium was ingeschreven alleen voor de bepaling van andere antigenen dan ABO en Rh.

Resultaten

De laboratoria hebben 1 tube van 140 μl humaan genomisch DNA geëxtraheerd met een commerciële kit uit het bloed ontvangen. We hebben de concentratie en de zuiverheid van het staal aan de laboratoria meegedeeld. We hebben aan de laboratoria gevraagd om de bepaling van andere erythrocyten antigenen dan ABO en Rh en de bepaling van zwakke of variant D met een moleculaire biologische methode uit te voeren.

1. Resultaten per antigen

Staal	Systeem	Ingegeven resultaten*	Aantal laboratoria (N)
<u>ABO2022</u>	MNS	MN SS	6/9
		MN SS UvarNY- PZ-	1/9
		GYPA*M GYPA*N GYPB*S	2/9
	Lutheran	LubLub	4/9
	Kell	kk	5/9
		kk KpbKpb JsbJsb	4/9
	Duffy	FybFyb	6/9
		FY*B FY*B	3/9
	Kidd	JkaJkb	6/9
		JK*AJK*B	3/9
	Diégo	DibDib	3/9
		DibDib WrbWrb	1/9
	Scianna	ScaSca	1/9
	Dombrock	DobDob	4/9
		Do*BD*o*B	1/9
		DobDob Hy Joa	1/9
	Colton	CoaCoa	4/9
	Landsteiner-Weiner	LwaLwa	2/9
	VEL	Vel +	3/9
		Vel*01	2/9
	RhCe	CC ee	3/9
		RHCE*C RHCE*e	1/9
		CC ee Cw-	2/9
Cartwright	YtaYta	3/9	
Knops	KnaKna	1/9	

*Volgens de gebruikelijke nomenclatuur

Staal	Ingegeven resultaten	Aantal laboratoria (N)
ABO2022	geen zwakke D ; RhD +	2/8
	afwezigheid van een zwakke D ; Afwezigheid van een D variant Rh:1 (RhD+)	1/8
	geen zwakke D; geen D variant	1/8
	negatief; RhD	1/8
	negatief ; geen variant	1/8
	afwezigheid van een detecteerbaar "D normaal"	1/8
	RhD allele	1/8

Resultaten per laboratorium

ABO2022													
Lab	Gebruikte methodes ABO/Rh	MNS	Lutheran	Kell	Duffy	Kidd	Diégo	Scianna	Dombrock	Colton	Landsteiner-Wiener	VEL	Andere
1	PCR-SSP RBC fluo gene Verify / RBC fluogene Rare (inno-train)	MN SS	Lub Lub	kk Kpb Kpb Jsb Jsb	FybFyb	JkaJkb	DibDib Wrb Wrb		DobDob	CoaCoa	LwaLwa		RhCE: CC ee Knops: KnaKna Cartwright: YtaYta
2	BioArray HEA Beaschips	M/N S/S	Lub/Lub	k/k Kpb/Kpb Jsb /Jsb	Fyb/Fyb	Jka/Jkb	Dib/Dib	Sca/Sca	Dob/Dob Hy Joa	Coa/Coa	Lwa/Lwa		
3	PCR-SSP BAGene kit (BAG diagnostics)	MN SS	Lub Lub	kk Kpb Kpb Jsb Jsb	FybFyb	JkaJkb	DibDib		DobDob	CoaCoa		Vel+	Cartwright: YtaYta
4	PCR-SSP Kit RBC Ready gene VERYfy (inno-train)	GYPA*M GYPA*N GYPB*S		KEL*02	FY*B FY*B	Jk*AJK*B			Do*B Do*B			VEL*01	RHCE: CC ee Cw-
5	PCR-SSP BAGene kit (BAG diagnostics)	M/N S/S	Lub/Lub	k/k Kpb/Kpb Jsb /Jsb	Fyb/Fyb	Jka/Jkb	Dib/Dib			Coa/Coa		Vel+	Cartwright: Yta/Yta

6	PCR-SSP RBC fluogene kit VERYfy (innotraining)	MNS (MNS1, MNS2, MNS3)		k (KEL2)	FyB (Fy02)	JKAJKB (JK1 JK2)			DoB (Do2)				RHCE: C e
7	PCR-SSP Kit RBC Ready gene VERYfy (innotraining)	M N SS		kk	FybFyb	JkaJkb			DobDob			Vel+	RhCE: CC ee
8	PCR-SSP Kit RBC Ready gene VERYfy (innotraining)	GYP A*M GYP A*N GYP B*S		KEL*02	FY*B	Jk*AJK*B			Do*B			VEL*01	RHD*01 RHCE*C RHCE*e
9	PCR-SSP RBC fluogene kit VERYfy (innotraining)	MN SS UvarNY- PZ-		kk	FybFyb	JkaJkb			DobDob				RHCE:CC ee Cw-

			ABO2022	
Labo	Gebruikte methodes Zwakke D	Gebruikte methodes D variant	Zwakke D	D variant
1	PCR-SSP Weak D BAGene kit (BAG diagnostics)	PCR-SSP Partial D type BAGene kit + Rh-type BAGene Kit (BAG diagnostics)	geen zwakke D	RhD +
2	BioArray RHD beadchips	BioArray RHD beadchips	afwezigheid van zwakke D Rh:1 (RhD+)	afwezigheid van een D variant Rh:1 (RhD+)
3	PCR-SSP Weak D BAGene kit (BAG diagnostics)	PCR-SSP Partial D type BAGene kit (Bag diagnostics)	geen zwakke D	geen D variant
4	PCR-SSP RBC ready gene Weak D kit (inno-train)	PCR-SSP RBC ready gene CDE kit (inno-train)	negatief	RhD
5	PCR-SSP Weak D BAGene kit (BAG diagnostics)	PCR-SSP Partial D type BAGene kit (Bag diagnostics)	afwezigheid van een detecteerbaar variant " D normal "	afwezigheid van een detecteerbaar variant " D normal "
6	PCR-SSP RBC fluogene Weak D kit (inno-train)	PCR-SSP RBC fluogene CDE kit (inno-train)	RHD allele	RHD allele
7	PCR-SSP RBC ready gene Weak D kit (inno-train)	PCR-SSP RBC ready gene CDE kit (inno-train)	negatief	geen D variant
8	PCR-SSP RBC RBC fluogene Weak D kit (inno-train)	PCR-SSP RBC fluogene CDE kit (inno-train)	geen zwakke D	RhD+ geen D variant

Commentaren

- We hebben 4 laboratoria na de ontvangst van hun resultaten gecontacteerd omdat zij de instructies van het antwoord formulier niet gevolgd hadden. Inderdaad, was het gevraagd op het formulier om te antwoorden met het gebruikelijke nomenclatuur en alleen de genotypen te rapporteren. Het blijkt dat het nog niet duidelijk was voor de laboratoria, we zullen dus het antwoord formulier aanpassen voor de volgende cyclus en voorbeelden toevoegen.

Gebruikte methodes

A. Bepaling van andere genen dan ABO en Rh

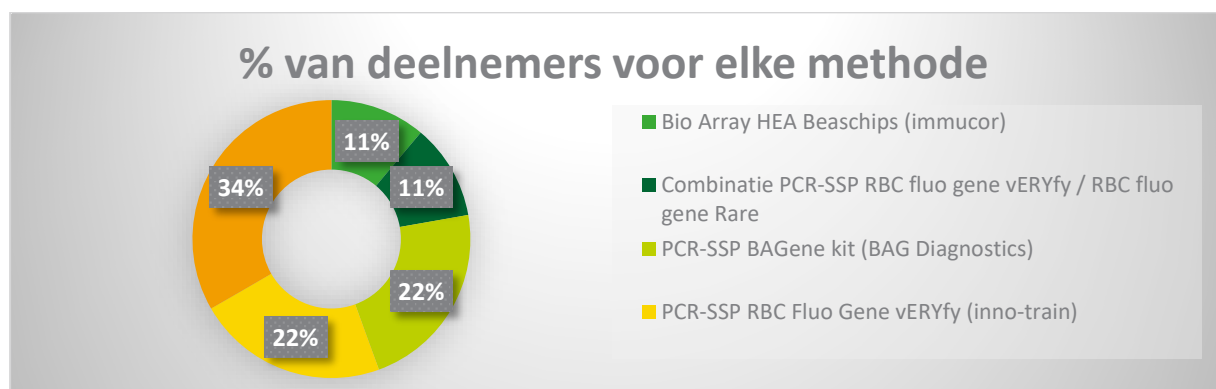


Chart 1 : Verdeling van laboratoria per gebruikte methode voor de bepaling van andere genen dan ABO en Rh

De meest gebruikte methode/kit voor de bepaling van andere antigenen dan ABO en Rh is de methode PCR-SSP RBC Ready Gene vERYfy van inno-train met gevolgd door de methodes/kits PCR-SSP RBC Fluogene vERYfy van inno-train et PCR-SSP BAGene kit van BAG diagnostics.

B. Bepaling van variant D

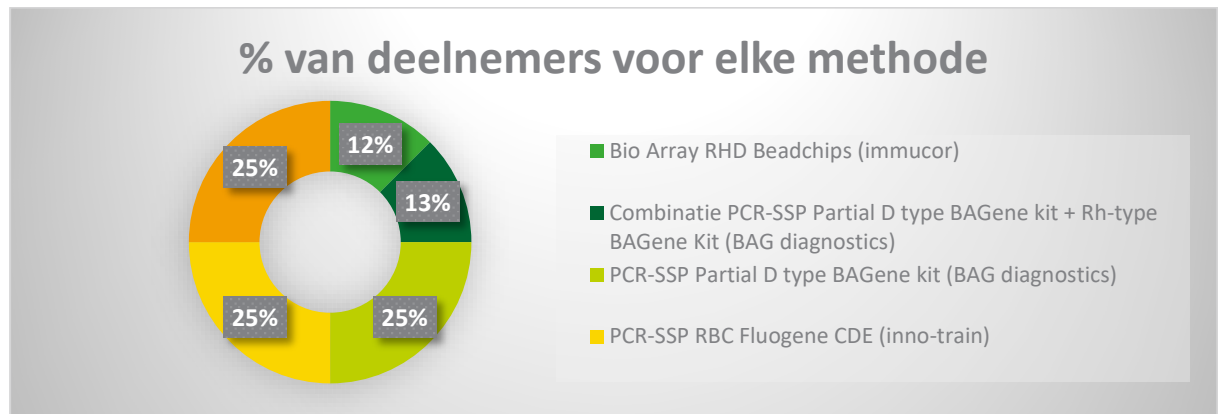


Chart 2 : Verdeling van laboratoria per gebruikte methode voor de bepaling van variant D

De meest gebruikte methodes/kits voor de bepaling van variant D zijn de RBC Fluo Gene CDE, RBC Ready Gene CDE van inno-train en de kit partial D type van BAG Diagnostics.

C. Bepaling van zwakke D

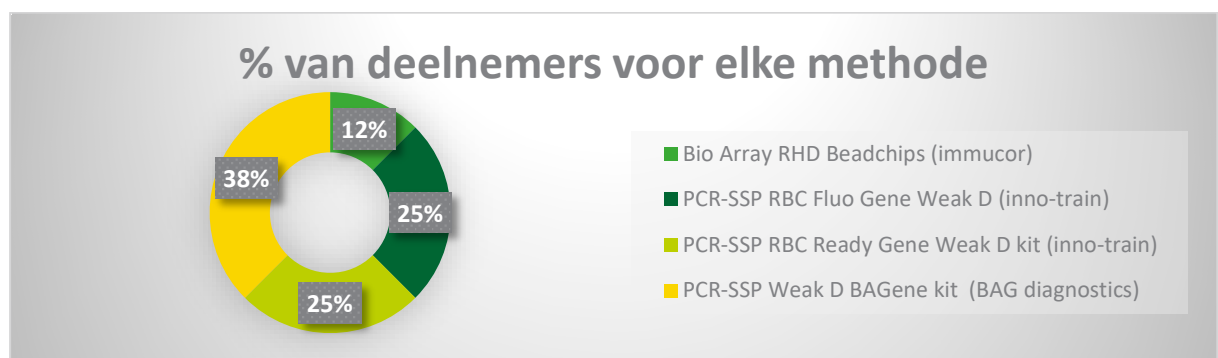


Chart 3 : Verdeling van laboratoria per gebruikte methode voor de bepaling van zwakke D

De meest gebruikte methode/kit voor de bepaling van zwakke D is de PCR-SSp WEAK D BAGene van BAG Diagnostics gevolgd door de methodes/kits PCR-SSp RBC Ready Gene WEAK D et PCR-SSp RBC Fluo Gene WEAK D van inno-train

Conclusies over de resultaten van de laboratoria

Alle ingeschreven laboratoria hebben aan de enquête deelgenomen. We hebben geen tegenstrijdigheid waargenomen tussen de resultaten ingegeven door de laboratoria.

RAS

De stalen zijn 5 µm FFPE-coupees van colorectale kanker biopsieën. Het zijn patiënten stalen van de biobank Discovery Life Science (3509 Elgin St, Suite 300 Houston, TX 77004-USA).

De stalen waren vergezeld van klinische gegevens van de patiënten: leeftijd, geslacht, ras, lokalisatie van de tumor, type van de tumor, pathologische data, gegevens over welke behandeling de patiënt vooraf heeft gekregen (als beschikbaar) en ook de mutationale status van KRAS en NRAS mutaties.

Klinische casus F00118836: 73-jarige vrouw met een mucineus adenocarcinoma van stadium IIA ter hoogte van het colon transversum (TNM: T3N0M0). De tumor tast het pericorectale weefsel aan (pT3). Er is geen lymfovasculaire of perineurale invasie (LV10, PNI0). Er is geen tumorgroei ter hoogte van de resectie marges (R0). 12 lymfeklieren werden onderzocht en zijn vrij van metastase (pN0).

We hebben gevraagd aan de laboratoria om de aanwezigheid van KRAS-gen mutaties op te sporen.

Klinische casus F00231138: 63-jarige man met een adenocarcinoma van graad G2 met invasie van het fibreus adipeus weefsel. Er is geen kwaadaardige neoplasie ter hoogte van de lymfeklieren (R0).

We hebben gevraagd aan de laboratoria om de aanwezigheid van NRAS-gen mutaties op te sporen.

Deelnemers

23 laboratoria waren voor deze enquête ingeschreven. De verdeling van de ingeschreven laboratoria per parameter is als volgt:

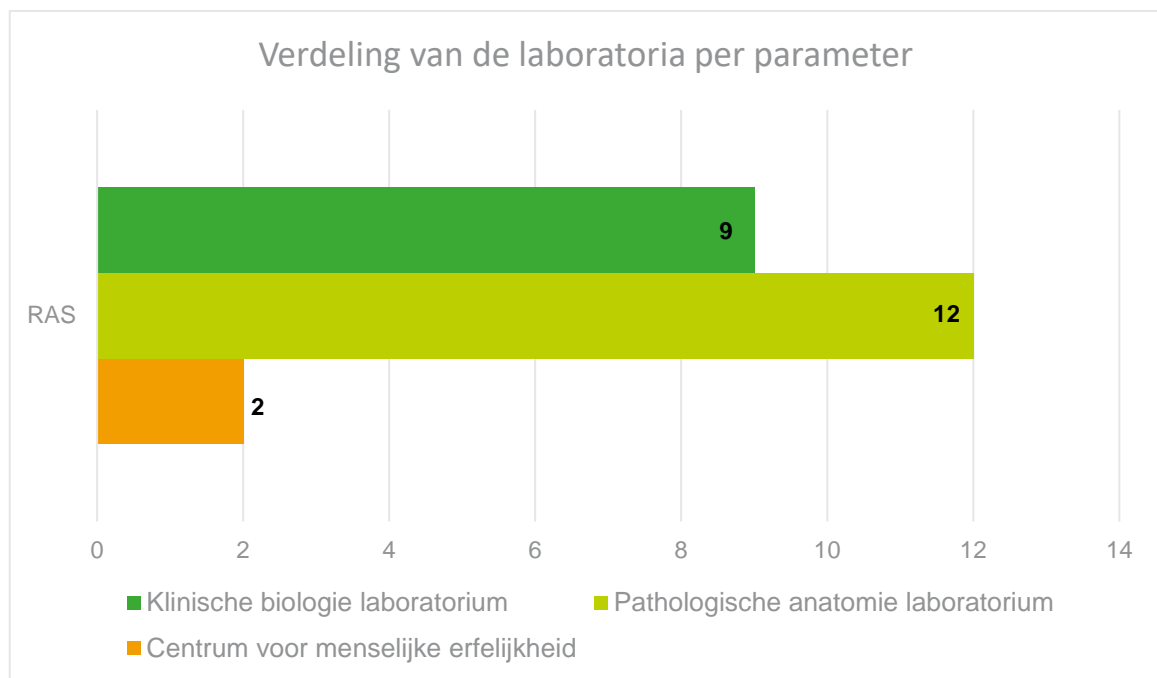


Chart 4 : Verdeling van ingeschreven laboratoria per specialiteit

Alle ingeschreven laboratoria hebben geantwoord.

Resultaten

De laboratoria hebben 3 FFPE-coupees van 5 µm per klinische casus ontvangen. We hebben aan de laboratoria gevraagd om de aanwezigheid van de KRAS en NRAS mutaties met moleculaire methodes op te sporen. We hebben ook de klinische interpretaties, hun gebruikte methode en de allefrequentie indien deze bepaald werd gevraagd.

1. Resultaten per staal

Houd er rekening dat het aantal laboratoria per vastgestelde resultaten voor de casus F00118836 werd aangepast in vergelijking met het voorlopige rapport

Staal	Verwachte resultaten (VAF)	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
F00118836	KRAS c.436 G>A p.(Ala146Thr) A146T aanwezig (20.44%)	KRAS c.436 G>A p.(Ala146Thr) A146T aanwezig	15
		KRAS c.436 G>A p.(Ala146Thr) A146T of KRAS c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P of c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V aanwezig*	7
		KRAS c.436 G>C (A146P) A146P aanwezig	1
F00231138	NRAS c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R aanwezig (41.8%)	NRAS c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R aanwezig	22
		NRAS c.183 A>T p.(Gln61His) Q61H of c.183 A>c p.(Gln61His) Q61H of c.181 C>A p.(Gln61Lys) Q61K of c.182 A>T p.(Gln61Leu) Q61L of c.182 A>C p.(Gln61Pro) Q61P of c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R aanwezig*	1

*De gebruikte methode staat niet toe om deze variant individueel identificeren

Staal	Vastgestelde klinische interpretaties	Aantal laboratoria (/23)
F00118836	Klasse I	1
	Pathogene mutatie met een klinische impact- afwezigheid van respons op EGFR inhibitoren (cetixumab en panitumab)	1
	Significant klinisch belang (Tier I)-resistentie aan monoclonaal antilichaam anti-EGFR (cetixumab en panitumab)	5
	Significant klinisch belang (Tier I)	1
	Pathogene mutatie- resistentie aan EGFR TKIs en EGFR antilichaam	1
	Meer agressieve- slechte prognose-verminderde gevoeligheid aan EGFR antilichaam	1
	Slechte respons op anti-EGFR antilichaam	1
	Patiënt komt niet in aanmerking voor therapie	1
	Patiënt met een gemuteerd KRAS gen	1
	Resistentie aan anti-EGFR monoclonale antilichaam	6
	Pathogene variant Tier IA	1
	Pathogene variant	1
	Pathogene variant-resistentie aan anti-EGFR	1
	Pathogene variant klasse I-resistentie aan anti-EGFR therapie	1

Staal	Vastgestelde klinische interpretaties	Aantal laboratoria (/23)
F00231138	Klasse I	1
	Pathogene mutatie met een klinische impact- afwezigheid van respons op EGFR inhibitoren in het kader van een gemetastaseerde CRC	1
	Significatief klinisch belang (Tier I)-resistentie aan monoclonale antilichaam anti-EGFR (cetixumab en panitumab)	5
	Pathogene mutatie- resistentie aan EGFR TKIs en EGFR antilichaam	1
	Significant klinisch belang (Tier I)	1
	Meer agressieve- slechte prognose-verminderde gevoeligheid aan EGFR antilichaam	1
	Slechte respons op anti-EGFR antilichaam	1
	Patiënt komt niet in aanmerking voor therapie	1
	Patiënt met een mutatie in het gen NRAS	1
	Resistentie aan anti-EGFR monoclonale antilichaam	6
	Pathogene variant Tier IA	1
	Pathogene variant	1
	Pathogene variant-resistentie aan anti-EGFR	1
	Pathogene variant klasse I-resistentie aan anti-EGFR therapie	1

2. Resultaten per laboratorium

Labo.	Gebruikte methodes	LOD (%)		F00118836		Klinische interpretaties
		SNV	Indels	KRAS mutaties	Andere gedetecteerde mutaties	
1	qPCR-Biocardis Idylla KRAS mutation test			c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T of c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P of c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Pathogeen-aanwezigheid van klinische relevante mutatie A146T in KRAS is geassocieerd met resistentie aan anti-EGFR therapieën
2*	NGS-Illumina Miseq Qiaseq custom panel - Qiagen	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (35%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (51%) APC c.4280del p.(pro1427Lev Fs*46) P1427L+ (25%) APC c.2413c>T p.(Arg805*) (26%)	Significant klinisch belang (Tier I): ongevoeligheid voor EGFR therapie
3	NGS-Illumina Miseq Ampliseq focus DNA panel	3	3	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (46%)		Pathogeen- Tier IA
4*	NGS-Illumina Miseq Qiaseq custom panel Qiagen			c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (42%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (55%) APC c.4280del p.(pro1427Lev Fs*46) P1427L+ (24%) APC c.2413c>T p.(Arg805*) (28%)	Significant klinisch belang (Tier I): ongevoeligheid voor EGFR therapie
5	NGS-Illumina Miseq Ampliseq custom panel	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (29.9%)		Pathogeen variant
6	NGS-Illumina Miseq STS panel Sophia Genetics	6	6	NM_004985.4 c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (31%)		Pathogeen- significant klinisch belang: geen respons aan EGFR inhibitoren in mCRC
7	qPCR-Biocardis Idylla KRAS mut. Test			c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T of c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P of c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Pathogeen Tier IA- predictief voor een resistentie aan anti-EGFR therapieën Een onderzoek van MSI is aangeraden. Een vloeibare biopsie is aangeraden door het agressieve karakter van mucineus adenocarcinoom.
	Confirmation par NGS-Illumina Miseq Dhs101z panel Qiagen			c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (35.86%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (42%)	

Labo.	Gebruikte methodes	LOD (%)		F00118836		Klinische interpretaties
		SNV	Indels	KRAS mutaties	Andere gedetecteerde mutaties	
8	NGS-Illumina Miseq Ampliseq focus panel	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (31%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (37%) APC c.4280del p.(pro1427Lev Fs*46) P1427L+ (21%)	Predictief voor een resistentie aan Cetixumab et Panitumab
9	qPCR-Biocardis Idylla KRAS mutation test			c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P		Patiënt met een NRAS mutatie
10	qPCR-Roche Cobas KRAS mutation test V.2			c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T of c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P of c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Aanwezigheid van een mutatie in codon 146 van KRAS is geassocieerd met resistentie tegen anti- EGFR therapie
11	qPCR-Biocardis Idylla KRAS mutation test			c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T of c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P of c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Aanwezigheid van deze mutatie in mCRC betekent in het algemeen resistentie voor anti-EGFR antistoffen
12	NGS-Illumina Novaseq 6000 custom panel Roche seqCAP EZ hyperCap Capture panel protocol	5	5	NM_004985.5 c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (26%)		Tier IA significant klinische belang
13	NGS-Illumina Novaseq 6000 custom panel	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (37%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (46%) APC c.4280del p.(pro1427Lev Fs*46) P1427L+ (24%) APC c.2413c>T p.(Arg805*) (24%) APC c.5584_5592del p.(Ser1863_Leu1865del) (19%) POLE c.2683G>A p.(Ala895Thr) (58%)	Klasse 1
14	NGS-Illumina Miseq Ampliseq cancer hotspot panel V.2	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (31.2%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (37.4%) APC c.4280del p.(pro1427Lev Fs*46) P1427L+ (15.2%) MET c.3394+1G>T* (20.1%)	Tier IA significant klinische belang –resistentie aan anti-EGFR

Labo.	Gebruikte methodes	LOD (%)		F00118836		Klinische interpretaties
		SNV	Indels	KRAS mutaties	Andere gedetecteerde mutaties	
15	NGS-Illumina Miseq custom panel Qiagen	4	4	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (32.5%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (44.6%)	Tier I significant klinisch belang – resistentie aan Cetixumab et Panitumab
16	qPCR-Biocardis Idylla KRAS mutation test			c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T of c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P of c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Mutatie geassocieerde met een resistentie aan anti-EGFR
17	qPCR-Biocardis Idylla KRAS mutation test			c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T of c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P of c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Meer agressieve ==> slechte prognose verminderde sensitiviteit aan EGFR antistoffen (Cetixumab)
18	NGS-Illumina Nextseq 550DX custom panel Qiagen	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (36%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (39%) APC c.4280del p.(pro1427Lev Fs*46) P1427L+ (17%) APC c.2413c>T p.(Arg805*) (21%) BRCA1 c.1367 T>C p.(Ile456Thr)* (50%) PTEN c.834C>G p.(Phe278Leu) (12%)	Pathogeen-resistentie aan EGFR TKIs en EGFR antistoffen
19	qPCR-Biocardis Idylla KRAS mutation test			c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T of c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P of c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V		Patiënt kont niet in aanmerking voor therapie
20	NGS-Ion Torrent S5XL-custom panel CP alpha V03_CRC	2.5	2.5	NM_004985.5 c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (44%)		Pathogeen-resistentie aan monoclonale GEFr antistoffen
21	NGS-Illumina Nextseq 500 Roche seqCAP EZ hyperCap capture panel protocol	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (31%)		Klasse 1 pathogeen-resistentie aan EGFR therapie
22	NGS-Illumina Nextseq 2000 Roche Kapa HyperCap custom solid panel (73 gènes)	5	5	c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (18.53%)	PIK3CA c.1633 G>A p.(Glu545Lys) (18%)	Slechte response op anti-EGFR antilichaam behandeling in gemetastaseerde colorectale tumoren (Douillard NJEM 2013)

					APC c.2413c>T p.(Arg805*) (8.9%)	
23	NGS-Illumina Nextseq 6000 Roche Kapa HyperCap custom panel	5	5	NM_004985.5 c.436 G>A p(Ala146Thr) A146T (43.6%)		Resistentie tegen EGFR monoclonale antistoffen (NCCN guidelines)

Labo.	Gebruikte methodes	LOD (%)		F00231138 (AF)		Klinische interpretaties
		SNV	Indels	NRAS mutaties	Andere gedetecteerde mutaties	
1	qPCR-Biocartis Idylla NRAS-BRAF mutation test			c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Pathogeen-anti-EGFR therapie niet effectief in patiënten met NRAS gemuteerd colorectaal carcinoom
2 *	NGS-Illumina Miseq Qiaseq custom panel Qiagen	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (38%)	HIST1H3C c.121 C>T p.(Arg41Cys) (7.9%)	Significant klinisch belang (Tier I): ongevoeligheid voor EGFR therapie
3	NGS-Illumina Miseq Ampliseq focus DNA panel	3	3	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (32%)		Pathogene variant- Tier IA
4	NGS-Illumina Miseq Qiaseq custom panel Qiagen			c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (36%)		Significant klinisch belang (Tier I): ongevoeligheid voor EGFR therapie
5	NGS-Illumina Miseq Ampliseq custom panel	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (22.9%)		Pathogene variant
6	NGS-Illumina Miseq STS panel Sophia Genetics	6	6	NM_002524.4 c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (29%)		Pathogeen- significant klinisch belang: geen respons aan EGFR-inhibitoren in mCRC Een MSI-onderzoek is aangeraden. Een vloeibare biopsie is aangeraden door het agressieve karakter van de mucineuze adenocarcinoom.
7	qPCR-Biocartis Idylla NRAS-BRAF mut. Test					Pathogeen Tier IA- predictief voor een resistentie aan anti-EGFR-therapieën Een onderzoek van MSI is aangeraden. Een vloeibare biopsie is aangeraden door het agressieve karakter van mucineus adenocarcinoom.
	Confirmation par NGS- Qiagen Genereader AIT DNA UMI panel	3	3	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (26.23%)		
8	NGS-Illumina Miseq Ampliseq focus panel	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (28%)	TERT c.124C>T (C228T) (19%)	Predictief voor een resistentie aan Cetixumab et Panitumab

Labo.	Gebruikte methodes	LOD (%)		F00231138 (AF)		Klinische interpretaties
		SNV	Indels	NRAS mutaties	Andere gedetecteerde mutaties	
9	qPCR-Biocardis Idylla NRAS-BRAF mutation test			c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Patiënt met een NRAS mutatie
10	qPCR-Roche Cobas NRAS- BRAF mutation test			c.183 A>T p.(Gln61His) Q61H of c.183 A>C p.(Gln61His) Q61H of c.181 C>A p.(Gln61Lys) Q61K of c.182 A>T p.(Gln61Leu) Q61L of c.182 A>C p.(Gln61Pro) Q61P of c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Aanwezigheid van een mutatie in codon 61 van NRAS is geassocieerd met resistentie tegen anti- EGFR therapie
11	qPCR-Biocardis Idylla NRAS-BRAF mutation test			c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Aanwezigheid van deze mutatie in mCRC betekent in het algemeen resistentie voor anti- EGFR antistoffen
12	NGS-Illumina Novaseq 6000 Roche custom panel seqCAP EZ HyperCap Capture panel protocol	5	5	NM_002524.5 c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (27%)		Tier IA significant klinisch belang
13	NGS-Illumina Novaseq 6000 Custom panel	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (41%)		Klasse 1
14	NGS-Illumina Miseq Ampliseq cancer hotspot panel V.2	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (26.5%)	TP53 c.743G>A p.(Arg248Gln) (27.3%) APC c.4037C>A p.(Ser1346*) (13.2%) KIT p.II662Leu Fs*7 * (10.5%)	Tier IA significant klinisch belang –resistentie aan anti-EGFR
15	NGS-Illumina Miseq custom panel Qiagen	4	4	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (49.7%)	TP53 c.743G>A p.(Arg248Gln) (47.2%)	Tier I significant klinische belang – resistentie aan Cetixumab et Panitumab
16	qPCR-Biocardis Idylla NRAS-BRAF mutation test			c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Mutatie geassocieerd met een resistentie aan anti-EGFR
17	qPCR-Biocardis Idylla NRAS-BRAF mutation test			c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Agressiever ==> slechte prognose verminderde gevoeligheid aan EGFR antistoffen (Cetixumab)

Labo.	Gebruikte methodes	LOD (%)		F00231138 (AF)		Klinische interpretaties
		SNV	Indels	NRAS mutaties	Andere gedetecteerde mutaties	
18	NGS-Illumina Nextseq 550DX custom panel Qiagen	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (37%)	APC c.834+1 G>T (14%) APC c.4037C>A p.(Ser1346*) (13%) DPYD c.1280 T>C p.(Val427Ala)** (38%) TP53 c.743G>A p.(Arg248Gln) (31%)	Pathogeen-resistentie aan EGFR TKIs en EGFR antistoffen
19	qPCR-Biocartis Idylla NRAS-BRAF mutation test			c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R		Patiënt komt niet in aanmerking voor therapie
20	NGS-Ion Torrent S5XL-custom panel CP alpha V03_CRC	2.5	2.5	NM_002524.5 c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (22.5%)		Pathogeen-resistentie aan monoclonale GEFER antistoffen
21	NGS-Illumina Nextseq 500 Roche seqCAP EZ HyperCap capture panel protocol	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (27%)		Klasse 1 pathogeen-resistentie aan EGFR therapie
22	NGS-Illumina Nextseq 2000 Roche Kapa HyperCap custom solid panel (73 gènes)	5	5	c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (32.81%)	TP53 c.743G>A p.(Arg248Gln) (35%) TERT c.124C>T p.(?) (22.3%) PDGFRB c.2811 G>A p.(Met937Ile) (49.23%) ARID1A c.740 C>T p.(Ala247Val) (52%) APC c.4037C>A p.(Ser1346*) (9.8%) DPYD c.1280 T>C p.(Val427Ala) (39.65%)	Slechte respons op anti-EGFR antilichaam behandeling in gemetastaseerde colorectale tumoren (Douillard NJEM 2013)
23	NGS-Illumina Nextseq 6000 Roche Kapa HyperCap custom panel	5	5	NM_002524.5 c.182 A>G p.(Gln61Arg) Q61R (26%)		Resistentie tegen EGFR monoclonale antistoffen (NCCN guidelines)-slechte prognose dan WT NRAS en KRAS varianten

*Analyse onder voorbehoud door de suboptimale kwaliteit van de geëxtraheerd DNA

**Aangegeven zoals VUS

**Verdeling van de gerapporteerde
allelfrequenties
voor de detectie van de mutatie KRAS A146T**

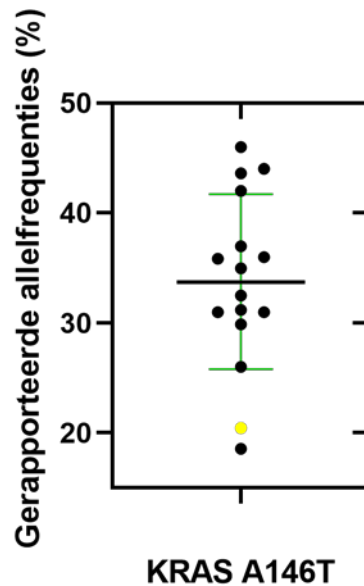


Chart 5 : Verdeling van de gerapporteerde allelfrequenties voor de detectie van de mutatie KRAS A146T in het staal. Het punt in geel is de aangegeven allelfrequentie bij de leverancier.

3 laboratoria die een NGS-methode gebruiken hebben een hogere allelfrequentie dan het gemiddelde van de gerapporteerde allelfrequentie gerapporteerd. 1 laboratorium dat ook de NGS gebruikt heeft een lagere allelfrequentie dan het gemiddelde van de gerapporteerde allelfrequentie gerapporteerd. Zijn gerapporteerde allelfrequentie is bij de gerapporteerde allelfrequentie van de leverancier. Houd er rekening dat de allelfrequentie van de leverancier veel lager dan het gemiddelde van de gerapporteerde allelfrequentie is. We hebben verduidelijking gevraagd aan de leverancier betreffende de calculatie van de allelfrequentie.

Volgens de firma *Discovery Life Science* dat produceert de stalen, kunnen er verschillen tussen platform hebben en bovendien, is enkel een staal per patiënt geanalyseerd. Paraffine coupes worden van een staal gesneden en de afgemeten allelfrequentie werd dan gebruikt voor alle stalen van de patiënt (verzameld op deze datum of nadien).

2 andere CRC-stalen werden eveneens voor deze patiënt afgenomen naast het staal voor de EKE. Het is waarschijnlijk dat de allelfrequentie die door de leverancier werd gegeven, niet werd afgenomen van de coupe die van dit staal afkomstig is.

Verdeling van de gerapporteerde allelfrequenties voor de detectie van de mutatie NRAS Q61R

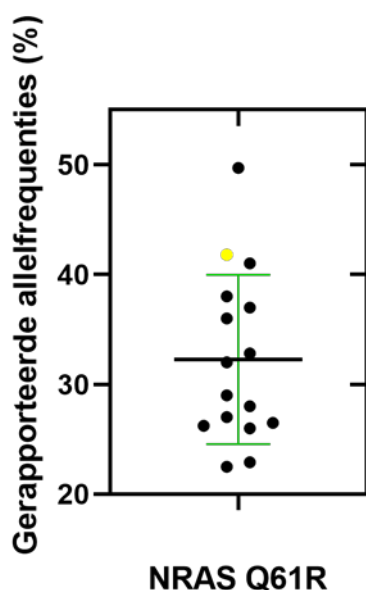


Chart 6 : Verdeling van de gerapporteerde allelfrequenties voor de detectie van de mutatie NRAS Q61R in het staal. Het punt in geel is de aangegeven allelfrequentie bij de leverancier.

1 laboratoria dat een NGS-methode gebruikt heeft een hogere allelfrequentie dan het gemiddelde van de gerapporteerde allelfrequentie gerapporteerd. 2 laboratoria die een NGS-methode gebruiken hebben een lagere allelfrequentie dan het gemiddelde van de gerapporteerde allelfrequentie gerapporteerd. Houd er rekening mee dat de allelfrequentie van de leverancier hoger is dan het gemiddelde van de gerapporteerde allelfrequentie.

Volgens de firma *Discovery Life Science* dat produceert de stalen, kunnen er verschillen tussen platform hebben en bovendien, is enkel een staal per patiënt geanalyseerd. Paraffine coupes worden van een staal gesneden en de afgemeten allelfrequentie werd dan gebruikt voor alle stalen van de patiënt (verzameld op deze datum of nadien).

1 ander CRC-stalen werden eveneens voor deze patiënt afgenomen naast het staal voor de EKE. Het is waarschijnlijk dat de allelfrequentie die door de leverancier werd gegeven, niet werd afgenomen van de coupe die van dit staal afkomstig is.

3. Commentaren

- 1 laboratorium dat de methode qPCR Biocartis Idylla Roche (KRAS mutation test) gebruik heeft heeft de aanwezigheid van de mutatie c.436 G>C (Ala146Pro) gedetecteerd. Niettemin, laat deze methode niet toe om de volgende varianten individueel te identificeren: KRAS c.436 G>A p.(Ala146Thr) A146T// KRAS c.436 G>A p.(Ala146Pro) A146P// c.437 C>T p.(Ala146Val) A146V. Dit antwoord heeft geen ernstig klinische impact op de patiënt. Na contact, heeft het laboratorium ons aangegeven dat het A146 P/T/V in plaats van A P had moeten antwoorden. Volgens het labo, staat wel A P/T/V op het QC-rapport van het staal. Een non-conformiteit werd ingediend in het kwaliteitssysteem van het laboratorium.

4. Gebruikte methodes

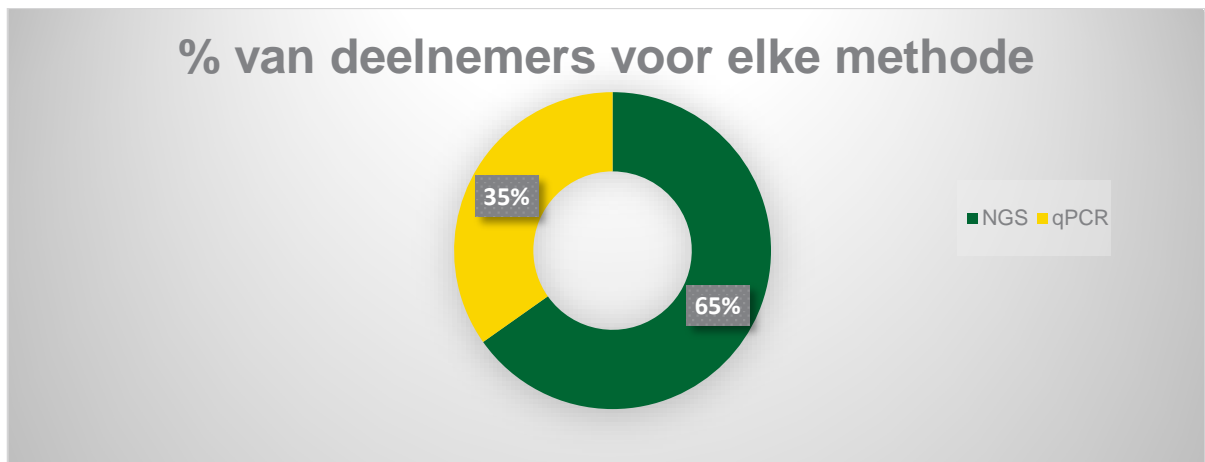


Chart 7 : Verdeling van laboratoria per gebruikte methode voor de detectie van KRAS en NRAS genen.

De meest gebruikte methodes zijn de Idylla en NGS. De verdeling per kits/panels is hieronder getoond:

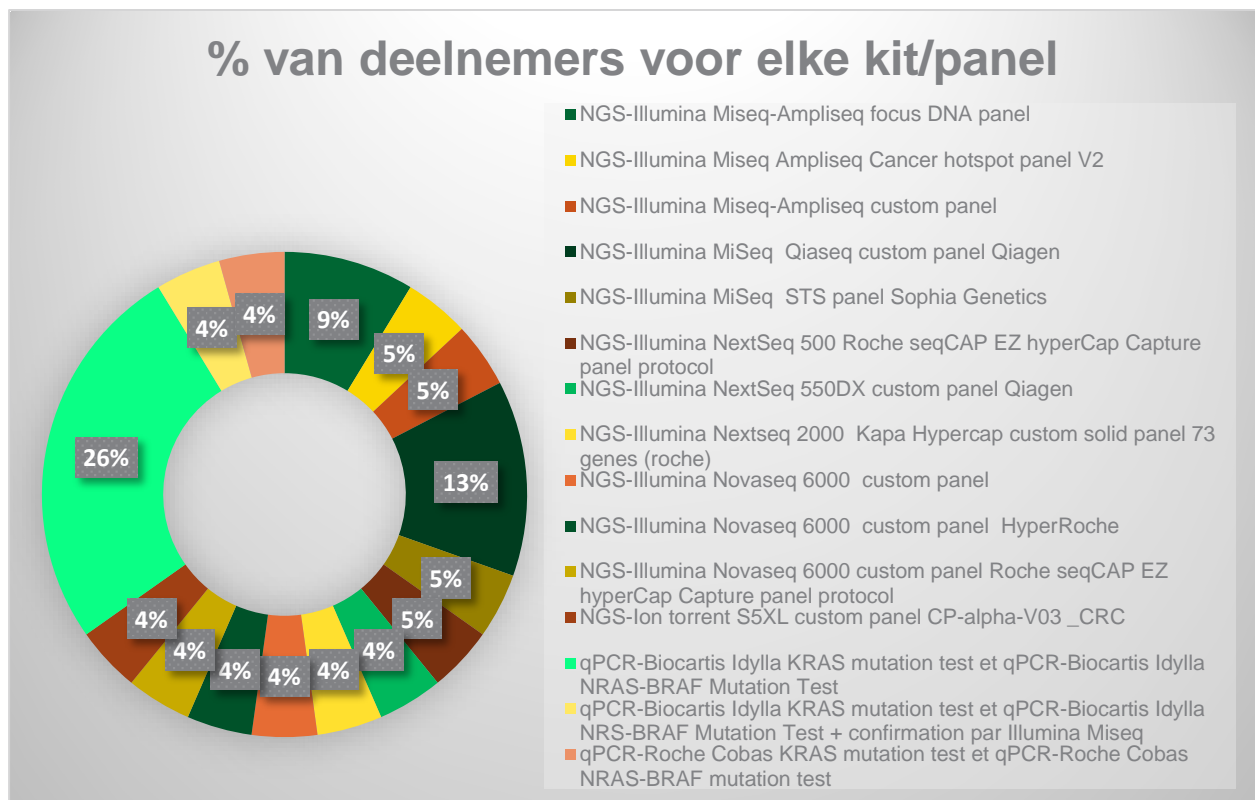


Chart 10 : Verdeling van laboratoria per gebruikte kits/panels voor de detectie van KRAS en NRAS genen.

Houd er rekening mee dat twee laboratoria zijn veranderd van methode. In 2021, heeft het eerste een NGS-methode gebruikt met het *Ion torrent* panel « Colon and Lung Panel V2 » en nu gebruikt het een qPCR methode met de *Biocardis* kit « Idylla KRAS mutation test ». Het tweede heeft in 2021 een qPCR methode gebruikt met de *Biocardis* kits « Idylla KRAS mutation test » en « NRAS-BRAF mutation test » en nu gebruikt het een NGS-methode met het *Roche* panel « seqCAP EZ hyperCap Capture ».

Conclusies over de resultaten van de laboratoria

Betreffende de genen KRAS en NRAS, zijn de resultaten van de laboratoria bevredigend. Er was geen ernstig fouten door de laboratoria gemaakt. Het laboratorium dat de onmogelijkheid om verschillende A146 KRAS-varianten te identificeren met zijn Idylla methode op zijn rapport niet gemeld heeft, heeft een non-conformiteit in zijn kwaliteitssysteem ingediend.

KIT

Stalen

De KIT stalen werden geleverd door de firma Sopachem (Nieuwe Steenweg 20A 9810 Nazareth BE). De firma is een leverancier van de stalen van de firma SeraCare (37 Birch St, Milford, MA 01757, USA).

In het kader van deze enquête, is het staal een tube met 300 µl van gDNA in een tris-EDTA buffer (DNA conc. 47.6 ng/µl) met de mutatie c.1961 T>C p.V654 (VAF 40%). De verdeling van deze tube in tubes van 15 µl werd uitgevoerd in het laboratorium van de dienst "Kwaliteit van laboratoria".

Deelnemers

17 laboratoria waren voor deze enquête ingeschreven. De verdeling is als volgt:

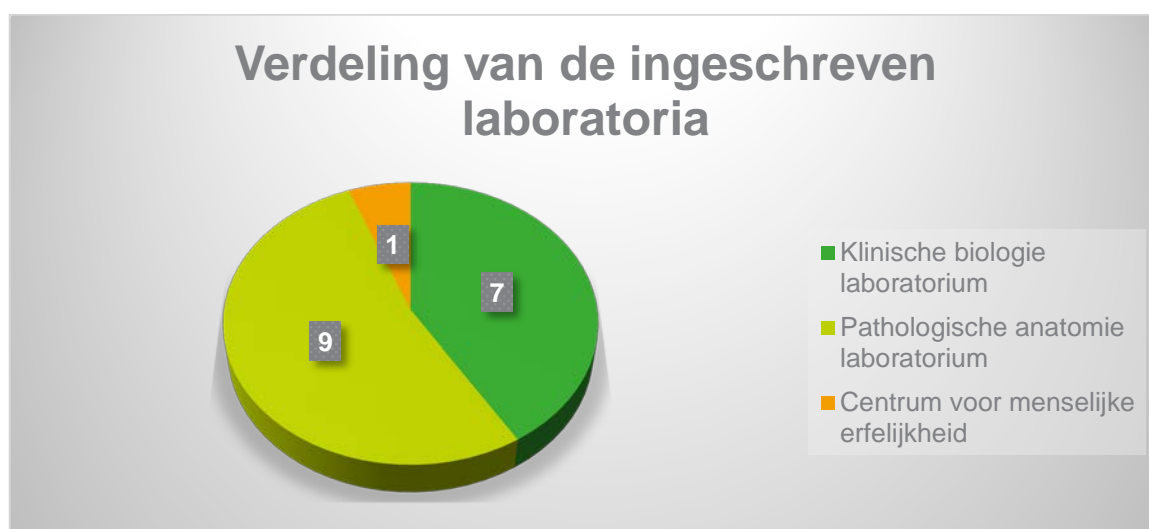


Chart 9: Verdeling van ingeschreven laboratoria per specialiteit

Alle ingeschreven laboratoria hebben geantwoord.

Resultaten

De laboratoria hebben 1 tube met 15µl gDNA in een Tris-EDTA buffer ontvangen. De DNA-concentratie is 47.6ng/µl. We hebben hen ook gevraagd om de allelfrequentie van de gevonden mutaties te geven (indien bepaald), de biologische en klinische classificaties/interpretaties en hun gebruikte methode.

1. Resultaten per staal

Staal	Verwachte resultaten (AF)	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
KIT-2022	Aanwezigheid van de mutatie KIT c.1961 T>C p.V654 (40%) Pathogen-Tier IA	KIT c.1961 T>C p.(Val654Ala) aanwezig	17 (100)
		KIT 1983_1984ins (AF :13.5%)*	1 (6)

*aangeduid als VUS

Om de biologische en klinische classificatie te scoren, heeft het expertencomité van moleculaire biologie de volgende scoring gedefinieerd voor deze enquête:

Goed
Aanvaardbaar
Niet evalueerbaar

Vastgestelde biologische classificaties	Vastgestelde klinische classificaties	Aantal laboratoria (%)
Pathogeen	Tier I(A)	14 (82)
Pathogeen	Tier II	2 (12)
Pathogeen	Pathogeen	1 (6)

82% van de laboratoria hebben een « goede » score voor de biologische en de klinische classificatie. 12% van de laboratoria hebben een « aanvaardbare » score voor de klinische classificatie maar een « goed » score voor de biologische classificatie. Slechts één laboratorium heeft een « niet evalueerbare » score voor de klinische classificatie omdat het niet met een Tier classificatie geantwoord heeft.

De eventuele vastgestelde therapeutische conclusies zijn, ter info hieronder getoond. Het experten comité heeft deze niet gescoord:

Vastgestelde therapeutische conclusies	Aantal laboratoria (%)
Geen therapeutische conclusie vermeld	4 (23)
komt in aanmerking voor een TKIs therapie	1 (6)
komt in aanmerking voor een TKIs therapie/ resistentie aan Imatinib; gevoeligheid voor Sunitinib	6 (35)
resistentie aan Imatinib; partiële respons op andere TKIs	1(6)
gevoeligheid voor Imatinib, Regorafenib en Sunitinib	1(6)
gevoeligheid voor TKIs; Imatinib	1(6)
bepaalde voordelen met Imatinib	1(6)

2. Resultaten per laboratorium

Labo	Gebruikte methodes Sequencer/ panel	LOD (%)		Vastgestelde resultaten		
		SNV	Indels	KIT mutaties	Biologische classificatie	Klinische classificatie
1	NGS-Illumina Miseq panel custom qiaseq	5	5	c.1961 T>C p.(Val654Ala) (51%)	Pathogeen	Tier I: significant klinisch belang. Ondersteunt diagnose van GIST. Gevoeligheid aan TKIs therapie
2	NGS-Illumina Miseq Panel Focus ampliseq for Illumina	3	3	NM_000222.3 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (50%)	Pathogeen	Tier IA
3	NGS-Illumina Miseq panel Custom Qiaseq- Qiagen	5	5	NM_000222.3 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (56%)	Pathogeen	Tier I significant klinisch belang- resistentie aan Imatinib en Repotrectinib. Gevoeligheid aan sunitinib

Labo	Gebruikte methodes	LOD (%)		Vastgestelde resultaten		
	Sequencer/ panel	SNV	Indels	KIT mutaties	Biologische classificatie	Klinische classificatie
4	NGS-Illumina NextSeq panel Twist Custom-Twistbioscience	2	2	NM_000222 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (45.8%)	Pathogeen	Tier II
5	NGS- Illumina Miseq STS panel-Sophia Genetics	6	6	NM_000222.2 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (49%)	Pathogeen	Potentieel-beperkt voordeel voor Imatinib
6	NGS-Illumina Miseq- panel Human Actionable Solid Tumor (DHS 101Z) -Qiagen	3-5	3	NM_000222.3 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (51%)	Pathogeen	Tier IA- resistentie aan Imatinib en partiële respons op andere TKIs
7	NGS-Illumina Miseq ampliseq focus panel	5	5	c.1961 T>C p.(Val654Ala) (51%)	Pathogeen	Tier IA- Gevoeligheid aan Sunitinib. Variant gewoonlijk verworven door behandeling met Imatinib
8	NGS-ThermoFisher-Panel Oncomine focus assay-Thermofischer	5	5	NM_000222 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (49%)	Pathogeen	Tier I Ondersteunt diagnose van GIST. Resistentie aan Imatinib en Regorafenib Gevoeligheid aan Sunitinib
9	NGS-Illumina Novaseq-SeqCap EZ HyperCap capture panel protocol-Roche	5	5	NM_000222.2 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (46%)	Pathogeen	Tier I significant klinisch belang
10	NGS-Illumina Novaseq 6000 custom panel	5	5	NM_000222.3 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (46%)	Pathogeen	Klasse I
11	NGS-Illumina Miseq panel Ampliseq Cancer hotspot	5	5	NM_000222.2 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (50.4%) NM_000222.2 1983_1984ins (13.5%)	Pathogeen VUS	Pathogeen VUS
12	NGS-Ion Torrent S5Gene studio-Panel custom Ampliseq	4	4	NM_000222.3 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (50%)	Pathogeen	Variant gedetecteerd in GIST met resistentie aan Imatinib. Gevoeligheid aan Sunitinib en aan Nilotinib
13	NGS-Illumina Miseq custom qiaseq panel	4	4	NM_000222.2 c.1961 T>C p.(Val654Ala) (52%)	Pathogeen	Klinisch belang Tier I Gevoeligheid aan Imatinib, aan Regorafenib en aan Sunitinib
14	NGS-Illumina Miseq custom qiaseq panel	5	5	NM_000222.2 c.1961 T>C (50%)	Pathogeen	Significant klinisch belang. Variant geassocieerd met resistentie aan Imatinib maar gevoeligheid aan Sunitinib (Boweretal, 2021 PMID 34322382)

4. Gebruikte methodes

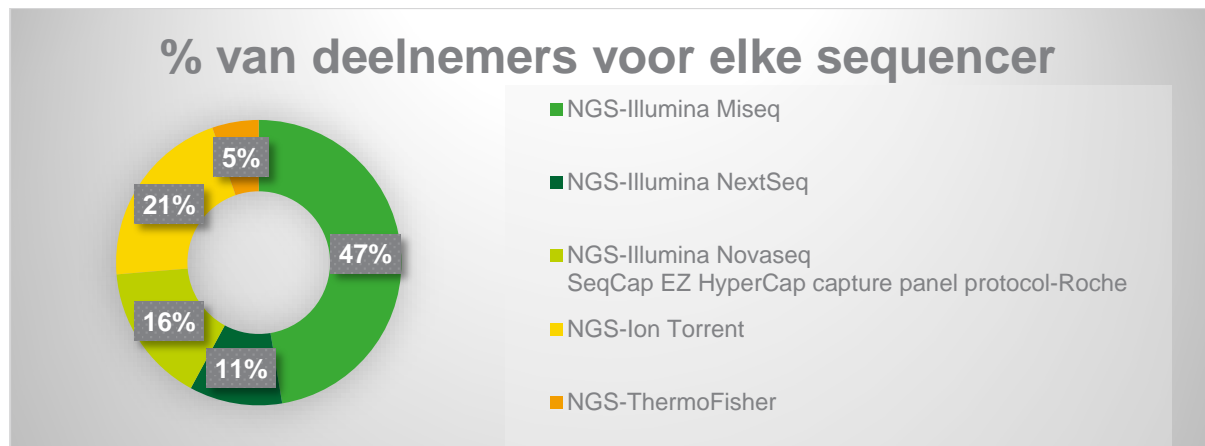


Chart 11: Verdeling van laboratoria per gebruikte sequencer voor de detectie van mutaties in het KIT gen

De meeste gebruikte sequencer is de Illumina Miseq van de firma Illumina.

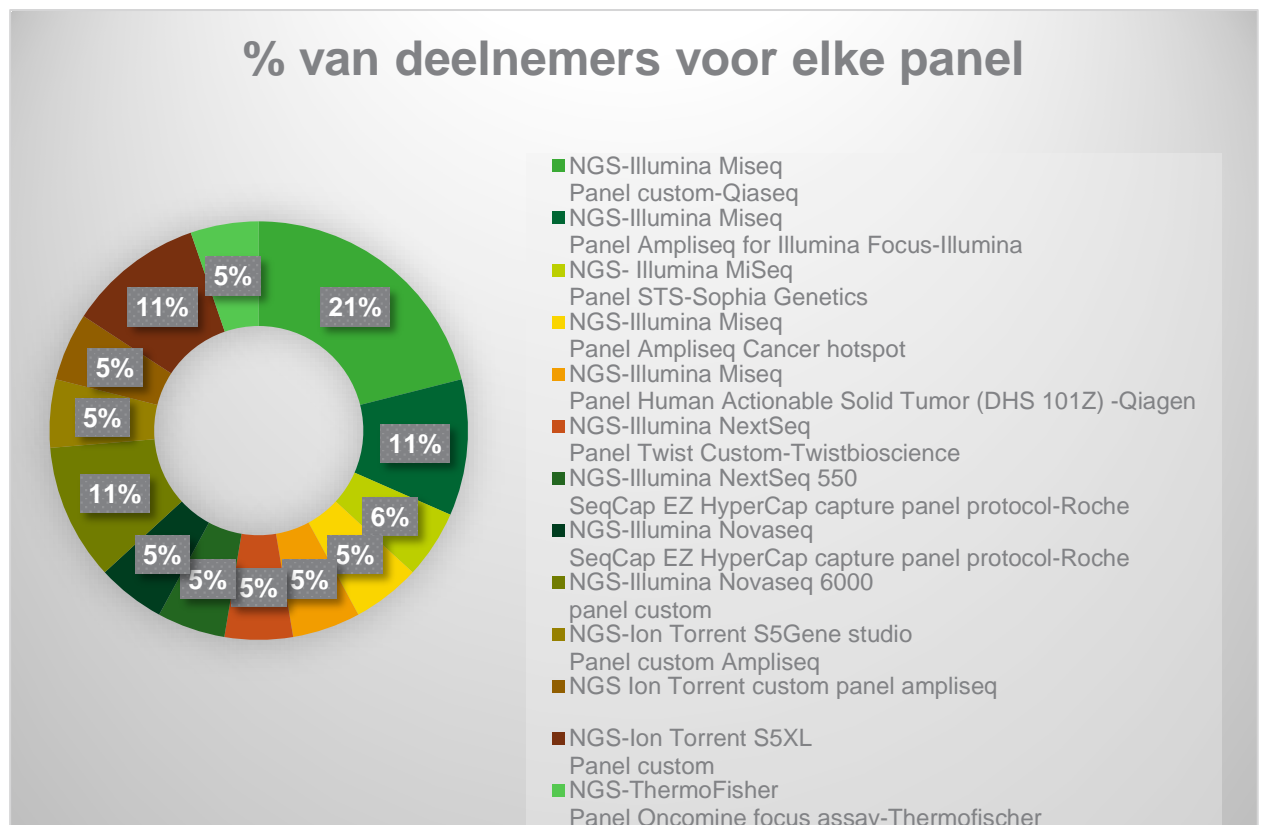


Chart 12: Verdeling van laboratoria per gebruikte panels voor de detectie van mutatie in KIT gen

De meest gebruikte panels voor de detectie van mutaties in het KIT gen zijn de custom panels en het panel Ampliseq for Illumina focus van Illumina.

Conclusies over de resultaten van de laboratoria

De resultaten van de laboratoria voor deze enquête zijn bevredigend.

Om duidelijker te zijn, zal het antwoordformulier aangepast worden. De klinische classificatie zal vervangen worden door de Tier classificatie.

NIPT

Stalen

Het staal is een 1ml gesimuleerd plasma (Matribase) met ingekapseld foetaal DNA (cfDNA concentratie= 20ng/µl). Het is een commerciële staal van de firma Seracare (37 Birch St, Milford, MA 01757, USA) dat in België door de firma Sopachem (Nieuwe Steenweg 20A 9810 Nazareth BE) verdeeld wordt.

De stalen waren vergezeld van klinische gegevens van de patiënten: naam, voornaam, leeftijd, reden van de analyse, bloedafname datum en de zwangerschapsduur.

Klinische casus: Bianca Castaphiore (28/02/1982) wordt gestuurd door haar gynaecologe in het kader van haar eerste zwangerschap wegens haar gevorderde leeftijd tijdens de zwangerschap.

De bloedafname werd uitgevoerd op 26/04/2022. De zwangerschapsduur op de tijd van de afname is 13 weken en 3 dagen.

We hebben gevraagd aan de laboratoria om de aanwezigheid van de trisomie 21 met moleculaire methodes op te sporen. Naast het antwoord formulier dat een precisering van de gebruikte methode vroeg, hebben we aan de laboratoria ook gevraagd het klinisch rapport van het staal toe te voegen.

Deelnemers

15 klinische biologie laboratoria waren voor deze enquête ingeschreven.

Alle ingeschreven laboratoria hebben geantwoord.

Resultaten

Elke laboratorium heeft één of twee stalen met ingekapseld DNA ontvangen. Het aantal stalen is afhankelijk van de resultaten van de preliminaire bevraging over de gebruikte methode en de nodige DNA-hoeveelheid die we in 2021 naar de deelnemers gestuurd hebben.

1. Resultaten per staal

1.A Interpretatie

Hieronder worden de verschillende interpretaties getoond die de laboratoria weergegeven in het klinische rapport van de patiënt:

Staal	Verwachte resultaten	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
<u>NIPT2022</u>	Hoog risico van trisomie 21	Afwijkend-trisomie 21 waarschijnlijk	4 (28.6)
		Trisomie 21 zeer waarschijnlijk (>99,99%)	1 (7.1)
		Hoog risico op trisomie 21	6 (42.8)
		Niet conclusief-aanvraag voor een nieuw staal of invasieve test*	1 (7.1)
		Verdenking van een chromosomale anomalie van het autosoom 47 ;XY;21	1 (7.1)
		Trisomie van het chromosoom 21 gedetecteerd-predicatieve waarde 93%	1 (7.1)

*Het laboratorium heeft ons gezegd dat er een incompatibiliteit was tussen zijn methode (Targeted sequencing-ClarigoV2 kit) en het staal van gesimuleerd plasma.

1.B. Verplichting van een bevestiging met een invasieve test

Het aantal laboratoria die de verplichting van bevestiging (door het hoog risico op 21 trisomie) op het rapport aangegeven hebben:

Staal	Verwachte resultaten	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
NIPT2022	Verplichting van bevestiging	Vermeld op het rapport	12 (85.7)
		Vermeld op het rapport met een genetische counseling	1 (7.1)
		Geen vermelding van de verplichting maar vermelding van een 3D echografie en van een genetische counseling	1 (7.1)

1.C. Informatie over de detectie limiet van de test

Het aantal laboratoria die de detectie limiet van de test op het rapport aangegeven hebben:

Staal	Verwachte resultaten	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
NIPT2022	Vermeld op het rapport	Duidelijk vermeld op het rapport	14 (100)

Met een educatief doel, werd de administratieve nauwkeurigheid van de gegevens van het rapport ook geanalyseerd:

1.D. Identificatie van het patiënt

Het aantal laboratoria die een correcte identificatie van de patiënt op het rapport aangegeven hebben:

Staal	Verwachte resultaten	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
NIPT2022	Bianca Castaphiore (28/02/1982 of 29/02/1982)	Correct identificatie (NAAM-VOORNAAM-GD)	10 (71.4)
		Verkeerde identificatie (EKE-NIPT-GD)	4 (28.6)

1.E Afname datum (26/04/2022)/Receptie Datum/Rapport datum

Hieronder worden de laboratoria getoond die de afname datum, de receptie datum en de datum van het rapport vermeld hebben. Voor de afname datum wordt eveneens in rekening gebracht of deze correct vermeld werd:

Staal	Verwachte resultaten	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
NIPT2022	Aanwijzing van de 3 datum op het rapport	3 data vermeld op het rapport	7 (50)
		Verkeerde afname datum (27/04/2022 of 28/04/2022)/ en vermelding van de receptie en rapport datum	7 (50)

1.F Zwangerschapsduur

Hieronder worden de laboratoria getoond die de correct gestational leeftijd op het moment van de afname vermeld hebben:

Staal	Verwachte resultaten	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
<u>NIPT2022</u>	13w en 3d	13w en 3d	11
		13w en 4d	2 (14.3)
		Geen vermelding	1 (7.1)

NB: 5 laboratoria hebben een correcte zwangerschapsduur vermeld hoewel zij een onjuiste afname datum aangegeven hebben.

2. Resultaten per laboratorium

Labo	Gebruikte methode	NIPT2022	Verplichting tot invasieve test	Detectie limiet	Identificatie van de patient	Zwangerschapsduur	Afname/receptie/rapport datum
		Vermelding J/N	Vermelding J/N	Vermelding J/N			Vermelding J/N
1	Targeted sequencing-Agilent+ Miseq Clarigo V2	Niet conclusief-aanvraag voor een nieuw staal of invasieve test	J	J	J	J	J/J/J
2	Shallow Sequencing-Illumina NextSeq500-Veriseq NIPT solution V2	Trisomie van het chromosoom 21 gedetecteerd-predicatieve waarde 93%	J	J	J	J	J/J/J
3	in house Shallow whole genome sequencing-Illumina HiSeq4000 of Novaseq + custom bioinformatics analysis	Afwijkend-trisomie 21 waarschijnlijk	J	J	J	N	J/J/J
4	in house Shallow whole genome sequencing-Illumina HiSeq4000 of Novaseq + custom bioinformatics analysis	Afwijkend-trisomie 21 waarschijnlijk	J	J	QC NIPT	13w en 4d	N/J/J
5	in house Shallow whole genome sequencing-Illumina HiSeq4000 of Novaseq + custom bioinformatics analysis	Afwijkend-trisomie 21 waarschijnlijk	J	J	J	J	J/J/J
6	NGS-Illumina NextSeq550Dx-Veriseq NIPT solution V2	Hoog risico op trisomie 21	J	J	J	J	J/J/J

Labo	Gebruikte methode	NIPT2022	Verplichting tot invasieve test Vermelding J/N	Detectie limiet Vermelding J/N	Identificatie van de patient	Zwangerschapsduur	Afname/receptie/rapport datum Vermelding J/N
7	NGS-Illumina NextSeq500-Veriseq NIPT solution V2	Afwijkend hoog risico op trisomie 21	J	J	J	J	N/J/J
8	Harmony Prenatal test- Roche diagnostics	Afwijkend hoog risico op trisomie 21	J	J	J	J	N/J/J
9	NGS-Illumina NextSeq550Dx-Veriseq NIPT solution V2	hoog risico op trisomie 21	J <i>genetische counseling</i>	J	EKE NIPT	J	J/J/J
10	NGS-Illumina NextSeq550Dx-Veriseq NIPT solution V2	Afwijkend hoge risico op trisomie 21	J	J	QC NIPT	J	N/J/J
11	Harmony Harmony prenatal test- Roche diagnostics	hoog risico op trisomie 21 (>99,99%)	J	J	J	J	N/J/J
12	NGS-Illumina NextSeq Veriseq NIPT solution	Afwijkend hoog risico op trisomie 21	J	J	J	13w et 4d	N/J/J
13	in house Shallow whole genome sequencing- Illumina HiSeq4000 of Novaseq + custom bioinformatics analysis	Afwijkend-trisomie 21 waarschijnlijk	J	J	J	J	J/J/J
14	NGS-Nextseq550 DX- NextSeq500/550 DX high output KIT	Verdenking van een chromosomale anomalie van het autosoom 47 ;XY;21	N <i>3D echografie en genetische counseling</i>	J	QC NIPT	N	N/J/J

3. Commentaren

- Een laboratorium heeft een verdenking van een chromosomale anomalie vermeld maar heeft niet duidelijk een hoog risico op trisomie 21 op het rapport vermeld zoals aanbevolen door de richtlijnen. Evenzo, heeft dit laboratorium geen vermelding van een noodzaak van een invasieve test op het rapport maar heeft een 3D echografie en een genetische counseling vermeld.
- Ter informatie, 4 laboratoria hebben het patiënte niet correct geïdentificeerd op het rapport, 2 hebben een verkeerde zwangerschapsduur vermeld en 7 hebben een verkeerde afname datum vermeld.

4. Gebruikte methodes

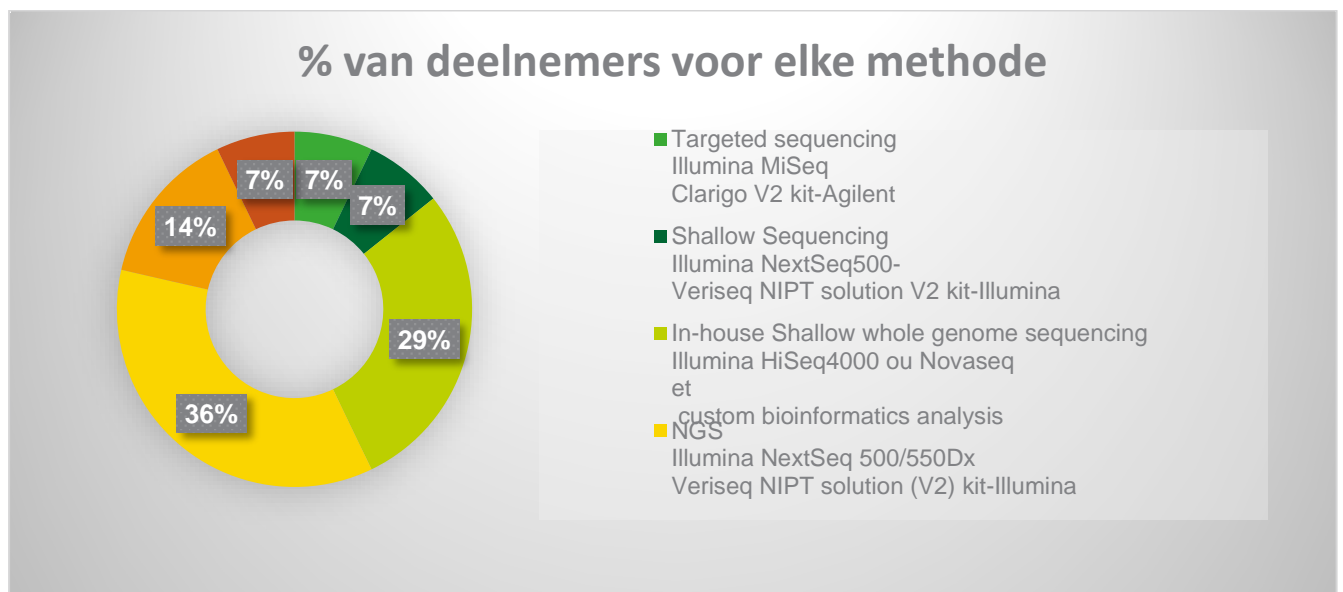


Chart 13 : Verdeling van laboratoria per gebruikte methode voor de detectie van trisomie 21 in het staal NIPT2022.

De meest gebruikte methode voor de detectie van de trisomie 21 is de NGS met een Veriseq NIPT-solution V.2 kit van Illumina.

Conclusies over de resultaten van de laboratoria

Het geheel van de geëvalueerde/geanalyseerde punten in deze enquête is gebaseerd op verschillende Belgische en Europese richtlijnen zodat de kritische punten van het NIPT klinisch rapport kunnen geïdentificeerd worden. U vindt hieronder de referentie van deze documenten:

- ISO15189:2012-Medical laboratories — Requirements for quality and competence
- BeSHG Prenatal Committee, NIPT good clinical practice guidelines. 2017
- Deans ZC. et al. Chapter 11: Best Practices for Integrating Cell-Free DNA-Based NIPT Into Clinical Practice, in Non-Invasive Prenatal testing (NIPT). Lieve Page-Christiaens and Hanns-Georg Klein, 2018; 191–205
- Deans ZC, Allen S, Jenkins L, et al. Ensuring high standards for the delivery of NIPT world-wide: Development of an international external quality assessment scheme. Prenatal Diagnosis. 2019; 39:379–387

De resultaten van de laboratoria voor deze enquête zijn bevredigend. Alleen 1 laboratorium heeft nagelaten om adequaat te antwoorden aan de enquête door de richtlijnen voor de rapportering van de resultaten van een NIPT test niet te volgen. Inderdaad, heeft het laboratorium de opsporing van de trisomie 21 in termen van hoog risico niet gerapporteerd en heeft het ook de verplichting van een invasieve test niet vermeld op het rapport en dat volgens de Belgische richtlijnen.

FLT3-TP53

Stalen

De FLT3-TP53 stalen werden geleverd door de firma Amplitech (8 Av. Flandres Dunkerque, 60200 Compiègne, FR). De firma is een leverancier van de stalen van de firma Horizon Discovery Ltd. (Waterbeach, UK). Het staal bevat verschillende mutaties voor verschillende genen die betrokken zijn bij myeloïde leukemie. De stalen worden geleverd samen met een certificaat dat de aanwezigheid of afwezigheid van de mutatie en de allelfrequentie garandeert.

Deelnemers

16 laboratoria waren voor deze enquête ingeschreven. De verdeling van de laboratoria per parameter is als volgt:

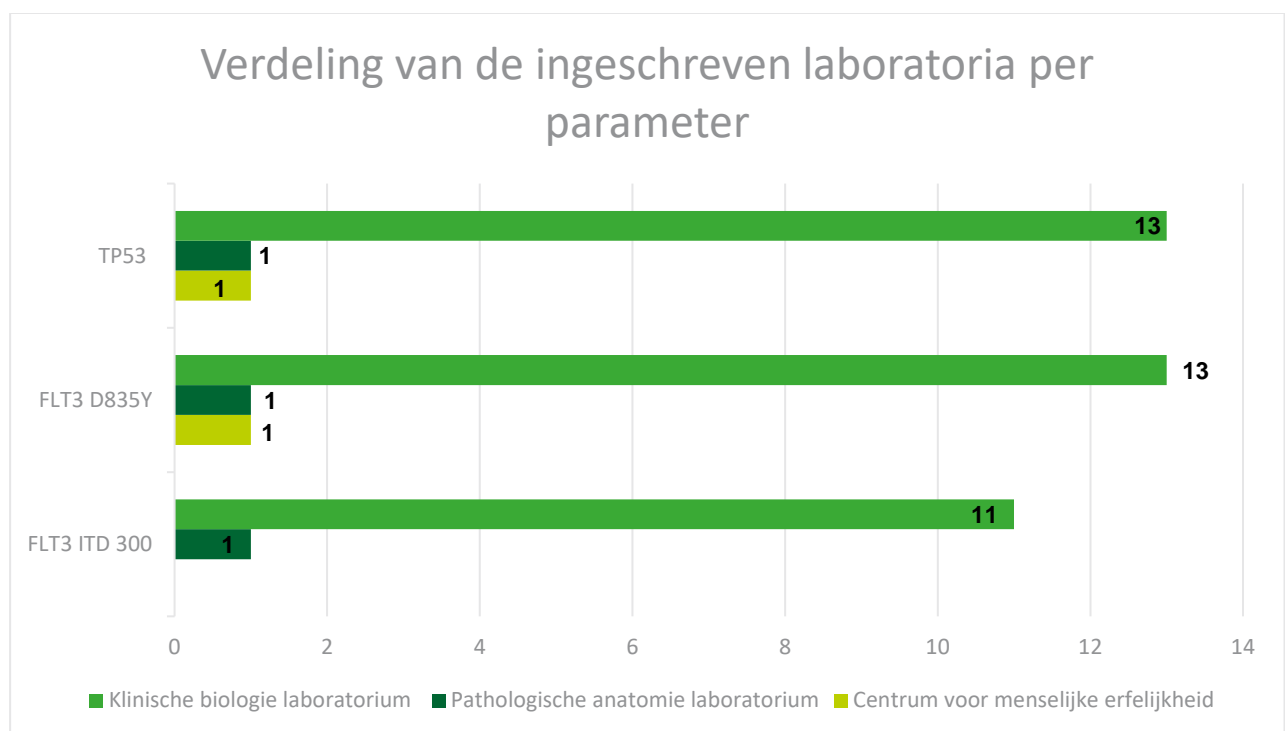


Chart 14 : Verdeling van ingeschreven laboratoria per specialiteit

4 laboratoria hebben een resultaat voor FLT3D835Y ingegeven hoewel zij niet waren ingeschreven voor deze parameter.

Resultaten

De laboratoria hebben een tube met 20 µl DNA in Tris-EDTA (DNA-concentratie: 25 ng/µl) gekregen. We hebben aan de laboratoria gevraagd om de aanwezigheid van de FLT3 D835Y en FLT3 ITD300 mutaties en ook de aanwezigheid van TP53 mutaties met moleculaire methodes op te sporen volgens wat van toepassing is voor hun laboratorium in functie van de prestaties waarvoor ze waren ingeschreven.

1. Resultaten per staal

Staal	Verwachte resultaten (AF)	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
MYE2022	FLT3 ITD 300bp (AF=4.8%)	Aanwezig	4 (33.3)
		Afwezig	7 (58.3)
	Pathogeen Significant klinisch belang	Niet bepaald	1 (8.3)*
		NM_004119.3(FLT3):c.2503G>T (p.Asp835Tyr) (AF=4.79%)	Aanwezig
	Pathogeen Significant klinisch belang		Aanwezigheid van een onbepaalde FLT3 mutatie in de codon 835-836
	NM_000546.5(TP53):c.722C>T (p.Ser241Phe) (AF=5.03%)	Aanwezig	15 (100)
Vermoedelijk pathogeen-significant klinisch belang			

*Niet gevalideerde methode voor 300bp

Andere gedetecteerde TP53 mutaties :

Gedetecteerde mutaties	Aantal deelnemers
TP53 c.1101-2 A>C splice site (4.87%)	12
TP53 c.215 c>G p.(Pro72Arg) (93%)	1

2. Resultaten per laboratorium

2.1 FLT3 ITD

Labo.	Gebruikte methode FLT3 ITD	LOD	MYE2022	
			FLT3 ITD300bp	Klinische interpretatie
1	PCR + fragmentanalyse Veriti Seq Studio in house kit		Niet gedetecteerd	Afwezigheid geassocieerd met een betere prognose
2	PCR+ fragmentanalyse (CE) ABI analyzer Dx3500		aanwezig (ratio: 0,02)	Pathogeen
3	PCR + fragmentanalyse (CE) ABI analyzer 3730 in house kit		afwezig	/
4	QF-PCR + fragmentanalyse (CE) ABI 3130XL in house kit		afwezig	/
5	PCR-RFLP + fragmentanalyse (CE) ABI analyzer 3500 XL custom kit		afwezig	Jonge patiënt (<60) OS significant hoger als FLT3 afwezig is

			MYE2022	
Labo.	Gebruikte methode FLT3 ITD	LOD (%)	FLT3 ITD300bp	Klinische interpretatie
6	NGS-Illumina Nextseq 550DX - Custom Qiaseq panel et PCR + fragmentanalyse (CE) ABI analyzer 3500 XL custom kit	2	onder detectielimiet slecht VAF (VAF=0,07%) en niet bevestigd met PCR- CE	Niet gedetecteerd
7	NVT			
8	PCR + fragmentanalyse (CE) ABI analyzer3130XL - in house kit	20	Niet gedetecteerd	/
9	Niet vermeld		Niet bepaald- methode gevalideerd tot 126bp	/
10	NGS-Illumina Novaseq custom panel en PCR+ fragmentanalyse (CE) ABI analyzer 3500 XL kit custom	5	Aanwezig (VAF=4,2%)	Pathogene variant
11	PCR multiplex + fragmentanalyse (CE) ABI analyzer 3500		Aanwezig (VAF=2%)	Significant klinisch belang Predictive prognose Tier I
12	NVT			
13	fFragmentanalyse CEQ		Niet gedetecteerd	/
14	ddPCR-QX200 Biorad custom primers and probe		Aanwezig (VAF=2%)	Pathogeen
15	NVT			

2.2 FLT3 D835Y

			MYE2022	
Labo.	Gebruikte methode	LOD (%)	NM_004119.3(FLT3):c.2503G>T (p.Asp835Tyr)	Klinische interpretatie
1	PCR- fragmentanalyse Veriti Seq Studio kit in house		Gedetecteerde onbepaalde FLT3 mutatie in de codon 835-836 (10%)	Hoge gevoeligheid voor FLT3 TKI Midostaurin en Gilterinitib
2	NGS Illumina Miseq kit Trusight Myeloid	5	Aanwezig (5,80%)	Pathogeen
3	NGS Illumina Miseq Panel custom- Qiagen	5	Aanwezig (3,80%)	Pathogeen Significant klinische belang
4	NGS Illumina MiseqDx panel custom Qiaseq targeted	5	Aanwezig (3,50%)	Pathogeen
5	PCR-RFLP + fragmentanalyse (CE) ABI analyzer 3500 XL kit custom		Faiblement présente (0,07%)	Aanmerking voor behandeling met Midostaurine- Samen met een TP53 mutatie, ongunstige risico categorie.
6	NGS Illumina Nextseq 550DX panel custom Qiaseq	2	Aanwezig (4,90%)	Pathogeen, gekende hotspot mutatie

			MYE2022	
Labo.	Gebuurkte methode	LOD (%)	NM_004119.3(FLT3):c.2503G>T (p.Asp835Tyr)	Klinische interpretatie
7	NGS Illumina Misseq panel custom targeted DNA Qiaseq	3	Aanwezig (4%)	Tier I-significant klinisch belang- gevoeligheid voor FLT3 inhibitoren (ex.Midostaurin)
8	NGS Illumina Miseq paneAmpliseq Myeloid I for Illumina	SNV: 2 INDEL: 2-5	Aanwezig (5,50%)	Pathogeen (biologische classificatie)
9	NGS Illumina Miseq panel custom targeted DNA Qiaseq	3	Aanwezig (4,10%)	Pathogeen Tier I significant klinisch belang minder goede prognose- respons op FLT3 inhibitoren
10	Capture based NGS Nextseq 550dx panel custom twist	2 (rapportage apd 5%)	Aanwezig (5,30%)	Gevoeligheid voor gilterinitib en midostaurin + hoge dosis chemotherapie
11	NGS Illumina Novaseq custom panel En PCR-CE ABI analyzer 3500 XL kit custom	5	Aanwezig (5,20%)	Pathogene variant
12	NGS Illumina Miseq Panel custom Haloplex somatique AML	5	Aanwezig (4%)	Tier I Significant klinisch belang (LMA) / predictieve prognose
13	NVT			
14	NGS Illumina Miseq Panel Ampliseq Myeloid for Illumina	5	Aanwezig (5%)	Predictief voor spons op FLT3 inhibitors (ex.Midostaurin) Zwak VAF
15	NGS Illumina Nextseq 500 panel Variant plex Core myeloid - Archer DX	5	Aanwezig (2%)	Pathogeen
16	Capture based NGS Illumina Novaseq 6000 panel custom	5	Aanwezig (4,20%)	Tier I- goede respons op Midostaurin en Gilteritinib- slechte prognose

Verdeling van de gerapporteerde allelfrequenties voor de detectie van de mutatie FLT3 D835Y

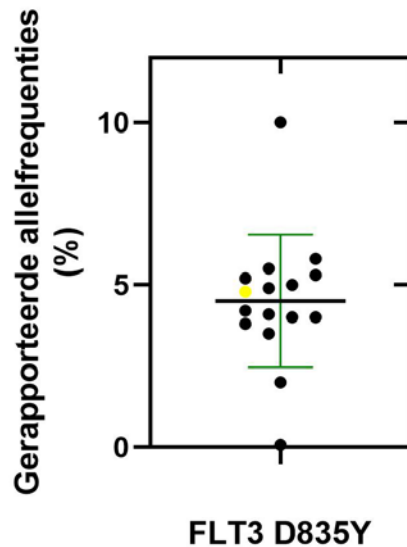


Chart 15 : Verdeling van de gerapporteerde allelfrequenties voor de detectie van de mutatie FLT3 D835Y in het staal. Het punt in geel is de aangegeven allelfrequentie bij de leverancier.

1 laboratorium dat een PCR-methode gebruikt heeft een hogere allelfrequentie dan de gemiddelde van de gerapporteerde allelfrequentie gerapporteerd. Een ander heeft een lagere allelfrequentie dan het gemiddelde van de gerapporteerde allelfrequentie gerapporteerd.

2.3 TP53

			MYE2022			
Labo.	Gebruikte methodes	LOD (%)	Gedetecteerde TP53 mutaties			Klinische interpretaties
1	NGS Illumina Miseq custom panel Haloplex HS	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5.5%)			Vermoedelijke pathogene variant
2	NGS Illumina Miseq kit Trusight Myeloid	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (6.8%)	c.1101-2 A>C splice site (4.6%)		Pathogeen / Vermoedelijke pathogene variant
3	NGS Illumina Miseq custom panel Qiagen	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5.4%)	c.1101-2 A>C splice site (5.9%)		Vermoedelijke pathogeen significant klinisch belang AML / Vermoedelijke pathogeen significant klinisch belang AML
4	NGS Illumina MiseqDx custom panel targeted Qiaseq	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5%)			Vermoedelijke pathogeen
5			NA			

			MYE2022			
Labo.	Gebruikte methodes	LOD (%)	Gedetecteerde TP53 mutaties			Klinische interpretaties
6	NGS Illumina Nextseq 550DX Qiaseq custom panel	2	c.722 C>T p(Ser241Phe) (4.9%)	c.1101-2 A>C splice site (6.5%)		Pathogene mutatie / Vermoedelijk pathogene mutatie
7	NGS-Illumina Miseq Qiaseq custom panel targeted DNA	3	c.722 C>T p(Ser241Phe) (4.8%)	c.1101-2 A>C splice site (4.8%)		Tier I-significant klinisch belang- gelinkt met een slechte prognose
8	NGS Illumina Miseq panel Ampliseq Myeloid for Illumina	SNV:2 INDEL:2-5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5%)	c.1101-2 A>C splice site (4.1%)		Pathogeen / Vermoedelijk pathogene mutatie
9	NGS Illumina Miseq custom panel targeted DNA Qiaseq	3	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5%)	c.1101-2 A>C splice site (4.1%)		Pathogeen Tier I significant klinisch belang minder goede prognose / Vermoedelijk pathogene mutatie-Tier I significant klinisch belang minder goede prognose
10	Capture based NGS Nextseq550dx custom panel twist	2 (limite de rapportage: 5%)	c.722 C>T p(Ser241Phe) (4.1%)	c.1101-2 A>C splice site (6.1%)		Pathogeen
11	NGS Illumina Novaseq custom panel	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (4%)	c.1101-2 A>C splice site (5.2%)		Vermoedelijke pathogene variant / Vermoedelijke pathogene variant
12	NGS Illumina Miseq Haloplex Panel	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (6%)	c.1101-2 A>C splice site (4%)		Significant klinische belang Prognose Tier I / Significant klinisch belang Prognose Tier I
13	NGS Illumina Miseq somatic BRCA panel 1032 Qiagen + NGS panel Genereader BRCA advanced	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5.11%)	c.1101-2 A>C splice site (4.13%)		Pathogeen significant klinisch belang (Tier IA) / Vermoedelijke pathogeen

			MYE2022			
Labo.	Gebruikte methodes	LOD (%)	Gedetecteerde TP53 mutaties			Klinische interpretaties
14	NGS Illumina Miseq Panel Ampliseq for Illumina Myeloid	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (6%)		c.215 c>G p.(Pro72Arg) (4.4%)	Pronostisch ongunstig / Pronostisch ongunstig
15	NGS Ion Torrent Ampliseq custom panel Ion Genestudio S5 prime	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5%)	c.1101-2 A>C splice site (93%)		Vermoedelijke pathogeen /goedaardig
16	Capture based NGS Illumina Novaseq 6000 custom panel	5	c.722 C>T p(Ser241Phe) (5.6%)	c.1101-2 A>C splice site (4.7%)		Slechte prognose- gevoeligheid aan chemotherapie en aan "hypomethylotin g agents"

Verdeling van de gerapporteerde allelfrequenties voor de detectie van de mutatie TP53 S241F

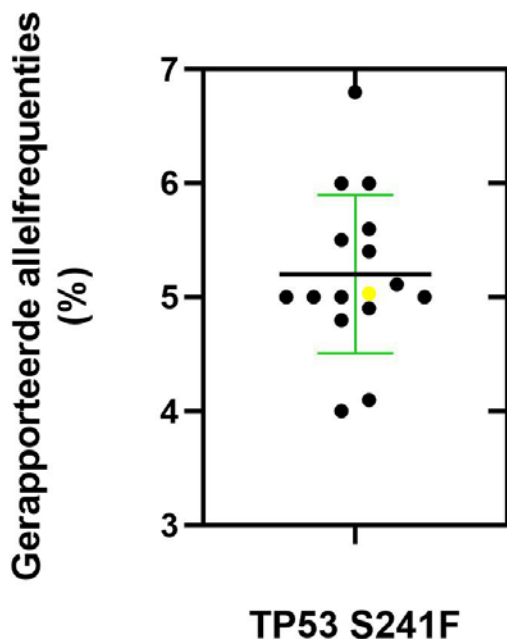


Chart 16 : Verdeling van de gerapporteerde allelfrequenties voor de detectie van de mutatie TP53 S241F in het staal MYE2022.
Het punt in geel is de aangegeven allelfrequentie bij de leverancier.

2 laboratoria die een NGS-methode gebruiken hebben een lagere allelfrequentie dan het gemiddelde van de gerapporteerde allelfrequentie gerapporteerd. 1 laboratorium dat ook het NGS gebruikt, heeft een hogere allelfrequentie dan het gemiddelde van de gerapporteerde allelfrequentie gerapporteerd.

3. Commentaren

- 7 laboratoria hebben de aanwezigheid van de «internal tandem duplication FLT3 » van 300bp niet gedetecteerd. De mutatie was aanwezig met een allelfrequentie van 4.8%, dat is onder de detectielimiet van meeste van de laboratoria die NGS gebruiken. In vergelijking met de enquête van 2020, hebben de meeste laboratoria die de mutatie niet teruggevonden hebben een PCR gebruikt gevolgd door een fragmentanalyse.

4. Gebruikte methodes

A. FLT3 ITD en FLT3 D835Y

A.1 FLT3 ITD

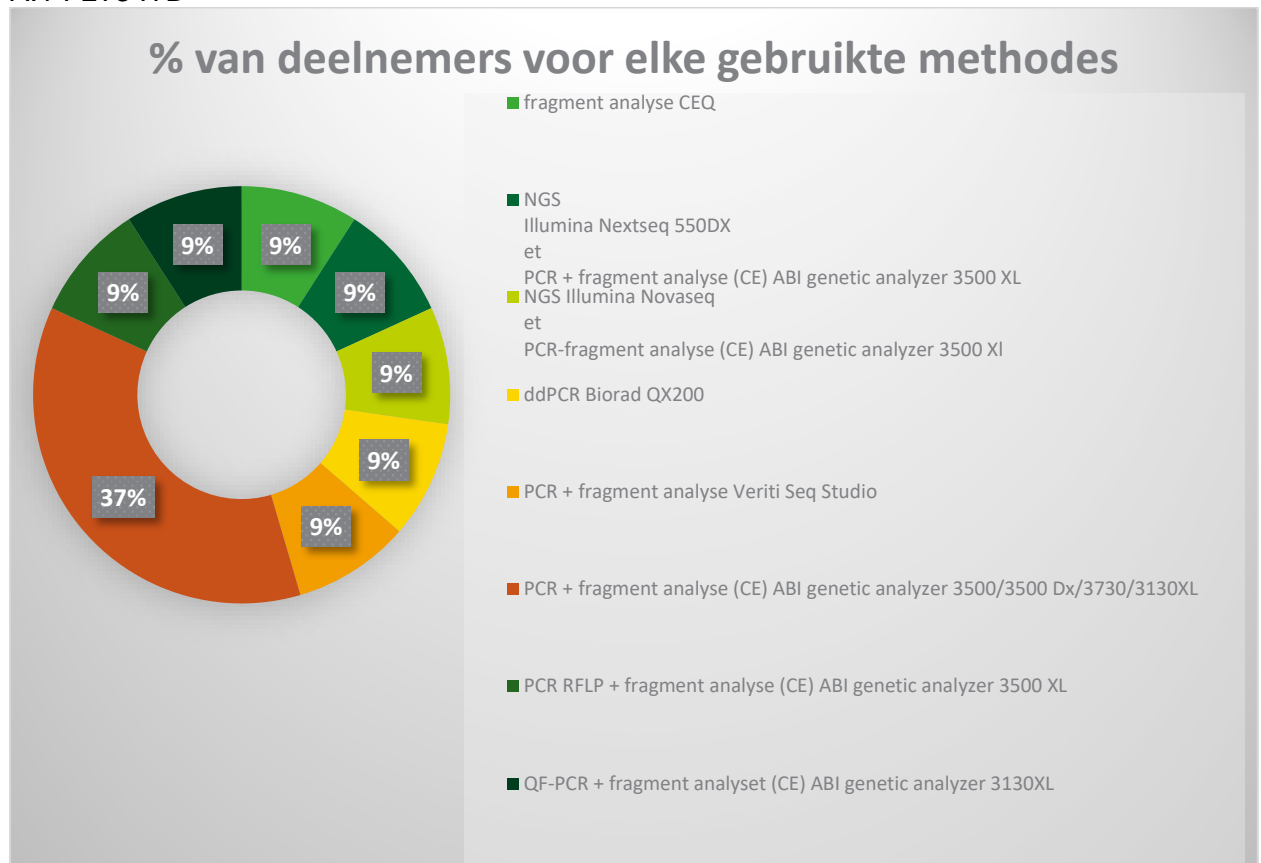


Chart 17 : Verdeling van de laboratoria per gebruikte methode voor de detectie van de mutatie FLT3 ITD 300bp.

De meest gebruikte methode is de PCR-RFLP gekoppeld aan fragment analyse. De gebruikte kits/panels zijn voor het merendeel custom kits/panels.

A.2 FLT3 D835Y

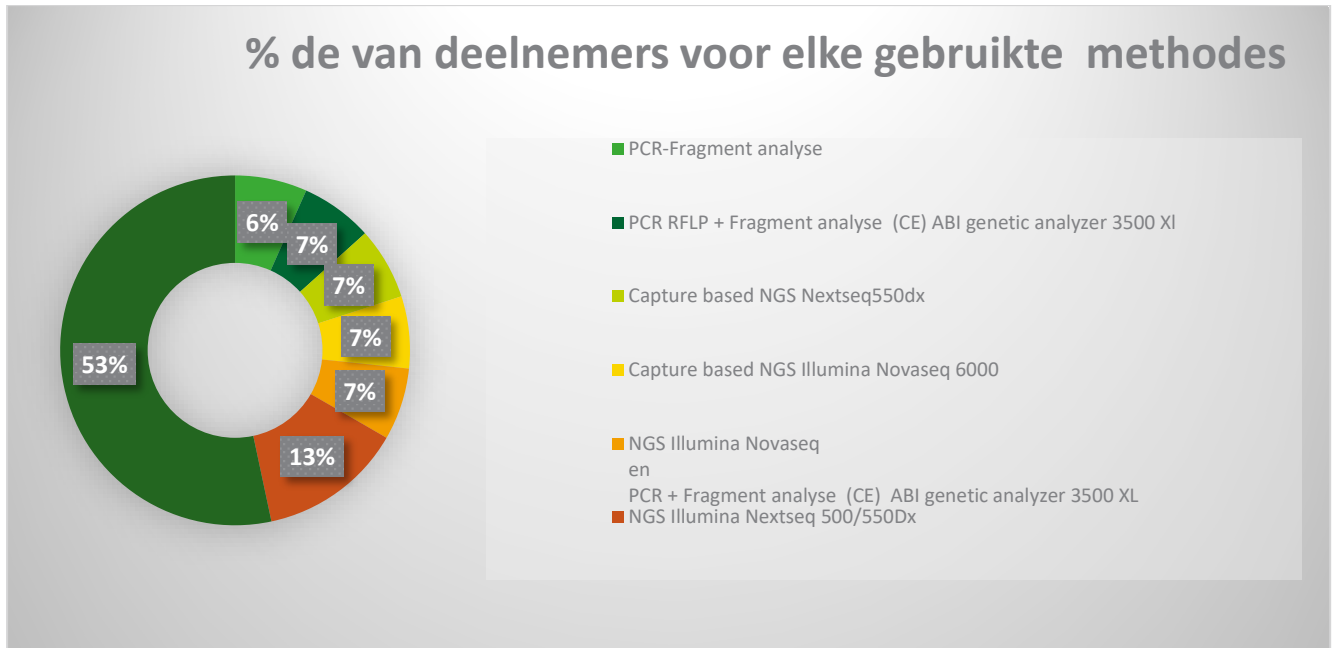


Chart 18 : Verdeling van de laboratoria per gebruikte methode voor de detectie van de mutatie FLT3 D835Y.

De meest gebruikte methode voor de detectie van FLT3 D835Y is de NGS. De meeste gebruikte sequencers zijn de Miseq en Nextseq550DX van Illumina.

Houd er rekening mee dat twee laboratoria zijn veranderd zijn van methode. In 2020, heeft het eerste een NGS-methode gebruikt met het *Illumina* panel "Trusight Myeloid sequencing" en nu gebruikt het de *Illumina* panel "Ampliseq Myeloid". Het tweede heeft in 2020 een NGS-methode gebruikt met het *Agilent* panel "Suremaster CLL" en nu gebruikt het het somatisch *Agilent* panel « AML custom Haloplex ».

% de van deelnemers voor elke gebruikte panel

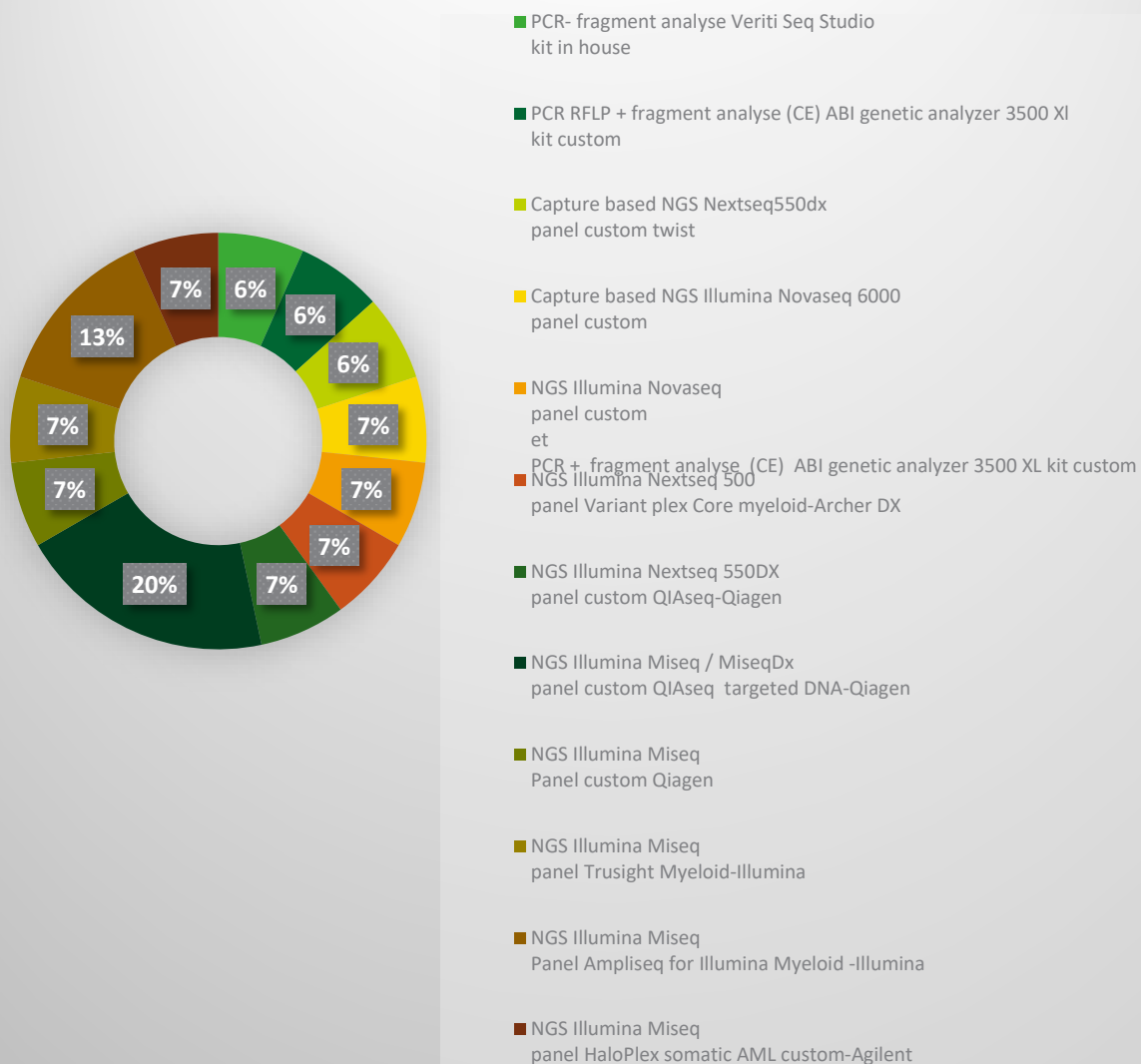


Chart 19 : Verdeling van de laboratoria per panel/kit voor de detectie van de mutatie FLT3 D835Y.

De meest gebruikte NGS-panel is de custom QIAseq targeted DNA panel van Qiagen

B. TP53



Chart 20 : Verdeling van de laboratoria per gebruikte sequencer voor de detectie van de mutatie TP53 S241F

De meest gebruikte methode voor de detectie van de TP53 mutaties is de NGS. De meeste gebruikte sequencers zijn de Miseq en Nextseq 550DX van Illumina.

De verdeling van de deelnemers per gebruikt panel wordt hieronder weergegeven :

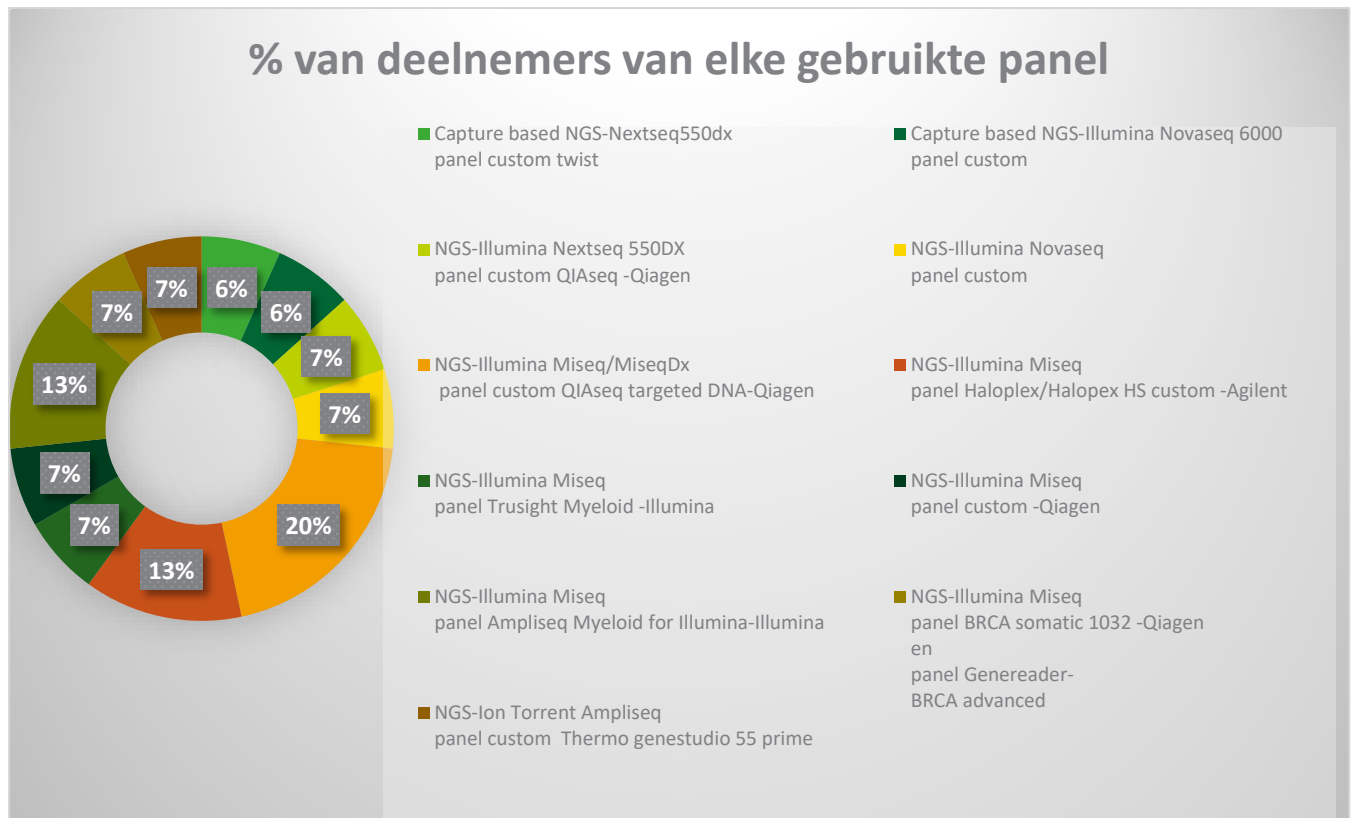


Chart 21 : Verdeling van de laboratoria per NGS panel voor de detectie van de mutatie TP53 S241F

Het meest gebruikte NGS-panel is de custom QIAseq targeted DNA panel van Qiagen.

Conclusies over de resultaten van de laboratoria

Betreffende de detectie van de mutaties FLT3 ITD, kan de hogere frequentie aan fouten te wijten zijn aan de zwakke allelfrequentie van de mutatie in het staal. De meerderheid van de laboratoria die de mutatie niet gedetecteerd hebben, hebben een PCR techniek gebruikt.

Betreffende de detectie van de mutaties FLT3 D835Y en van mutaties in het gen TP53, zijn de resultaten van de laboratoria bevredigend. Alle laboratoria kunnen de aanwezigheid van de mutaties detecteren.

HER 2

Stalen

De stalen zijn 4 µm FFPE-coupees van borstcarcinoom biopsieën. Het zijn patiënten stalen van de biobank Discovery Life Science (3509 Elgin St, Suite 300 Houston, TX 77004-USA).

De stalen waren vergezeld van de klinische gegevens van de patiënten: leeftijd, geslacht, ras, lokalisatie van de tumor, type van de tumor, pathologische data, gegevens over welke behandeling de patiënt vooraf (als beschikbaar) heeft gekregen, de resultaten van de IHC en ook de status van HER2 (geamplificeerd of niet) behalve voor de IHC 2+ casus.

Klinische casus F00122614: 55-jarige vrouw met een invasief ductaal carcinoom ter hoogte van de rechterborst; stadium II-A. De classificatie van de tumor is T2 N0 M0. De HER2 IHC-score is 2+ (ER-negatief en PR-negatief).

Klinische casus F00117380: 61-jarige vrouw met een invasief carcinoom van het NST type ter hoogte van de linkerborst; stadium II-A. De classificatie van de tumor is T2 N0 M0. De HER2 IHC-score is 3+ (ER-positief en PR-negatief).

Deelnemers

26 laboratoria waren voor deze enquête ingeschreven. De verdeling is als volgt:

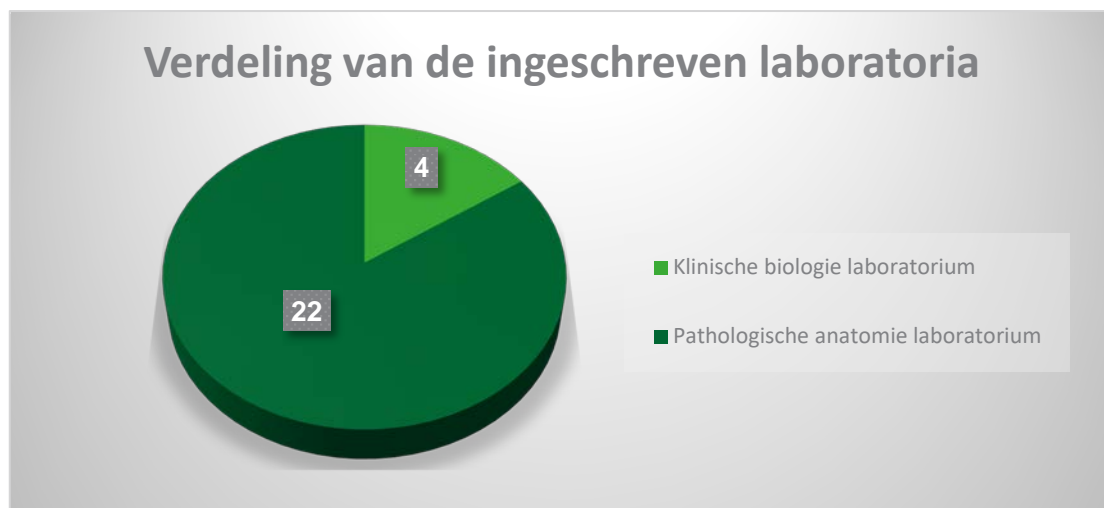


Chart 22 : Verdeling van ingeschreven laboratoria per specialiteit

Alle ingeschreven laboratoria hebben geantwoord. Eén laboratorium werd niet geëvalueerd omdat het een niet ISH-methode (NGS) gebruikt heeft.

Resultaten

De laboratoria hebben 3 FFPE-coupees van twee verschillende klinische casussen ontvangen. We hebben aan de laboratoria gevraagd om de amplificatie van het HER2 gen met ISH-methodes op te sporen. Ter informatie hebben we hen voor elke klinische casus het IHC-resultaat gegeven. We hebben ook hun gebruikte methode en hun gebruikte richtlijnen gevraagd.

1. Resultaten per staal

Staal	Verwachte resultaten	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
<u>F00117380</u>	HER2 geamplificeerd (komt in aanmerking voor een HER2 therapie)	HER2 geamplificeerd	23 (92)
		HER2 niet geamplificeerd	2 (8)**
<u>F00122614</u>	HER2 niet geamplificeerd* (komt niet in aanmerking voor een HER2 therapie)	HER2 niet geamplificeerd	23 (92)
		HER2 geamplificeerd	2 (8)**

*Volgens de consensus van de antwoorden van de deelnemers

**Na contact met de 2 laboratoria die voor de casus 380 « niet geamplificeerd » en voor de casus 614 « geamplificeerd » geantwoord hebben, heeft één van de twee een fout tijdens de rapportering van de resultaten bevestigd en heeft het ons zijn ruwe data doorgestuurd. Bovendien waren de gerapporteerde biologische en klinische interpretaties in lijn met de verwachte amplificatie.

Bij het ander laboratorium gaat het over een fout tijdens het invullen van hun intern document door 2 van de 3 betrokken pathologen die de casussen geëvalueerd hebben. Het laboratorium heeft ons de ruwe data van de evaluatie van de derde patholoog doorgestuurd.

Ter informatie, is de verdeling van de ratio's die door sommige laboratoria werden gegeven hieronder weergegeven. Deze informatie ondersteunt het feit dat de status van de casussen duidelijk is en dat er hierover geen twijfel mogelijk is.

Staal	Ratio	Aantal laboratoria
F00117380	2-4	1
	4-7	5
	≥ 7	6
F00122614	<1	2
	1-1,3	10

2. Resultaten per laboratorium

Lab.	Gebruikte methode	F00117380		
		Status	Biologische interpretaties	Klinische interpretaties
1	FISH- Leica Bond III Leica HER2 Fish system_30test-Leica biosystems	Geamplificeerd	Pathogeen	Tier IA indicatie voor HER2 inhibitie
2	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)-Ventana	Geamplificeerd	Pathogeen	Tier IA indicatie voor anti-HER2 therapie
3	FISH PathVision HER2-DNA probe kit-Abbott	Geamplificeerd	Positief	Predictief voor respons op HER2-inhibitie therapie
4	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)-Ventana	Geamplificeerd	Lum B (Luminal B breast cancer)	Lum B (Luminal B breast cancer)

F00117380				
Lab.	Gebruikte methode	Status	Biologische interpretaties	Klinische interpretaties
5	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)-Ventana	Geamplificeerd	HER2 geamplificeerd	HER2 positief
6	FISH PathVision HER2-DNA probe kit-Abbott	Geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17= 10	NA
7	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)-Ventana	Geamplificeerd	HER2 geamplificeerd	Positief
8	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)-Ventana	Geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17= 7	Ratio HER2/CEP17= 7
9	FISH HER2 Fish PharmDX-Agilent	Geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17= 3,89	
10	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)-Ventana	Geamplificeerd	HER2 +	Positief
11	FISH HER2 IQFish PharmDX-Agilent	Geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17= 5,80	
12	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)-Ventana	Geamplificeerd	Groep 1- Ratio HER2/CEP17 = 7,3	
13	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)-Ventana	Geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 = 6,3	Amplificatie van het gen HER2
14	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)-Ventana	Geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 = 7,15	Positief
15	FISH HER2 IQFish PharmDX-Agilent	Geamplificeerd	Groep 1- Ratio HER2/CEP17 >2; gemiddelde HER2 copy >4	Predictief voor respons op HER2 therapie
16	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)-Ventana	Geamplificeerd	Groep 1 HER2 ISH geamplificeerd	HER2 status positief
17	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)-Ventana	Geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 = 5,6	Positief

F00117380				
Lab.	Gebruikte methode	Status	Biologische interpretaties	Klinische interpretaties
18	FISH HER2 Fish PharmDX-Agilent	Geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 = 6,3	Positief
19	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 = 5,88	
20*	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd Na herlezing van ruwe data: GEAMPLIFICEERD	Groep 1	
21	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd Na bevestiging van de 3rde path.: GEAMPLIFICEERD	Negatief	Geen therapie
22	FISH PathVision HER2- DNA probe kit- Abbott	Geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 = 7,9	Positief
23	FISH HER2 Fish PharmDX-Agilent	Geamplificeerd	Amplificatie van het gen HER2/neu	Patient in aanmerking voor een Herceptin therapie
24	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Geamplificeerd	Positief	Positief
25	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 = 7,10	

F00122614				
Labo	Gebruikte methode	Status	Biologische interpretaties	Klinische interpretaties
1	FISH- Leica Bond III Leica HER2 Fish system_30test- Leica biosystems	Niet geamplificeerd	Goedaardig	Tier IA geen indicatie voor HER2 inhibitie
2	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	NVT	Tier IA geen indicatie voor anti- HER2 therapie
3	FISH PathVision HER2- DNA probe kit- Abbott	Niet geamplificeerd	Negatief	
4	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	TNBC (Triple-negative breast cancer)	TNBC (Triple- negative breast cancer)

F00122614				
Labo	Gebruikte methode	Status	Biologische interpretaties	Klinische interpretaties
5	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	HER2 niet geamplificeerd	HER2 negatief
6	FISH PathVision HER2- DNA probe kit- Abbott	Niet geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17= 1,2	NVT
7	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	HER2 niet geamplificeerd	HER2 negatief
8	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 = 1	Ratio HER2/CEP17 = 1
9	FISH HER2 Fish PharmDX-Agilent	Niet geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17= 1,06	
10	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	HER2 -	Negatief
11	FISH HER2 IQFish PharmDX-Agilent	Niet geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17= 1,14	
12	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	Groep 5 Ratio HER2/CEP17 = 1,12	
13	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 =1,03	Afwezigheid van HER2 gen amplificatie
14	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 =1,09	Negatief
15	FISH HER2 IQFish PharmDX-Agilent	Niet geamplificeerd	Groep 5 Ratio Ratio HER2/CEP17 <2. Gemiddelde HER2 copy <4	Patiënt niet in aanmerking voor een HER2 therapie
16	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	Groep 5 HER2 ISH geen amplificatie	HER2 status negatief
17	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 = 1,04	Negatief

F00122614				
Labo	Gebruikte methode	Status	Biologische interpretaties	Klinische interpretaties
18	FISH HER2 Fish PharmDX-Agilent	Niet geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 = 0,92	negatief
19	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 = 0,97	
20*	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Geamplificeerd Na herlezing van ruwe data: NIET GEAMPLIFICEERD	Groep 5	
21*	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Geamplificeerd Na bevestiging van de 3rde path.: NIET GEAMPLIFICEERD	Positief	Therapie
22	FISH PathVision HER2- DNA probe kit- Abbott	Niet geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 = 1,3	Negatief
23	FISH HER2 Fish PharmDX-Agilent	Niet geamplificeerd	Geen amplificatie van het gen HER2/neu	Geen Herceptin therapie
24	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	Negatief	Negatief
25	SISH HER2 dual ISH DNA probe Cocktail assay ³ (new 2020)- Ventana	Niet geamplificeerd	Ratio HER2/CEP17 = 1,015	

*zie sectie 3.Commentaren

3. Commentaren

- Betreffende de twee laboratoria die niet correct hebben geantwoord voor de HER2 status van de verschillende casussen, hebben deze laboratoria hun ruwe data geverifieerd en zij hebben ons deze doorgestuurd. De eerste heeft een fout tijdens de rapportering van de status gemaakt. Bij de andere gaat het over een fout tijdens het invullen van hun intern document door 2 van de 3 betrokken pathologen die de casussen geëvalueerd hebben. Het laboratorium heeft ons de ruwe data van de evaluatie van de derde patholoog doorgestuurd. Beide laboratoria hebben een NC in hun kwaliteitssysteem ingegeven.
- Betreffende de variatie van de antwoorden met betrekking tot de biologische en klinische interpretaties, merkt het experten comité tijdens de meeting van 5/12/2022 op dat het klinisch rapport in het algemeen geen therapeutische conclusie (klinische interpretatie) aangeeft, alleen de amplificatie van het HER2-gen. Dit kan verklaren waarom de verwachte antwoorden voor deze velden niet duidelijk waren voor de laboratoria. Het antwoordformulier zal dus aangepast worden door enkel de ratio HER2/CEP17 en de HER2 status te vragen.

4. Gebruikte methodes

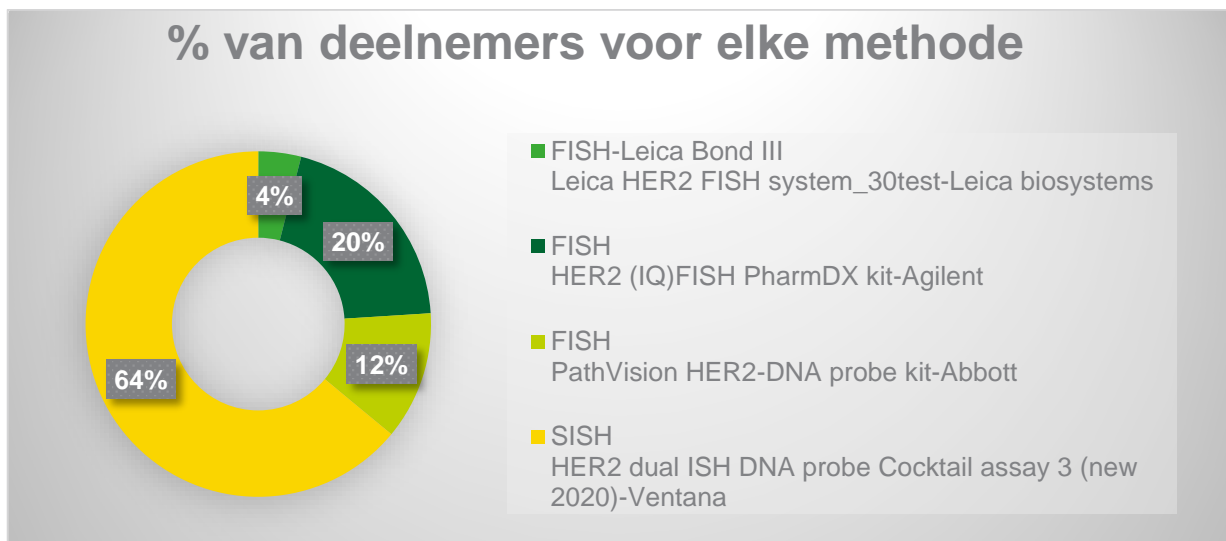


Chart 23 : Verdeling van laboratoria per gebruikte methode voor de detectie van de amplificatie van het HER2 gen.

De meest gebruikte methode om de amplificatie van het HER2 gen op te sporen is de methode Ventana HER2 Dual ISH.

Houd er rekening mee dat een laboratorium veranderd heeft van methode. In 2021, gebruikte het een FISH-methode met de "PathVision HER2-DNA probe kit" van *Abbott* en nu gebruikt het een FISH-methode met de "Leica HER2 FISH-system_30test kit" van *Leica Biosystems*.

5. Gebruikte richtlijnen

De meest gevolgde richtlijnen om de HER2 status vast te stellen zijn de ASCO-CAP richtlijnen van 2017-2018.

Conclusies over de resultaten van de laboratoria

De resultaten van de laboratoria voor deze HER2 enquête zijn bevredigend. De twee laboratoria die intern een fout gemaakt hebben tijdens het invullen van het antwoordformulier maar waarvan de ruwe data correct waren, hebben het incident in hun kwaliteitssysteem geregistreerd. Het is belangrijk te onderstrepen dat de resultaten van deze twee laboratoria voor de vorige enquêtes over de detectie van de amplificatie van HER2 gen bevredigend waren. Er werden toen geen fouten gemaakt tijdens de transcriptie van de resultaten.

ALK-ROS1

Stalen

De ALK en ROS1 stalen werden geleverd door de firma Sanbio (Frontstraat 2-C, 5405 PB Uden, NL). De firma werkt met de firma Histocyte (Neon Building Quorum Business Park Benton Lane, Newcastle upon Tyne NE12 8BU, UK). In het kader van deze enquêtes, werden 75 positief geladen glaasjes met twee 4 µm FFPE-coupees van cellijnen (longadenocarcinoma of borstadenocarcinoma) geproduceerd voor elke parameter. Elk glaasje bevat dus 2 spots, een WT-spot en een spot met de mutatie (fusiegen EML4-ALK of SLC34A2-ROS1 translocatie).

ALK-Klinische casus spot A: 65-jarige man met een niet-squameus longcarcinoom met een component ADC waarvoor geen driver mutatie werd gedetecteerd (met NGS of een andere moleculaire methode).

ALK-Klinische casus spot B: 70-jarige vrouw met een niet-squameus longcarcinoom met een component ADC waarvoor geen driver mutatie werd gedetecteerd (met NGS of een andere moleculaire methode).

ROS1-Klinische casus spot A: 68-jarige vrouw met een niet-squameus longcarcinoom met een component ADC waarvoor geen driver mutatie werd gedetecteerd (met NGS of een andere moleculaire methode).

ROS1-Klinische casus spot B: 72-jarige man met een niet-squameus longcarcinoom met een component ADC waarvoor geen driver mutatie werd gedetecteerd (met NGS of een andere moleculaire methode).

Deelnemers

15 laboratoria waren voor deze enquête ingeschreven. De verdeling van de laboratoria is als volgt:

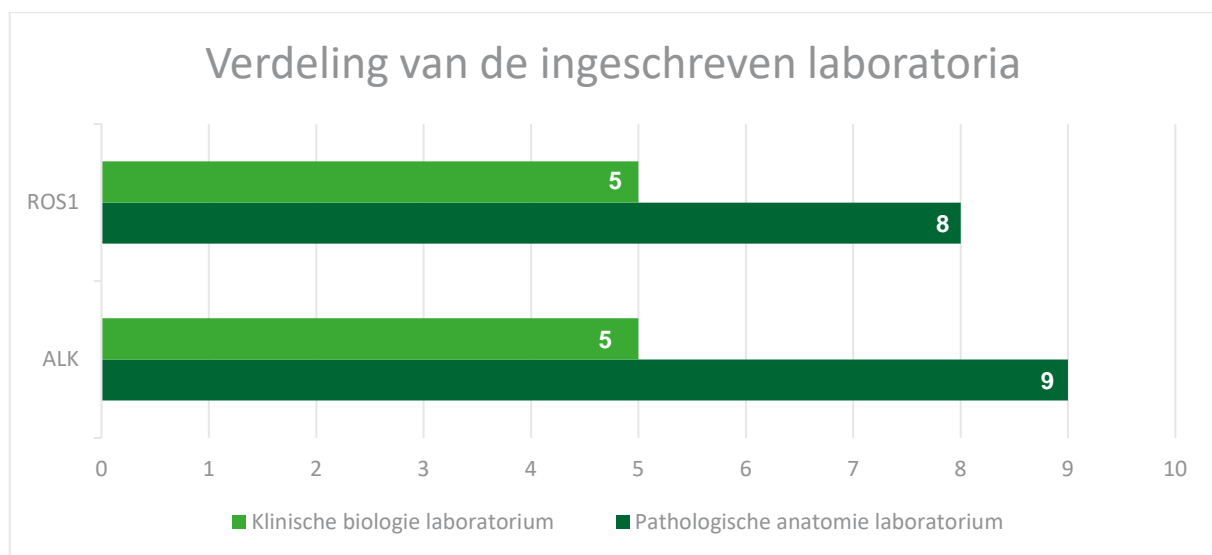


Chart 24: Verdeling van ingeschreven laboratoria per specialiteit

4 laboratoria hebben zich uitschreven na het verzenden van de stalen.

NB: Eén laboratorium heeft een niet gevalideerde methode (qPCR) voor deze stalen gebruikt. Er werd met dit laboratorium geen rekening gehouden in de evaluatie, maar zijn resultaten zijn in dit rapport ter informatie weergegeven.

Resultaten

De laboratoria hebben 4 FFPE-coupees van 4µm dikte van cellijnen ontvangen. Elke coupe bevat twee spots zoals geïllustreerd hieronder. Elke spot komt overeen met een verschillende klinische casus.



1. Resultaten per staal

Staal	Verwachte resultaten	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
<u>ALK-2022</u> <u>SPOT A</u>	Aanwezigheid van de fusiegen	Aanwezigheid van de fusiegen	10 (100)
<u>ALK-2022</u> <u>SPOT B</u>	WT	WT	10 (100)

Staal	Verwachte resultaten	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
<u>ROS1-2022</u> <u>SPOT A</u>	Aanwezigheid van de herschikking	Aanwezigheid van de herschikking	9 (100)
<u>ROS1-2022</u> <u>SPOT B</u>	WT	WT	9 (100)

2. Resultaten per laboratorium

Labo	Gebruikte methodes	ALK-2022	
		SPOT A	SPOT B
1	FISH-Leica Bond III-Kreatech FISH probes ALK (2p23) Break-XL for Bond	ALK fusie	ALK WT
2*	<i>qPCR- Idylla -gene fusion kit-Biocartis</i>	ALK fusie	ALK WT
3	FISH-manuele methode-Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit-Abbott	ALK fusie	ALK WT
4	FISH-VP2000-Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit-Abbott	ALK fusie	ALK WT
5	FISH-DAKO OMNIS-ALK IQFISH Break apart probe-Agilent	ALK fusie	ALK WT
6	FISH-Thermobrite Abbott Molecular- Vysis ALK break apart FISH probe kit-Abbott	ALK fusie	ALK WT
7	FISH- manuele methode- Vysis ALK break apart FISH probe kit- ABBOTT	ALK fusie	ALK WT
8	FISH- manuele methode- Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit-ABBOTT	ALK fusie	ALK WT
9	FISH- manuele methode- Vysis ALK break apart FISH probe kit- ABBOTT	ALK fusie	ALK WT
10	FISH- manuele methode-ALK IQFISH Break apart probe-Agilent	ALK fusie	ALK WT

*Dit laboratorium heeft een niet gevalideerde methode voor dit type van stalen gebruikt. We hebben met dit laboratorium geen rekening gehouden in het preliminair rapport.

		ROS1-2022	
Labo	Gebruikte methodes	SPOT A	SPOT B
1	FISH-Leica Bond III-Kreatech FISH probes ROS1 (6q22) Break-XL for Bond	ROS1 herschikking	ROS1
2*	<i>qPCR- Idylla -gene fusion kit-Biocartis</i>	ROS1 herschikking	WT
3	FISH- manuele methode - Vysis 6q22 ROS1 Break Apart FISH Probe kit-Abbott	ROS1 herschikking	ROS1
4	FISH-VP2000-ON ROS1 (6q22) Break probe-Leica	ROS1 herschikking	WT
5	FISH-DAKO OMNIS-ROS1 IQFISH Break apart probe-Agilent	ROS1 herschikking	ROS1
6	FISH-Thermobrite Abbott Molecular-Kreatech ROS1 (6q22) break FISH probe-Leica biosystems	ROS1 herschikking	WT
7	FISH- manuele methode -Kreatech ROS1 break FISH probe-Leica biosystems	ROS1 herschikking	ROS1
8	FISH- manuele methode -Vysis ROS1 Break Apart FISH Probe Kit abbott	ROS1 herschikking	WT
9	FISH- manuele methode - ZytoLight SPEC ROS1 Dual Color Break Apart Probe-Zytovision-ForLab	ROS1 herschikking	ROS1

*Dit laboratorium heeft een niet gevalideerde methode voor dit type van stalen gebruikt. We hebben met dit laboratorium geen rekening gehouden in het preliminair rapport.

3. Commentaren

- Eén laboratorium heeft een niet gevalideerde methode voor dit type van stalen gebruikt. Dit laboratorium heeft resultaten in overstemming met de verwachte resultaten voor de twee parameters, ALK en ROS1 gerapporteerd.

4. Gebruikte methodes

4.1 ALK

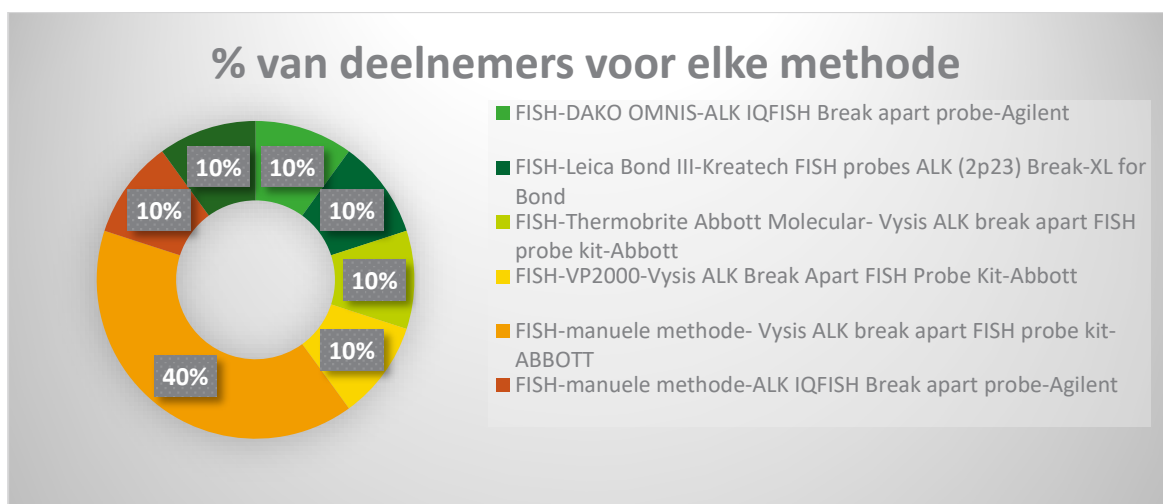


Chart 25: Verdeling van ingeschreven laboratoria per gebruikte methode voor de detectie van het fusie gen EML4-ALK.

Onder de gebruikers van een FISH-methode voor de detectie van het ALK fusiegen, is de manuele methode met een Vysis ALK break apart FISH probe van Abbott de meeste gebruikte.

4.2 ROS1

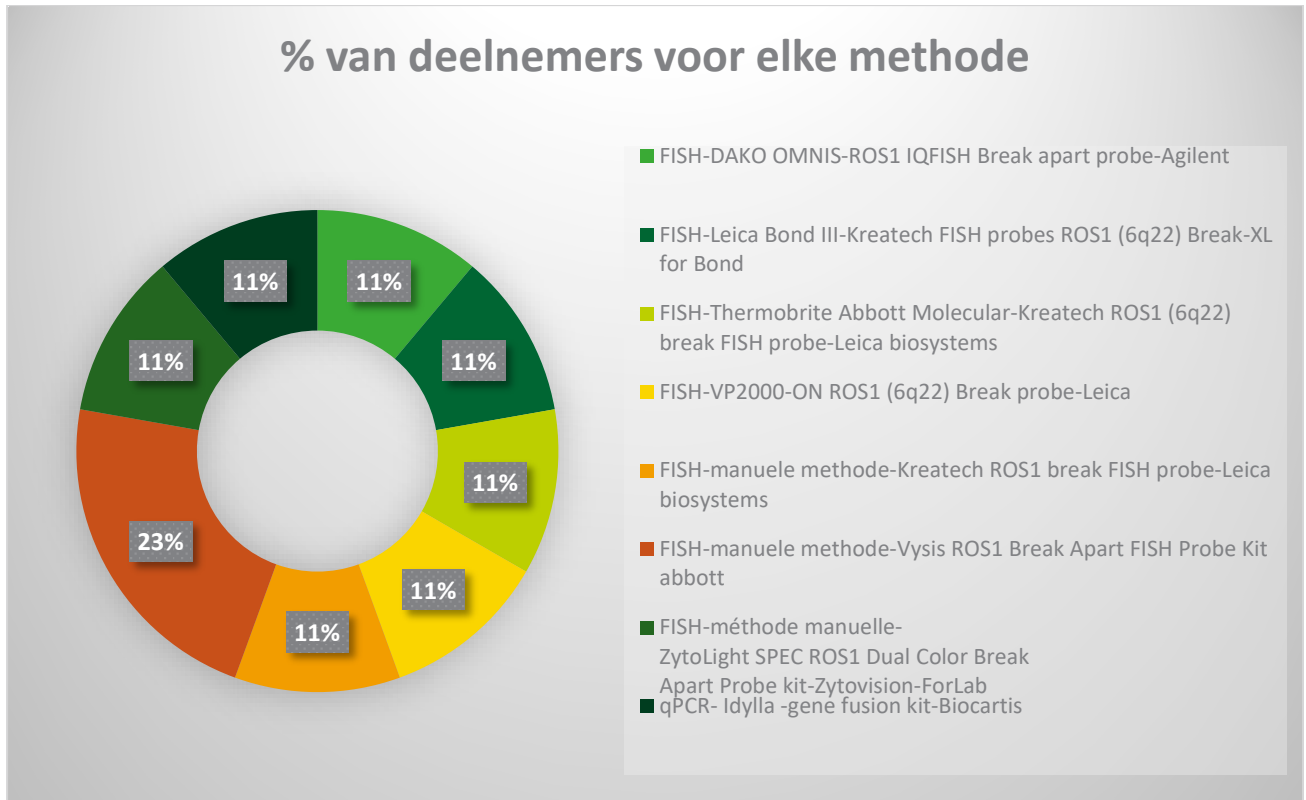


Chart 26 : Verdeling van ingeschreven laboratoria per gebruikte methode voor de detectie van de translocatie SLC34A2-ROS1.

Onder de gebruikers van een FISH-methode voor de detectie van ROS1 herschikking, is de manuele methode met een Vysis ROS1 break apart FISH probe van Abbott de meeste gebruikte.

Conclusies over de resultaten van de laboratoria

De resultaten van de laboratoria voor de detectie van herschikkingen van de ALK en ROS1 genen zijn zeer bevredigend. We kunnen opmerken dat het laboratorium dat een PCR-methode gebruikt heeft resultaten heeft gerapporteerd die in overeenstemming zijn met de verwachte resultaten en met de resultaten gerapporteerd door de laboratoria die een FISH-methode gebruiken (gevalideerd voor dit type van stalen).

Uitbestede evaluatie: Detectie van de mutaties van de Factor V en Protrombine genen (ECAT)

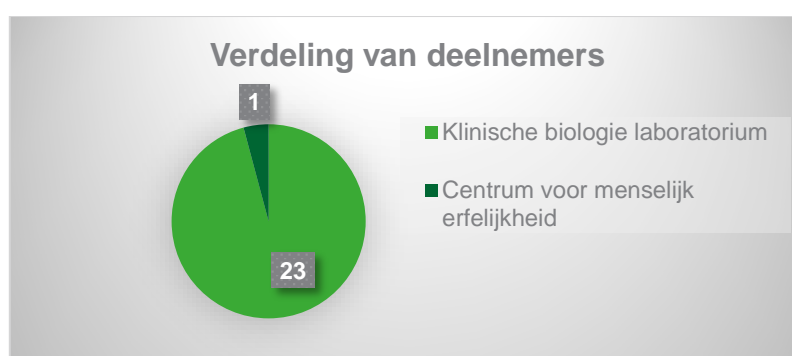
De enquête werd uitbesteed aan onze Europese partner *ECAT-External quality Control of diagnostic Assays and Tests* (<https://www.ecat.nl/>). Sciensano heeft de Belgische deelnemers ingeschreven. Onze partner ECAT heeft daarna *RfB-Reference institut for Bioanalytic* (<https://www.rfb.bio/cgi/surveys>) gecontacteerd. RfB is inderdaad de partner van ECAT voor de enquête van moleculaire genetica.

Stalen

We hebben de Belgische deelnemers aan de enquête « Molecular genetics 1-SET A » ingeschreven. De enquête betreft de analyse van een gelyofiliseerd DNA-staal om de detectie van de mutatie in het protrombine (Factor II) gen en de mutatie in het Factor-V Leiden gen uit te voeren.

Deelnemers

24 laboratoria waren ingeschreven voor deze enquête. De verdeling van de laboratoria is als volgt:



6 laboratoria hebben ons geen resultaten teruggestuurd. Zij zijn dus als “niet-deelnemend” aangemerkt.

Resultaten

Als sponsor van deze EKE, hebben we gevraagd aan de laboratoria om ons hun resultaten te sturen. De ingestuurde documenten bevatten allen de verwachte resultaten en de gerapporteerde resultaten voor elk gen. Er is geen informatie over de gebruikte techniek.

1. Resultaten per staal

Mutatie te detecteren in het Factor II/protrombine gen: **NM_000506.5(F2):c.*97G>A (Gly202010A1a)**

Round 1-April 2022

Factor II (Protrombine)	Verwachte resultaten (AF)	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
Staal 01	G/A (heterozygoot: G20210A)	G/G	0
		G/A	16 (100)*
		A/A	0
Staal 02	G/G (homozygoot WT)	G/G	15 (94)*
		G/A	0
		A/A	1 (6)*

*Houd er rekening dat sommige laboratoria alleen aan 1 van de 2 georganiseerde ronden deelnamen.

Round 2-September 2022

Factor II (Prothrombine)	Verwachte resultaten (AF)	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
Staal 01	G/A (heterozygoot: G20210A)	G/G	0
		G/A	15 (100)*
		A/A	0
Staal 02	G/G (homozygoot WT)	G/G	15 (100)*
		G/A	0
		A/A	0

*Houd er rekening dat sommige laboratoria alleen aan 1 van de 2 georganiseerde ronden deelnamen.

Mutatie te detecteren in het Factor V gen: **NM_000130.4(F5):c.1601G>A (p.Arg534Gln)**

Round 1-April 2022

Factor V-Leiden	Verwachte resultaten (AF)	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
Staal 01	Q/Q (homozygoot: R506Q)	R/R	0
		R/Q	0
		Q/Q	16 (100)*
Staal 02	R/R (homozygoot WT)	R/R	16 (100)*
		R/Q	0
		Q/Q	0

*Houd er rekening dat sommige laboratoria alleen aan 1 van de 2 georganiseerde ronden deelnamen.

Round 2-September 2022

Factor V-Leiden	Verwachte resultaten (AF)	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
Staal 01	R/Q (heterozygoot: R506Q)	R/R	0
		R/Q	16 (100)*
		Q/Q	0
Staal 02	R/R (homozygoot WT)	R/R	16 (100)*
		R/Q	0
		Q/Q	0

*Houd er rekening dat sommige laboratoria alleen aan 1 van de 2 georganiseerde ronden deelnamen.

2. Commentaren

- Round 1: 1 laboratorium heeft niet gedetecteerd dat het tweede staal voor het Factor II gen was homozygoot Wild Type was. Het heeft het staal als homozygoot gemuteerd vastgesteld. Het door het RfB gestuurd certificaat vermeldt dus dat het laboratorium aan de eisen voor de detectie van mutaties in Factor V-leiden gen voldoet maar niet voor de detectie van mutaties in Factor II gen.

Conclusies over de resultaten van de laboratoria

De resultaten die we van de laboratoria ontvangen hebben zijn zeer bevredigend. Er is alleen maar één laboratorium dat de performantie vereisten voor de detectie van mutaties in het Factor II gen niet voldaan heeft.

EINDE

©Sciensano, Brussel 2022.

Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder akkoord van Sciensano. De individuele resultaten van de laboratoria zijn vertrouwelijk. Zij worden door Sciensano niet doorgegeven aan derden, noch aan de leden van de Commissie, de expertencomités of de werkgroep EKE.