

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO's
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

***AD HOC* EXPERTENCOMITE**

GLOBAL RAPPORT

Next Generation Sequencing (NGS)

**NGS Benchmarking trial RNA-seq
Longtumoren**

2022/3

Sciensano/NGS Benchmarking trial-EKE/13-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	Enquêtecoördinator	TEL:	02/642.55.27		
		e-mail:	Aline.Antoniou@sciensano.be		
Vanessa Ghislain	Vervanger enquêtecoördinator	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	Vanessa.Ghislain@sciensano.be		
Experten	Instelling				
Anne-France Dekairelle	UCL				
Koen Jacobs	AZ-St-Lucas Hospital Ghent				
Suzan Lambin	UZ Antwerp				
Brigitte Maes	Jessa Hospital Hasselt				
Sara Vander Borght	UZ Leuven				
Suzanne Vanhauwaert	UZ Ghent				
Pascal Vannuffel	IPG				
Stefanie Vermeire	AZ Sint-Jan Brugge				
Thomas Delcourt	Sciensano				
Nicolas Loucheu	Sciensano				
Aline Hébrant	Sciensano				
Els Van Valckenborgh	Sciensano				
Mohamed Rida Soumali	Sciensano				
Marc Van Den Bulcke	Sciensano				

De voorlopige versies van dit rapport werden voorgelegd aan de experten op: 26/01/2023.

Dit rapport werd besproken in de vergadering van het *ad hoc* expertencomité van: 13/02/2023.

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 : 8/03/2023

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

INHOUDSTAFEL

1. INLEIDING	5
1.1. Doel.....	5
1.2. Uitbestede activiteit	5
1.3. Materiaal.....	5
1.4. Vraag.....	5
1.5. Evaluatiecriteria.....	7
2. RESULTATEN	8
2.1. Deelname	8
2.2. Overzicht van de methoden.....	8
2.3. Overzicht van de resultaten.....	12
2.3.1. NGS-2022-7	12
2.3.2. NGS-2022-8.....	14
2.3.3. NGS-2022-9.....	16
2.3.4. Slaagpercentage van de deelnemers.....	19
3. BIJLAGE	20
3.1. Overzicht van de klinische conclusies	20
3.1.1. NGS-2022-7	20
3.1.2. NGS-2022-8.....	22
3.1.3. NGS-2022-9.....	24
3.2. Interpretatie van het individueel rapport	26

1. INLEIDING

De organisatie van Benchmarking trials 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 Benchmarking trial 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

De 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).

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-2022-7, NGS-2022-8 en NGS-2022-9.

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

1.4. Vraag

De stalen moesten geanalyseerd worden volgens de in het laboratorium geldende procedures voor long adenocarcinoma stalen.

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#/>

staal	tumor	genen
NGS-2022-7 NGS-2022-8 NGS-2022-9	Long adenocarcinoom	ALK MET exon 14 skipping NTRK1, NTRK2, NTRK3 RET ROS1

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/het chromoso(o)m(en) die/dat betrokken zijn/is bij de chromosoomafwijking
 - Het NM nummer van transcript A
 - Het exon van transcript A dat betrokken is bij de chromosoomafwijking
 - Het NM nummer van transcript B
 - Het exon van transcript B dat betrokken is bij de chromosoomafwijking
 - 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 14 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

17 Belgische laboratoria waren ingeschreven voor de studie, waarvan er 14 tijdig hebben gereageerd en in de analyse van de resultaten zijn opgenomen.

Overzicht van de deelnemers

Regio	N
Vlaams Gewest	8
Brussels Hoofdstedelijk Gewest	4
Waals Gewest	2
Totaal	14

Laboratorium	N
Pathologische anatomie	6
Klinische biologie	6
Humane genetica	2
Totaal	14

2.2. Overzicht van de methoden

Q1. Welk referentiegenoom gebruikt u voor de analyse?

Antwoorden	N
hg19/GRCh37	11
hg38/GRCh38	3

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

Antwoorden	N
Illumina --- MiSeq	8
Illumina --- NovaSeq 6000	2
Illumina --- NextSeq 550	1
Illumina --- NextSeq 550Dx	1
ThermoFisher/Ion Torrent --- Ion GeneStudio S5	1
ThermoFisher/Ion Torrent --- Ion S5	1

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

Antwoorden	N
FusionPlex Lung, Archer	4
Ampliseq Focus RNA, Illumina	2
FusionPlex Comprehensive Thyroid & Lung (CTL), Archer	2
Oncomine Focus Assay, ThermoFisher	2
QIAseq Targeted RNA FusionXP Custom Panel, Qiagen	2
TruSight Oncology 500 HT, Illumina	1
Twist custom panel, Twist Bioscience	1

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

Antwoorden	N
Amplicon-based	12
Probe-based	2

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

Antwoorden	N
Paired-end	11
Single-end	3

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

Antwoorden	N
75	1
80	1
100	1
120	1
150	3
151	3
200	1
230	2
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
Illumina Local Run manager RNA Amplicon module	2
Ion Reporter (ThermoFisher)	2
Open source/in house development	1
TruSight Oncology 500 Local App	1

Opmerkingen: De bio-informatica tools die in *open source* worden gebruikt zijn: STAR-fusion + CTAT-splicing + HAMLET.

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
PubMed	9
FusionGDB	8
COSMIC	6
Archer Quiver™	5
Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology	5
tertiaire analyse uitgevoerd door de software van de secundaire analyse - geen gebruik van een extra database	4
Mitelman	4
Alamut	2
cBioPortal	2
ClinVar	2
OncoKB	2
Alamut	1
ChimerDB	1

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

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

Opmerkingen: In sommige laboratoria wordt een extra criterium gebruikt om fusies te valideren: 'average sequencing depth of reference genes '.

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

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

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

Antwoorden	N
Paraffineweefsel	14
Beenmerg	3
Bloed	3
Vers weefsel	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	4
11-50ng	4
51-100ng	2
>101ng	4

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

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

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

Antwoorden	N
Qubit	13
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	5
TapeStation, Agilent	3

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

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

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

Antwoorden	N
Ja 2021	7
Ja 2019	5
Nee 2023	2

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

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

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

Antwoorden	N
Longcarcinoom	14
Schildklier carcinoom	12
Glioom	9
Sarcoom	7

2.3. Overzicht van de resultaten

2.3.1. NGS-2022-7

type primaire tumor en histologie long adenocarcinoom

Consensus voor te-rapporteren fusies

- ETV6::NTRK3*; t(12;15); exon A: 5; exon B: 15

<i>ETV6::NTRK3</i>; t(12;15); exon A: 5; exon B: 15 (Mediaan aantal reads: 156.5)	
Identificatie van de fusie	N
Ja	14
Neen	0
Biologische classificatie	N
Pathogeen	14
Totaal	14

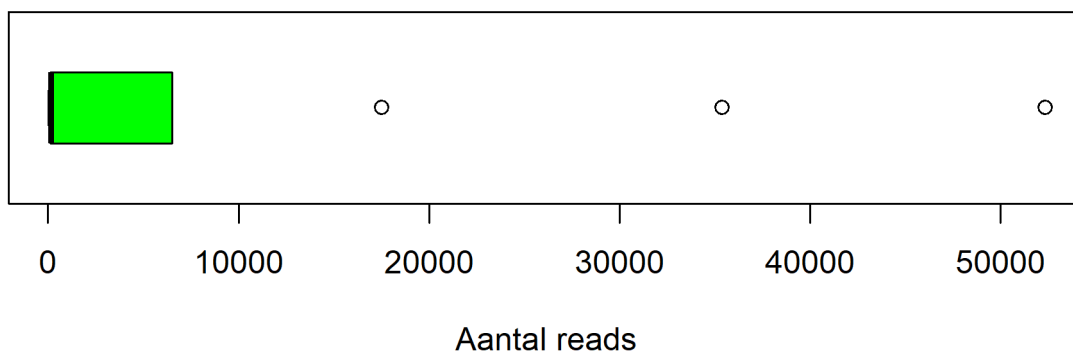
Opmerkingen: Voor dit staal is de bereikte consensus de identificatie van de fusie *ETV6::NTRK3*; t(12;15); exon A: 5; exon B: 15. Voor de biologische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie pathogeen.

Analyse NM:

<i>ETV6::NTRK3</i> Transcript A	N
NM_001987.4	5
NM_001987.5	5
NM_001987	3
NM_12022903	1
<i>ETV6::NTRK3</i> Transcript B	N
NM_002530	4
NM_002530.4	4
NM_001012338.3	3
NM_002530.3	2
NM_88483984	1

Aantal reads met de fusie gesequencet door de deelnemers:

***ETV6::NTRK3*; t(12;15); exon A: 5; exon B: 15**



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

Analyse van de conclusies:

Standaardinformatie	Specifieke informatie van casus 1 opgenomen in de algemene conclusie door tenminste 2 laboratoria	Laboratoria
Therapie	Indicatie voor gevoeligheid aan NTRK tyrosine kinase inhibitoren gerelateerd aan de aanwezigheid van de <i>NTRK3</i> fusie (Entrectinib, Larotrectinib) - Door de FDA en de EMA goedgekeurde NTRK tyrosine kinase inhibitoren voor vaste tumoren met <i>NTRK</i> fusie - Patiënt komt in aanmerking voor therapie met NTRK tyrosine kinase inhibitoren gerelateerd aan de aanwezigheid van de <i>NTRK3</i> fusie	12
Informatie over de geteste genen	<i>NTRK3</i> genherschikkingen zeldzaam in NSCLCs (<1%)	5

type primaire tumor en histologie long adenocarcinoom**Consensus voor te-rapporteren fusies**

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

<i>MET</i> exon 14 skipping; t(7;7); exon A: 13; exon B: 15 (Mediaan aantal reads: 186)	
Identificatie van de fusie	N
Ja	14
Neen	0
Biologische classificatie	N
Pathogeen	14
Totaal	14

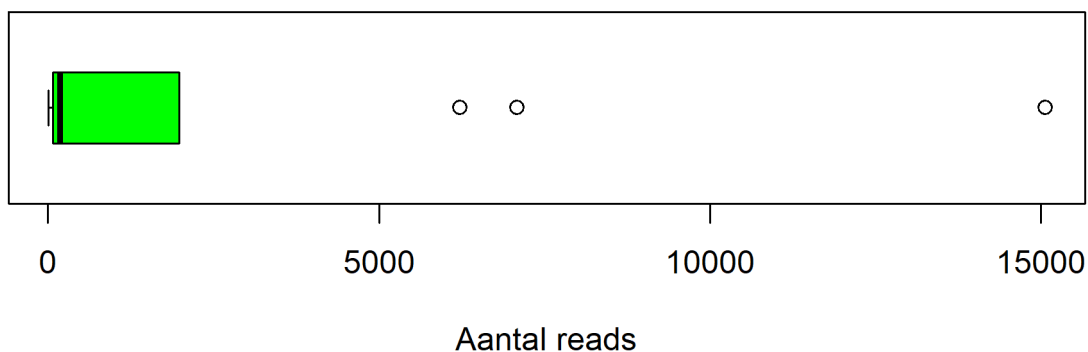
Opmerkingen: Voor dit staal is de bereikte consensus de identificatie van de *MET* exon skipping; t(7;7); exon A: 13; exon B: 15. Voor de biologische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie pathogeen.

Analyse NM:

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

Aantal reads met de fusie gesequencet door de deelnemers:

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



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

Analyse van de conclusies:

Standaardinformatie	Specifieke informatie van casus 2 opgenomen in de algemene conclusie door tenminste 2 laboratoria	Laboratoria
Therapie	Indicatie voor gevoeligheid aan MET tyrosine kinase inhibitoren gerelateerd aan de aanwezigheid van de <i>MET</i> exon 14 skipping (Capmatinib, Tenotinib, Crizotinib) - Door de FDA en de EMA goedgekeurde MET tyrosine kinase inhibitoren voor NSCLCs met <i>MET</i> exon 14 skipping - Patiënt komt in aanmerking voor therapie met MET tyrosine kinase inhibitoren gerelateerd aan de aanwezigheid van de <i>MET</i> exon 14 skipping	12
Informatie over de geteste genen	<i>MET</i> exon 14 skipping in 3-4% van de long adenocarcinoom	3

type primaire tumor en histologie long adenocarcinoom**Consensus voor te-rapporteren fusies**

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

<i>TP53::NTRK1</i>; t(17;1); exon A: 8; exon B: 8 (Mediaan aantal reads: 18.5)	
Identificatie van de fusie	N
Ja	10
Neen	4
Biologische classificatie	N
Pathogeen	10
Totaal	10

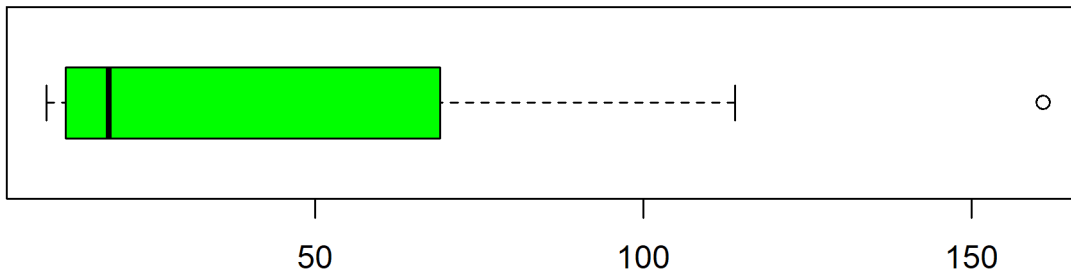
Opmerkingen: Voor dit staal is de bereikte consensus de identificatie van de fusie *TP53::NTRK1*; t(17;1); exon A: 8; exon B: 8. 4 laboratoria hebben deze fusie niet gerapporteerd omdat deze fusie niet aanwezig is in hun analysepaneel. Voor de biologische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie pathogeen.

Analyse NM:

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

Aantal reads met de fusie gesequencet door de deelnemers:

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



Aantal reads

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

Bioinformatica-analyse van gegevens van laboratoria die de NTRK1 fusie *niet* rapporteerden:

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

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

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

Analyse van de conclusies:

Standaardinformatie	Specifieke informatie van casus 3 opgenomen in de algemene conclusie door tenminste 2 laboratoria	Laboratoria
Therapie	Indicatie voor gevoeligheid aan NTRK tyrosine kinase inhibitoren gerelateerd aan de aanwezigheid van de <i>NTRK1</i> fusie (Entrectinib, Larotrectinib) - Door de FDA en de EMA goedgekeurde NTRK tyrosine kinase inhibitoren voor vaste tumoren met <i>NTRK</i> fusie - Patiënt komt in aanmerking voor therapie met NTRK tyrosine kinase inhibitoren gerelateerd aan de aanwezigheid van de <i>NTRK1</i> fusie	8
Informatie over de geteste genen	<i>NTRK1</i> genherschikkingen zeldzaam in NSCLCs (<1%)	4

2.3.4. Slaagpercentage van de deelnemers

Consensus voor de te rapporteren fusies

Slaagpercentage gebaseerd op consensus voor de te rapporteren fusies	N
3/3 (100%)	10
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%)	14
Totaal slaagpercentage: - biologische classificaties : 41/41 (100%)	

3. BIJLAGE

3.1. Overzicht van de klinische conclusies

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. Eén laboratorium heeft niet voor elk staal de gevraagde algemene conclusies gegeven.

3.1.1. NGS-2022-7

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

<p>De aanwezigheid van dit type fusiegen is klinisch relevant (tier I) en maakt therapie op basis van NTRK inhibitoren mogelijk (PMID: 19883730, PMID: 30333516).</p>	7						
<p>Er werd een pathogene ETV6::NTRK3 genfusie gedetecteerd. NTRK fusies komen voor in 0,2% van de gevallen van NSCLC. De aanwezigheid van een NTRK fusie wijst op gevoeligheid voor NTRK inhibitoren [1].</p> <p>[1] NCCN guidelines Non-Small Cell Lung Cancer V6.2022</p>	8						
<p>RNA analyse in een staal waarbij geen enkele driver mutatie werd gevonden.</p> <p>Bevindingen met sterke klinische betekenis: In het onderzochte staal werd een NTRK fusie teruggevonden (ETV6::NTRK3). Tumoren met NTRK1/2/3 fusies hebben bewezen gevoeligheid voor NTRK inhibitietherapie (entrectinib, larotrectinib).</p> <p>Expressiecontroles voldoen aan de criteria.</p>	9						
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van een ETV6::NTRK3 fusietranscript. NTRK fusies komen voor in ongeveer 0.2% van patiënten met NSCLC. Deze generschikking is geassocieerd met respons op therapie met een TRK-inhibitor.</p> <p>NCCN guidelines Non-Small Cell Lung Cancer Version 5.2022</p>	10						
<p>NTRK-fusie positief. De aanwezigheid van deze fusie is indicatief voor klinische respons op selectieve NTRK inhibitie (eg. Larotrectinib en entrectinib) (Drlon et al., NEJM 2018).</p> <p>Geassocieerde therapeutische opties:</p> <table border="0" data-bbox="199 1086 949 1144"> <tr> <td>Afwijking</td> <td>Medicatie</td> <td>Gevoelig / Resistent OncoKB Level</td> </tr> <tr> <td>ETV6::NTRK3</td> <td>Larotrectinib</td> <td>Gevoelig 1</td> </tr> </table>	Afwijking	Medicatie	Gevoelig / Resistent OncoKB Level	ETV6::NTRK3	Larotrectinib	Gevoelig 1	11
Afwijking	Medicatie	Gevoelig / Resistent OncoKB Level					
ETV6::NTRK3	Larotrectinib	Gevoelig 1					
<p>Traitement possible avec un inhibiteur (pan)-TRK (larotrectinib, entrectinib, - liste non exhaustive).</p> <p>Breakpoints position : chr12:12022903 et chr15:88483984</p>	12						
<p>Les fusions concernant les gènes NTRK montrent des prévalences variables (Kim et al. PLoS One, 2014 ; Okamura et al. JCO Precis Oncol, 2018 ; Cocco et al. Nat Rev Clin Oncol, 2018)) : e.g : mélanome (0,21%), cancer colorectal (1%), adénocarcinome pulmonaire (0.2-3%), cancer des glandes salivaires analogue au carcinome mammaire sécrétoire (93-100%), gliomes de haut grade pédiatriques (10%), carcinome épidermoïde de la tête et du cou (0.5%), fibrosarcome infantile (70-90%), glioblastomes (1%).</p> <p>Les inhibiteurs TRK de première génération (Larotrectinib et Entrectinib) sont approuvés par l'EMA. Ces inhibiteurs montrent des taux de réponse et effets durables dans tout type de tumeur de type NTRK positif (ORR :75-87%, PFS : 67%, OS 72% (études cliniques NAVIGATE (NCT02576431), LOXO-TRK-14001 (NCT02122913) et SCOUT (NCT02637687)).</p> <p>Une nouvelle génération anti-TRK est en développement suite à l'apparition des résistances dans certains cas (LOXO-195 et Repotrectinib) (Siozopoulou et al. 2022, Pathol Oncol Res).</p>	13						
<p>Er werd een NTRK3 fusie type ETV6::NTRK3 gedetecteerd wat predictief is voor goede respons op TRK-inhibitoren.</p>	14						

3.1.2. NGS-2022-8

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

<p>RNA analyse in een staal waarbij geen enkele driver mutatie werd gevonden.</p> <p>Bevindingen met sterke klinische betekenis: Er werd een pathogene variant gedetecteerd in exon 14 van het MET gen (exon 14 skipping variant). Patiënten met niet kleincellige longtumoren met dergelijke variant komen in aanmerking voor behandeling met MET inhibitietherapie. Expressiecontroles voldoen aan de criteria.</p>	9												
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van een MET exon 14 skipping variant. MET exon 14 skipping mutaties komen voor in 3 - 4% van de patiënten met long adenocarcinoma. Deze variant is geassocieerd met repons op MET tyrosine kinase inhibitoren.</p> <p>NCCN guidelines Non-Small Cell Lung Cancer Version 5.2022</p>	10												
<p>MET exon 14 skipping gedetecteerd op RNA niveau. Indicatief voor MET/ALK selectieve inhibitie Tepotinib, Capmatinib).</p> <p>Referenties: Capmatinib (INC280) in MET^{ex14}-mutated advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): Efficacy data from the phase II GEOMETRY mono-1 study. Wolf et al., JCO 2019). Tepotinib in Non-Small-Cell Lung Cancer with MET Exon 14 Skipping Mutations. Paik et al., NEJM 2020.</p> <p>Geassocieerde therapeutische opties</p> <table border="1" data-bbox="199 869 917 949"> <thead> <tr> <th>Afwijking</th> <th>Medicatie</th> <th>Gevoelig / Resistent</th> <th>OncoKB Level</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>METx14del</td> <td>Capmatinib</td> <td>Gevoelig</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>METx14del</td> <td>Tepotinib</td> <td>Gevoelig</td> <td>1</td> </tr> </tbody> </table>	Afwijking	Medicatie	Gevoelig / Resistent	OncoKB Level	METx14del	Capmatinib	Gevoelig	1	METx14del	Tepotinib	Gevoelig	1	11
Afwijking	Medicatie	Gevoelig / Resistent	OncoKB Level										
METx14del	Capmatinib	Gevoelig	1										
METx14del	Tepotinib	Gevoelig	1										
<p>Les mutation "MET exon 14 skipping" sont associées à une activité clinique des inhibiteurs spécifiques du gène MET (crizotinib, capmatinib, ... - liste non exhaustive).</p> <p>Breakpoints position : chr7:116411708 et chr7:116414935</p>	12												
<p>La présence d'un évènement d'exon skipping dans l'exon 14 de MET est corrélée à une sensibilité accrue aux inhibiteurs de MET (Awad et al., JCO 2016; Reungwetwattana et al.2018 , Lung cance; Wuan et al. 2018, J Clin Onc ; Gowet al. 2018, Neoplasia,), tel que le Tepmetko® (molécule active : tepotinib) ou le Tabrecta® (molécule active : capmatinib)(approuvés par l'EMA). D'après l'étude clinique en Phase II « VISION » (2020), le tepotinib montre une ORR de 46% et une DOR de 11 mois. D'après l'étude en phase II, GEOMETRY, le capmatinib montre une ORR=41-68% et une DOR=10-13 mois.</p>	13												
<p>Er werd een MET exon 14 skipping mutatie gedetecteerd wat predictief is voor goede repons op MET-inhibitoren.</p>	14												

3.1.3. NGS-2022-9

<p>Er wordt een TP53::NTRK1 fusie transcript gedetecteerd: TP53 [NM_000546.6] exon 8::NTRK1 [NTRK1: NM_002529.4] exon 8.</p> <p>Conclusie: Aanwezigheid van een TP53 (exon 8)::NTRK1 (exon 8) fusie. Patiënten met gevorderde of gemetastaseerde solide tumoren die een neurotrofe tyrosinereceptorkinase (NTRK)-genfusie vertonen kunnen in aanmerking komen voor behandeling met doelgerichte therapie zoals entrectinib of larotrectinib (Drlon A et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. NEJM 2018; Demetri GD et al. Updated Integrated Analysis of the Efficacy and Safety of Entrectinib in Patients With NTRK Fusion-Positive Solid Tumors. Clin Cancer Res 2022).</p>	1												
<p>Réarrangement pathogénique détecté dans ce prélèvement.</p>	2												
<p>Présence du transcrit de fusion : TP53 (exon 8) - NTRK1 (exon 8).</p> <p>Ce transcript est classé biologiquement comme pathogénique et est de signification clinique avérée dans cette pathologie.</p> <p>Réf : https://www.nature.com/articles/s41416-021-01536-1.pdf?proof=t+target%3D https://www.jto.org/article/S1556-0864(22)01404-6/fulltext#relatedArticles https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2022.864666/full https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31761448/ https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34861380/</p>	3												
<p>NTRK1/2/3 fusies zijn eerder zeldzaam in niet-kleincellige longkanker (<1%) (Liu et al. Front Oncol 2022). De aanwezigheid van een NTRK1 fusie wordt in het algemeen geassocieerd met een goede respons op TRK-inhibitoren waaronder larotrectinib of entrectinib (Doebele Lancet Oncol 2020, Drlon et al. NEJM 2018). TP53::NTRK1 fusies werden reeds beschreven in spitz tumoren en spitzoïde melanomen (Wiesner et al. Nat Commun 2014).</p>	4												
<p>De aanwezigheid van dit type fusiegen is klinisch relevant (tier I) en maakt therapie op basis van NTRK inhibitoren mogelijk (PMID: 19883730, PMID: 30333516).</p>	5												
<p>Er werd een pathogene TP53::NTRK1 genfusie gedetecteerd. NTRK fusies komen voor in 0,2% van de gevallen van NSCLC. De aanwezigheid van een NTRK fusie wijst op gevoeligheid voor NTRK inhibitoren [1].</p> <p>[1] NCCN guidelines Non-Small Cell Lung Cancer V6.2022</p>	6												
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van een TP53::NTRK1 fusietranscript. NTRK fusies komen voor in ongeveer 0.2% van patiënten met NSCLC. Deze genherschikking is geassocieerd met respons op therapie met een TRK-inhibitor.</p> <p>NCCN guidelines Non-Small Cell Lung Cancer Version 5.2022</p>	7												
<p>TP53::NTRK1 fusie positief (exon8::exon9). De aanwezigheid van deze fusie is indicatief voor klinische respons op selectieve NTRK inhibitie (eg. Larotrectinib en Entrectinib, FDA-goedgekeurd) (Drlon et al., NEJM 2018).</p> <p>Geassocieerde therapeutische opties</p> <table border="1" data-bbox="162 1675 890 1765"> <thead> <tr> <th>Afwijking</th> <th>Medicatie</th> <th>Gevoelig / Resistent</th> <th>OncoKB Level</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>TP53::NTRK1</td> <td>Entrectinib</td> <td>Gevoelig</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>TP53::NTRK1</td> <td>Larotrectinib</td> <td>Gevoelig</td> <td>1</td> </tr> </tbody> </table>	Afwijking	Medicatie	Gevoelig / Resistent	OncoKB Level	TP53::NTRK1	Entrectinib	Gevoelig	1	TP53::NTRK1	Larotrectinib	Gevoelig	1	8
Afwijking	Medicatie	Gevoelig / Resistent	OncoKB Level										
TP53::NTRK1	Entrectinib	Gevoelig	1										
TP53::NTRK1	Larotrectinib	Gevoelig	1										
<p>Traitement possible avec un inhibiteur (pan)-TRK (larotrectinib, entrectinib, - liste non exhaustive).</p> <p>Breekpoints position : chr17:7577019 et chr1:156843425</p>	9												

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

3.2. 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):
 $Z = (R - \text{MAF}) / \text{SD}$
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:

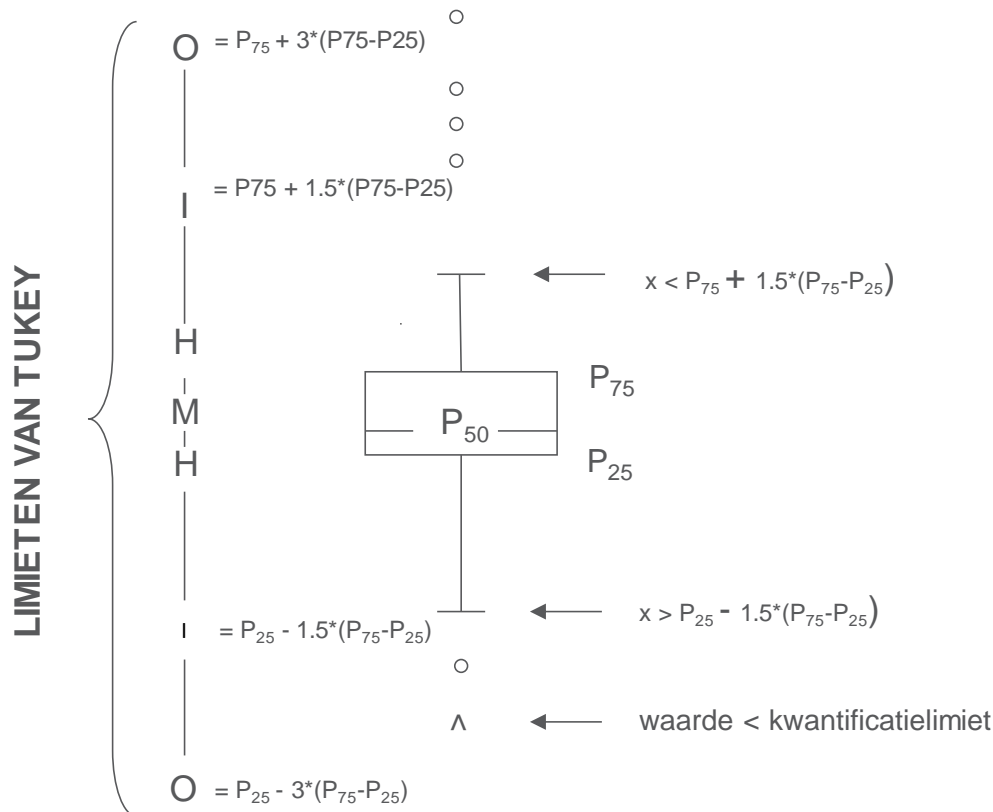
<https://www.sciensano.be/nl/externe-kwaliteitsevaluatie/klinische-gezondheid-eke-klinische-biologie>

- 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 2023.

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.