

**EXPERTISE EN DIENSTVERLENING
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

***AD HOC* EXPERTENCOMITE**

**DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT
Next Generation Sequencing (NGS)**

Hematologische maligniteiten

2021/2

Sciensano/NGS EKE/9-NL

Expertise en dienstverlening
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
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				
Elke Boone	AZ Delta Hospital Roeselare				
Katrien De Mulder	AZ-St-Lucas Hospital Ghent				
Barbara Denys	UZ Ghent				
Barbara Dew aele	UZ Leuven				
Laurent Dew ispelaere	LHUB-ULB				
Guy Froyen	Jessa Hospital Hasselt				
Barbara Lambert	IPG				
Marie Le Mercier	UZ Antwerp				
Matthijs Vynck	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: 16/09/2021, 23/09/2021, 29/09/2021 en 08/10/2021.

Dit rapport werd besproken in de vergadering van het *ad hoc* expertencomité van: 05/10/2021.

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 verspreiding rapport: Door Aline Antoniou, enquêtecoördinator van de NGS, op 26/11/2021.

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:
https://www.wiv-isp.be/QML/activities/NGS/nl/rapports_annee.htm

INHOUDSTAFEL

1. INLEIDING.....	5
1.1. Doel van de EKE – hematologische maligniteiten.....	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.....	11
2.3.1. NGS-2021-4.....	11
2.3.2. NGS-2021-5.....	13
2.3.3. NGS-2021-6.....	15
2.3.4. Slaagpercentage van de deelnemers.....	17
3. BIJLAGE.....	18
3.1. Overzicht van de klinische conclusies.....	18
3.1.1. NGS-2021-4.....	18
3.1.2. NGS-2021-5.....	20
3.1.3. NGS-2021-6.....	24
3.2. Interpretatie van het individueel rapport.....	27

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 van de EKE – hematologische maligniteiten**

Deze EKE heeft als doel de stand van zaken na te gaan betreffende de wijze waarop somatische varianten in de hematologische maligniteiten worden gedetecteerd, geselecteerd en gerapporteerd in het patiënten rapport.

1.2. **Uitbestede activiteit**

De genomische DNA-stalen werden geproduceerd door de firma SeraCare en werden verdeeld door de firma Sopachem.

1.3. **Materiaal**

Het materiaal voor deze studie bestond uit:

- 3 tubes genomisch DNA (Volume: 10µl, Concentratie: ongeveer 50 ng/µl), afkomstig van 3 verschillende stalen met de volgende referentie: NGS-2021-4, NGS-2021-5 en NGS-2021-6.

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 de volgende maligniteiten:

NGS-2021-4: Myelodysplastisch syndroom (MDS)

NGS-2021-5: Acute myeloïde leukemie (AML)

NGS-2021-6: Primaire myelofibrose (PMF)

Voor elk staal werd er gevraagd om alle varianten 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 regio's die zijn beschreven in de NGS overeenkomst en volgens de ComPerMed workflows (dus niet de andere eventueel geïdentificeerde varianten) :

<https://www.inami.fgov.be/nl/professionals/verzorgingsinstellingen/laboratoria/Paginas/oncologie-terugbetaling-moleculair-biologische-ngs.aspx>

<https://www.compermed.be/nl/workflows#/>

Er werd echter gevraagd om de varianten die identiek aanwezig zijn in de 3 stalen NIET te rapporteren, zoals bijvoorbeeld de variant DNMT3A; NM_175629.2; c.2732G>A; p.(Cys911Tyr). Dit zijn varianten gerelateerd aan de genetische background van de cellijn, die wordt gebruikt om de stalen te produceren, en worden niet geëvalueerd.

staal	tumor	genen
NGS-2021-4	MDS	ASXL1 (exon 13 = laatste exon) DNMT3A (exon 8-23) EZH2 (exon 2-20 = volledig) RUNX1 (exon 2-9 = volledig) SF3B1 (exon 14, exon 15) SRSF2 (exon 1-codon 95) TET2 (exon 3, exon 9-11) TP53 (exon 2-11) U2AF1 (exon 2-codon 34, exon 6-codon 157)
NGS-2021-5	AML	ASXL1 (exon 13 = laatste exon) CEBPA (exon 1 = volledig) DNMT3A (exon 8-23) FLT3 (exon 14, exon 15, exon 20-codon 835) IDH1 (exon 4-hotspot) IDH2 (exon 4-hotspot) KIT (exon 8, exon 10, exon 17) NPM1 (exon 11-codon 288) RUNX1 (exon 2-9 = volledig) TET2 (exon 3, exon 9-11) TP53 (exon 2-11) WT1 (exon 7, exon 9)
NGS-2021-6	PMF	ASXL1 (exon 13 = laatste exon) CALR (exon 9) EZH2 (exon 2-20 = volledig) IDH1 (exon 4-hotspot) IDH2 (exon 4-hotspot) JAK2 (exon 12-F537_I546, exon 14-codon 617) MPL (exon 10) SF3B1 (exon 14, exon 15) SRSF2 (exon 1-codon 95) TET2 (exon 3, exon 9-11) TP53 (exon 2-11) U2AF1 (exon 2-codon 34, exon 6-codon 157)

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://qml.wiv-isp.be/NGS/20212> werd er aan de deelnemers gevraagd:

- De vragenlijst met betrekking tot de analysemethode in te vullen.
- De gevraagde parameters in te voeren voor elke geïdentificeerde en in het klinisch rapport gerapporteerde variant:
 - Naam van het gen en het bijhorend NM nummer (multiple choice)
 - Referentie nomenclatuur van de coderende DNA sequentie volgens HGVSn: <http://varnomen.hgvs.org/>
 - Referentie nomenclatuur van de proteïne sequentie volgens HGVS_p: <http://varnomen.hgvs.org/>
 - Allelfrequentie
 - Biologische classificatie (multiple choice)
 - Klinische classificatie (multiple choice)
- 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, bam, bai en vcf bestanden) door te sturen voor elk staal, de BED file(s) met de regio's die het gebruikte panel bevat en de bestanden met de posities en sequenties van de primers die gebruikt werden bij de aanrijkmethode (MANIFEST, BED, ...).

1.5. Evaluatiecriteria

Dit rapport bevat de resultaten van de 19 deelnemende laboratoria. Voor de identificatie van de varianten, 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 varianten gerapporteerd door ten minste 2/3 van de deelnemers, aanwezig in de 3 stalen: consensus voor de te rapporteren varianten. De mediane waarden van de allelfrequenties die de laboratoria voor deze varianten rapporteerden, worden enkel ter informatie weergegeven, net zoals de SD-waarden.

2/ De afwezigheid van de varianten gerapporteerd door minder dan 1/3 van de deelnemers, voor de 3 stalen: consensus voor de niet te rapporteren varianten.

Opmerkingen: De varianten 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. De varianten gelinkt aan de genetische achtergrond van de stalen en aanwezig in de 3 stalen worden ook niet geëvalueerd. Een variant met een consensus die door de laboratoria werd gevonden, kan niet worden geëvalueerd indien de groep van experts deze consensus niet valideert.

Wat betreft de biologische en klinische interpretaties, voor de consensus voor de te rapporteren varianten, 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 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.

2. RESULTATEN

2.1. Deelname

19 Belgische laboratoria werden opgenomen in de analyse van de resultaten.

Overzicht van de deelnemers

Regio	N
Vlaams Gewest	14
Brussels Hoofdstedelijk Gewest	3
Waals Gewest	2
Totaal	19

Laboratorium	N
Pathologische anatomie	1
Klinische biologie	16
Humane genetica	2
Totaal	19

2.2. Overzicht van de methoden

Q1. Welke referentiegenoom gebruikt u voor de analyse?

Antwoorden	N
hg18	2
hg19/GRCh37	16
hg38/GRCh38	1

Q2. Welke sequencer gebruikt u voor NGS analyses van hematologische maligniteiten (firma en platform)?

Antwoorden	N
Illumina - MiniSeq	1
Illumina - MiSeq	11
Illumina - MiSeqDx	1
Illumina - NextSeq 2000	1
Illumina - NextSeq 550	3
Illumina - NextSeq 550Dx	1
Illumina - NovaSeq 6000	1

Q3. Welke genpanels worden gebruikt voor NGS analyses op DNA voor hematologische maligniteiten (naam van commerciële en / of custom kits)?

Antwoorden	N
Myeloid Solution (MYS), Sophia Genetics	1
TruSight Myeloid Sequencing panel, Illumina	2
AmpliSeq Myeloid panel, Illumina	2
Archer VariantPlex Myeloid	1
Custom panel, Ampliseq, Illumina	1
Custom panel, Haloplex, Agilent	1
Custom panel, QIASeq, Qiagen	5
Custom panel, SeqCap EZ HyperCap, Roche	5
Custom panel, SeqCap, Roche	1

Q4. Welke aanrijkingstrategie wordt gebruikt voor NGS analyses op DNA voor hematologische maligniteiten?

Antwoorden	N
Amplicon-based	11
Probe-based	8

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

Antwoorden	N
Paired-end	19

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

Antwoorden	N
100	1
151	12
251	1
340	3
360	1
variabel	1

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

Antwoorden	N
Archer DX software	1
Biomedical Genomics Workbench, Qiagen	1
CLC Genomics Workbench, Qiagen	4
Local Run Manager, Illumina	2
SeqNext, JSI medical systems	4
Sophia DDM, Sophia Genetics	2
Open source/in house development	7

Opmerkingen: De bio-informatica tools zijn in *open source* gebruikt met de volgende combinaties: 1/BWA, GATK UnifiedGenotyper, 2/bcbio, 3/ vardict

Q8. Welke bioinformatica software wordt gebruikt voor de tertiaire data analyse? (variant annotaties, extra filters,...)

Antwoorden	N
Archer DX software	1
CLC Genomics Workbench, Qiagen	4
QCI Interpret-Somatic Cancer, Qiagen	1
SeqNext, JSI medical systems	4
Sophia DDM, Sophia Genetics	2
Variant Studio Software, Illumina	3
Open source/in house development	8

Opmerkingen: De bio-informatica tools zijn in *open source* gebruikt met de volgende combinaties: 1/ Annovar, 2/bcbio, 3/ transvar, Pindel

Q9. Wat is de gevalideerde detectielimiet van de allelfrequentie van SNV en indel varianten (VAF%) in hematologische maligniteiten?

VAF	-	2	5	Based on sequencing depth	Total
Indels (subtle insertions and deletions)	1	2	15	1	19
SNV (Single nucleotides variants)	1	2	15	1	19

Q10. Welk type staal wordt in uw laboratorium gesequeneerd voor het opsporen van somatische varianten?

Antwoorden	N
Beenmerg	19
Bloed	19
Vers weefsel	5
Paraffineweefsel	4
Cytologisch vocht	1
Vriesmateriaal	1

Q11. Wanneer u, in de routine, somatische varianten in hematologische maligniteiten opspoot op DNA, sequeneert u dan een normaal staal van dezelfde patiënt in parallel met het tumorstaal?

Antwoorden	N
Nee	18
In sommige gevallen, bij verdenking van germline (staal: wangslimvies)	1

Q12. Wat is de minimum hoeveelheid genomisch DNA vereist in uw laboratorium voor het uitvoeren van een NGS analyse op hematologische maligniteiten?

Antwoorden	N
0-10ng	3
11-50ng	8
51-100ng	3
101-200ng	2
> 201ng	3

Q13. Wat is de minimum concentratie genomisch DNA vereist in uw laboratorium voor het uitvoeren van een NGS analyse op hematologische maligniteiten? (ng/µl)

Antwoorden	N
-	1
0,8	1
1	3
2,5	1
5	3
7	4
8	1
10	4
20	1

Q14. Welke methode wordt gebruikt voor de kwantificatie van DNA?

Antwoorden	N
Qubit	11
NanoDrop	4
DropSens	3
Quantus	2

Q15. Welke richtlijnen worden gebruikt voor de interpretatie van de somatische varianten?

Antwoorden	N
BELAC 2-405-NGS Rev0-2018	1
BELAC 2-405-NGS Rev 1-2019	1
BELAC 2-405-NGS Rev2-2019	3
BELAC 2-405-NGS Rev3-2021	15
Standardization of Somatic Variant Classifications in Solid and Haematological Tumours by a Two-Level Approach of Biological and Clinical Classes: An Initiative of the Belgian ComPerMed Expert Panel. Froyen et al. Cancers, 2019 (PMID: 31888289)	14
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, Li et al., JMD, 2017, 19(1), (PMID: 27993330)	11
ACMG-AMP: 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, Richard et al., Genet Med, 2015, 17(5), (PMID: 25741868)	8
World Health Organization guidelines	7
European LeukemiaNet guidelines	6
National Comprehensive Cancer Network Guidelines	2

2.3. Overzicht van de resultaten

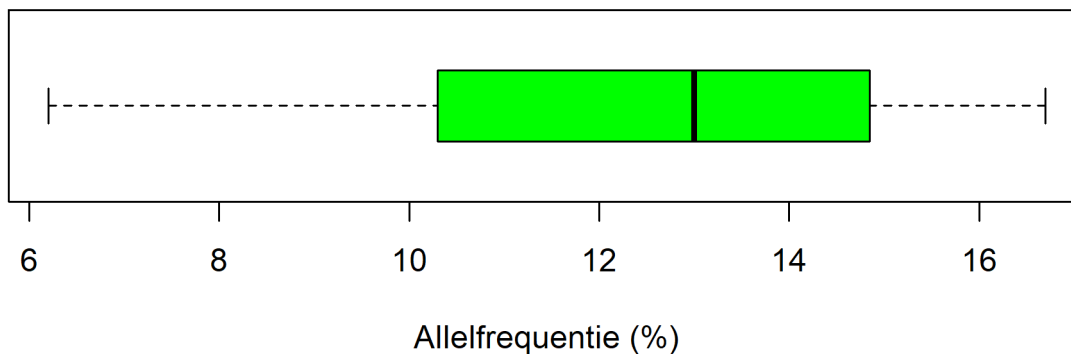
2.3.1. NGS-2021-4

medische informatie Myelodysplastisch syndroom (MDS)

Consensus voor te rapporteren varianten

- [SRSF2 NM_003016.4; c.284_307del; p.\(Pro95_Arg102del\)](#)

SRSF2 NM_003016.4; c.284_307del; p.(Pro95_Arg102del)



Min	P25	Median	P75	Max	SD
6.2	10.3	13	14.85	16.7	3.37

SRSF2 NM_003016.4 c.284_307del p.(Pro95_Arg102del) (Mediaan allelfrequentie: 13 %)	
Identificatie van de variant	N
Ja	19
Neen	0
Biologische classificatie	N
Pathogeen	18
VUS	1
Totaal	19
Klinische classificatie	N
Tier I: Significant klinisch belang	16
Tier II: Mogelijk klinisch belang	2
Tier III: Ongekende klinische betekenis	1
Totaal	19

Opmerkingen: Voor dit staal is de bereikte consensus de identificatie van de variant SRSF2 NM_003016.4; c.284_307del; p.(Pro95_Arg102del). Betreffende DNA-referenties: de nomenclatuur c.284_307del24, gerapporteerd door één laboratorium, is niet geldig volgens de HGVS richtlijnen. Deze beschrijving is langer, bevat overbodige informatie en verhoogt de kans op fouten. Betreffende de eiwitreferenties: de nomenclatuur p.Pro95_Arg102del, gerapporteerd door één ander laboratorium, wordt niet aanbevolen volgens de HGVS richtlijnen. Eiwitvoorspellingen, d.w.z. zonder experimenteel bewijs (geen eiwitsequentie geanalyseerd), moeten tussen haakjes worden aangegeven. Voor de biologische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie pathogeen. De classificatie VUS wordt als niet aanvaardbaar beschouwd. In de Belgische richtlijnen staat deze variant in de tabel 'Annex 1 Consensus Pathogenic Variants (CPV) in the Convention genes of solid and hematological tumors v2'. Voor de klinische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie Tier I vanwege de consensus van de laboratoria. De classificatie Tier II wordt als aanvaardbaar beschouwd, omdat het onderscheid tussen de classificaties Tier I en Tier II niet

duidelijk gedefinieerd is wanneer de variant geen therapeutische implicatie heeft. De classificatie Tier III wordt als niet-aanvaardbaar beschouwd gezien het diagnostische nut van deze variant.

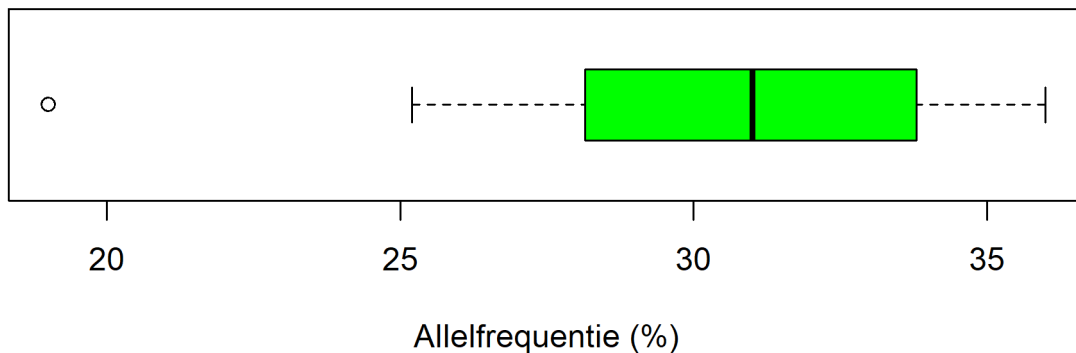
Analyse van de conclusies

Standaardinformatie	Specifieke informatie van casus 4 en opgenomen in de algemene conclusie door tenminste 2 laboratoria	Laboratoria
Diagnose	SRSF2 varianten recurrent in MDS - mutatieeel profiel compatibel met een MDS diagnose	16
	SRSF2 varianten ook recurrent in andere myeloïde pathologieën - aanwezigheid van SRSF2 varianten alleen is niet voldoende voor de diagnose van MDS	7
	SRSF2 varianten ook beschreven als CHIP ("clonal hematopoiesis of indeterminate potential")	2
Prognose	SRSF2 varianten met een ongunstige prognose in MDS	16
	Toename risico op transformatie naar AML gelinkt met SRSF2 variant	6
Informatie over de geteste genen	Geen andere variant met klinisch belang gedetecteerd	2
	SRSF2 variant aanwezig in exon 1	3

medische informatie	Acute myeloïde leukemie (AML)
---------------------	-------------------------------

Consensus voor te rapporteren varianten

- [IDH1 NM_005896.3; c.394C>T; p.\(Arg132Cys\)](#)

IDH1 NM_005896.3; c.394C>T; p.(Arg132Cys)

Min	P25	Median	P75	Max	SD
19	28.15	31	33.8	36	4.19

IDH1 NM_005896.3 c.394C>T p.(Arg132Cys) (Mediaan allelfrequentie: 31 %)	
Identificatie van de variant	N
Ja	19
Neen	0
Biologische classificatie	N
Pathogeen	19
Totaal	19
Klinische classificatie	N
Tier I: Significant klinisch belang	17
Tier II: Mogelijk klinisch belang	2
Totaal	19

Opmerkingen: Voor dit staal is de bereikte consensus de identificatie van de variant IDH1 NM_005896.3; c.394C>T; p.(Arg132Cys). Betreffende de eiwitreferenties: de nomenclatuur p.Arg132Cys, gerapporteerd door twee laboratoria, wordt niet aanbevolen volgens de HGVS richtlijnen. Eiwitvoorspellingen, d.w.z. zonder experimenteel bewijs (geen eiwitsequentie geanalyseerd), moeten tussen haakjes worden aangegeven. Voor de biologische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie pathogeen. Voor de klinische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie Tier I vanwege de consensus van de laboratoria. De classificatie Tier II wordt als niet-aanvaardbaar beschouwd gezien het zeer hoge bewijsniveau van deze variant (level A voor therapeutische indicaties).

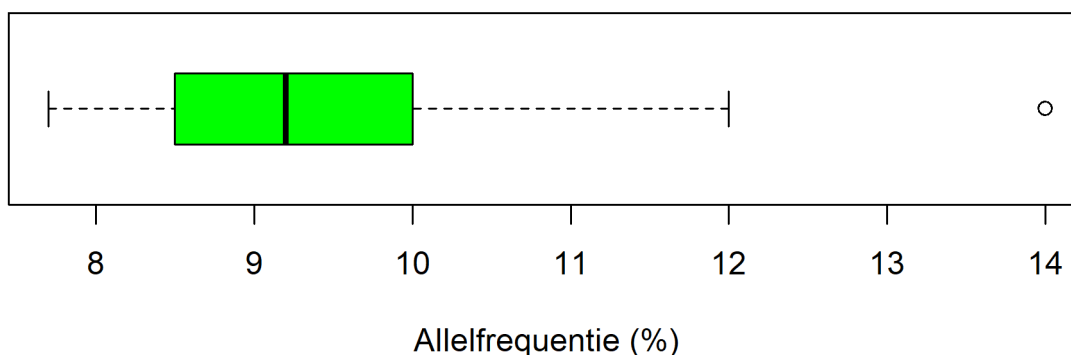
Analyse van de conclusies

Standaardinformatie	Specifieke informatie van casus 5 en opgenomen in de algemene conclusie door tenminste 2 laboratoria	Laboratoria
Diagnose	IDH1 varianten recurrent in AML - Mutacioneel profiel compatibel met een AML diagnose	14
	IDH1 variant vaker geassocieerd met een normaal karyotype - met een NPM1 variant – met wild-type CEBPA – met de afwezigheid van FLT3 abnormaliteiten	6
Prognose	IDH1 varianten van controversiële – onbekende – onbepaalde prognostische betekenis	9
	IDH1 varianten met een ongunstige prognose in AML (al dan niet in subgroepen)	6
Therapie	Indicatie voor gevoeligheid aan IDH1 inhibitoren (Ivosidenib)	14
	Indicatie voor gevoeligheid aan BCL2 inhibitoren (Venetoclax) - in combinatie met hypomethylerend geneesmiddel	3
	Klinische studies voor AML patiënten met IDH1 of IDH2 varianten	4
Informatie over de geteste genen	IDH1 variant aanwezig in exon 4	2
	Geen andere variant met klinisch belang gedetecteerd	2

medische informatie	Primaire myelofibrose (PMF)
---------------------	-----------------------------

Consensus voor te rapporteren varianten

- [JAK2 NM_004972.3; c.1849G>T; p.\(Val617Phe\)](#)

JAK2 NM_004972.3; c.1849G>T; p.(Val617Phe)

Min	P25	Median	P75	Max	SD
7.7	8.5	9.2	10	14	1.11

JAK2 NM_004972.3 c.1849G>T p.(Val617Phe) (Mediaan allelfrequentie: 9.2 %)	
Identificatie van de variant	N
Ja	19
Neen	0
Biologische classificatie	N
Pathogeen	19
Totaal	19
Klinische classificatie	N
Tier I: Significant klinisch belang	19
Totaal	19

Opmerkingen: Voor dit staal is de bereikte consensus de identificatie van de variant JAK2 NM_004972.3; c.1849G>T; p.(Val617Phe). Betreffende de eiwitreferenties: de nomenclatuur p.Val617Phe, gerapporteerd door twee laboratoria, wordt niet aanbevolen volgens de HGVS richtlijnen. Eiwitvoorspellingen, d.w.z. zonder experimenteel bewijs (geen eiwitsequentie geanalyseerd), moeten tussen haakjes worden aangegeven. Voor de biologische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie pathogeen. Voor de klinische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie Tier I.

Analyse van de conclusies

Standaardinformatie	Specifieke informatie van casus 6 en opgenomen in de algemene conclusie door tenminste 2 laboratoria	Laboratoria
Diagnose	JAK2 variant recurrent in MPN type PMF, PV en ET - Mutationeel profiel compatibel met een MPN diagnose - aanwezigheid van JAK2 variant, majeur WHO-criterium voor de diagnose van MPN	17
Prognose	In PMF, JAK2 variant met gunstiger prognose dan triple-negatieve maar minder gunstig dan CALR varianten - intermediaire prognose	9
	Geïntegreerde prognostische modellen voor PMF: MIPSS70 en GIPSS risicoscores	4
	Hoger risico op trombose dan CALR variant	3
Therapie	Indicatie voor gevoeligheid aan JAK2 inhibitoren (Ruxolitinib)	6
Informatie over de geteste genen	JAK2 "driver" variant	4
	JAK2 variant aanwezig in exon 14	2
	Geen andere variant met klinisch belang gedetecteerd	4
Andere	Voorgestelde aanvullende analyses nodig voor MIPSS70 en GIPSS risicoscores: karyotype, hematologische parameters, etc.	2

2.3.4. Slaagpercentage van de deelnemers

Consensus voor de te rapporteren varianten

Slaagpercentage gebaseerd op consensus voor de te rapporteren varianten	N
3/3 (100%)	19
Totaal slaagpercentage: 57/57 (100%)	

Consensus voor de niet te rapporteren varianten

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

Biologische en klinische classificaties

Slaagpercentage van deelnemers voor de classificaties voor de consensus voor de te rapporteren varianten	N
Biologische classificaties	
3/3 (100%)	18
2/3 (66,67%)	1
Totaal slaagpercentage: - biologische classificaties : 56/57 (98,25%)	
Klinische classificaties *	
3/3 (100%)	16
2/3 (66,67%)	3
Totaal slaagpercentage: - klinische classificaties : 54/57 (94,74%)	

* De resultaten 'aanvaardbaar' worden als succesvol beschouwd.

3. BIJLAGE

3.1. Overzicht van de klinische conclusies

Deze gegevens zijn de antwoorden ingegeven op de website <https://qml.wiv-isp.be/NGS/20212/> 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-2021-4

<p>SRSF2 transcript= NM_001195427.1, we hebben bovenstaand een ander transcript gekozen omdat het door ons gehanteerde transcript niet tot de keuzemogelijkheden behoort.</p> <p>Aanwezigheid van pathogene SRSF2 variant, geassocieerd met MDS (11-14% en CMML (28%) en slechtere prognose.</p>	1
<p>Met next generation sequencing werd 1 pathogene variant gevonden in SRSF2. Mutaties in SRSF2 zijn beschreven in MDS en zijn geassocieerd met een verhoogde kans op evolutie naar AML (Thol F et al., Blood 2012, WHO 2017).</p> <p>Mutaties in SRSF2 zijn ook beschreven als CHIP ("clonal hematopoiesis of indeterminate potential") en de aanwezigheid van deze mutaties alleen is niet voldoende voor de diagnose van MDS (Arber et al Blood, 2016; WHO 2017).</p>	2
<p>SRSF2 varianten zijn beschreven bij ongeveer 15% van de MDS patiënten, waarbij ze geassocieerd worden met een verminderde prognose.</p> <p>Referenties</p> <ol style="list-style-type: none">1. Arber et al. Blood 2016;127:2391-40522. Bejar et al. NEJM 2011;364:2496-5063. Bejar et al. Haematologica 2014;99:956-64	3
<p>Een mutatie in SRSF2 (exon 1) is recurrent bij MDS en wordt geassocieerd met een minder gunstige prognose.</p> <p>(Ref: Bejar et al., 2014. Haematologica 99(6): 956-964; Pellagatti et al., 2015. Eur. J. Haem. 95(9): 3-15)</p>	4
<p>Sur les 39 gènes séquencés, seuls les 9 gènes cibles suivants ont été interprétés : ASXL1, DNMT3A, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1. Toutefois, les éventuels variants pathogènes (ou probablement pathogènes) observés dans les 30 autres gènes seront rapportés ci-dessous dans le résumé du rapport s'ils ont un impact clinique avéré dans le cadre d'un syndrome myélodysplasique (MDS). Les variants sont classés biologiquement selon le principe de classification recommandé par Sciensano et Belac.</p> <p>Pour la description de chaque mutation se référer au tableau des résultats ci-joint.</p> <p>-Présence dans l'oncogène SRSF2 du variant pathogénique c.284_307del p.(Pro95_Arg102del) dont l'impact clinique est avéré. Les mutations dans SRSF2 sont observées dans les MDS (Incidence :10-15%) et plus fréquemment dans les CMML (Incidence : 40%) et sont associées à un pronostic défavorable (NCCN version3.2021).</p>	5
<p>SRSF2 variants are found in 10-15% of Myelodysplastic Syndromes (MDS) and 40% of Chronic myelomonocytic leukemia (CMML). In SMD, those variants are associated with a poor prognosis. ***</p> <p>*A novel scoring system integrating molecular abnormalities with IPSS-R can improve the risk stratification in patients with MDS. Siyu Gu, et al. BMC Cancer. 2021</p> <p>**Myelodysplastic syndromes, version 2.2017, NCCN clinical practice guidelines in oncology. Greenberg PL et al. J Natl Compr Canc Netw. 2017</p>	6
<p>De gevonden SRSF2 variant is recurrent in de context van MDS en MDS/MPN overlap syndroom. SRSF2 varianten worden geassocieerd met een minder gunstige prognose (Ref: Swerdlow et al., WHO 2017; Kennedy and Ebert, J Clin Onc 2017. 35(9):968-974).</p>	7

<p>Er werd een SRSF2 (NM_003016.4(SRSF2):c.284_307del (p.(Pro95_Arg102del)) pathogene in-frame deletie variant geïdentificeerd in exon 1.</p> <p>De aanwezigheid van dit type variant heeft significant klinische betekenis (tier I) gezien mutaties in SRSF2 frequent worden terug gevonden bij MDS patiënten (~15%) en geassocieerd zijn met een slechtere prognose en een hogere kans op transformatie naar AML (PMID: 22343920, 22389253, 9058730., NCCN MDS 2020)</p> <p>Er werden geen andere (vermoedelijk) pathogene varianten geïdentificeerd in de genen ASXL1, DNMT3A, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1.</p>	8
<p>Volgende variant werd waargenomen: SRSF2, c.284_307del p.(Pro95_Arg102del), 13% VAF: Pathogeen, gekende hotspot mutatie.</p> <p>Somatische varianten in het splicing factor gen, SRSF2, komen nagenoeg uitsluitend voor t.h.v. Proline 95 codon. Deze varianten komen voor in 10-15 % van de MDS patiënten, maar worden ook waargenomen bij myeloproliferatieve neoplasmata, myelodysplastische/myeloproliferatieve neoplasmata (MDS/MPN) en acute myeloïde leukemie (AML). In de meeste gevallen is SRSF2 niet het enige gemuteerde gen. SRSF2 mutaties komen ook voor bij CHIP, echter de aanwezigheid van een pathogene mutatie aan een VAF van >10% is geassocieerd met het ontwikkelen van een neoplasme. Bij MDS zijn SRSF2 varianten geassocieerd met een kortere overleving en een verhoogd risico op transformatie naar AML.</p>	9
<p>Er werd een pathogene mutatie in het SRSF2 gen geïdentificeerd: SRSF2 c.284_307del p.(Pro95_Arg102del). Deze mutatie heeft een significant klinisch belang (Tier I). Dit is een recurrente mutatie in de context van myelodysplastisch syndroom (MDS). Mutaties van SRSF2 komen voor in 10-15 % van de gevallen van MDS en zijn geassocieerd met een ongunstige prognose [1].</p> <p>Referenties: 1. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: myelodysplastic syndromes, version 3.2021.</p>	10
<p>Klinische indicatie: MDS</p> <p>NGS toont enkel aanwezigheid aan van een consensus pathogene in-frame deletie variant in het SRSF2 gen (VAF 15%): SRSF2 varianten worden bij 12-33% van de MDS patiënten teruggevonden. In MDS (univariaat analyse) zijn deze varianten geassocieerd met kortere algemene overleving en verhoogd risico voor progressie naar AML (Bersanelli et al., J Clin Oncology 2021; Wang et al., Meta-analyse in Medicine 2019; Thol et al., Blood 2012).</p> <p>Er konden geen varianten met een VAF >5% teruggevonden worden in de andere bij MDS klinisch belangrijke genen (ASXL1, DNMT3A, EZH2, RUNX1, SF3B1, TET2, TP53 en U2AF1 (opmerking: grote insertie/deletie varianten kunnen gemist worden.)</p> <p>Besluit: NGS profiel in overeenstemming met aanwezigheid MDS. Er konden geen varianten teruggevonden worden in 'ongunstige genen' (CBL, IDH2, ASXL1, DNMT3A en TP53) die zorgen voor een verhoging van de IPSS-R risico groep zoals beschreven door Hou et al. (Blood Cancer Journal 2018).</p>	11
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van 1 variant met een significant klinisch belang (TIER I): SRSF2 c.284_307del, p.(Pro95_Arg102del) (allel frequency 16.7%).</p> <p>Een mutatie in het SRSF2 gen (RNA spliceosoom gen) komt in 15% van de patiënten gediagnosticeerd met MDS voor (voornamelijk bij MDS-MLD, MDS-EB1 en MDS-EB2): te correleren met kliniek, cytomorfolologisch en genetisch onderzoek.</p> <p>De aanwezigheid van deze mutatie is geassocieerd met een ongunstig prognostisch verloop.</p> <p>Bronnen: • Fenaux P, Haase D, Santini V, Sanz GF, Platzbecker U, Mey U; ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Myelodysplastic syndromes: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†?. Ann Oncol. 2021 Feb;32(2):142-156. doi: 10.1016/j.annonc.2020.11.002. Epub 2020 Nov 19. PMID: 33221366. • https://www.mycancergenome.org/content/gene/srsf2/ • WHO revised 4th edition; LYON 2017</p>	12
<p>Mutatieprofiel passend bij MDS met SRSF2 als dysplastische driver.</p>	13
<p>Er wordt enkel een mutatie in SRSF2 gedetecteerd. Mutaties in SRSF2 worden frequent terug gevonden bij MDS patiënten (10 - 15%) en zijn geassocieerd met een slechtere prognose en een hogere kans op transformatie naar AML (Damm et al., Blood 2012; Thol et al., Blood 2012 en NCCN guidelines MDS 1.2020).</p>	14

Variant pathogène repris dans la convention NGS. Délétion inframe au niveau de l'exon 1 de cet oncogène conférant un pronostic défavorable à ce syndrome myélodysplasique	15
La prévalence des mutations de SRSF2 est de 12-33% dans les SMD. L'impact pronostic porte sur la LFS et l'OS, réduites, et ce particulièrement dans les SMD de risque bas. Références: - McClure et al., JMD 2018 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=McClure+%3B+JMD+2018) - NCCN Guidelines v3.2021	16
A pathogenic SRSF2 mutation was detected. This mutation is considered as an adverse prognostic risk factor in MDS.	17
De aanwezigheid van de gedetecteerde SRSF2 hotspotmutatie, c.284_307del (p.(Pro95_Arg102del)), ondersteunt de diagnose van myelodysplastisch syndroom (MDS) en is geassocieerd met een ongunstige prognose. Verschillende studies hebben aangetoond dat patiënten met SRSF2-gemuteerde MDS doorgaans een lagere overlevingsduur (overall survival) en een grotere kans op leukemische transformatie hebben (Zheng et al., 2017. Prognostic value of SRSF2 mutations in patients with de novo myelodysplastic syndromes: A meta-analysis. PLoS ONE 12(9): e0185053.; Jafari et al., 2018. Prognostic significance of SRSF2 mutations in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia: a meta-analysis. Hematology, 23:10, 778-784).	18

3.1.2. NGS-2021-5

Aanwezigheid van significant klinisch belangrijke IDH1 variant geassocieerd met myelofibrose en met verhoogd risico op transformatie naar AML.	1
Met next generation sequencing werd een pathogene variant gevonden in IDH1. De prognostische betekenis van IDH1 mutatie is controversieel in de literatuur (Patnaik et al., Leukemia 2012; Thol et al., Blood 2012; WHO 2017). De aanwezigheid van IDH1/2 mutaties in AML is geassocieerd met een beter sensitiviteit voor de Bcl-2 inhibitor Venetoclax (Konopleva et al., Cancer Discovery 2016; DiNardo et al., Blood 2019). Er zijn ook klinische studies voor AML patiënten met IDH1/2 mutaties (clinicaltrials.gov).	2
Varianten in IDH1 zijn beschreven in ongeveer 6% van de AML patiënten, waarbij ze een negatieve impact hebben op de prognose. Referenties 1. Arber et al. Blood 2016;127:2391-4052 2. Schnittger et al. Blood 2010;116:5486-96	3
Mutaties in IDH1 zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie. De prognostische betekenis van IDH1 mutaties is onduidelijk. In AML patiënten met wild type NPM1 worden IDH1 mutaties geassocieerd met een ongunstige prognose. (Yamaguchi et al. EJM 2014, Patel et al. NEJM 2012.)	4
Sur les 39 gènes séquencés, seuls les 12 gènes cibles suivants ont été interprétés : ASXL1, CEBPa, DNMT3A, FLT3, IDH1, IDH2, KIT, NPM1, RUNX1, TET2, TP53, WT1. Toutefois, les éventuels variants pathogènes (ou probablement pathogènes) observés dans les 27 autres gènes seront rapportés ci-dessous dans le résumé du rapport s'ils ont un impact clinique avéré dans le cadre d'une Leucémie aigüe myéloblastique (AML). Les variants sont classés biologiquement selon le principe de classification recommandé par Sciensano et Belac. Pour la description de chaque mutation se référer au tableau des résultats ci-joint. -Présence dans l'oncogène IDH1 du variant pathogénique c.394C>T p.(Arg132Cys) compatible avec le diagnostic de AML et dont l'impact clinique est avéré mais dont l'impact pronostic n'est pas clarifié (NCCN v3 2021). Les variants dans IDH1 peuvent faire l'objet d'une thérapie ciblée (Ivosidenib) (FDA ; NCCN v3 2021).	5

<p>Mutations in IDH1 have been reported in 6-9% of Acute Myeloid Leukemia (AML) cases with a higher frequency among patients with Normal Karyotype AML (NK-AML) (8-16%). IDH1 mutations were found to occur concurrently with NK-AML and NPM1 mutations. Additionally, these mutations have been associated with wild-type CEBPA and the absence of FLT3 abnormalities. Findings from published reports on the prognostic effects of IDH1 mutations have been inconsistent. Although some studies showed no prognostic effect of IDH1 mutations on OS when considering all IDH mutations (IDH1 and IDH2 combined) or in the overall patient population, IDH1 mutations correlated with significantly worse outcomes in the subgroup of NK-AML patients with favorable- or intermediate-risk disease. In the subgroup of patients younger than 60 years with favorable-risk AML (NPM1 mutation without FLT3-ITD), IDH1 mutations were associated with a significantly decreased 5-year DFS rate (42% vs. 59%) and a trend for decreased OS rate (50% vs. 63%) compared with patients who had wild-type IDH. In another study, IDH mutations (IDH1 and IDH2 combined) were associated with significantly inferior 5-year RFS rates (37% vs. 67%) and OS rates (41% vs. 65%) in the subgroup of patients with favorable-risk AML (NK-AML with NPM1 mutation without FLT3-ITD). ***</p> <p>AML carrying IDH1 mutations are susceptible to targeted treatment with ivosidenib.</p> <p>*Acquired mutations in the genes encoding IDH1 and IDH2 both are recurrent aberrations in acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value. Abbas S, Lugthart S, Kavelaars FG, et al. Blood 2010.</p> <p>**IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. Marcucci G, Maharry K, Wu YZ, et al. J Clin Oncol 2010</p>	6
<p>De gevonden IDH1 variant is recurrent in de context van AML. De prognostische betekenis is momenteel niet gekend (Ref: Döhner et al., Blood 2017. 129:1136-1152). De IDH1 kan gebruikt worden ikv "doelgerichte" therapie (Ref: Ball B. en Stein M., 2019. Haematologica, 104(8): 1521-1531).</p>	7
<p>Er werd een IDH1 (NM_005896.4(IDH1):c.394C>T (p.(Arg132Cys)) pathogene missense variant geïdentificeerd in exon 4.</p> <p>De aanwezigheid van de specifieke IDH1 variant heeft significant klinisch belang (tier I) in AML. Deze variant is geassocieerd met een verhoogde gevoeligheid voor IDH1 inhibitoren zoals ivosidenib (EMA approved, NCCN guidelines v3 2020, PMID: 31660152).</p> <p>Er werden geen andere (vermoedelijk) pathogene varianten geïdentificeerd in de genen ASXL1, CEBPA, DNMT3A, FLT3, IDH1, IDH2, KIT, NPM1, RUNX1, TET2, TP53, WT1.</p>	8
<p>Volgende variant werd waargenomen: IDH1, c.394C>T p.(Arg132Cys), 34% VAF: Pathogeen, gekende hotspot mutatie.</p> <p>IDH1 mutaties komen voor bij ongeveer 7-14% van de AML en zijn frequent geassocieerd aan een normaal karyotype, NPM1 en FLT3 mutaties. De prognostische implicatie van deze mutatie zou eerder ongunstig zijn, al blijft de literatuur vrij controversieel hierover. Het negatief prognostisch belang zou het meest uitgesproken zijn bij AML met een gunstig prognostisch profiel volgens de ELN2017 richtlijnen (normaal karyotype, NPM1 mutatie en normaal FLT3 gen). Therapeutisch gezien kunnen IDH inhibitoren overwogen worden.</p>	9

<p>Er werd een pathogene mutatie in het IDH1 gen geïdentificeerd: IDH1 c.394C>T p.(Arg132Cys). Deze mutatie heeft een significant klinisch belang (Tier I). Dit is een recurrente mutatie in de context van acute myeloïde leukemie (AML). Mutaties van IDH1 komen voor in 6-9 % van de gevallen van AML. Hoewel niet alle studies een prognostische impact tonen, zijn IDH1 mutaties geassocieerd met een minder goede prognose in de subgroep van AML met een normaal karyotype en een overigens gunstig of intermediair risicoprofiel [1]. De aanwezigheid van een IDH1 mutatie in AML is bovendien geassocieerd met gevoeligheid voor de IDH1 inhibitor ivosidenib en met gevoeligheid voor venetoclax in combinatie met een hypomethylegend geneesmiddel of venetoclax in combinatie met een lage dosis cytarabine [1]. Dit zijn nog geen standaardbehandelingen in België, maar deze therapeutische beschouwingen kunnen mogelijk wel relevant zijn in de context van een klinische studie of een "compassionate use" programma. Daarnaast kan een laag-intensieve behandeling met een hypomethylegend geneesmiddel (azacitidine of decitabine) een therapeutische optie zijn [1].</p> <p>Referenties: 1. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: acute myeloid leukemia, version 3.2021.</p>	10
<p>Klinische indicatie: AML</p> <p>NGS toont enkel aanwezigheid aan van de consensus pathogene missens variant Arg132Cys (R132C) in het IDH1 gen (VAF 36%): IDH1 varianten worden teruggevonden bij 7-14% AML patiënten, voornamelijk met een normaal karyotype. Het type IDH1 variant en het co-mutatie patroon verschilt naargelang het type AML: Arg132Cys (in casu) varianten vertonen een meer sAML genotype en zijn minder geassocieerd met NPM1 varianten (in casu) terwijl Arg132His meer geassocieerd is met de novo AML en co-mutatie met NPM1 (Falini et al., Leukemia 2019). Het effect op prognose is niet eenduidig (zowel een negatief effect als geen effect op de algemene overleving wordt gezien) mogelijk wegens verschillende studie designs (Medeiros et al., Leukemia 2017).</p> <p>Er konden geen varianten met een VAF >5% teruggevonden worden in de andere bij AML klinisch belangrijke genen (ASXL1, CEBPA, DNMT3A, FLT3, IDH2, KIT, NPM1, RUNX1, TET2, TP53 en WT1 (opmerking: grote insertie/deletie varianten zoals bij FLT3 of CEBPA kunnen gemist worden, voor FLT3 en CEBPA zie daarom ook resultaten fragment analyse).</p> <p>Besluit: NGS profiel in overeenstemming met aanwezigheid van AML. De aanwezigheid van de IDH1 variant is mogelijk een therapeutische target: IDH1 inhibitoren zoals ivosidenib (AG-120, TIBSOVO) werden goedgekeurd door de FDA voor relapsed of refractory AML (DiNardo et al., NEJM 2018) maar er zijn ook klinische trials in Europa voor handen (bv. HOVON 150). Wegens ontbreken van karyotype en resultaten van andere moleculaire analyses (bv. translocaties) is een risico-analyse volgens de ELN en NCCN guidelines niet mogelijk (Döhner et al., Leukemia 2017, NCCN guideline version 3.2020, AML).</p>	11
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van 1 variant met significant klinisch belang (TIER I): IDH1 c.394C>T, p.(Arg132Cys) (allel frequency 33.6%): Mutaties in het IDH1 gen komen voor bij 8 % van de patiënten gediagnosticeerd met AML. Er is geen significant verschil aangetoond in CRR (complete response rate), RR (response rate) en OS (overall survival) tussen patiënten met een IDH1 mutatie en patiënten met een wildtype IDH1 en IDH2. De patiënt komt in aanmerking voor therapie met een IDH1 inhibitor (cave resistentie bij monotherapie).</p> <p>Bronnen: • Heuser M, Ofran Y, Boissel N, Brunet Mauri S, Craddock C, Janssen J, Wierzbowska A, Buske C; ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Acute myeloid leukaemia in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2020 Jun;31(6):697-712. doi: 10.1016/j.annonc.2020.02.018. Epub 2020 Mar 17. Erratum in: Ann Oncol. 2021 Jun;32(6):821. PMID: 32171751. • https://www.mycancergenome.org/content/gene/idh1/ • Cerchione C, Romano A, Daver N, DiNardo C, Jabbour EJ, Konopleva M, Ravandi-Kashani F, Kadia T, Martelli MP, Isidori A, Martinelli G, Kantarjian H. IDH1/IDH2 Inhibition in Acute Myeloid Leukemia. Front Oncol. 2021 Mar 29;11:639387. doi: 10.3389/fonc.2021.639387. PMID: 33898313. • Issa GC, DiNardo CD. Acute myeloid leukemia with IDH1 and IDH2 mutations: 2021 treatment algorithm. Blood Cancer J. 2021 Jun 3;11(6):107. doi: 10.1038/s41408-021-00497-1. PMID: 34083508. • Norisworthy KJ, Luo L, Hsu V, Gudi R, Dorff SE, Przepiorka D, Deisseroth A, Shen YL, Sheth CM, Charlab R, Williams GM, Goldberg KB, Farrell AT, Pazdur R. FDA Approval Summary: Ivosidenib for Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia with an Isocitrate Dehydrogenase-1 Mutation. Clin Cancer Res. 2019 Jun 1;25(11):3205-3209. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3749. Epub 2019 Jan 28. PMID: 30692099. • WHO revised 4th edition; LYON 2017</p>	12

<p>Mutatieprofiel passend bij AML en geassocieerd met normale cytogenetica (CN-AML).</p> <p>Selectieve IDH inhibitie, al dan niet in combinatie met hypomethylerende agentia, is onderwerp van klinische studies. (Liu et al., Isocitrate dehydrogenase inhibitors in acute myeloid leukemia. Biom Res 2019; Chaturvedi et al., Synergistic activity of IDH1 inhibitor BAY1436032 with azacitidine in IDH1 mutant acute myeloid leukemia. Haematologica 2021).</p>	13
<p>Er wordt enkel een mutatie in de hotspot van IDH1 gedetecteerd. IDH1 mutaties komen voor in ~7% van de AML patiënten en zijn vaak geassocieerd met een NPM1 mutaties. In de afwezigheid van NPM1 mutaties hebben IDH1 mutaties geen impact op de prognose. IDH1 mutaties bieden wel mogelijkheid tot doelgerichte therapie met IDH1 inhibitors.</p>	14
<p>Variant pathogène repris dans la convention NGS. Mutation missense au niveau de l'exon 4 de cet oncogène pouvant être ciblée par une thérapeutique. L'impact pronostique est déterminé par la présence concomitante d'autres variants non présents dans ce cas-ci.</p>	15
<p>Des mutations acquises (somatiques) du gène IDH1 ont été décrites avec une prévalence de 6-9 % des AML "de novo" avec une fréquence accrue dans le cadre des AML "de novo" à caryotype normal (AML-CN), 8-16%.</p> <p>La plupart des mutations d'IDH1 affectent le résidu R132 (6.2%) (Figuroa et al., Cancer Cell 2010). Ces mutations sont préférentiellement rencontrées chez les patients appartenant au groupe à risque cytogénétique dit "intermédiaire".</p> <p>Une coïncidence élevée avec les mutations du gène NPM1 a été rapportée, ce qui ne semble pas être le cas des mutations de CEBPA ou de FLT3-ITD.</p> <p>Pronostic: Les mutations affectant le codon 132 d'IDH1 (R132X) sont associées à une DFS significativement raccourcie pour les patients à caryotype normal ou appartenant au groupe à risque favorable ou intermédiaire de l'ELN (NPM1c+/FLT3-ITD-neg/pos-low). Sous traitement standard de type "3+7", le taux de rechute est significativement plus élevé chez les patients porteurs d'une mutation R132X d'IDH1 et NPM1c+-neg/CEBPA-muté/FLT3-ITD-neg.</p> <p>Prédicatif: la mise en évidence d'une mutation R132X d'IDH1 est un facteur prédictif en faveur d'une réponse positive à l'ivosidenib. La FDA a de ce fait approuvé l'utilisation de cette drogue dans cette indication: https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-ivosidenib-relapsed-or-refractory-acute-myeloid-leukemia.</p> <p>Les indications de traitement à base de régimes chimiothérapeutiques incluant le Vénétoclax et hypométhylants (HMA) chez les patients IDH1 mutés ont été récemment revues par le NCCN v3.2021 (MS-46).</p> <p>Références: - NCCN Guidelines AML v3.2021</p>	16
<p>A pathogenic IDH1 mutation was detected. The presence of an IDH1 mutation predicts a good response to IDH1-inhibition therapy in AML (ivosidenib).</p>	17
<p>De gedetecteerde IDH1 hotspotmutatie c.394C>T (p.(Arg132Cys)) ondersteunt de diagnose van acute myeloïde leukemie (AML) en is geassocieerd met gevoeligheid aan isocitrate dehydrogenase-1 (IDH1) inhibitors. IDH1-gemuteerde AML wordt geassocieerd met een normaal karyotype (Chou et al., 2010. Distinct clinical and biological characteristics in adult acute myeloid leukemia bearing isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) mutation. Blood; 115: 2749–2754.; Ward et al., 2010. The common feature of leukemia-associated IDH1 and IDH2 mutations is a neomorphic enzyme activity converting alpha-ketoglutarate to 2-hydroxyglutarate. Cancer; 17:225–234.).</p>	18

3.1.3. NGS-2021-6

<p>Aanwezigheid van de klassieke pathogene JAK2 variant geassocieerd met PV (95-99%), ET (50-70%) en MF (40-50%).</p>	1
<p>Met next generation sequencing werd een pathogene variant gevonden in JAK2. De JAK2 mutatie is een majeur criterium in de diagnose van MPN (WHO 2017).</p>	2
<p>De gain-of-function variant JAK2 V617F komt voor in 50-60% van de patiënten met PMF. Overige varianten in JAK2 exon 12 of exon 14 worden eveneens beschreven bij PMF. De aanwezigheid van één van deze varianten vormt een majeur diagnostisch criterium voor PMF (WHO2016).</p> <p>Referenties: 1. Arber et al. Blood 2016;127:2391-405 2. Tefferi et al. Leukemia 2010;24:1128-38</p>	3
<p>De aanwezigheid van deze mutatie in JAK2 past bij de diagnose van myeloproliferatieve aandoening. (Ref. Swerdlow et al, WHO IARC 2017) Bij PMF zijn JAK2 mutaties geassocieerd met een minder gunstige prognose. (Ref: Guglielmelli et al., 2014. Leukemia 28(9): 1804-1810, Tefferi et al., 2014. Leukemia 28(7): 1494-1500)</p>	4
<p>Sur les 39 gènes séquencés, seuls les 11 gènes suivants ont été interprétés : ASXL1, CALR, EZH2, IDH1, IDH2, JAK2, MPL, SRSF2, SF3B1, TET2, TP53. Toutefois, les éventuels variants pathogéniques (ou probablement pathogéniques) observés dans les 28 autres gènes seront rapportés ci-dessous dans le résumé du rapport s'ils ont un impact clinique avéré dans le cadre d'une Myélobiose primitive (PMF). Les variants sont classés biologiquement selon le principe de classification recommandé par Sciensano et Belac.</p> <p>Pour la description de chaque mutation se référer au tableau des résultats ci-joint.</p> <p>- Présence dans l'oncogène JAK2 du variant pathogénique c.1849G>T p.(Val617Phe) dont l'impact clinique est avéré. C'est la « mutation "driver", la plus fréquemment observée dans les myélobioses et elle est associée à un pronostic plus favorable que les patients triples négatifs mais moins favorable que les patients CALR ou MPL muté (Tefferi ; Blood 2015-PMID 24402162 ; NCCN v1 2021).</p>	5
<p>The JAK2(V617F) mutation is a cardinal mutation in myeloproliferative neoplasia (MPN) found in 90-95% of Polycythemia vera (PV), 60% of essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF). JAK2 mutated PMF are associated with intermediate prognosis and higher risk of thrombosis compared to patients with type 1 CALR mutations. *** The absence of non-driver mutation is presumed to be favorable to survival in PMF.***</p> <p>*Clinical effect of driver mutations of JAK2, CALR, or MPL in primary myelofibrosis. Rumi e et al. Blood 2014 ** MIPSS70+ Version 2.0: Mutation and Karyotype-Enhanced International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis. Tefferi A et al: JCO 2018 ***A 27-Gene NGS Panel in Primary Myelofibrosis Identifies ASXL1, CBL, RUNX1 and SRSF2 Mutations As Being Unfavorable and Absence of Any Non-Driver Mutation As Being Favorable to Survival Ayalew Tefferi et al. Blood 2015</p>	6
<p>De gevonden JAK2 variant is recurrent in de context van primaire myelofibrose. In de context van primaire myelofibrose wordt de aanwezigheid van een "driver" mutatie in JAK2 geassocieerd met een minder gunstige prognose dan CALR. Geen bijkomende varianten.</p> <p>Prognostisch laag risico (MIPSS70 en MIPSS70+ score), intermediair-1 risico (GIPSS score) (Ref: Tefferi et al., Am J Hematol. 2018;93:1551-1560).</p>	7
<p>Er werd een JAK2 (NM_004972.4(JAK2):c.1849G>T (p.(Val617Phe)) pathogene missense variant geïdentificeerd in exon 14.</p> <p>De aanwezigheid van deze specifieke variant heeft significant klinisch belang (tier I). Deze driver mutatie komt voor bij 50% van de patiënten met primaire myelofibrose en is geassocieerd met een intermediaire prognose (NCCN guidelines v3. 2019; PMID: 15781101, 26697989, 29296803). Deze variant is geassocieerd met gevoeligheid aan JAK inhibitoren zoals Ruxolitinib (NCCN guidelines v3. 2019).</p> <p>Er werden geen andere (vermoedelijk) pathogene varianten geïdentificeerd in de genen ASXL1, CALR, EZH2, IDH1, IDH2, JAK2, MPL, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1.</p>	8

<p>Volgende variant werd waargenomen: JAK2, c.1849G>T p.(Val617Phe), 10% VAF: Pathogeen, gekende hotspot mutatie.</p> <p>JAK2 mutaties komen frequent voor bij PMF (50%-65%), maar ook bij andere MPN en MDS/MPN overlap aandoeningen. Hoewel niet essentieel, is de aanwezigheid van een JAK2 variant van diagnostisch belang bij PMF (zie WHO 2016). JAK2V617F is prognostisch ongunstiger dan CALR type 1-mutante PMF, doch heeft een betere prognose dan MPL gemuteerde en triple negative PMF. Prognostisch ongunstige mutaties in ASXL1, SRSF2, EZH2, IDH1/2 en U2AF1 werden niet waargenomen (cfr. MIPSS70+ en GIPSS score).</p> <p>JAK2-inhibitoren hebben een plaats binnen de behandeling PMF, en ook andere (MPN)-aandoeningen. Gezien JAK2-inhibitoren op specifieke wijze inflammatoire cytokines onderdrukken, is hun werking onafhankelijk van de aanwezigheid van JAK2 varianten.</p>	9
<p>Er werd een pathogene mutatie in het JAK2 gen geïdentificeerd: JAK2 c.1849G>T p.(Val617Phe). Deze mutatie heeft een significant klinisch belang (Tier I). De JAK2 c.1849G>T p.(Val617Phe) mutatie wordt aangetroffen in 50-60 % van de patiënten met primaire myelofibrose (PMF) [1,2]. De aanwezigheid van een JAK2 mutatie vormt een majeur WHO-criterium voor diagnose van PMF [1]. De JAK2 c.1849G>T p.(Val617Phe) mutatie is in PMF geassocieerd met een intermediaire prognose en een hoger risico op trombose in vergelijking met patiënten met een CALR mutatie [2,3].</p> <p>Referenties: 1. Swerdlow SH et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (revised 4th edition). IARC: Lyon 2017. 2. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: myeloproliferative neoplasms, version 1.2021. 3. PMID 24986690.</p>	10
<p>Klinische indicatie: PMF</p> <p>NGS toont enkel aanwezigheid aan van de gekende, consensus pathogene variant Val617Phe in het JAK2 gen (VAF 11%): aanwezigheid van deze variant is compatibel met aanwezigheid van een myeloproliferatieve neoplasie (PV, ET of PMF) maar kan ook passen bij MDS/MPN-RS-T. JAK2 varianten worden bij ongeveer 65% PMF patiënten teruggevonden (Tefferi et al., Am J Hematol 2018; zie review Palandri et al., Annals of Hematol. 2019).</p> <p>Er konden geen varianten met een VAF>5% teruggevonden worden in de andere bij PMF klinisch belangrijke genen (ASXL1, CALR, EZH2, IDH1/2, MPL, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53 en U2AF1 (opmerking: grote insertie/deletie varianten kunnen gemist worden.)</p> <p>Besluit: NGS profiel in overeenstemming met aanwezigheid van PMF. Wegens ontbreken van karyotype en hematologische parameters is een risico-analyse volgens de MIPSS70, MIPSS70-plus v2.0 of GIPSS modellen niet mogelijk (Guglielmelli et al., JCO 2018; Tefferi et al., JCO 2018 en Tefferi et al., Leukemia 2018). Ook de klassificatie op basis van het totale genetisch profiel zoals beschreven door Grinfeld et al. (NEJM 2018) is niet mogelijk. De aanwezigheid van de JAK2 variant is een therapeutische target in verschillende klinische trials.</p>	11
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van 1 variant met significant klinisch belang (TIER I): JAK2 c.1849G>T, p.(Val617Phe) (allel frequency 7,7%). JAK2 p.(Val617Phe) mutatie komt voor bij ongeveer 50-60% van de patiënten met primaire myelofibrose (PMF). Aanwezigheid van een JAK2 mutatie bevestigt de clonaliteit van de proliferatie maar deze mutatie kan ook voorkomen bij polycythemia vera en essentiële trombocytose waardoor JAK2 niet diagnostisch is voor PMF. De patiënt komt in aanmerking voor JAK2 inhibitor therapie (Ruxolitinib).</p> <p>Bronnen: • Vannucchi AM, Barbui T, Cervantes F, Harrison C, Kiladjian JJ, Kröger N, Thiele J, Buske C; ESMO Guidelines Committee. Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative neoplasms: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2015 Sep;26 Suppl 5:v85-99. doi: 10.1093/annonc/mdv203. Epub 2015 Aug 4. PMID: 26242182. • WHO revised 4th edition; LYON 2017 • Schieber M, Crispino JD, Stein B. Myelofibrosis in 2019: moving beyond JAK2 inhibition. Blood Cancer J. 2019 Sep 11;9(9):74. doi: 10.1038/s41408-019-0236-2. PMID: 31511492; PMCID: PMC6739355. • Arana Yi C, Tam CS, Verstovsek S. Efficacy and safety of ruxolitinib in the treatment of patients with myelofibrosis. Future Oncol. 2015;11(5):719-33. doi: 10.2217/fon.14.272. PMID: 25757677; PMCID: PMC4920055.</p>	12

<p>Mutatieprofiel passend bij PMF met JAK2 als proliferatieve merker. Ruxolitinib is een JAK-remmer die is goedgekeurd voor gebruik bij patiënten met primaire myelofibrose (cfr. COMFORT-studie). (Cervantes et al. Does ruxolitinib prolong the survival of patients with myelofibrosis? Blood 2017)</p>	13
<p>Er wordt enkel een mutatie in de hotspot van JAK2 gedetecteerd. De aanwezigige JAK2 V617F mutatie resulteert finaal in een intermediate risk, maar nog verder te correleren met eventuele afwijkingen in het karyotype (Tefferi et al., Leukemia 2018).</p>	14
<p>Variant pathogène repris dans la convention NGS. Mutation missense au niveau de l'exon 14 de cet oncogène soutenant le diagnostic de syndrome myéloprolifératif et pouvant être ciblée par une thérapeutique.</p>	15
<p>La mutation JAK2 c.1849G>T (p.(Val617Phe)) est retrouvée chez 50 à 60% des patients atteints de myélobiose primitive (PMF) [1,2]. La présence d'une mutation JAK2 est un critère majeur de l'OMS pour le diagnostic de la PMF [1]. La mutation JAK2 c.1849G>T (p.(Val617Phe)) dans le PMF est associée à un pronostic intermédiaire et à un risque plus élevé de thrombose par rapport aux patients porteurs d'une mutation CALR [2,3].</p> <p>References: 1. Swerdlow SH et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (revised 4th edition). IARC: Lyon 2017. 2. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: myeloproliferative neoplasms, version 1.2021. 3. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24986690/</p>	16
<p>A JAK2 V617F mutation was detected which confirms the diagnosis of a primary myelofibrosis.</p>	17
<p>De gedetecteerde JAK2 hotspotmutatie c.1849G>T (p.(Val617Phe)) ondersteunt de diagnose van primaire myelofibrose (PMF). In de context van PMF wordt de aanwezigheid van een driver variant in JAK2 geassocieerd met een minder gunstige prognose dan CALR mutatie (Pei et al., 2016. Prognostic value of CALR vs. JAK2V617F mutations on splenomegaly, leukemic transformation, thrombosis, and overall survival in patients with primary fibrosis: a meta-analysis. Ann Hematol 95, 1391–1398).</p>	18

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 **$|Z| > 3$** .
- 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 3 brochures die beschikbaar zijn op onze website op het volgende adres:

https://www.wiv-isp.be/QML/index_nl.htm

(kies "BROCHURES" in het voorgestelde menu)

of rechtstreeks op het volgende adres:

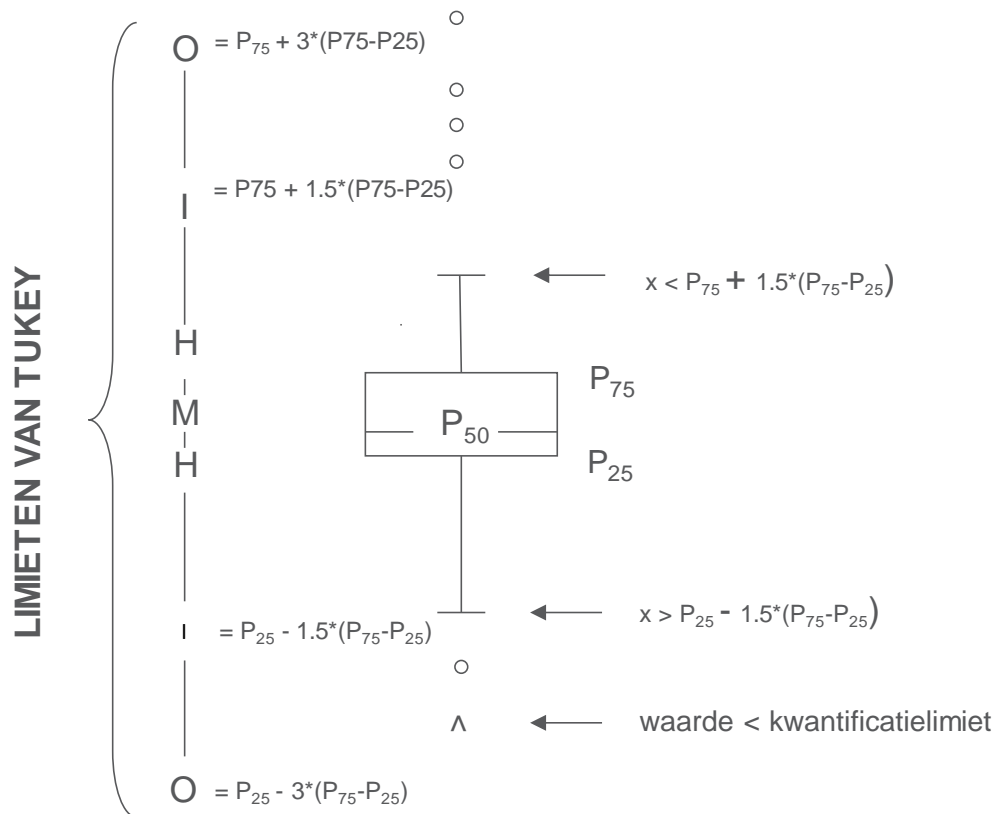
https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/brochures/nl/brochures.htm

- 1) Informatiebrochure over de externe kwaliteitsevaluatieprogramma's voor klinische laboratoria (Algemene informatiebrochure over de externe evaluatie).
- 2) Statistische brochure (Algemene statistische berekeningsprocedure opgesteld door Professor Albert).
- 3) Verwerking van gecensureerde waarden (Statistische berekeningsprocedure toegepast op de gecensureerde waarden opgesteld door Professor Albert).

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 2021.

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.