

## Next Generation Sequencing analyse bij hematologische aandoeningen

Wijzigingen t.o.v. voorgaande versie worden geelgemarkeerd of doorstreept.

Met Next Generation Sequencing (NGS) worden met het **Hemato68\_v3** of **Hemato\_v4** panel varianten opgespoord in 68 (v3) of 116 (v4) genen bij patiënten met acute myeloïde leukemie (AML), myelodysplastisch syndroom (MDS), primaire myelofibrose (PMF), chronische myelomonocytair leukemie (CMML), atypische chronische myeloïde leukemie (aCML), chronische neutrofiële leukemie (CNL), juveniele myelomonocytair leukemie (JMML) maar ook B- en T-celmaligniteiten en bepaalde zeldzamere hematologische aandoeningen. Tijdens een overlapperperiode zullen zowel analyses nog met v3 of reeds met v4 uitgevoerd worden. De keuze zal gebeuren aan de hand van de onderliggende pathologie of te analyseren genen. Welk panel gebruikt werd, staat vermeld in de info in het rapport. De opbouw van het panel is gebaseerd op de richtlijnen van de ComPerMed commissie (<https://www.compermed.be/nl>) en aangevuld met een aantal genen die momenteel nog niet *standard-of-care* zijn maar waarvoor reeds een mogelijke rol in bepaalde aandoeningen aangetoond werd.

### Uitvoering en data-analyse

De analyse maakt gebruik van HyperCap hybridisatieprobes (Roche), waarna de sequencerijng gebeurt op een MiSeq, NovaSeq of NextSeq2000 (Illumina) toestel. Na sequentie-bepaling worden de bekomen sequenties gealigneerd met het menselijk genoom (versie hg38) en worden de varianten geïdentificeerd met behulp van een in-huis bcbio workflow. De library preparation, sequencerijng, primaire en secundaire data-analyse wordt uitgevoerd door het platform Moleculaire Diagnostiek UZ Gent (MDG) (<https://www.cmgg.be/nl/zorgverlener/labguide/platform-moleculaire-diagnostiek-uz-gent-mdg>).

Overzicht van de genen en exonen die geanalyseerd worden met het **Hemato68\_v3 panel** en de gebruikte referentiesequenties. De referentiesequenties werden aangepast bij de ingebruikname van Ensembl v105 (resultaten gerapporteerd na 26/5/2022). Voor oudere resultaten zijn de referentiesequenties op te vragen.

HEMATO_V3 PANEL					
Gen	Chromosomale regio	Referentiesequentie (RefSeq)	Referentiesequentie (Ensembl)	Exon(en)	Indicaties
ANKRD26	10p12.1	NM_014915.3	ENST00000376087	5'UTR en 1 (partieel)	AML
ASXL1	20q11.21	NM_015338.6	ENST00000375687	13	AML, MDS
ATM	11q22.3	NM_000051.4	ENST00000675843	Alle	CLL
BCL2	18q21.33	NM_000633.3	ENST00000333681	1	CLL (refractair)
BCOR	Xp11.4	NM_001123385.2	ENST00000378444	Alle	AML, MDS
BCORL1	Xq26.1	NM_021946.5	ENST00000218147	Alle	AML, MDS
BIRC3	11q22.2	NM_001165.5	ENST00000263464	7-10	CLL
BRAF	7q34	NM_004333.6	ENST00000646891	6, 11, 12, 15	HCL
BTK	Xq22.1	NM_000061.3	ENST00000308731	15	CLL (refractair)
CALR	19p13.13	NM_004343.4	ENST00000316448	9 en 3'UTR (partieel)	ET, PMF, MDS/MPN
CBL	11q23.3	NM_005188.4	ENST00000264033	8, 9	MDS
CBLB	3q13.11	NM_170662.5	ENST00000394030	9, 10	MDS
CEBPA	19q13.11	NM_004364.5	ENST00000498907	Alle	AML
CSF3R	1p34.3	NM_156039.3	ENST00000373103	14-17	CNL

HEMATO\_V3 PANEL

Gen	Chromosomale regio	Referentiesequentie (RefSeq)	Referentiesequentie (Ensembl)	Exon(en)	Indicaties
<i>CUX1</i>	7p22.1	NM_001202543.2	ENST00000360264	Alle	AML
<i>CXCR4</i>	2q22.1	NM_001008540.2	ENST00000409817	1 (partieel)	MW
<i>DDX41</i>	5q35.3	NM_016222.4	ENST00000330503	Alle	AML
<i>DNMT3A</i>	2p23.3	NM_022552.5	ENST00000321117	7, 8-23	AML, MDS
<i>ETNK1</i>	12p12.1	NM_018638.5	ENST00000671733	3	aCML
<i>ETV6</i>	12p13.2	NM_001987.5	ENST00000396373	Alle	ALL
<i>EZH2</i>	7q36.1	NM_004456.5	ENST00000320356	Alle	AML, MDS
<i>FBXW7</i>	4q31.3	NM_033632.3	ENST00000603548	Alle	ALL, JMML, T-LBL
<i>FLT3</i>	13q12.2	NM_004119.3	ENST00000241453	11,12, 14-17, 20	AML
<i>GATA1</i>	Xp11.23	NM_002049.4	ENST00000376670	Alle	AML
<i>GATA2</i>	3q21.3	NM_032638.5	ENST00000341105	alle, inclusief intron 2 en 4	AML
<i>GNAS</i>	20q13.32	NM_000516.7	ENST00000371085	8, 11	MDS
<i>HRAS</i>	11p15.5	NM_005343.4	ENST00000311189	2-4	AML, MDS, JMML
<i>IDH1</i>	2q34	NM_005896.4	ENST00000345146	4, 7	AML
<i>IDH2</i>	15q26.1	NM_002168.4	ENST00000330062	4, 7	AML
<i>JAK2</i>	9p24.1	NM_004972.4	ENST00000381652	12-16	ET, PMF, ALL
<i>JAK3</i>	19p13.11	NM_000215.4	ENST00000458235	11, 13, 15, 17, 19, 21	ALL
<i>KIT</i>	4q12	NM_000222.3	ENST00000288135	2,8-11,13,14,17	AML, SM
<i>KMT2A</i>	11q23.3	NM_001197104.2	ENST00000534358	Enkel detectie <i>KMT2A</i> -PTD mogelijk	AML, MDS
<i>KRAS</i>	12p12.1	NM_004985.5	ENST00000311936	2-4	AML, MDS, JMML
<i>MPL</i>	1p34.2	NM_005373.3	ENST00000372470	1-9, 10, 11-12	ET, PMF, MDS/MPN
<i>MYD88</i>	3p22.2	NM_002468.5	ENST00000650905	3-5	MW
<i>NF1</i>	17q11.2	NM_001042492.3	ENST00000358273	Alle	AML, JMML, CMML
<i>NOTCH1</i>	9q34.3	NM_017617.5	ENST00000651671	25-34 en 3'UTR hotspot	CLL, ALL
<i>NPM1</i>	5q35.1	NM_002520.7	ENST00000296930	11	AML
<i>NRAS</i>	1p13.2	NM_002524.5	ENST00000369535	2-3	AML, MDS, JMML
<i>NUDT15</i>	13q14.2	NM_018283.4	ENST00000258662	Alle	ALL
<i>PHF6</i>	Xq26.2	NM_032458.3	ENST00000332070	Alle	ALL
<i>PIGA</i>	Xp22.2	NM_002641.4	ENST00000333590	Alle	PNH, MDS
<i>PLCG2</i>	16q23.2	NM_002661.5	ENST00000564138	19, 20, 24	CLL (refractair)
<i>PPM1D</i>	17q23.2	NM_003620.4	ENST00000305921	6	AML, tMPN
<i>PTPN11</i>	12q24.13	NM_002834.5	ENST00000351677	3, 13	JMML, AML
<i>RAD21</i>	8q24.11	NM_006265.3	ENST00000297338	Alle	AML
<i>RHOA</i>	3p21.31	NM_001664.4	ENST00000418115	2	AITL

HEMATO_V3 PANEL					
Gen	Chromosomale regio	Referentiesequentie (RefSeq)	Referentiesequentie (Ensembl)	Exon(en)	Indicaties
<i>RRAS</i>	19q13.33	NM_006270.5	ENST00000246792	Alle	JMML
<i>RUNX1</i>	21q22.12	NM_001754.5	ENST00000675419	Alle	AML
<i>SBDS</i>	7q11.21	NM_016038.4	ENST00000246868	Alle	AA, MDS, SBDS
<i>SETBP1</i>	18q12.3	NM_015559.3	ENST00000649279	4	MDS, aCML
<i>SF1</i>	11q13.1	NM_001178030.2	ENST00000377387	Alle	AML
<i>SF3B1</i>	2q33.1	NM_012433.4	ENST00000335508	14-16, 18	AML, MDS
<i>SH2B3</i>	12q24.12	NM_005475.3	ENST00000341259	Alle	JMML, ET
<i>SMC1A</i>	Xp11.22	NM_006306.4	ENST00000322213	Alle	AML
<i>SMC3</i>	10q25.2	NM_005445.4	ENST00000361804	Alle	AML
<i>SRSF2</i>	17q25.1	NM_003016.4	ENST00000392485	1	AML, MDS
<i>STAG2</i>	Xq25	NM_001042749.2	ENST00000218089	3-35	AML
<i>STAT3</i>	17q21.2	NM_139276.3	ENST00000264657	19-21	T-LGL
<i>STAT5B</i>	17q21.2	NM_012448.4	ENST00000293328	16, 17	MPN met eosinofilie, T-LGL
<i>TET2</i>	4q24	NM_001127208.3	ENST00000380013	3-11	AML, MDS
<i>TP53</i>	17p13.1	NM_000546.6	ENST00000269305	2-11, inclusief beta en gamma exonen	AML, MDS, CLL
<i>TPMT</i>	6p22.3	NM_000367.5	ENST00000309983	Alle	ALL
<i>U2AF1</i>	21q22.3	NM_006758.3	ENST00000291552	2, 6	AML
<i>UGT1A1</i>	2q37.1	NM_000463.3	ENST00000305208	promoter	AML
<i>WT1</i>	11p13	NM_024426.6	ENST00000452863	7-9	AML
<i>ZRSR2</i>	Xp22.2	NM_005089.4	ENST00000307771	Alle	AML

Overzicht van de genen en exonen die geanalyseerd worden met het hemato\_v4 panel en de gebruikte referentiesequenties.

HEMATO_V4 PANEL					
Gen	Chromosomale regio	Referentiesequentie (RefSeq)	Referentiesequentie (Ensembl)	Exon(en)	Opmerkingen
<i>ANKDR26</i>	10p12.1	NM_014915.3	ENST00000376087	5'UTR en ex1	
<i>ARID1A</i>	1p36.11	NM_006015.6	ENST00000324856	ex1-20	
<i>ASXL1</i>	20q11.21	NM_015338.6	ENST00000375687	ex12-13	
<i>ATM</i>	11q22.3	NM_000051.4	ENST00000675843	ex2-63	
<i>B2M</i>	15q21.1	NM_004048.4	ENST00000648006	ex1-3	
<i>BCL2</i>	18q21.33	NM_000633.3	ENST00000333681	ex2	resistentie tegen venetoclax
<i>BCOR</i>	Xp11.4	NM_001123385.2	ENST00000378444	ex4-15	
<i>BCORL1</i>	Xq26.1	NM_021946.5	ENST00000218147	ex2-14	
<i>BIRC3</i>	11q22.2	NM_001165.5	ENST00000263464	ex6-9	
<i>BRAF</i>	7q34	NM_004333.6	ENST00000646891	ex6, 12, 13, 16	

HEMATO_V4 PANEL					
Gen	Chromosomale regio	Referentiesequentie (RefSeq)	Referentiesequentie (Ensembl)	Exon(en)	Opmerkingen
<i>BTG1</i>	12q21.33	NM_001731.3	ENST00000256015	ex1-20	
<i>BTK</i>	Xq22.1	NM_000061.3	ENST00000308731	ex11, 14-16	resistentie tegen ibrutinib
<i>CALR</i>	19p13.13	NM_004343.4	ENST00000316448	9 en 3'UTR (100 bp)	
<i>CARD11</i>	7p22.2	NM_032415.7	ENST00000396946	ex 4-10, 15, 20, 21	
<i>CBL</i>	11q23.3	NM_005188.4	ENST00000264033	ex8-9	
<i>CBLB</i>	3q13.11	NM_170662.5	ENST00000394030	ex9-10	
<i>CCL22</i>	16q21	NM_002990.5	ENST00000219235	ex2-3	
<i>CCND1</i>	11q13.3	NM_053056.3	ENST00000227507	ex1	
<i>CCND3</i>	6p21.1	NM_001760.5	ENST00000372991	ex5	
<i>CD28</i>	2q33.2	NM_006139.4	ENST00000324106	ex1-4	
<i>CD33</i>	19q13.41	NM_001772.4	ENST00000262262	ex2 (G13-N53)	enkel voor rs12459419 detectie (gemtuzumab ozogamicin sensitiviteit)
<i>CD58</i>	1p13.1	NM_001779.3	ENST00000369489	ex1-5	
<i>CD79A</i>	19q13.2	NM_001783.4	ENST00000221972	ex4-5	
<i>CD79B</i>	17q23.3	NM_000626.4	ENST00000006750	ex4-6	
<i>CDKN2A</i>	9p21.3	NM_000077.5	ENST00000304494	ex1-2	
<i>CEBPA</i>	19q13.11	NM_004364.5	ENST00000498907	ex1	
<i>CREBBP</i>	16p13.3	NM_004380.3	ENST00000262367	ex1-31	
<i>CSF3R</i>	1p34.3	NM_156039.3	ENST00000373103	ex14-17	
<i>CUX1</i>	7p22.1	NM_001202543.2	ENST00000360264	ex1-24	
<i>CXCR4</i>	2q22.1	NM_001008540.2	ENST00000409817	ex1 (F296-S356)	
<i>DDX3X</i>	Xp11.4	NM_001356.5	ENST00000644876	ex2-16	
<i>DDX41</i>	5q35.3	NM_016222.4	ENST00000330503	ex1-17	
<i>DIS3</i>	13q21.33	NM_014953.5	ENST00000377767	ex1-3, 9-18	
<i>DNMT3A</i>	2p23.3	NM_022552.5	ENST00000321117	ex2-23	
<i>EGR2</i>	10q21.3	NM_000399.5	ENST00000242480	ex2 (P339-E412)	hotspots E356 en H384
<i>EP300</i>	22q13.2	NM_001429.4	ENST00000263253	ex1-31	
<i>ETNK1</i>	12p12.1	NM_018638.4	ENST00000671733	ex3	
<i>ETV6</i>	12p13.2	NM_001987.5	ENST00000396373	ex1-8	
<i>EZH2</i>	7q36.1	NM_004456.5	ENST00000320356	ex2-20	
<i>FAS</i>	10q23.31	NM_000043.6	ENST00000652046	ex3-11	
<i>FBXW7</i>	4q31.3	NM_033632.3	ENST00000603548	ex4-14	
<i>FLT3</i>	13q12.2	NM_004119.3	ENST00000241453	ex1, 11-17, 20	Detectie FLT3-ITD, FLT3-TKD (en andere SNVs) en CDX2 CNV afwijkingen

## HEMATO\_V4 PANEL

Gen	Chromosomale regio	Referentiesequentie (RefSeq)	Referentiesequentie (Ensembl)	Exon(en)	Opmerkingen
<i>FOXO1</i>	13q14.11	NM_002015.4	ENST00000379561	ex1	
<i>GATA1</i>	Xp11.23	NM_002049.4	ENST00000376670	ex1-6	
<i>GATA2</i>	3q21.3	NM_032638.5	ENST00000341105	ex2-6	ook intronen 2 en 4
<i>GNA13</i>	17q24.1	NM_006572.6	ENST00000439174	ex1-4	
<i>GNB1</i>	1p36.33	NM_002074.5	ENST00000378609	ex1	
<i>HAVCR2</i>	5q33.3	NM_032782.5	ENST00000307851	ex2 (D74-G106)	Hotspot Y82
<i>HRAS</i>	11p15.5	NM_005343.4	ENST00000311189	ex2-4	
<i>ID3</i>	1p36.12	NM_002167.5	ENST00000374561	ex1-2	
<i>IDH1</i>	2q34	NM_005896.4	ENST00000345146	ex 4, 7	
<i>IDH2</i>	15q26.1	NM_002168.4	ENST00000330062	ex 4, 7	
<i>IL7R</i>	5p13.2	NM_002185.5	ENST00000303115	ex6	
<i>IRF4</i>	6p25.3	NM_002460.4	ENST00000380956	ex2-3	
<i>JAK1</i>	1p31.3	NM_002227.4	ENST00000342505	ex12-16	
<i>JAK2</i>	9p24.1	NM_004972.4	ENST00000381652	ex12-16, 20	
<i>JAK3</i>	19p13.11	NM_000215.4	ENST00000458235	ex10-19	
<i>KIT</i>	4q12	NM_000222.3	ENST00000288135	ex1-21	
<i>KLF2</i>	19p13.11	NM_016270.4	ENST00000248071	ex1-3	
<i>KMT2A</i>	11q23.3	NM_001197104.2	ENST00000534358	nvt	Enkel voor de detectie van KMT2A-PTD
<i>KMT2D</i>	12q13.12	NM_003482.4	ENST00000301067	ex2-55	
<i>KRAS</i>	12p12.1	NM_004985.5	ENST00000311936	ex2-4	
<i>MAP2K1</i>	15q22.31	NM_002755.4	ENST00000307102	ex2-3	
<i>MEF2B</i>	19p13.11	NM_001145785.2	ENST00000424583	ex2-4	
<i>MPL</i>	1p34.2	NM_005373.3	ENST00000372470	ex1-12	
<i>MYC</i>	8q24.21	NM_002467.6	ENST00000621592	ex1-3	
<i>MYD88</i>	3p22.2	NM_002468.5	ENST00000650905	ex3-5	
<i>NF1</i>	17q11.2	NM_001042492.3	ENST00000358273	ex1-58	
<i>NFE2</i>	12q13.13	NM_001136023.3	ENST00000435572	ex2-3	
<i>NFKBIE</i>	6p21.1	NM_004556.3	ENST00000619360	ex1-6	
<i>NOTCH1</i>	9q34.3	NM_017617.5	ENST00000651671	ex26-34 + 3'UTR hotspot	
<i>NOTCH2</i>	1p12	NM_024408.4	ENST00000256646	ex34	
<i>NPM1</i>	5q35.1	NM_002520.7	ENST00000296930	ex5, 11	
<i>NRAS</i>	1p13.2	NM_002524.5	ENST00000369535	ex2-3	
<i>NSD2</i>	4p16.3	NM_001042424.3	ENST00000508803	ex20-21	
<i>NUDT15</i>	13q14.2	NM_018283.4	ENST00000258662	ex1-3	sensitiviteit voor mercaptopurines
<i>PHF6</i>	Xq26.2	NM_032458.3	ENST00000332070	ex2-10	
<i>PIK3CA</i>	3q26.32	NM_006218.4	ENST00000263967	ex10, 21	
<i>PIM1</i>	6p21.2	NM_002648.4	ENST00000373509	ex1-4	
<i>PLCG1</i>	20q12	NM_002660.3	ENST00000685551	ex1, 11, 15-19, 29	

## HEMATO\_V4 PANEL

Gen	Chromosomale regio	Referentiesequentie (RefSeq)	Referentiesequentie (Ensembl)	Exon(en)	Opmerkingen
<i>PLCG2</i>	16q23.2	NM_002661.5	ENST00000564138	ex19, 20, 24, 27, 30	resistentie tegen ibrutinib
<i>POT1</i>	7q31.33	NM_015450.3	ENST00000357628	ex5-19	
<i>PPM1D</i>	17q23.2	NM_003620.4	ENST00000305921	ex6	
<i>PRKCB</i>	16p12.2	NM_002738.7	ENST00000643927	ex9-17	
<i>PRPF8</i>	17p13.3	NM_006445.4	ENST00000304992	ex30-31	
<i>PTEN</i>	10q23.31	NM_000314.8	ENST00000371953	ex1-9	
<i>PTPN11</i>	12q24.13	NM_002834.5	ENST00000351677	ex3, 13	
<i>RAD21</i>	8q24.11	NM_006265.3	ENST00000297338	ex2-14	
<i>RHOA</i>	3p21.31	NM_001664.4	ENST00000418115	ex2-55	
<i>RUNX1</i>	21q22.12	NM_001754.5	ENST00000675419	ex2-9	
<i>SETBP1</i>	18q12.3	NM_015559.3	ENST00000649279	ex4	
<i>SF3B1</i>	2q33.1	NM_012433.4	ENST00000335508	ex12-18	
<i>SGK1</i>	6q23.2	NM_001143676.3	ENST00000367858	ex1-9	
<i>SH2B3</i>	12q24.12	NM_005475.3	ENST00000341259	ex2-8	
<i>SMC1A</i>	Xp11.22	NM_006306.4	ENST00000322213	ex1-25	
<i>SMC3</i>	10q25.2	NM_005445.4	ENST00000361804	ex1-29	
<i>SOCS1</i>	16p13.13	NM_003745.2	ENST00000332029	ex2	
<i>SRSF2</i>	17q25.1	NM_003016.4	ENST00000392485	ex1	
<i>STAG2</i>	Xq25	NM_001042749.2	ENST00000218089	ex3-35	
<i>STAT3</i>	17q21.2	NM_139276.3	ENST00000264657	ex10-16, 19-21	
<i>STAT5B</i>	17q21.2	NM_012448.4	ENST00000293328	ex14-18	
<i>STAT6</i>	12q13.3	NM_003153.5	ENST00000300134	ex5, 9, 11-14, 16-18	
<i>TCF3</i>	19p13.3	NM_003200.5	ENST00000262965	ex16-18	
<i>TET2</i>	4q24	NM_001127208.3	ENST00000380013	ex3-11	
<i>TNFAIP3</i>	6q23.3	NM_001270508.2	ENST00000612899	ex2-9	
<i>TNFRSF14</i>	1p36.32	NM_003820.4	ENST00000355716	ex1-8	
<i>TP53</i>	17p13.1	NM_000546.6	ENST00000269305	ex1-11	ook beta en gamma exonen
<i>TPMT</i>	6p22.3	NM_000367.5	ENST00000309983	ex2-9	sensitiviteit voor mercaptopurines
<i>TRAF2</i>	9q34.3	NM_021138.4	ENST00000247668	ex2-11	
<i>U2AF1</i>	21q22.3	NM_006758.3	ENST00000291552	ex2, 6	
<i>UBA1</i>	Xp11.3	NM_003334.4	ENST00000335972	ex3	VEXAS syndroom
<i>UBTF</i>	17q21.31	NM_014233.4	ENST00000436088	ex7, 13, 18-19	Detectie UBTF-TD en UBTF::ATXN7L3 fusie
<i>WT1</i>	11p13	NM_024426.6	ENST00000452863	ex7-9	
<i>XPO1</i>	2p15	NM_003400.4	ENST00000401558	ex15	
<i>ZEB2</i>	2q22.3	NM_014795.4	ENST00000627532	ex10 (G1023-A1085)	hotspots H1038 en Q1072
<i>ZRSR2</i>	Xp22.2	NM_005089.4	ENST00000307771	ex1-11	

Enkel varianten in de aangeduide regio's (exonen en soms UTR's, intronen of intergenische regio's) worden geanalyseerd, met +/- 20 bp aan beide kanten van de exonen.

Alle genen worden voor elk staal geanalyseerd en alle relevante varianten gerapporteerd, ongeacht de onderliggende pathologie, met uitzondering voor varianten in **CD33 (enkel v4)**, **TPMT** en **NUDT15 (beide zowel in v3 als v4)**. Voor **CD33** wordt de aanwezigheid van p.(Ala14Val) (rs12459419) enkel gerapporteerd in de context van **AML**. Varianten in **TPMT** en **NUDT15** worden enkel gerapporteerd in de context van B-ALL, T-ALL of T-LBL. **Voor andere pathologieën is de info beschikbaar op aanvraag.** , maar zijn beschikbaar op aanvraag voor andere pathologieën. De klinische interpretatie van de gedetecteerde varianten is wel specifiek voor de onderliggende pathologie.

### Regio's met systematische drop-out en analyse van de coverage

Voor sommige regio's wordt systematisch een verlaagde coverage gedetecteerd en is de afwezigheid van varianten onder voorbehoud. In onderstaande tabel worden de regio's met systematische drop-out opgelijst. Wanneer varianten gedetecteerd worden in deze regio's, worden deze wel gerapporteerd indien ze door voldoende reads (>30) bevestigd worden. Deze regio's worden niet meer opgelijst in de het rapport onder de drop-out regio's.

HEMATO_V3 panel				
Gen	Chromosomale regio	Exon	Aminozuren	Hotspots
<i>CEBPA</i>	chr19:33301660-33301719 en chr19:33301980-33302089	4	233-252 en 420-445	Geen
<i>CUX1</i>	chr7:102248700-102248859	24	1404-1456	Geen
<i>DNMT3A</i>	chr2:25240455-25240470	Intron 19	Nvt	/
<i>SF1</i>	chr11:64777981-64778309	1	29-136	Geen
<i>SMC3</i>	chr10:110599761-110599772	24	792-796	Geen

HEMATO_V4 panel				
Gen	Chromosomale regio	Exon	Aminozuren	Hotspots
<i>DDX3X</i>	chrX:41339036-41339083	3	Verlaagde coverage bevindt zich in het intron hieraan voorafgaand	Geen
<i>TNFAIP3</i>	chr6:137874845-137875035	3	Verlaagde coverage bevindt zich in het intron hieraan voorafgaand	Geen

De detectie van FLT3-ITD (internal tandem duplication) werd gevalideerd tot een grootte van 120 bp, wat volstaat voor 98.6% van de patiënten met een FLT3-ITD (Schnittger et al., Genes Chromosomes and Cancer 2012). Grotere ITDs kunnen in deze analyse gemist worden, maar worden wel gedetecteerd met de snelle FLT3 mutatieanalyse met capillaire elektroforese die ook steeds uitgevoerd wordt voor patiënten met **AML of AML/MDS**.

Wanneer andere regio's een te lage coverage/gevoeligheid vertonen, worden deze vermeld in de rapportering. Een verlaagde coverage kan een technische reden hebben maar kan anderzijds ook indicatief zijn voor de aanwezigheid van een **kleine of grote** deletie. Dit dient met de cytogenetica gecorreleerd te worden.

## Detectielimiet en sensitiviteit/specificiteit

In de analyse worden alle varianten (uitgezonderd de (vermoedelijk) benigne varianten) met een *variant allele frequency* (VAF) > 5 % gerapporteerd. Pathogene en vermoedelijk pathogene varianten worden ook gerapporteerd indien de VAF tussen 2 en 5 % bedraagt en er > 30 reads zijn met deze variant.

Wanneer vergeleken wordt met de resultaten die bekomen werden met andere analyses vertoont zowel het Hemato68\_v3 panel als het Hemato\_v4 panel een sensitiviteit van 100 % en een specificiteit van 100 %.

## Aangeboren varianten

Deze analyse maakt geen onderscheid tussen aangeboren en verworven varianten.

## Rapportering

In de technische validatie worden de varianten geclassificeerd volgens biologische impact op het eiwit waarvoor het transcript codeert. Hierin worden 4 biologische categorieën gebruikt:

- **Pathogene variant:** gekende pathogene variant in een hotspot, bv. *JAK2* p.(Val617Phe) of V617F
- **Vermoedelijk pathogene variant:** variant die met grote zekerheid als pathogeen mag aanzien worden, maar waarvan de pathogeniciteit nog niet sluitend aangetoond werd
- **Varianten met ongekende betekenis (*Variant of unknown significance*; **VUS**):** variant waarvan de impact op het eiwit niet betrouwbaar kan ingeschat worden
- **(Vermoedelijk) Benigne variant:** variant waarvan geen invloed op het eiwit verwacht wordt, deze varianten komen voor in de normale populatie.

Enkel de eerste drie types worden in het rapport vermeld. Indien gewenst kan een lijst met de (vermoedelijk) benigne varianten bekomen worden. De varianten met ongekende betekenis (VUS) in coderende regio's worden afzonderlijk van de andere varianten gerapporteerd. VUS in intronische of intergenische regio's worden niet gerapporteerd.

Voor de klinische interpretatie worden enkel de pathogene en vermoedelijk pathogene varianten beoordeeld, zonder onderscheid te maken tussen beide. Varianten met ongekende betekenis (VUS) worden niet opgenomen in de klinische interpretatie. De klinische interpretatie volgt zo goed mogelijk de meest recente internationale richtlijnen en literatuur. Hierbij wordt zowel de diagnostische, prognostische als therapeutische impact ingeschat.

Daarnaast wordt de info over de gebruikte methode, de NGS indicatie voor de terugbetaling, de MOC registratie eveneens apart gerapporteerd.

## Terugbetaling

Het opsporen van mutaties met NGS in AML, MDS, PMF, MDS/MPN, CMML, aCML, CNL, systemische mastocytose, T-ALL/LBL, en CLL valt onder de NGS conventie (pilotstudie binnen goedgekeurd NGS netwerk).

Daarnaast wordt er voor bepaalde toepassingen ook een deel van de NGS analyse aangerekend onder art. 33bis (AML, MDS-EB2, PMF, CNL, ET, SM, MDS/MPN en CMML) of art.33ter (AML en CLL).

Voor meer info over de NGS conventie wordt verwezen naar de website van het RIZIV.



**Accreditatie**

Deze analyse is BELAC geaccrediteerd sinds 2/12/2019.