

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE en PATHOLOGISCHE ANATOMIE
EXPERTENCOMITE**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE
VOOR MOLECULAIRE BIOLOGIE ANALYSES**

GLOBAL RAPPORT

Genetische onderzoeken

**Detectie mutatie JAK2 gen in het kader van chronische
myeloproliferatieve neoplasmie**

ENQUETE 2024/3

Sciensano/Genetische onderzoeken-5-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 |
| | | e-mail | ql_secretariat@sciensano.be | | |
| Joséphine Lantoine | Enquêtecoördinator | TEL: | 02/642 53 94 | | |
| | | e-mail: | Josephine.lantoine@sciensano.be | | |
| Bernard China | Vervanger enquêtecoördinator | TEL: | 02/642 52 08 | | |
| | | e-mail: | bernard.china@sciensano.be | | |
| Vanessa Ghislain | Vervanger enquêtecoördinator | TEL: | 02/642 53 85 | | |
| | | e-mail: | Vanessa.ghislain@sciensano.be | | |
| Experten | Instelling | | | | |
| Ina Benoy | Rode Kruis | | | | |
| Elke Boone | AZ Delta | | | | |
| Barbara Depreter | AZ Delta | | | | |
| Evelien Heylen | ZNA | | | | |
| Marie LeMercier | UZA | | | | |
| Patrick Pauwels | UZA | | | | |
| Freya Vaeyens | UZ Brussel | | | | |
| Jacques Van Huysse | AZ Sint Jan Brugge | | | | |

Een draft versie van dit rapport werd voorgelegd aan de experts op 12/06/2024.

Dit rapport werd besproken in de vergadering van het expertencomité op 23/05/2024.

Autorisatie van het rapport: door Joséphine Lantoine, enquêtecoördinator

Publicatiedatum : 19/06/2024

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

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

INHOUDSTAFEL

TABLE DES MATIERES

| | | |
|-----|---|----|
| 1 | STALEN | 4 |
| 2 | DEELNEMERS..... | 4 |
| 3 | RESULTATEN..... | 4 |
| 3.1 | Resultaten per staal | 4 |
| 3.2 | Resultaten per laboratorium..... | 7 |
| 3.3 | Verdeling van de vastgestelde allelfrequenties | 10 |
| 3.4 | Commentaren | 10 |
| 4 | GEBRUIKTE METHODOLOGIE | 11 |
| 5 | CONCLUSIES M.B.T. DE RESULTATEN VAN DE LABORATORIA..... | 12 |

1 Stalen

De stalen werden geproduceerd door de US firma Discovery Life Science (900 Hudson Way Huntsville, AL 35806). In het kader van deze enquête, werden 1ml tubes van cryopreserveerd "Bone marrow mononuclear cells" besteld. Het DNA werd dan geëxtraheerd van de cellen door het laboratorium van de dienst Kwaliteit van Laboratoria volgens de vastgelegde procedure voor dit type van staal. Het DNA werd dan verdeeld in 20 tubes van 25µl elk met een DNA-concentratie van 17.1ng/µL

2 Deelnemers

17 klinische biologie laboratoria en 1 anatomische pathologie laboratorium waren voor deze enquête ingeschreven.

Alle ingeschreven laboratoria hebben geantwoord.

3 Resultaten

Elk laboratorium heeft één staal van geëxtraheerd DNA in H₂O buffer ontvangen. Zij werden gevraagd om de JAK2V617F mutatie op te sporen met moleculaire methode in het kader van de detectie van chronische myeloproliferatieve neoplasie.

3.1 Resultaten per staal

| Staal | Verwachte mutatie | Vastgestelde mutatieel status | Aantal laboratoria (%) |
|----------------------|--|--|------------------------|
| <u>JK2024</u> | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.4 (8.6%) | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3 | 8 (44) |
| | | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.4 | 6 (33) |
| | | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972 | 1 (5,5) |
| | | JAK2 p.(Val617Phe) | 1 (5,5) |
| | | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); | 1 (5,5) |
| | | p.(Val617Phe) | 1 (5,5) |

Classificaties groep PCR (13/18)

Met een educatief doel, tonen we hier de vastgestelde classificaties door de PCR gebruikers.

| Staal | Verwachte biologische classificatie | Vastgestelde biologische classificatie | Aantal laboratoria (%) |
|---------------|-------------------------------------|--|------------------------|
| <u>JK2024</u> | pathogeen | pathogeen | 11 (85) |
| | | niet vermeld | 2 (15) |

| Staal | Verwachte klinische classificatie | Vastgestelde klinische classificatie | Aantal laboratoria (%) |
|---------------|-----------------------------------|--------------------------------------|------------------------|
| <u>JK2024</u> | Tier I | Tier I | 10 (77) |
| | | Tier IA | 1 (8) |
| | | niet vermeld | 2 (15) |

Classificaties groep NGS (5/18)

| Staal | Verwachte biologische classificatie | Vastgestelde biologische classificatie | Aantal laboratoria (%) |
|---------------|-------------------------------------|--|------------------------|
| <u>JK2024</u> | pathogeen | pathogeen | 5 (100) |

| Staal | Verwachte klinische classificatie | Vastgestelde klinische classificatie | Aantal laboratoria (%) |
|---------------|-----------------------------------|--------------------------------------|------------------------|
| <u>JK2024</u> | Tier I | Tier I | 4 (80) |
| | | Tier IA | 1 (20) |

Therapeutische conclusies

| Staal | Vastgestelde therapeutische conclusies | Aantal laboratoria (%) |
|---------------|--|------------------------|
| <u>JK2024</u> | "driver" variant van myeloproliferatieve syndromen gevonden in 95%/97 % van polycytemia vera en 50%/57%/60% van essentiële thrombocytemie en primaire myelofibrose | 4 (22) |
| | Afwezigheid van remissie als de patiënt wordt behandeld met JAK2 inhibitoren | 1 (5.5) |
| | Detectie van deze variant ondersteunt een diagnose van NMP die kan worden aangepakt met Janus kinase 1- en Janus kinase 2 inhibitoren | 1 (5.5) |
| | JAK2 inhibitoren (ruxolitinib and Fedratinib) zijn aangewezen voor de behandeling van intermediaire tot hoog risico myelofibrosis, ruxolitinib ook voor polycytemia patiënten die intolerant of refractair zijn voor hydroxyurea | 1 (5.5) |
| | De aanwezigheid van JAK2 mutatie is geassocieerd met gevoeligheid voor behandeling met Jak2 inhibitoren | 1 (5.5) |

| Staal | Vastgestelde therapeutische conclusies | Aantal laboratoria (%) |
|----------------------|--|------------------------|
| <u>JK2024</u> | Deze mutatie komt voor in meer dan 90% van de patiënten met PV en in ongeveer 60% van patiënten met PMF en ET. De aanwezigheid van de mutatie is geassocieerd met gevoeligheid voor behandeling met JAK inhibitoren. | 1 (5.5) |
| | De aanwezigheid van JAK2 mutatie is diagnostisch voor een MPN aan te vullen met hematologische morfologische en klinische bevindingen voor DD_PV // ET_PMF// MDZ_MPN | 1 (5.5) |
| | Correleert goed met myeloproliferatieve syndromen ET, PRV en MF | 1 (5.5) |
| | JAK2 variant kan de diagnose van MPN bevestigen | 1 (5.5) |
| | JAK2 positiviteit leidt tot diagnoses die leiden tot therapeutische beslissingen | 1 (5.5) |
| | niet vermeld | 5 (28) |

3.2 Resultaten per laboratorium

| Labo | Gebruikte methode | Vastgestelde JAK2 mutatie | Allelfrequentie (%) | Score genotypering | Biologische class. | Klinische class. | Score class.* |
|------|--|--|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------|---------------|
| 1 | qPCR-Lightcycler480-Roche Ipsogen JAK2 MutaQuant-Qiagen | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); | 9,4 | geslaagd | pathogenic | Tier IA | NVT |
| 2 | qPCR-Quantstudio 6-Thermofisher Custom Taqman probes (Sidon et al.; Clinical Chemistry,2006) + ddPCR-QX2000-Bio-rad Mutation assay JAK2 V617F-Bio-rad | JAK2 p.(Val617Phe); ENST00000381652 (NM_004972.4) | 8,1 | geslaagd | pathogenic | Tier I | NVT |
| 3 | ddPCR-QX2000-Bio-rad Mutation assay JAK2 V617F-Bio-rad | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972 | 9,3 | geslaagd | pathogenic | significant klinisch belang | NVT |
| 4 | qPCR-Lightcycler480-Roche Ipsogen JAK2 MutaScreen-Qiagen | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3 | NA | geslaagd | NVT | NVT | NVT |
| 5 | qPCR-Lightcycler-Roche Ipsogen JAK2 MutaQuant-Qiagen | p.(Val617Phe) | 6,3 | geslaagd | NVT | NVT | NVT |
| 6 | ddPCR-QX2000-Bio-rad Mutation assay JAK2 V617F-Bio-rad | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3 | 8,8 | geslaagd | pathogeen | Tier IA | NVT |

*De laboratoria die en PCR techniek gebruiken werden niet geëvalueerd voor de classificaties.

| Labo | Gebruikte methode | Vastgestelde JAK2 mutatie | Allelfrequentie (%) | Score genotypering | Biologische class. | Klinische class. | Score class.* |
|------|---|--|---------------------|--------------------|--------------------|------------------|---------------|
| 7 | NGS-MiSeq-Illumina Trusight myeloid sequencing-Illumina | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3 | 9 | geslaagd | pathogeen | Tier I | geslaagd |
| 8 | NGS-NextSeq550Dx-Illumina QIAseq targeted DNA custom panel | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3 | 9,2 | geslaagd | pathogeen | Tier I | geslaagd |
| 9 | NGS-MiSeq-Illumina DNAseq targeted DNA custom panel-Qiagen LDT Custom probes | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.4 | 8,7 | geslaagd | pathogeen | Tier I | geslaagd |
| 10 | NGS-MiSeq-Illumina QIAseq targeted DNA custom panel | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.4 | 9,2 | geslaagd | pathogeen | Tier I | geslaagd |
| 11 | NGS-MiSeq-Illumina AmpliSeq Myeloid-Illumina | JAK2 p.(Val617Phe); NM_004972.3 | 7,73 | geslaagd | pathogenic | Tier IA | geslaagd |
| 12 | ddPCR-QX2000-Bio-rad Mutation assay JAK2 V617F-Bio-rad | JAK2 p.(Val617Phe); NM_004972.4 | 8,6 | geslaagd | pathogenic | Tier I | NVT |
| 13 | qPCR- Rotor-gene Q-Qiagen LDT-Custom Taqman probes (Sidon et al.; Clinical Chemistry,2006) | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3 | NA | geslaagd | pathogenic | Tier I | NVT |
| 14 | qPCR Lightcycler 480-Roche Ipsogen JAK2 MutaQuant-Qiagen + NGS- MiseqDX-Illumina Trusight Myeloid sequencing-Illumina | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3 | 6 | geslaagd | pathogeen | Tier I | NVT |
| 15 | qPCR-CFX96-BioRad In-house kit JAK2 mutant probe (B.Denys, JMD, 2010:512-519) | NM_004972.4: c.1849 G>T NP.004963.1:p.(Val617Phe) | 5,4 | geslaagd | pathogeen | Tier I | NVT |

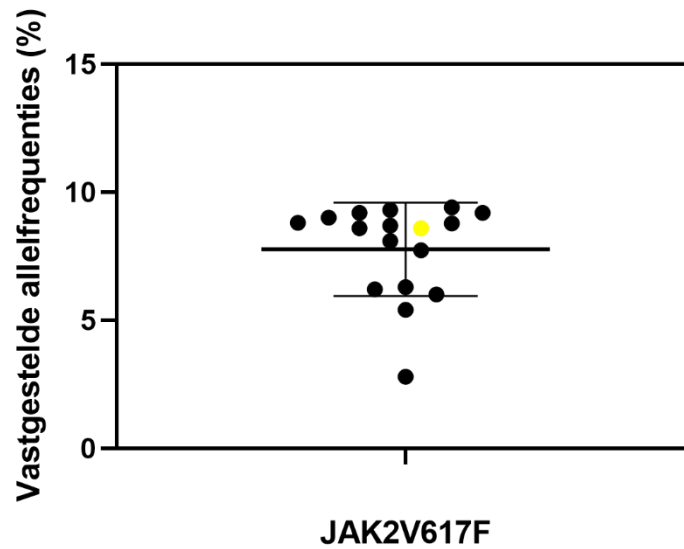
*De laboratoria die en PCR techniek gebruiken werden niet geëvalueerd voor de classificaties.

| Labo | Gebruikte methode | Vastgestelde JAK2 mutatie | Allelfrequentie (%) | Score genotypering | Biologische class. | Klinische class. | Score class.* |
|------|---|--|---------------------|--------------------|--------------------|------------------|---------------|
| 16 | qPCR-QuantStudio7 Flex-Life Technologies LDT (Denys et al., J Mol Diagn. 2010) | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.3 | 2,8 | geslaagd | pathogeen | Tier I | NVT |
| 17 | ddPCR-QX2000-Bio-rad Mutation assay JAK2 V617F-Bio-rad | JAK2 p.(Val617Phe) | 8,78 | geslaagd | pathogeen | Tier I | NVT |
| 18 | qPCR-CFX96-BioRad In-house kit (Denys et al., J Mol Diagn. 2010) | JAK2 c.1849 G>T p.(Val617Phe); NM_004972.4 | 6,2 | geslaagd | pathogeen | Tier I | NVT |

*De laboratoria die en PCR techniek gebruiken werden niet geëvalueerd voor de classificaties.

3.3 Verdeling van de vastgestelde allelfrequenties

Hieronder wordt de verdeling getoond van de vastgestelde allelfrequenties voor de mutatie JAK2V617F. Het punt in geel is de allelfrequentie aangegeven door de staal leverancier.



Slechts één laboratorium heeft een lagere allelfrequentie gerapporteerd dan het gemiddelde van de vastgestelde allelfrequentie. Dit laboratorium heeft een PCR techniek gebruikt.

3.4 Commentaren

- Alle laboratoria hebben een “geslaagde” score behaald voor de genotypering. Inderdaad, hebben zij de mutatie JAK2 V617F goed gedetecteerd in het staal.
- Alle laboratoria dat een NGS techniek gebruiken, hebben een “geslaagde” score die voor het deel classificaties. De PCR gebruikers werden niet geëvalueerd omdat de classificaties van NGS richtlijnen van de Compermed zijn. Niettemin hebben 11 van de 13 PCR gebruikers laboratoria correcte classificaties vermeld.

4 Gebruikte methodologie

Groep PCR

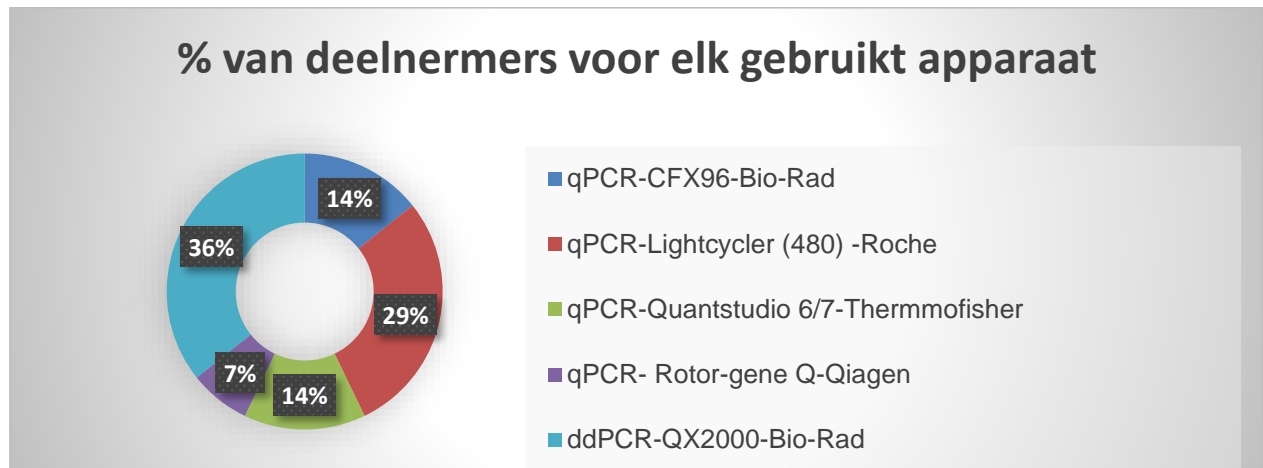


Chart 1 : Verdeling van laboratoria per gebruikt apparaat voor de bepaling van JAK2 V617F mutatie

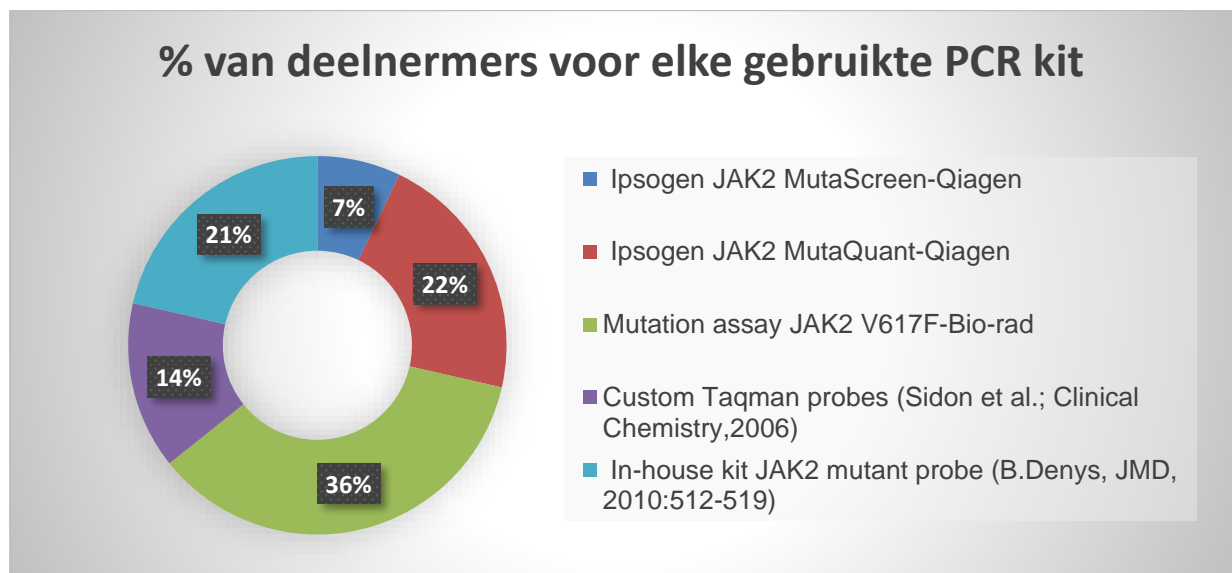


Chart 2: Verdeling van laboratoria per gebruikte kit voor de bepaling van JAK2 V617F mutatie

Houd er rekening mee dat een laboratorium 2 PCR methodes ingegeven heeft.

Groep NGS



Chart 3 : Verdeling van laboratoria per gebruikte sequencer voor de bepaling van JAK2 V617F mutatie

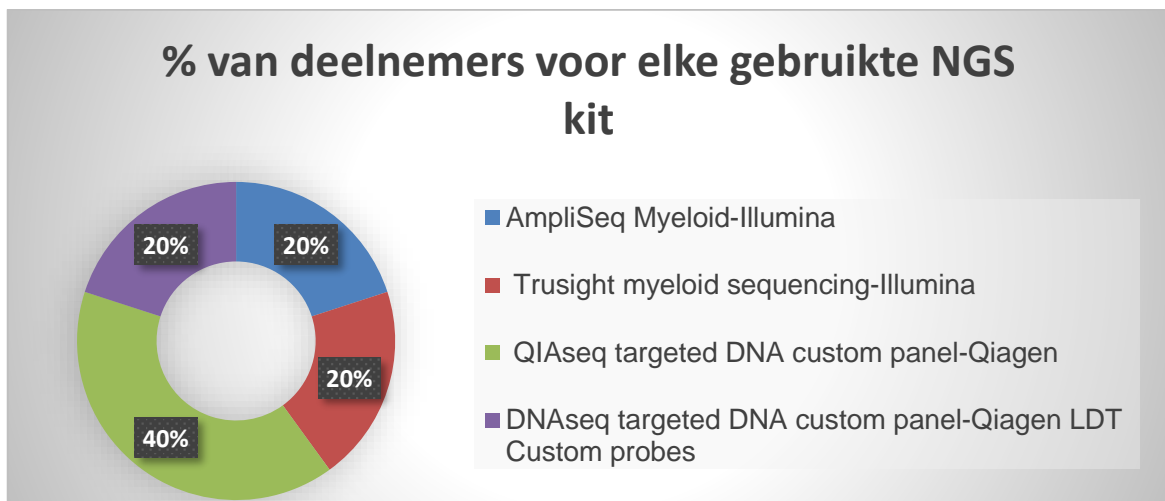


Chart 2: Verdeling van laboratoria per gebruikte kit voor de bepaling van JAK2 V617F mutatie

Houd er rekening mee dat een laboratorium een PCR methode bovenop een NGS methode ingegeven heeft.

De meest gebruikte techniek voor de detectie van mutatie JAK2 V617F is de droplet digital PCR met de "QX2000" van Bio-Rad en met de kit "Mutation assay JAK2 V617F" van Bio-Rad.

5 Conclusies m.b.t. de resultaten van de laboratoria

De prestaties van de laboratoria zijn bevredigend voor deze enquête. Alle deelnemende laboratoria hebben de mutatie JAK2 V617F gedetecteerd in het staal. We kunnen opmerken dat meeste laboratoria die een PCR gebruiken biologische/klinische classificaties vermeld hebben. Hoewel de richtlijnen voor de classificaties voor de gebruikers van NGS zijn.

EINDE

© Sciensano, Brussel 2024.

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.