

Molekulares Testing in der Tumorpathologie

Befunderstellung
Qualitätsmanagement

Fritz Wrba
MUW

Befunderstellung

Zweck:
standardisierte dokumentierte Weitergabe von Untersuchungsergebnissen
und deren Interpretation

Diagnose und Therapie

Befundinhalt - wie soll ein Befund abgefasst sein?
wie lange darf es dauern?

KLINISCHES INSTITUT FÜR PATHOLOGIE
 Vorstand: o. Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. h. Christiane Hejnysek-Prösch Edin
Anforderungsschein Molekularpathologie Version 11
 KSP-Mole-FRM Seite 1 von 1
 gültig ab: 13.05.2012

BITTE GENAU UND LESERLICH AUSFÜLLEN, SONST ERFOLGT KEINE BEARBEITUNG!

| | |
|--|---|
| <p>Patientendaten:</p> <p>ZUNAME / Vorname: _____</p> <p>Geburtsdatum: _____</p> <p>Fragestellung: _____</p> <p>Material:</p> <p><input type="checkbox"/> Paraffinblock</p> <p><input type="checkbox"/> Frischgewebe</p> <p><input type="checkbox"/> EDTA-Blut</p> <p><input type="checkbox"/> Sonstiges: _____</p> <p>Organ: _____</p> <p>Tumoranteil in %: _____</p> | <p>Zuweisende KLINIK:</p> <p>Auswärtige Nr.: _____</p> <p>Anforderer(in) Pathologin (AKH - 3/J): _____</p> <p>Datum: _____</p> <p>Insto Nr.: _____</p> <p>Interne Nr.: _____</p> <p>Anmerkungen: _____</p> <p>Blöcke poolen: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein</p> <p style="font-size: small;">(Eine Angabe mehrerer Blöcke immer gepoolt!)</p> |
|--|---|

| | |
|---|--|
| <p>Mutationsanalysen (Sequenzierung):</p> <p><input type="checkbox"/> Braf Exon 11, 15</p> <p><input type="checkbox"/> Braf Exon 19</p> <p><input type="checkbox"/> c-KIT Exon 9, 11, 13, 17 (GIST)</p> <p><input type="checkbox"/> c-KIT Exon 11, 13, 17, 18</p> <p><input type="checkbox"/> EGFR Exon 18, 19, 20, 21</p> <p><input type="checkbox"/> FAS Exon 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9</p> <p><input type="checkbox"/> GNAS</p> <p><input type="checkbox"/> Kras Exon 2, 3</p> <p><input type="checkbox"/> MET Exon 16, 17, 18, 19</p> <p><input type="checkbox"/> NRAS Exon 2, 3</p> <p><input type="checkbox"/> p53 Exon 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11</p> <p><input type="checkbox"/> PDGFRA Exon 12, 18 (GIST)</p> <p><input type="checkbox"/> RET Exon 8, 10, 11, 13, 14, 15, 16</p> | <p>Translokationen (RNA):</p> <p><input type="checkbox"/> ARMS - PAX3-PKRX t(2;13), PAX7-PKRX t(1;13)</p> <p><input type="checkbox"/> CFS - ETV6-NTRK3 t(12;16)</p> <p><input type="checkbox"/> DSRP - COL1A1-PDGFRB t(17;22)</p> <p><input type="checkbox"/> DSRCT - EVS-WT1 t(11;22)</p> <p><input type="checkbox"/> EMC5 - EVS-CHN t(9;22), RBP18-CHN t(9;17)</p> <p><input type="checkbox"/> Ewing SA - EWS-FLI1 t(11;22), EWS-ERG t(21;22)</p> <p><input type="checkbox"/> Fibromyoid SA - FUS-CREB t(7;16)</p> <p><input type="checkbox"/> Myxoides Lipo SA - TLS-CHOP t(12;16), EWS-CHOP t(12;22)</p> <p><input type="checkbox"/> Synovial SA - SYT-SSX t(18;18)</p> <p><input type="checkbox"/> TFE3 - ASP1-TFE3 t(17;17), PSF/P300-TFE3 t(17;17)</p> |
|---|--|

| | | |
|--|--|---|
| <p>Translokationen - DNA:</p> <p><input type="checkbox"/> BCL1/JH</p> <p><input type="checkbox"/> BCL2/JH</p> | <p>Klonalitäts-tests:</p> <p><input type="checkbox"/> IGH / IGK</p> <p><input type="checkbox"/> TCR-β / TCR-γ</p> | <p>MSI:</p> <p><input type="checkbox"/> Mikro-Satelliten-Instabilität (tumoral- und Tumorgewebe notwendig)</p> |
|--|--|---|

Erreger-Nachweis mittels PCR:

HPV High Risk

ISH pos. neg. fragl.

p16 pos. neg. fragl.

Mycobacterium tuberculosis

ZN pos. neg. fragl.

| | | |
|--|--|---|
| <p>Translokationen - FISH:</p> <p><input type="checkbox"/> ALK</p> <p><input type="checkbox"/> ARMS (PKRX/PKX01A)</p> <p><input type="checkbox"/> CDK4</p> <p><input type="checkbox"/> Ewing Sarkoma - EWS</p> <p><input type="checkbox"/> FUS (18; Fusion in Sarkoma)</p> <p><input type="checkbox"/> MDM 2 (Minau Double Minute 2)</p> <p><input type="checkbox"/> Myxoides Lipo SA - DDT3/CHOP</p> | <p><input type="checkbox"/> PDGFB (Desmoplastisches Sarkoma)</p> <p><input type="checkbox"/> Synovial Sarkoma - SYT</p> <p><input type="checkbox"/> TFE3</p> | <p>Centromer - FISH:</p> <p><input type="checkbox"/> CEP 1</p> <p><input type="checkbox"/> CEP 7</p> <p><input type="checkbox"/> CEP 10</p> <p><input type="checkbox"/> CEP 17</p> <p><input type="checkbox"/> CEP Y</p> <p><input type="checkbox"/> HER2-SISH</p> |
|--|--|---|

| Funktion | Name | Datum | Unterschrift |
|-------------|------|------------|--------------|
| Erstellt | IKH | 12.08.2012 | A.B. |
| Geprüft | DM | 12.08.2012 | A.B. |
| Freigegeben | CEL | 13.08.2012 | A.B. |

| | |
|--|--|
| <p style="text-align: center;">Molekularpathologischer Befund</p> <p>Nachname: _____</p> <p>Vorname: _____</p> <p>Geb.Datum: 27.09.1940</p> <p>Lokalisation: Rectum</p> <p>Gewebeart: Tumor</p> <p>Auftraggeber/Pathologie: Wtba</p> <p>Einwander / Klinik: if</p> <p>Untersuchungen: c-KIT, PDGFRA</p> | <p style="text-align: center;">AKH Wien Währinger Gürtel 18-20 1080 Wien Befundauskunft: 01 40400 / 3873 od. 5874 Allgemeiner Auskunft: 01 40400 / 3870 E-Mail: post_akh_post_rsp@akhwien.at</p> <p>SP-Nr.: 201228454 In-Nr.: 121601</p> <p>Eingangsdatum: 28.12.2012</p> <p>Erledigt Labor: 07.01.2013</p> <p>Tu-Anteil: 35 %</p> <p>DNA-Konz. 1.Prüf.: 24.2 ng/µl</p> <p>2.Prüf.: ng/µl</p> |
|--|--|

Indikation

Material (Art, Lokalisation)

Untersuchungszweck (c KIT, K ras) , Test - Methode

Referenzsequenzen

Ergebnisse (standardisierte Nomenklatur)

Interpretation (analytisch / klinisch)

Kommentare:

Limitation, analytische Sensitivität und Spezifität

Ev Empfehlungen zu Therapie

Unterschriften

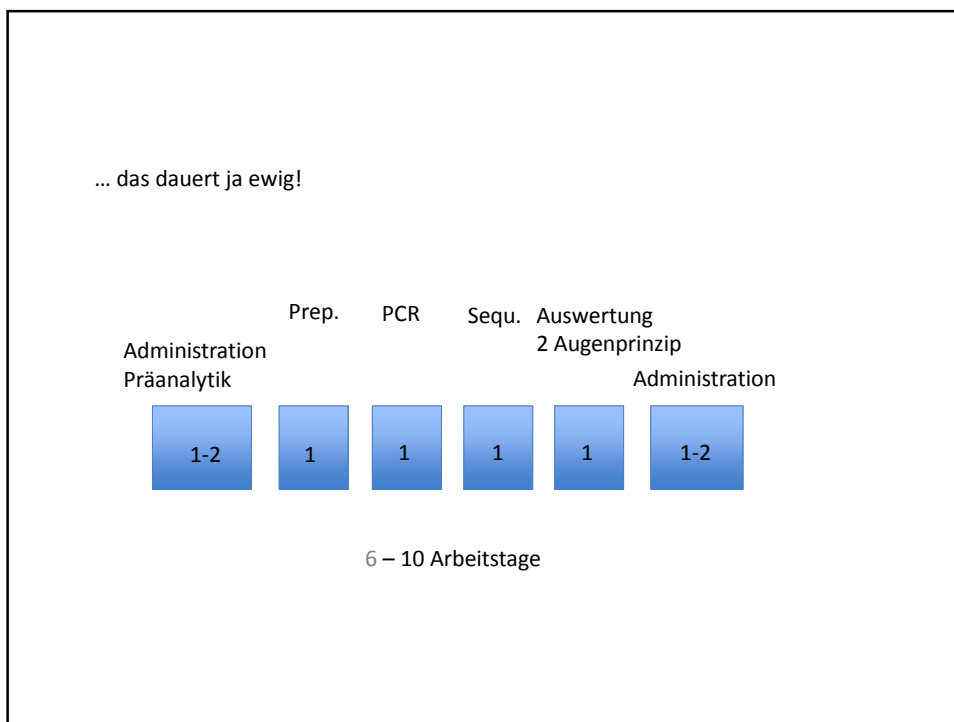
Datum 07.01.2013

*Abkürzungen nur wenn generell bekannt (DNA, RNA, PCR, FISH)

*
Kit: Version, Erzeuger, Gerätetyp

The top screenshot shows the HGVS website with the title "Recommendations for the description of DNA sequence variants - v2.0" and a last modified date of November 1, 2012. It includes a definition of a nucleotide substitution and a note about deletion/insertions.

The bottom screenshot shows the IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN) website, titled "Abbreviations and Symbols for Nucleic Acids, Polynucleotides and their Constituents". It lists recommendations from 1970 and provides contact information for G. P. Moss at Queen Mary University of London.



Qualitätsmanagement

Räumliche Voraussetzungen

Datenverarbeitung und Dokumentation (Laboraufzeichnungen!)

SOP *Standard operating procedures*

Regelmässige Fortbildungen und Labormeetings

Auswertung: 2 Augenprinzip

Ringversuche:

Preanalytische Phase

Extraktionsphase

Amplifikationsphase

Detektionsphase

Befund

“Blind Testing”

Ringversuch (*round robin test*) dient externer Qualitätssicherung,

Situation:

identische Proben bei unterschiedlichen Verfahren (Sequ, PCR Kits, isH etc)

Anbieter:

Österreichische Gesellschaft für Pathologie
Österreichische Division der IAP

B raf
EGFR



EGFR, K ras, B raf, c Kit, HPV,
EML 4 ALK (FISH, IH)

Virchows Arch (2008) 453:417–431
DOI 10.1007/s00428-008-0665-y

REVIEW AND PERSPECTIVE



***KRAS* mutation testing for predicting response to anti-EGFR therapy for colorectal carcinoma: proposal for an European quality assurance program**

| Method of DNA extraction | | | | | Method of measurement of DNA | | | | |
|--------------------------|--|------------------------|---------|------------------------|------------------------------|---|----------|---------|------------------------|
| Lab-ID | Case 1-A | Case 2-B | Case3-C | Comment by distributor | Lab-ID | Case 1-A | Case 2-B | Case3-C | Comment by distributor |
| ID01 | Maxwell FFPE tissue dev | | | | ID01 | Qubit fluorimetry | | | |
| ID02 | Qiamp DNA FFPE | Tissue Kit, cat N66404 | | | ID02 | | | | no DNA measurement? |
| ID04 | Qiagen FFPE tissue kit | | | | ID04 | | | | no DNA measurement? |
| ID05 | High Pure PCR Template Preparation Kit - Roche | | | | ID05 | spectrophotometric measurement (Nanodrop - thermo Scientific) | | | |
| ID06 | Roche DNA extr kit | | | | ID06 | Nanodrop | | | |
| ID07 | fibre glass extraction | | | | ID07 | UV photometry | | | |
| ID08 | Qiagen QIAamp DNA micro kit | | | | ID08 | Nanodrop | | | |
| ID09 | DNA FFPE MiniKit | | | | ID09 | Nanodrop, Peglab | | | |
| ID10 | MAXWELL 16 instrument | | | | ID10 | Spectrophotometer Nanodrop | | | |
| ID11 | DNA extr. Aus Paraffinmat | | | | ID11 | Photometr. Messung | | | |
| ID12 | EZ1 automal. Fa. Qiagen | | | | ID12 | Nanodrop ND-1000 FA Peglab | | | |
| ID13 | Qiamp FFPE kit | | | | ID13 | Qubit | | | |

Ring Trial
Molecular Diagnostics
 EGFR mutations in NSCLC
 Series I – October 2011
results

| Amount of DNA extracted (as in regular report) | | | | | Method of sequencing (as in regular report) | | | | |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|--|--|---|------------------------|---------|--|
| Lab-ID | Case 1-A | Case 2-B | Case3-C | Comment by distributor | Lab-ID | Case 1-A | Case 2-B | Case3-C | Comment by distributor |
| ID01 | 43.7 ng/µl (100µl) | 48.5 ng/µl (100µl) | 14.6 ng/µl (100µl) | | ID01 | | | | method of sequencing is not stated (This is important, because it will tell the oncologist about limitations of sensitivity) |
| ID02 | | | | no amount of DNA used for PCR is given | ID02 | | | | method of sequencing is not stated (This is important, because it will tell the oncologist about limitations of sensitivity) |
| ID04 | | | | no amount of DNA used for PCR is given | ID04 | Light cycler 4890 realtime PCR | EGFR RQq PCR kit24, V1 | | |
| ID05 | 72.4 ng/µl | 72.4 ng/µl | 16.1 ng/µl | | ID05 | Direct sequencing (Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer, Applied Biosystems) of purified (QIAquick Gel Extraction Kit -Qiagen, Valencia, CA, USA) target-specific PCR product (exon 18,19,20,21) | | | |
| ID06 | 188.0 ng/µl | 330.36 ng/µl | 66.76 ng/µl | | ID06 | Sanger ABI 310 | | | |
| ID07 | 129 ng/µl | 41 ng/µl | 8 ng/µl | | ID07 | Dye Terminator | | | |
| ID08 | 12.0-25.9 ng/µl | 14.1-21.7 ng/µl | 16.6-18.2 ng/µl | | ID08 | capillary sequencing, genome sequencing | | | |
| ID09 | 124.7 ng/µl | 195.3 ng/µl | 31.8 ng/µl | | ID09 | Pyrosequencing, Allel-specific PCR | | | |
| ID10 | 130 ng/µl (60 µl) | 140 ng/µl (60 µl) | 85 ng/µl (60 µl) | | ID10 | Therascreen EGFR Pyro-kit QUIAGEN | | | |
| ID11 | 300 ng/µl | 120 ng/µl | 110 ng/µl | | ID11 | Therascreen EGFR + light cycler480 | | | |
| ID12 | 53.2 ng/µl | 56.8 ng/µl | 33.9 ng/µl | | ID12 | Sanger Sequenzierung ABI | | | |
| ID13 | 24.1 ng/µl | 50.8 ng/µl | 16.5 ng/µl | | ID13 | Thera screen KRAS PARO Kit | | | |

| Results | | | | |
|---------|--|---|---|--|
| Lab-ID | Case 1-A | Case 2-B | Case3-C | Comm. |
| ID01 | Negative | L858R | L858R | |
| ID02 | WT | L858R | L858R | |
| ID04 | Im vorliegenden Untersuchungsmaterial ist eine Mutation des EGFR-Gens nicht nachweisbar (WildType) | Im vorliegenden Untersuchungsmaterial ist eine Mutation des EGFR-Gens im exon 21 (L858R) in weniger als 1 % der Tumorzellen nachweisbar | Im vorliegenden Untersuchungsmaterial ist eine aktivierende Mutation des EGFR-Gens im exon 21 (L758R) nachweisbar | |
| ID05 | Wild type exon 18, 19, 20, 21 of EGFR | Wild type exon 18, 19, 20, 21 of EGFR | Wild type exon 18, 19, 20 Heterozygous point mutation in exon 21 c.2573 T>G p.L858R (Cosmic ID6224) | |
| ID06 | Exon 1819,21 wild type | Exon 1819,21 wild type | Exon 21858R | |
| ID07 | wt | mut – p.L858R (5%) | mut – p.L858R (8%) | |
| ID08 | no mutations in exons 19 and 21 of EGFR | no mutations in exons 19 and 21 of EGFR | no mutations in exons 19 and 21 of EGFR | |
| ID09 | No Mutation detectable | Detectable mutation: p.L858R (c.2573T>G) | Detectable mutation: p.L858R (c.2573T>G) | |
| ID10 | No additional peaks detectable | Exon 21 L858R 5 % | Exon 21 L858R 21 % | |
| ID11 | Negative | Positive L858R, exon 21 | Positive L858R, exon 21 | |
| ID12 | Keine Veränderung | Keine Veränderung | c.2573 T>G p.L858R | Auf die Angabe von stillen Mutationen wurde verzichtet |
| ID13 | No mutation | No mutation | p.L858R | |