

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

***AD HOC* EXPERTENCOMITE**

GLOBAL RAPPORT

Next Generation Sequencing (NGS)

Vaste tumoren (Schildklier carcinoom) RNA

2023/3

Sciensano/NGS EKE/16-NL

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

www.sciensano.be

AD HOC EXPERTENCOMITE

Sciensano					
Secretariaat		TEL:	02/642.55.22	FAX:	02/642.56.45
		e-mail:	QL_secretariat@sciensano.be		
Aline Antoniou	Enquêtecöördinator	TEL:	02/642.55.27		
		e-mail:	Aline.Antoniou@sciensano.be		
Nicolas Loucheu	Bio-informatica analyse				
Mohamed Rida Soumali	Statistische analyse				
Vanessa Ghislain	Vervanger enquêtecöördinator	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	Vanessa.Ghislain@sciensano.be		
Experten	Instelling				
Patrick Pauwels	UZ Antwerp				
Brigitte Maes	Jessa Hospital Hasselt				
Freya Vaeyens	VUB				
Jacques Van Huysse	AZ Sint-Jan Brugge				
Pascal Vannuffel	IPG				

De voorlopige versies van dit rapport werden voorgelegd aan de experts op: 23/01/2024 en 12/02/2024.

Dit rapport werd besproken in de vergadering van het *ad hoc* expertencomité van: 09/02/2024.

Verantwoordelijkheden:

Het *ad hoc* expertencomité werd voor advies geraadpleegd over de inhoud van het globaal rapport, de interpretatie van de resultaten, de evaluatiecriteria en de organisatie van de volgende evaluaties. De verantwoordelijkheid voor de selectie van de gebruikte stalen en het definitieve ontwerp van de studie wordt door de dienst Kwaliteit van laboratoria van Sciensano genomen.

Autorisatie van het rapport : door Aline Antoniou, enquêtecöördinator

Publicatiedatum : 11/03/2024

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:
<https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria>

INHOUDSTAFEL

1. INLEIDING	4
1.1. Doel.....	4
1.2. Uitbestede activiteit	4
1.3. Materiaal.....	4
1.4. Vraag.....	4
1.5. Evaluatiecriteria.....	6
2. RESULTATEN	7
2.1. Deelname	7
2.2. Overzicht van de methoden.....	7
2.3. Overzicht van de resultaten.....	11
2.3.1. NGS-2023-7	11
2.3.2. NGS-2023-8.....	13
2.3.3. NGS-2023-9.....	15
2.3.4. NGS-2023-10.....	16
2.3.5. Slaagpercentage van de deelnemers.....	17
3. BIJLAGE	18
3.1. Overzicht van de klinische conclusies voor stalen met fusie	18
3.1.1. NGS-2023-7	18
3.1.2. NGS-2023-8.....	20
3.1.3. NGS-2023-9.....	21
3.2. Interpretatie van het individueel rapport	23

1. INLEIDING

De organisatie van EKE maakt deel uit van het nationale proefproject voor de invoering van de NGS-technologie in onze gezondheidszorg, dat begon in januari 2016. Alle informatie over het NGS-proefproject is te vinden in het NGS Roadbook:

https://www.compermed.be/docs/Roadbook%20PersMed%20NGS%20NL_0.pdf

1.1. Doel

Deze EKE heeft als doel de stand van zaken na te gaan betreffende de wijze waarop fusies of exon skippings worden gedetecteerd, geselecteerd en gerapporteerd in het patiënten rapport.

1.2. Uitbestede activiteit

3 artificiële RNA stalen werden geproduceerd door de firma SeraCare en werden verdeeld door de firma Sopachem (mix van totaal RNA van referentie cellijn GM24385 en in vitro getranscribeerd RNA): NGS-2023-7, 8, 9.

Een tumorstaal werd geleverd door de firma Discovery Life Science: NGS-2023-10.

1.3. Materiaal

Het materiaal voor deze studie bestond uit:

3 tubes RNA (Volume: 10µl, Concentratie: 35 ng/µl, Elutiebuffer: 1mM Tris HCl), afkomstig van 3 verschillende stalen met de volgende referentie: NGS-2023-7, NGS-2023-8 en NGS-2023-9.

1 tube met 2 FFPE coupes van 10 µm dikte afkomstig van een tumorstaal met de volgende referentie: NGS-2023-10. Tumorpercentage aan het begin en einde van de stalen: 50%.

De stalen werden voor de homogeniteit en de stabiliteit door de leveranciers gevalideerd.

1.4. Vraag

De stalen moesten geanalyseerd worden volgens de in het laboratorium geldende procedures voor schildkliercarcinomen zonder driver mutatie.

Voor elk staal werd er gevraagd om alle fusies of exon skipping events die volgens de geldende procedures van het laboratorium zouden worden gerapporteerd in het klinisch rapport van de patiënt, door te geven, maar enkel voor die genen die zijn beschreven in de NGS overeenkomst en volgens de ComPerMed workflows (dus niet de andere eventueel geïdentificeerde fusies) :

<https://www.inami.fgov.be/nl/professionals/verzorgingsinstellingen/laboratoria/Paginas/oncologie-terugbetaling-moleculair-biologische-ngs.aspx>
[https://www.compermed.be/nl/workflows#/#/](https://www.compermed.be/nl/workflows#/)

staal	Klinische context	genen
NGS-2023-7 NGS-2023-8 NGS-2023-9 NGS-2023-10	schildkliercarcinomen	<i>NTRK1, NTRK2, NTRK3</i> <i>RET</i> <i>PAX8/PPARγ</i>

Er werd ook gevraagd om de aanbevelingen van ComPerMed en van MolecularDiagnostics.be over de interpretatie van varianten en de inhoud van klinische rapporten van NGS te raadplegen die gepubliceerd werden op de website van BELAC:

<https://economie.fgov.be/sites/default/files/Files/Publications/files/Belac-NL/2-405NGS-NL.pdf>

Op de antwoordwebsite: <https://eqatoolkit.sciensano.be/NGS/> werd er aan de deelnemers gevraagd:

- De vragenlijst met betrekking tot de analysemethode in te vullen.
- De volgende parameters in te voeren voor elke fusie of exon skipping die werd geïdentificeerd en volgens de procedures van het laboratorium in het klinisch rapport wordt vermeld, en dit volgens het voorbeeld hieronder en de richtlijnen van BELAC:
 - De naam van de genen van de fusie of van de exon skipping
 - De chromosomen die betrokken zijn bij de chromosoomafwijking, in de volgorde die wordt aanbevolen in de herziening BELAC 2-405-NGS-R4-2023 te volgen, namelijk :
“In case the chromosomes are provided the standard rule for correct annotation, with the lowest number first, has to be used (e.g. t(4;12)).”
 - Het NM nummer van transcript A (5')
 - Het exon van transcript A (5') dat betrokken is bij de chromosoomafwijking
 - Het NM nummer van transcript B (3')
 - Het exon van transcript B (3') dat betrokken is bij de chromosoomafwijking
 - Aantal reads dat de fusie ondersteunt
 - De biologische classificatie (dropdown menu)
- Een algemene conclusie te schrijven voor elke klinische casus in de vorm van een vrije tekst.

Er werd aan de deelnemers gevraagd om via de hen toegestuurde Belnet-link de ruwe data (FASTQ bestanden) door te sturen voor elk staal, het bestand met de gedetecteerde fusies (TSV) en de BED file(s) met de regio's die het panel bevat.

1.5. Evaluatiecriteria

Dit rapport bevat de resultaten van de 15 deelnemende laboratoria. Voor de identificatie van de fusies en de exon skippings, zijn de evaluatiecriteria gebaseerd op de consensus van de laboratoria met een drempelwaarde van 2/3 van de deelnemers.

In detail zijn de evaluatiecriteria:

- 1/ De identificatie van alle fusies en alle exon skippings gerapporteerd door ten minste 2/3 van de deelnemers, aanwezig in de 3 stalen: consensus voor de te rapporteren fusies/exon skippings.
- 2/ De afwezigheid van de fusies en de exon skippings gerapporteerd door minder dan 1/3 van de deelnemers: consensus voor de niet te rapporteren fusies/exon skippings.

De fusies en de exon skippings gerapporteerd door 1/3 tot 2/3 van de laboratoria worden ook gedetailleerd beschreven in de rapporten en worden enkel ter informatie weergegeven: geen consensus. Een fusie of een exon skipping met een consensus die door de laboratoria werd gevonden, kan niet worden geëvalueerd indien de groep van experts deze consensus niet valideert.

Het aantal reads dat het door elk laboratorium geïdentificeerde event ondersteunt, wordt weergegeven in de boxplots van het rapport. Dit aantal hangt af van de gebruikte technologie en van de diepte van de sequentiebepaling die door de deelnemers is uitgevoerd. Het is dus geen targetwaarde voor het detecteren van het event.

Wat betreft de biologische interpretaties, voor de consensus voor de te rapporteren fusies/exon skippings, worden de antwoorden van de laboratoria gerangschikt als 'verwacht resultaat' (in groen), 'aanvaardbaar resultaat' (in geel), 'niet aanbevolen maar aanvaardbaar' (in oranje), 'niet aanvaardbaar resultaat' (in rood) of 'niet geëvalueerd resultaat' (in grijs). Deze categorieën worden door de groep van experts gedefinieerd door de resultaten van de consensus van de laboratoria te vergelijken met de resultaten die werden verkregen met behulp van de Belgische richtlijnen.

De NM nummers die door de laboratoria worden gebruikt, staan in een tabel met het NM nummer van de Belgische richtlijnen in blauw. De inhoud van de algemene conclusies die door de laboratoria werden gerapporteerd, wordt geclassificeerd op basis van standaardinformatie die door ten minste twee laboratoria werd opgenomen. Deze gegevens worden niet geëvalueerd.

2. RESULTATEN

2.1. Deelname

15 Belgische laboratoria hebben tijdig gereageerd en zijn in de analyse van de resultaten opgenomen.

Overzicht van de deelnemers

Regio	N
Vlaams Gewest	9
Brussels Hoofdstedelijk Gewest	3
Waals Gewest	3
Totaal	15

Laboratorium	N
Pathologische anatomie	7
Klinische biologie	7
Humane genetica	1
Totaal	15

2.2. Overzicht van de methoden

Q1. Welk referentiegenoom gebruikt u voor de analyse?

Antwoorden	N
hg19/GRCh37	12
hg38/GRCh38	3

Q2. Welke sequencer gebruikt u voor RNA-seq analyses (firma en platform)?

Antwoorden	N
Illumina --- MiSeq	4
Illumina --- NextSeq 550	2
Illumina --- NextSeq 550Dx	2
Illumina --- NovaSeq	2
Illumina --- MiSeqDx	1
Illumina --- NextSeq 500	1
Illumina --- NovaSeq 6000	1
ThermoFisher/Ion Torrent --- Ion GeneStudio S5	1
ThermoFisher/Ion Torrent --- Ion S5	1

Q3. Welke genpanels worden gebruikt voor RNA-seq analyses (naam van commerciële en / of custom kits)?

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

Q4. Welke aanrijkingstrategie wordt gebruikt voor RNA-seq analyses?

Antwoorden	N
Amplicon-based	11
Probe-based	4

Q5. Is/zijn uw methode(s) single of paired-end?

Antwoorden	N
Paired-end	12
Single-end	3

Q6. Wat is de lengte van de reads gegenereerd door uw methode?

Antwoorden	N
74	1
80	1
100	1
101	1
120	1
150	3
151	2
200	1
230	2
251	1
Variabel	1

Q7. Welke bioinformatica software wordt gebruikt voor de secundaire analyse van de data? (alignment en calling)

Antwoorden	N
Archer Analysis Software	6
CLC Genomics Workbench (Qiagen)	2
Ion Reporter (ThermoFisher)	2
Open source/in house development	2
TruSight Oncology 500 Local App	2
SeqOne Genomics	1
SEQUENCE Pilot JSI	1

Opmerkingen: De open source bio-informatica tools zijn in gebruik met de volgende combinaties: 1) STAR-Fusion, CTAT splicing, rose-dt en 2) arriba, FusionCatcher, pizzly, SQUID, STAR-Fusion.

Q8. Welke databases worden gebruikt voor de tertiaire analyse verschillend van die gebruikt door de software voor de secundaire analyse? (annotaties, extra filters,...)

Antwoorden	N
FusionGDB	10
PubMed	9
Mitelman	8
Archer Quiver™	6
Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology	6
COSMIC	6
Alamut	4
ClinVar	3
tertiaire analyse uitgevoerd door de software van de secundaire analyse - geen gebruik van een extra database	2
cBioPortal	2
OncoKB	2
ChimerDB	1
Civic	1
IGV	1

Q9. Wat is het minimum totaal aantal reads per staal per RNA-seq analyse (mapped reads)?

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

Q10. Hoeveel reads moet een fusie hebben om effectief gerapporteerd te worden?

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

Q11. Welk type staal wordt in uw laboratorium gesequeneerd voor het opsporen van fusies met RNA-seq?

Antwoorden	N
Paraffineweefsel	15
Beenmerg	2
Bloed	2
Uitstrijkje	1
Cytologisch vocht	1

Q12. Wat is de minimum totale hoeveelheid RNA vereist in uw laboratorium voor het uitvoeren van een RNA-seq analyse?

Antwoorden	N
0-10ng	6
11-50ng	6
51-100ng	1
>101ng	2

Q13. Wat is de minimum concentratie RNA vereist in uw laboratorium voor het uitvoeren van een RNA-seq analyse (ng/µl)?

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

Q14. Welke methode wordt gebruikt voor de kwantificatie van het RNA?

Antwoorden	N
Qubit	14
Quantus	1

Q15. Welke methode wordt gebruikt om de kwaliteit van het RNA te controleren?

Antwoorden	N
niet uitgevoerd, alleen kwantificatie, QC NGS	7
qPCR	3
TapeStation, Agilent	3
Bioanalyser	2

Q16. Welke richtlijnen worden gebruikt voor de interpretatie van de geïdentificeerde fusies?

Antwoorden	N
BELAC 2-405-NGS Rev 3-2021	15
Richards, S et al. Standards and Guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. <i>Genet Med</i> 2015, 17(5): 405-424	1
Li, MM et al. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer. A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. <i>J Mol Diagn</i> 2017, 19: 4-23.	1

Q17. Wordt de RNA-seq techniek onder accreditatie uitgevoerd?

Antwoorden	N
Ja, 2018	1
Ja, 2019	2
Ja, 2021	6
Ja, 2023	2
Nee voor 2024	4

Q18. Aan welke andere EKE neemt u deel voor deze techniek?

Antwoorden	N
GenQA	8
Geen	5
ESP Lung EQA	3
UK NEQAS	3

Q19. Welke indicaties van de overeenkomst NGS worden door uw laboratorium geanalyseerd d.m.v. RNA-seq?

Antwoorden	N
Longcarcinoom	15
Schildkliercarcinoom	14
Specifieke sub-types gliomen	10
Atypische melanocyttaire proliferatie (MELTUMP, IAMPUS, STUMP,)	9
Sarcoom	8
Moleculair gedefinieerd niercarcinoom	7
Speekselklier tumor	6

2.3. Overzicht van de resultaten

2.3.1. NGS-2023-7

type primaire tumor en histologie Schildklier carcinoom

Consensus voor te rapporteren fusies

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

<i>NCOA4::RET, t(10;10), exon A: 7, exon B: 12 (Mediaan aantal reads: 18)</i>	
Identificatie van de fusie	N
Ja	15
Neen	0
Biologische classificatie	N
Pathogeen	15
Totaal	15

Opmerkingen: Voor dit staal is de bereikte consensus de identificatie van de fusie *NCOA4::RET, t(10;10), exon A: 7, exon B: 12*. Voor de biologische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie pathogeen.

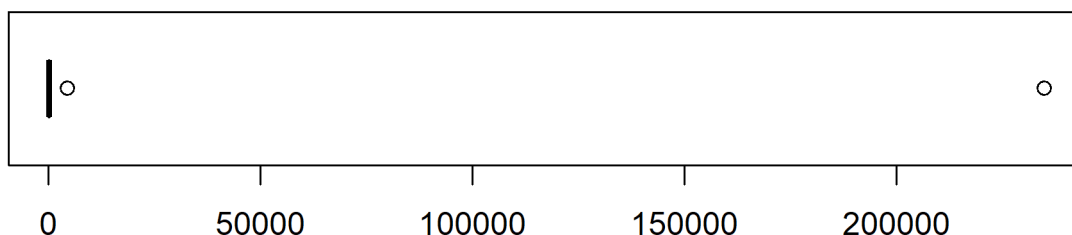
Analyse NM:

<i>NCOA4::RET</i> Transcrit A	N
NM_005437	5
NM_005437.3	4
NM_001145260	2
NM_001145263.2	2
NM_00145263.2	1
NM_005437.4	1

<i>NCOA4::RET</i> Transcrit B	N
NM_020975.6	7
NM_020975.4	3
NM_020975	3
NM_020630.5	1
NM_020630	1

Aantal reads met de fusie gesequencet door de deelnemers:

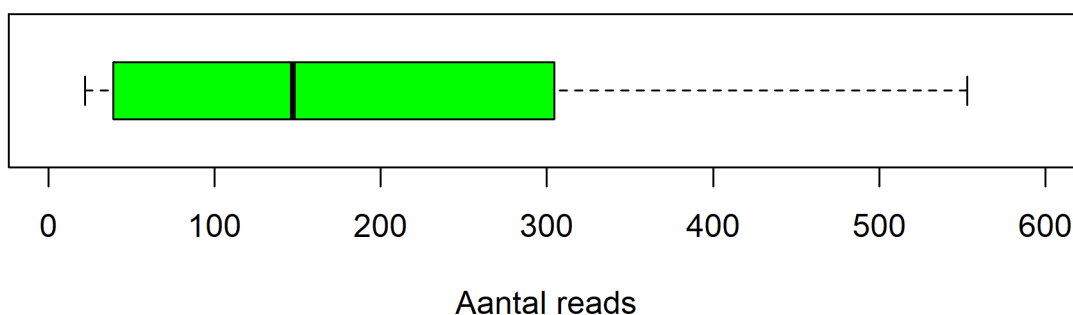
NCOA4::RET, t(10;10), exon A: 7, exon B: 12



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

Zoom

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



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

Analyse van de conclusies:

Standaardinformatie	Specifieke informatie van casus 1 opgenomen in de algemene conclusie door tenminste 2 laboratoria	Laboratoria
Diagnose	Fusie recurrent in papillair en weinig gedifferentieerd schildklier carcinoomen	10
	Fusie recurrent in radiatie-geïnduceerd schildklier carcinoomen	2
Therapie	Indicatie voor gevoeligheid aan RET tyrosine kinase inhibitoren (Pralsetinib, Selpercatinib)	14
Andere	Te correleren met histologie	3

type primaire tumor en histologie Schildkliercarcinoom**Consensus voor te rapporteren fusies**PAX8::PPARG, t(2;3), exon A: 9, exon B: 2

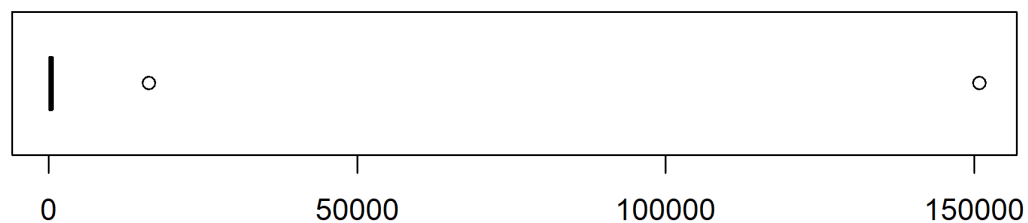
PAX8::PPARG, t(2;3), exon A: 9, exon B: 2 (Mediaan aantal reads: 22.5)	
Identificatie van de fusie	N
Ja	2
Neen	3
Biologische classificatie	N
Pathogeen	2
Totaal	12

Opmerkingen: Voor dit staal is de bereikte consensus de identificatie van de fusie PAX8::PPARG, t(2;3), exon A: 9, exon B: 2. 3 laboratoria hebben deze fusie niet gerapporteerd omdat deze fusie niet aanwezig is in hun analysepanel. De panels die door deze laboratoria worden gebruikt, zijn niet geschikt voor het analyseren van schildkliertumoren onder de voorwaarden van de NGS overeenkomst. Voor de biologische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie pathogeen.

Analyse NM:

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

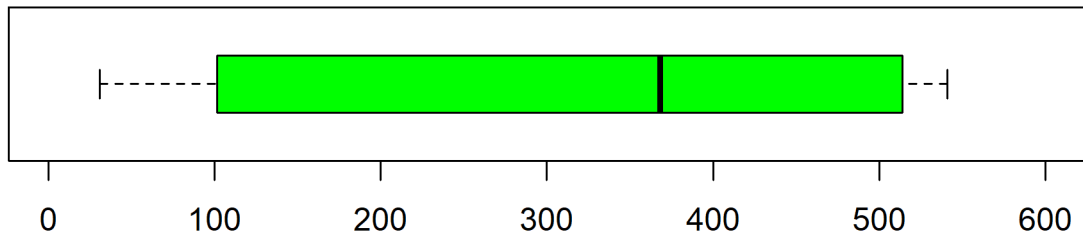
Aantal reads met de fusie gesequencet door de deelnemers:

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

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

Zoom

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



Aantal reads

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

Analyse van de conclusies:

Standaardinformatie	Specifieke informatie van casus 2 opgenomen in de algemene conclusie door tenminste 2 laboratoria	Laboratoria
Diagnose	Fusie recurrent in folliculair schildklier carcinoom, in folliculaire variant van papillair schildklier carcinoom en in folliculaire adenomen	11
Therapie	Onzekere gevoeligheid voor PPARG agonisten (klinisch onderzoek in lopende studie)	4
Andere	Te correleren met histologie	4

Consensus voor te-rapporteren fusies*TPM3::NTRK1, t(1;1), exon A: 7, exon B: 10*

<i>TPM3::NTRK1, t(1;1), exon A: 7, exon B: 10 (Mediaan aantal reads: 25)</i>	
Identificatie van de fusie	N
Ja	13
Ja, <i>TPM3P8::NTRK1, t(1;2), exon A:1, exonB:9</i>	1
Neen	1
Biologische classificatie	N
Pathogeen	14
Totaal	14

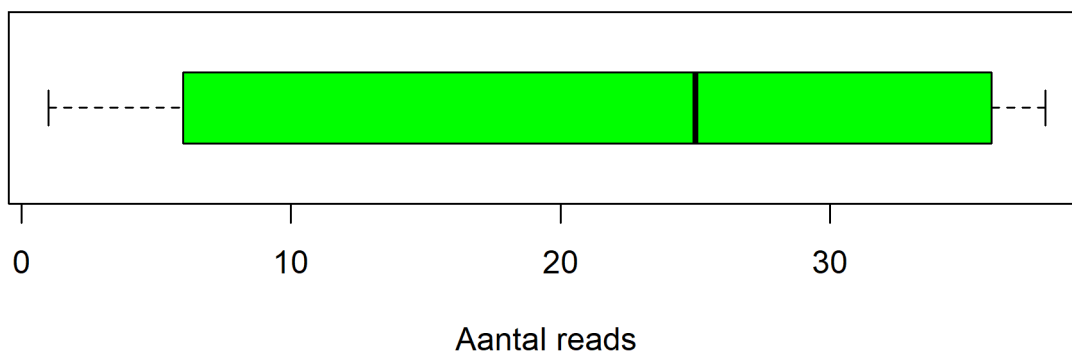
Opmerkingen: Voor dit staal is de bereikte consensus de identificatie van de fusie *TPM3::NTRK1, t(1;1), exon A: 7, exon B: 10*. Eén laboratorium heeft de *NTRK1* fusie niet gedetecteerd, ondanks het gebruik van een assay die specifieke isovormen van fusiegenen dekt, waaronder die in dit staal, en ondanks de aanwezigheid van de fusie in de ruwe gegevens van de deelnemer. De fusie werd dus gedetecteerd door hun bioinformaticatools, maar werd er vervolgens uitgefilterd, handmatig of met behulp van hun tertiaire analysetool. Een ander laboratorium rapporteerde de fusie van *NTRK1* met de partner *TPM3P8*. Dit is een pseudogen van het *TPM3* gen, genomisch verschillend van dat gen. Dit resultaat werd als niet aanbevolen maar wel acceptabel beschouwd omdat het therapeutische effect alleen gebaseerd is op het *NTRK1* gen. We nodigen dit laboratorium echter uit om hun analyse zorgvuldig te herzien om hun bioinformaticaprocessen te verfijnen, met name om de gevoeligheid en nauwkeurigheid te verbeteren. Voor de biologische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie pathogeen.

Analyse NM:

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

Aantal reads met de fusie gesequencet door de deelnemers:

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



Min	P25	Median	P75	Max	SD
1	6.75	25	35.75	38	21.5

Analyse van de conclusies:

Standaardinformatie	Specifieke informatie van casus 3 opgenomen in de algemene conclusie door tenminste 2 laboratoria	Laboratoria
Diagnose	Fusie bescheven in schildklier carcinoom Zeldzame fusie in vaste tumoren	5 3
Therapie	Indicatie voor gevoeligheid aan TRK inhibitoren (Larotrectinib, Entrectinib)	13
Prognose	Fusie met meer agressieve prognose	2
Andere	Te correleren met histologie	3

2.3.4. NGS-2023-10

type primaire tumor en histologie Schildklier carcinoom

Consensus voor de niet te rapporteren fusies

Geen fusie geïdentificeerd waarbij de relevante genen

Geen fusie geïdentificeerd waarbij de relevante genen	N
Ja	15
Neen	0

Opmerkingen: Voor dit staal is de consensus geen identificatie van fusie. Geen van de deelnemers detecteerde een fusie.

2.3.5. Slaagpercentage van de deelnemers

Consensus voor de te rapporteren fusies

Slaagpercentage gebaseerd op consensus voor de te rapporteren fusies	N
3/3 (100%)	11
2/3 (66,67%)	4
Totaal slaagpercentage: 41/45 (91,11%)	

Consensus voor de niet te rapporteren fusies

Geen enkele fusie werd gerapporteerd door minder dan een derde van de deelnemers.

Biologische classificaties

Slaagpercentage van de deelnemers voor de classificaties voor de consensus voor de te rapporteren fusies	N
Biologische classificaties	
3/3 of 2/2 (100%)	15
Totaal slaagpercentage: - biologische classificaties : 41/41 (100%)	

3. BIJLAGE

3.1. Overzicht van de klinische conclusies voor stalen met fusie

Deze gegevens zijn de antwoorden ingegeven op de website <https://eqatoolkit.sciensano.be/NGS/> en werden hieruit geëxtraheerd. Om geen vertaalfouten te introduceren, werden de conclusies in de taal van het laboratorium behouden.

3.1.1. NGS-2023-7

RET fusies komen voor bij papillaire schildklier carcinoemen. Dit wijst op een vermoedelijke respons aan RET TKI behandeling. @1@	1
Er wordt een pathogene fusie in het RET gen aangetroffen: NCOA4 (NM_005437.3 exon7)::RET (NM_020975.6exon12). Deze fusie is beschreven in schildklier carcinoom waaronder papillair schildklier carcinoom en weinig gedifferentieerd schildklier carcinoom. Deze fusie is vaak geassocieerd aan radiatie-geassocieerde schildklier carcinoemen. Tumoren met een RET fusie kunnen in aanmerking komen voor therapie met een selectieve RET inhibitor zoals selpercatinib (Dovopivec, Ther Adv Med Oncol 2022). Dezelfde fusie is ook in borstcarcinooma, colorectaal carcinooma, longadenocarcinoom, intraductaal speekselklier carcinoom en in spindle cell tumor of soft tissues aangetoond. Dit moet derhalve gecorreleerd worden met de histologie van de tumor. (Santoro et al, Genes 2020; 11(4):424. @1@	2
Aanwezigheid van een NCOA4 (exon 7)::RET (exon 12) fusie. RET fusies zijn recurrent in schildklier carcinoemen. Indien klinisch geïndiceerd kunnen dergelijke tumoren mogelijk in aanmerking komen voor doelgerichte therapie met RET-inhibitoren. We verwijzen naar het pathologieverslag voor een definitieve interpretatie van deze gegevens in het licht van morfologische/immunologische gegevens. @1@	3
Des réarrangements du gène RET sont décrits dans 1 à 2% des carcinomes pulmonaires non à petites cellules. La FDA a récemment approuvé l'utilisation du selpercatinib et du pralsetinib pour le traitement des NSCLC métastatiques possédant une fusion du gène RET. L'EMA a récemment approuvé l'utilisation du selpercatinib (Retsevmo) en monothérapie dans le cas d'un cancer bronchique non à petites cellules avancé possédant une fusion du gène RET après traitement par immunothérapie et/ou chimiothérapie à base de platine. Drilon et al. Cancer Discovery (2013), 3 : 630-635. Ferrara et al., J. Thor. Oncol. (2017) 13 (1) : 27-45. Mycancergenome.org @1@	4
Présence du transcrit de fusion : NCOA4::RET Ce transcrit pathogène est de signification clinique avérée. Réf : https://www.nature.com/articles/s41574-021-00470-9 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32326537/ https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2020/fda-selpercatinib-thyroid-lung-cancer-ret-alterations#:~:text=RET%20alterations%20are%20rare%20in%20cancer%20overall%20but,of%20another%20gene%2C%20known%20as%20RET%20fusion%E2%80%93positive%20cancer. Remarque : Les gènes PAX8/PPAR? ne sont pas inclus dans le panel utilisé. @1@	5
Er werd een pathogene NCOA4::RET fusie gedetecteerd. De aanwezigheid van deze fusie in schildklier carcinooma heeft significant klinisch belang (tier I) aangezien activerende RET fusies geassocieerd zijn met een verhoogde gevoeligheid aan RET inhibitor Selpercatinib en Pralsetinib (NCCN guidelines Thyroid cancer v4.2023; PMID:32846061, 34118198, 35756966). @1@	6

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

3.1.2. NGS-2023-8

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

3.1.3. NGS-2023-9

<p>Er wordt een pathogene fusie aangetroffen: TPM3 (NM_153649.4 exon7)::NTRK1 (NM_002529.3 exon 10). NTRK fusies zijn beschreven in papillair schildkliercarcinoom, vooral in pediatrische patiënten, in weinig gedifferentieerd schildkliercarcinoom en anaplastisch schildkliercarcinoom. Schildkliertumoren met een NTRK1 fusie zijn geassocieerd met multifocale letsels en meer agressief biologisch gedrag. (Pekova et al, Cancers 2021; 13(8):1932.) Dit moet gecorreleerd worden met de histologie van de tumor en de kliniek. Schildkliertumoren met een NTRK1 fusie kunnen in aanmerking komen voor therapie met een TRK inhibitor zoals larotrectinib.</p> <p>Disclaimer: het staal is suboptimaal: toont iets te weinig reads maar wel goede kwaliteit RNA waardoor de fusie wel weerhouden werd voor rapportering.@1@</p>	1
<p>Aanwezigheid van een TPM3 (exon 7)::NTRK1 (exon 10) fusie. Patiënten met vaste tumoren waarbij pathogene fusies voorkomen met betrokkenheid van NTRK1, een receptor tyrosine kinase, kunnen in aanmerking komen voor behandeling met doelgerichte therapie (Drilon A et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. NEJM 2018).We verwijzen naar het pathologieverslag voor een definitieve interpretatie van deze gegevens in het licht van morfologische/immunologische gegevens.@1@</p>	2
<p>Les gènes de fusion impliquant un des 3 gènes NTRK (NTRK1, 2 ou 3) sont des altérations rarement décrites dans les tumeurs solides. La FDA a approuvé l'usage du larotrectinib pour les patients présentant une tumeur solide avec une fusion d'un des gènes NTRK1, NTRK2 ou NTRK3. www.cbiportal.org Okamura et al., JCO (2018)@1@</p>	3
<p>Présence du transcrit de fusion : TPM3::NTRK1</p> <p>Ce transcrit pathogène est de signification clinique avérée.</p> <p>Réf : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33923728/ https://ascopubs.org/doi/full/10.1200/PO.21.00442</p> <p>Remarque : Les gènes PAX8/PPAR? ne sont pas inclus dans le panel utilisé.@1@</p>	4
<p>Er werd een pathogene TPM3::NTRK1 fusie geïdentificeerd De aanwezigheid van dit type fusiegen heeft significant klinisch belang (tier I) in schildkliercarcinoom gezien de associatie met verhoogde gevoeligheid op TRK inhibitoren zoals entrectinib en larotrectinib (NCCN guidelines Thyroid cancer v4.2023; PMID: 29466156, 31838007, 37548775).@1@</p>	5
<p>NTRK1/2/3-fusies komen voor in verschillende tumortypes met een incidentie van ongeveer 0.1-2%. De aanwezigheid van de pathogene TPM3::NTRK1 fusie is een biomarker voor de respons op TRK kinases inhibitoren waaronder larotrectinib en entrectinib (op voorwaarde dat er geen gekende resistentie mechanismes aanwezig zijn). Suggestieve clinical trial; TAPISTRY (NCT04589845)@1@</p>	6
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van een TPM3::NTRK1 fusietranscript. NTRK fusies zijn recurrent in schildkliercarcinoom en zijn geassocieerd met verhoogde gevoeligheid voor NTRK-selectieve inhibitoren [1-2].</p> <p>[1] PMID: 31375766 [2] NCCN Guidelines Thyroid carcinoma v4.2023@1@</p>	7
<p>In het onderzochte staal werd een NTRK fusie teruggevonden. Tumoren met NTRK1/2/3 fusies hebben bewezen gevoeligheid voor NTRK inhibitotherapie. Te correleren met histologische resultaten en kliniek. Kwaliteit van het staal voldoet aan de criteria.@1@</p>	8
<p>Er werd een pathogene TPM3::NTRK1 genfusie gedetecteerd met een significant klinisch belang (Tier I). NTRK fusies zijn recurrent in schildkliercarcinoom [1-2]. De aanwezigheid van een NTRK fusie wijst op gevoeligheid voor NTRK-selectieve inhibitoren [2].</p> <p>[1] PMID: 31375766 [2] NCCN Guidelines Thyroid carcinoma v4.2023@1@</p>	9

<p>Besluit Pathogene TPM3::NTRK1 fusie gedetecteerd. De aanwezigheid van een pathogene NTRK1 fusie is indicatief voor klinische respons op selectieve NTRK inhibitie (eg. Larotrectinib en Entrectinib) (Drilon et al. NEJM 2018).</p> <p>Geassocieerde therapeutische opties Afwijking Medicatie Gevoelig / Resistent OncoKB Level TPM3::NTRK1 Entrectinib Gevoelig 1 TPM3::NTRK1 Larotrectinib Gevoelig 1@1@</p>	10
<p>Présence d'une fusion NTRK (1) caractérisant un carcinome thyroïdien cliniquement plus agressif. Thérapie avec des inhibiteurs sélectifs de Trk recommandée (p.ex. larotrectinib, entrectinib, ...)</p> <p>Points de cassure : chr1:154142876,chr1:156844363 Fusion "in frame".@1@</p>	11
<p>Nous avons recherché par RNASeq des translocations impliquant les gènes repris à la fin du protocole.</p> <p>Une fusion de type TPM3::NTRK1 a été détectée dans ce prélèvement.</p> <p>Les fusions concernant les gènes NTRK montrent des prévalences variables (Kim et al. PLoS One, 2014 ; Okamura et al. JCO Precis Oncol, 2018 ; Cocco et al. Nat Rev Clin Oncol, 2018)) : e.g : mélanome (0,21%), cancer colorectal (1%), adénocarcinome pulmonaire (0.2-3%), cancer des glandes salivaires analogue au carcinome mammaire sécrétoire (93-100%), gliomes de haut grade pédiatriques (10%), carcinome épidermoïde de la tête et du cou (0.5%), fibrosarcome infantile (70-90%), glioblastomes (1%).</p> <p>Les inhibiteurs TRK de première génération (Larotrectinib et Entrectinib) sont approuvés par l'EMA. Ces inhibiteurs montrent des taux de réponse et effets durables dans tout type de tumeur de type NTRK positif (ORR :75-87%, PFS : 67%, OS 72% (études cliniques NAVIGATE (NCT02576431), LOXO-TRK-14001 (NCT02122913) et SCOUT (NCT02637687)).</p> <p>Une nouvelle génération anti-TRK est en développement suite à l'apparition des résistances dans certains cas (LOXO-195 et Repotrectinib) (Siozopoulou et al. 2022, Pathol Oncol Res).</p> <p>Le prélèvement a été analysé avec le kit LUNG FusionPlex (ARCHER®) pour la détection des translocations reprenant les 14 gènes de la liste suivante : ALK, BRAF, EGFR, FGFR1, FGFR2, FGFR3, MET, KRAS, NRG1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, RET, ROS1.@1@</p>	12
<p>Ce gène de fusion, préférentiellement retrouvé dans les cancers papillaires, est prédictif de sensibilité aux inhibiteurs NTRK1 tels que larotrectinib et entrectinib dans les carcinomes thyroïdiens de stade avancé, récurrents et ou métastatiques et a été détecté avec la technique utilisée (RNA Seq)..@1@</p>	13
<p>Met NGS op RNA werd een fusie van NTRK1, een receptor tyrosine kinase, type TPM3::NTRK1, gedetecteerd. NTRK1 fusies zijn zeldzaam in schildklieren (< 1 %). Dit resultaat is predictief voor een goede respons op TRK-inhibitoren, zoals larotrectinib en entrectinib.@1@</p>	14

3.2. Interpretatie van het individueel rapport

Naast dit algemene rapport kreeg u ook een individueel rapport. Hieronder vindt u informatie die kan helpen bij de interpretatie van dit rapport. De positie van uw kwantitatieve resultaten wordt gegeven in vergelijking met alle resultaten van alle deelnemers en alle methoden samen.

De volgende gegevens worden vermeld:

- Uw resultaat (R)
- De mediaan (MAF):
de middenwaarde van de resultaten van alle laboratoria en alle methoden samen.
- De algemene standaarddeviatie (SD):
de maatstaf van de spreiding van de resultaten van alle laboratoria, alle methoden samen.
- De Z-score:
het verschil tussen uw resultaat en de mediaan (uitgedrukt in standaarddeviatie-eenheden):
 $Z = (R - MAF) / SD$.
Uw resultaat wordt genoemd als **IZI > 3**.
- De grafische interpretatie van de positie van uw resultaat (R) in vergelijking met alle resultaten van alle deelnemers, gebaseerd op de methode van Tukey, voor elke parameter en voor elk geanalyseerd staal.

Deze parameters geven u een ruwe indicatie van de positie van uw resultaat (R) ten opzichte van de mediaan (MAF).

U kan meer details vinden in de brochures die beschikbaar zijn op onze website op het volgende adres:

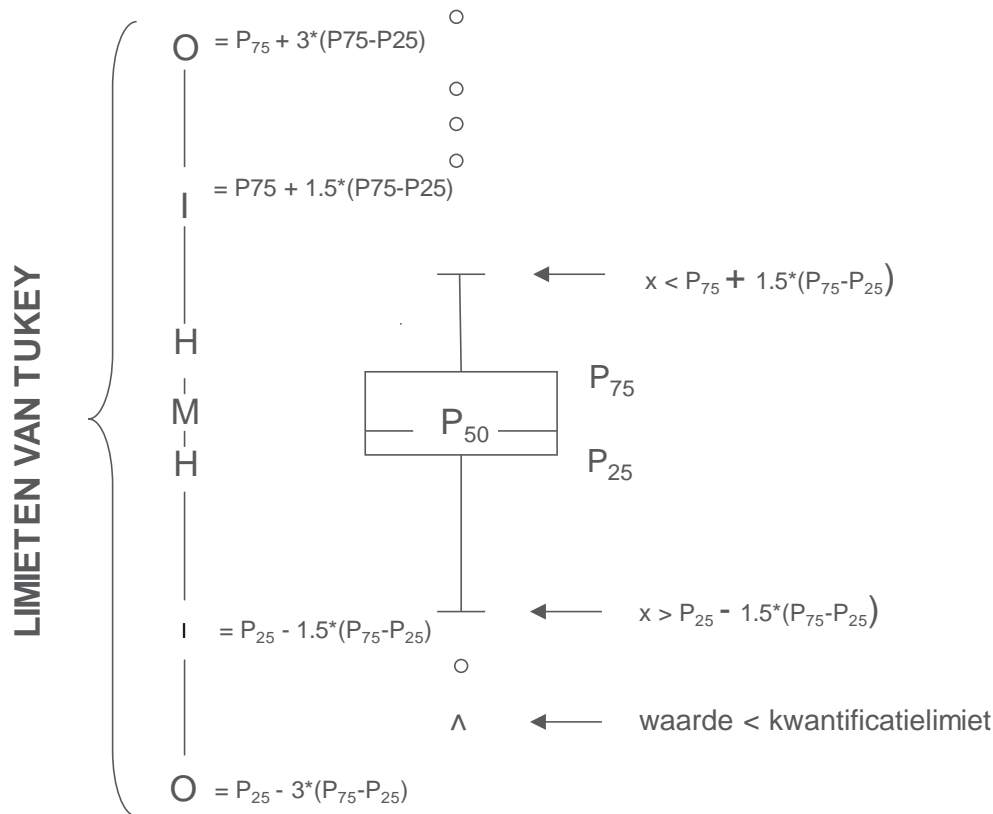
<https://www.sciensano.be/nl/externe-kwaliteitsevaluatie/klinische-gezondheid-eke-klinische-biologie>

- Algemene informatiebrochure EKE
- Statistische methoden gebruikt voor EKE
- Verwerking van gecensureerde waarden

Grafische voorstelling

Naast de tabellen met de resultaten, wordt er soms een grafische voorstelling van de resultaten als “box en whisker plot” toegevoegd. Zij bevat de volgende elementen:

- een rechthoek die gaat van percentiel 25 (P_{25}) tot percentiel 75 (P_{75})
- een centrale lijn die de mediaan van de resultaten voorstelt (P_{50})
- een ondergrens die de kleinste waarde voorstelt $x > P_{25} - 1.5 * (P_{75} - P_{25})$
- een bovengrens die de grootste waarde voorstelt $x < P_{75} + 1.5 * (P_{75} - P_{25})$
- alle punten buiten dit interval worden voorgesteld door een cirkel.



Overeenkomstige limieten in geval van een normale verdeling

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.