

Ringversuch EGFR Exon 20 Insertionen (2021)

Molekularpathologischer Nachweis von EGFR Insertionen im Exon 20

Lead-Institut:

Prof. Dr. rer. nat. S. Merkelbach-Bruse, Universitätsklinikum Köln

Panel-Mitglieder Gewebe:

Prof. Dr. med. F. Haller, Universitätsklinikum Erlangen
Dr. med. A. Streubel, Helios Klinikum E. v. Behring Berlin
Prof. Dr. med. G. Baretton, Universitätsklinikum Dresden
Prof. Dr. rer. nat. W. Dietmaier, Universitätsklinikum Regensburg
Dr. rer. nat. U. Siebolts, Universitätsklinikum Halle (Saale)
Prof. Dr. (BSc., PhD.) S. Laßmann, Universitätsklinikum Freiburg

Diese Anleitung ist vorläufig!
Bitte beachten Sie die finale Anleitung,
die den Ringversuchsproben beiliegt
bzw. zum Testzeitraum unter
www.quip.eu online zum Download
bereit steht.

Panel-Mitglieder Liquid Biopsy:

Dr. med. A. Streubel, Helios Klinikum E. v. Behring Berlin
Prof. Dr. med. G. Baretton, Universitätsklinikum Dresden
Prof. Dr. (BSc., PhD.) S. Laßmann, Universitätsklinikum Freiburg

Vor dem Hintergrund jüngster klinischer Forschung zur Weiterentwicklung therapeutischer Optionen für PatientInnen mit EGFR Exon 20 Insertionen führt die QuIP dazu einen Ringversuch durch. Spezifischer Gegenstand verschiedener klinischer Studien sind PatientInnen mit Insertionen in Exon 20 des EGFR-Gens (Insertionen mit bekannter Signifikanz in der Region zwischen Aminosäure D761 bis C775; Vyse & Huang, Signal Transduction and Targeted Therapy, 2019). Diese sind daher Inhalt des QuIP-Ringversuches.

Die QuIP unterstützt ausdrücklich die Diagnostik mittels Liquid Biopsy. Da die Analyse von *EGFR* Exon 20 Insertionen mittels Liquid Biopsy noch nicht in allen Instituten etabliert ist, ist der Liquid Biopsy Teil in diesem Ringversuch als **freiwillig** zu verstehen. Der Ringversuch ist nur im Paket mit beiden Teilen erhältlich, beide Teile können aber **unabhängig voneinander** bestanden werden. Teilnehmern, welche die Analyse mittels Liquid Biopsy Teil nicht durchführen (können), entsteht dadurch kein Nachteil.

Versuchsanleitung

Untersuchungsmaterial:

Gewebeteil (Sektion 1): Es sind insgesamt 10 Fälle zu untersuchen, 2 Fälle mit FFPE Gewebe von Patienten und 8 Fälle mit künstlichem FFPE Gewebe. Sie erhalten für die Sektion Gewebe pro Fall des Patientenmaterials drei ungefärbte Objektträger (1x 2 µm für eine HE-Färbung, 2x 10 µm für die molekularpathologische Untersuchung). Für die Untersuchung des künstlichen Gewebes erhalten Sie einen Schnitt à 10 µm in einem Schraubdeckelröhrchen. Die minimale Allelfrequenz hier beträgt 5%. Proben mit niedrigerer Allelfrequenz werden als Wildtyp gewertet.

Liquid Biopsy-Teil (Sektion 2): Sie erhalten pro Fall ein 5 ml Schraubdeckel-Röhrchen mit 2 ml humanem Plasma, das mit 60 ng wildtypischer oder mutierter fragmentierter DNA in verschiedenen Allelfrequenzen oberhalb von 1% versetzt wurde. Zusätzlich enthält jede Probe wt-DNA zur internen Extraktionskontrolle. Die Referenzproben für diesen Ringversuch wurden von der Firma SensiD produziert. Die minimale Allelfrequenz hier beträgt 1%. Proben mit niedrigerer Allelfrequenz werden als Wildtyp gewertet.

Versand: Die Proben werden zwischen dem **12.05.** und dem **15.05.2021** an Sie gesendet. Falls die Proben nicht in einwandfreiem Zustand eintreffen, bitten wir um sofortige telefonische Reklamation. Achten Sie insbesondere schon beim Auspacken darauf, ob der Karton beschädigt ist und beim Schütteln ein „Klirrgeräusch“ zu hören ist (ggfs. ein Foto machen).

Untersuchung: Die Untersuchung der Veränderungen im *EGFR*-Gen muss in der teilnehmenden Einrichtung für Pathologie im gesamten Leistungsumfang erbracht und fachärztlich verantwortet werden. Dies wird durch autorisierte Übermittlung der Testergebnisse bestätigt. Die Auswahl der Testmethode ist frei und liegt im Ermessen der Teilnehmer. **Bitte beachten Sie, dass ggfs. nicht alle Analysemethoden adäquat für diesen Ringversuch sind.** Ziel der Analyse ist die Unterscheidung von wildtypischen und mutierten *EGFR*-Sequenzen im Exon 20 in der Region zwischen Aminosäure D761 bis C775. Die Fälle sind mit unterschiedlichen Insertionen bestückt.

Auswertung: Jede Sektion (Gewebe und Liquid Biopsy) wird separat mit je maximal 20 Punkten bewertet. Pro richtiger Bestimmung des *EGFR*-Mutationsstatus einer Ringversuchsprobe (‘Liegt eine Insertion im *EGFR* Exon 20 vor?: ja/nein’) werden zwei Punkte vergeben. Zusätzlich wird die Benennung der Insertion abgefragt, dies ist jedoch **nicht erfolgsabhängig**. Kann ein Nachweis aus technischen Gründen nicht durchgeführt werden, so wird nur ein Punkt vergeben. Diese Möglichkeit kann nur einmal verwendet werden, außer in begründeten Ausnahmefällen. Jede Sektion (Gewebe bzw. Liquid Biopsy) ist mit 19 Punkten oder mehr bestanden.

Es werden zusätzlich Daten zur verwendeten Methode in Form eines Dropdownmenüs erfragt, die jedoch keinen Einfluss auf das Bestehen des Ringversuches haben. Wir bitten Sie jedoch hier genaue Angaben insbesondere zu den verwendeten Assays zu machen, um Rückschlüsse ziehen zu können, welche Assays für diesen Nachweis geeigneter sind als andere und ein möglichst breites Mutationsspektrum abdecken.

Einsendeschluss: Die Ergebnisse sind über das Online-Portal www.quip.eu **zwischen dem 17.05. und dem 11.06.2021** einzugeben. Aus Gründen der Qualitätssicherung senden Sie bitte die gefärbten HE-Schnitte bis spätestens **25.06.2021 originalverpackt**, das heißt im blauen QuIP Kasten mit der Setnummer, an die QuIP Geschäftsstelle zurück (Qualitätssicherungs-Initiative Pathologie QuIP GmbH; Reinhardtstr. 1; 10117 Berlin). Bitte stellen Sie die erfolgreiche Zustellung durch Nachverfolgung des Sendungsverlaufs beim Logistikpartner sicher. Für Ihre interne Institutsdokumentation sorgen Sie bitte ggf. vorab für die Digitalisierung der Schnitte, diese werden bei der QuIP für 18 Monate archiviert und werden **NICHT** an Sie zurückgesendet.

Zertifikat: Die Teilnehmer erhalten bei Erfüllen der Ringversuchsanforderung ein Zertifikat “mit Erfolg teilgenommen”. Ansonsten wird die Teilnahme bescheinigt. Jede Sektion (Gewebe und Liquid Biopsy) wird **einzel**n zertifiziert.

Unterauftragsvergabe: Im Unterauftrag wurden an das Leadpanel folgende Aufgaben vergeben – Materialauswahl und Schneiden der Fälle mit Patientenmaterial, sämtliche Kontrolltestungen für den Gewebe- und Liquid Biopsy-Teil. Mit der Herstellung der künstlichen Proben (Gewebe und Liquid Biopsy) wurde die Firma SensID GmbH in Rostock beauftragt.