

Mutatie analyse uit plasma met behulp van Droplet Digital PCR (Versie 2, April 2020)

Met behulp van Droplet Digital PCR (ddPCR) wordt mutatie analyse uitgevoerd op DNA geïsoleerd uit bloedplasma, waarin circulerend tumor DNA (ctDNA) aanwezig kan zijn. Afhankelijk van de indicatie kan er gekozen worden voor detectie van specifieke mutaties welke relevant zijn voor de therapiekeuze.

Middels deze methode wordt voor een gerichte genomische positie bepaald hoeveel wildtype en hoeveel mutant fragmenten aanwezig zijn. De analytische gevoeligheid van deze methode voor ctDNA analyse uit plasma is 0,1%. De gevoeligheid van een analyse is afhankelijk van de hoeveelheid DNA die in de test aanwezig is. Vaak is dit bij ctDNA analyses een beperkende factor. Om het materiaal optimaal te benutten wordt daarom aan de hand van de vraagstelling een selectie gemaakt van de te analyseren mutaties. Bij een resistentie vraagstelling wordt ook de originele activerende mutatie geanalyseerd als controle op de aanwezigheid van voldoende ctDNA voor een betrouwbare analyse.

Per monster wordt aan de hand van het aantal geanalyseerde allelen aangegeven wat de gevoeligheid van de test is. Per analyse wordt aangegeven of een mutatie is aangetoond. In geval van een mutatie wordt het % mutant allel en het aantal mutante allelen per ml plasma weergegeven.

Indien geen mutaties worden aangetoond, is de betrouwbaarheid van deze bevinding afhankelijk van het stadium van ziekte. Bij longkanker kan bij 70-80% van de patiënten met stadium IIIB of hoger, ctDNA worden gedetecteerd. Bij melanoom kan bij 90% van de patiënten met stadium IV tumoren ctDNA worden gedetecteerd. Deze percentages zijn lager bij lagere stadia.

Longkanker

Assay	Mutaties (DNA-niveau)	Mutaties (eiwit-niveau)	Assay ID (Bio-Rad)
EGFR p.L858R	c.2573T>G	p.Leu858Arg	dHsaMDV2010021
EGFR p.T790M	c.2369C>T	p.Thr790Met	dHsaMDV2010019
EGFR Exon 19 Deleties* Bio-Rad ID 12002392	c.2235_2252delinsAAT	p.Glu746_Thr751delinsIle	dHsaMDS391737271
	c.2235_2249del	p.Glu746_Ala750del	dHsaMDV2010039
	c.2236_2250del	p.Glu746_Ala750del	dHsaMDS542127747
	c.2238_2252delinsGCA	p.Leu747_Thr751delinsGln	dHsaMDS435546404
	c.2238_2255del	p.Glu746_Ser752delinsAsp	dHsaMDS529140399
	c.2239_2253delinsCAA	p.Leu747_Thr751delinsGln	dHsaMDS703176693
	c.2239_2251delinsC	p.Leu747_Thr751delinsPro	dHsaMDV2516890
	c.2239_2258delinsCA	p.Leu747_Pro753delinsGln	dHsaMDS196056967
	c.2239_2252delinsCA	p.Leu747_Thr751delinsGln	dHsaMDS651224081
	c.2239_2256del	p.Leu747_Ser752del	dHsaMDV2516758
	c.2239_2248delinsC	p.Leu747_Ala750delinsPro	dHsaMDV2516748
	c.2239_2253del	p.Leu747_Thr751del	dHsaMDV2516752
	c.2239_2247del	p.Leu747_Glu749del	dHsaMDS88236242
	c.2240_2254del	p.Leu747_Thr751del	dHsaMDS778667043
c.2240_2257del	p.Leu747_Pro753delinsSer	dHsaMDV2510546	
EGFR p.C797S Bio-Rad ID 12003909	c.2390G>C	p.Cys797Ser	dHsaEXD42003661
	c.2389T>A	p.Cys797Ser	
KRAS p.G12/G13* Bio-Rad ID 1863506	c.35G>C	p.Gly12Ala	dHsaMDV2510586
	c.34G>T	p.Gly12Cys	dHsaMDV2510584
	c.35G>A	p.Gly12Asp	dHsaMDV2510596
	c.34G>C	p.Gly12Arg	dHsaMDV2510590
	c.34G>A	p.Gly12Ser	dHsaMDV2510588
	c.35G>T	p.Gly12Val	dHsaMDV2510592
	c.38G>A	p.Gly13Asp	dHsaMDV2510598

Melanoom

Assay	Mutaties (DNA-niveau)	Mutaties (eiwit-niveau)	Assay ID (Bio-Rad)
<i>BRAF</i> p.V600E/K/R* Bio-Rad ID 12001037	c.1799T>A	p.Val600Glu	dHsaMDV2010027
	c.1798_1799GT>AA	p.Val600Lys	dHsaMDV2010035
	c.1798_1799GT>AG	p.Val600Arg	dHsaMDV2010037
<i>BRAF</i> p.V600E	c.1799_1800TG>AA	p.Val600Glu	dHsaMDS368514383
<i>NRAS</i> p.Q61* Bio-Rad ID 12001006	c.181C>A	p.Gln61Lys	dHsaMDV2010067
	c.182A>T	p.Gln61Leu	dHsaMDV2010069
	c.182A>G	p.Gln61Arg	dHsaMDV2010071
	c.183A>T	p.Gln61His	dHsaMDV2010065
	c.183A>C	p.Gln61His	dHsaMDV2510578

RefSeq: *EGFR* NM_005228.3; *KRAS* NM_004985.4; *BRAF* NM_004333.4; *NRAS* NM_002524.4.

* Met deze analyses kunnen verschillende mutaties rond of op aangegeven genomische positie worden gedetecteerd. Nadere specificatie van de mutatie is met deze assay niet mogelijk.