Étude prospective comparative technologie Idylla™ vs NGS pour la détermination du statut mutationnel du gène EGFR dans les cancers bronchiques non à petites cellules

99 blocs FFPE issus des laboratoires Aquitains périphériques et privés,
entre Septembre 2019 et Novembre 2019,
analysés au CHU de Bordeaux - SBTT - HL.

Camille LAFFON – Dr Charline CAUMONT – Dr David CAPPELLEN

Carrefour Pathologie 2020

Introduction – IDYLLA™

Introduction – IDYLLA™

Introduction – IDYLLA™

Introduction – IDYLLA™

dessus

dessous

Introduction – IDYLLA™

ADN / Prélèvement non récupérable

Introduction – IDYLLA™

EGFR

Introduction – IDYLLA™

EGFR

51 **mutations**

(sauf C797S)

Introduction – IDYLLA™

EGFR

51 **mutations**

(sauf C797S)

résultats 2H30

depuis insertion

Introduction – IDYLLA™

EGFR

51 **mutations**

(sauf C797S)

résultats 2H30

depuis insertion

durée de vie <8H

après ouverture

Introduction – IDYLLA™

EGFR

51 **mutations**

(sauf C797S)

résultats 2H30

depuis insertion

durée de vie <8H

après ouverture

Seuils détection :

5% exons 19 - 21

10% exon 18

Introduction – IDYLLA™

Coupe FFPE **5 µm**

CT ≥ 10%,

< 10% : dissection

EGFR

51 **mutations**

(sauf C797S)

résultats 2H30

depuis insertion

durée de vie <8H

après ouverture

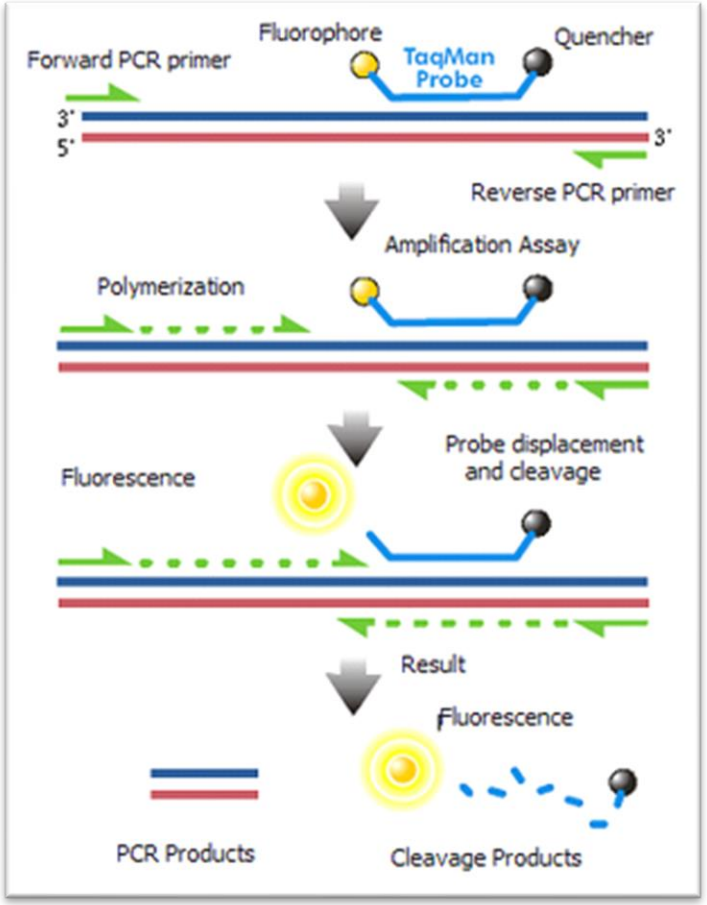
Seuils détection :

5% exons 19 - 21

10% exon 18

Introduction – IDYLLA™ - PCR en temps réel

Introduction – IDYLLA™ - PCR en temps réel



Wikipédia : page « TaqMan »

COBAS® : TaqMan™

Introduction – IDYLLA™ - PCR en temps réel

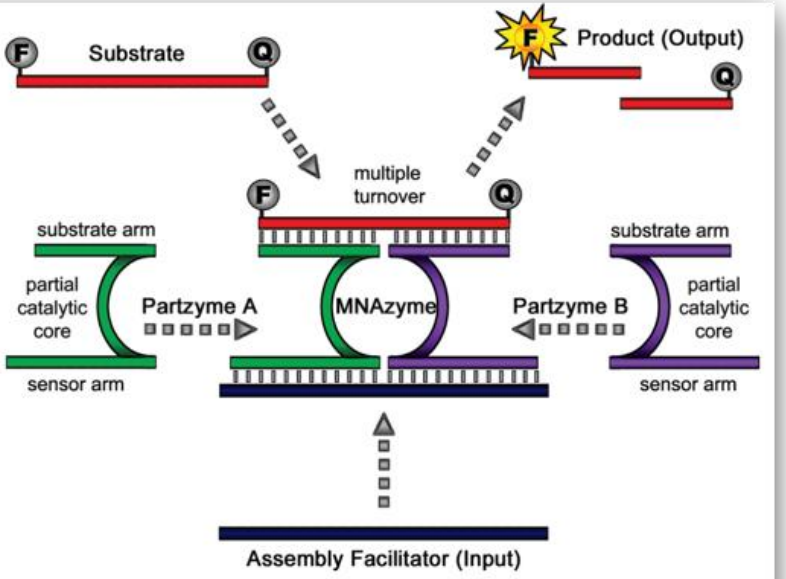
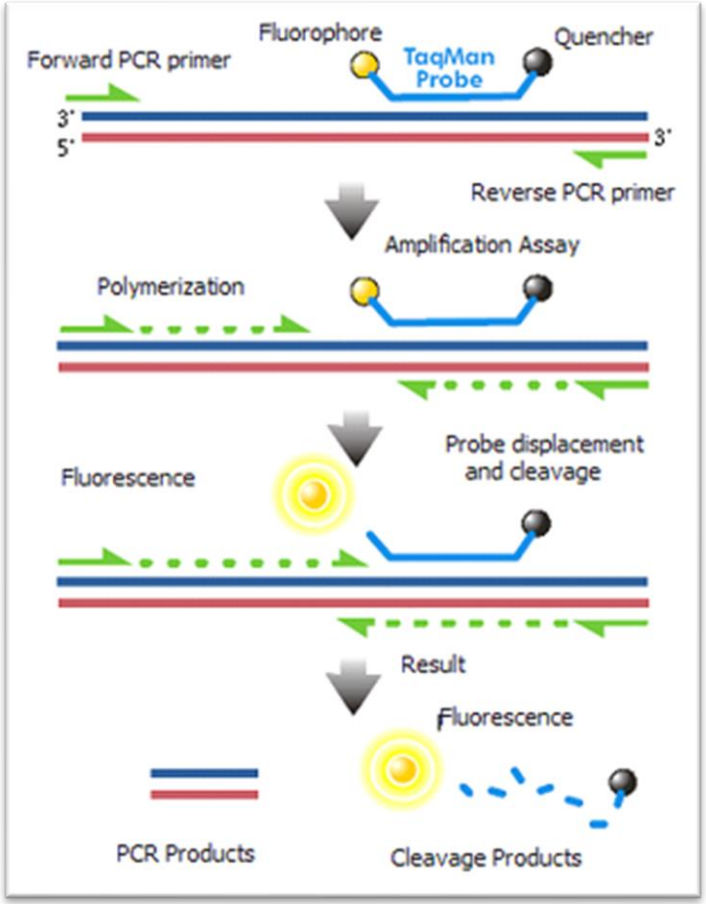


Figure 1. Schematic of an exemplary MNAzyme with cleavage activity. This MNAzyme was composed of partzymes A and B, each of which contained a substrate arm, a partial catalytic core, and a sensor arm that can bind to an assembly facilitator, such as a target nucleic acid molecule. The assembly facilitator provided the "input" that directed the assembly of partzymes into an MNAzyme with a functional catalytic core capable of cleaving multiple substrates into products thus providing an "output". If the substrate is labeled on each side of the cleavage site with a fluorophore (F) and a matched quencher (Q), then cleavage can be monitored by an increase in fluorescence.

multicomponent nucleic acid enzymes



Wikipédia : page « TaqMan »

COBAS® : TaqMan™

MNAzymes, a Versatile New Class of Nucleic Acid Enzymes That Can Function as Biosensors and Molecular Switches . E Mokany, SM Bone, PE Young, TB Doan, AV Todd –

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Inclusion

Adénocarcinomes pulmonaires métastatiques sans statut EGFR

99 cas – septembre à novembre 2019

Analyse Service de Biologie des Tumeurs (CHU)

Laboratoires publics et privés aquitains – hors CHU

Matériel

Blocs FFPE

Sélection lame HES, par interne : > 10% CT

Coupes 10 µm ou scalp/punch

Technique

Idylla™ : 1 instrument

Technique de référence : NGS

Etude

diagnostique

interventionnelle

(Flux routine laboratoire)

cohorte

analyse en parallèle

Résultats

Résultats

166

screening

Résultats

67
exclus

166
screening

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)

- relative : CT < 10%
- absolue

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)

- relative : CT < 10%
- absolue

Résultats – cellularité tumorale en pratique

Résultats – cellularité tumorale en pratique

#1

après IHC

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)

- relative : CT < 10%
- absolue

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

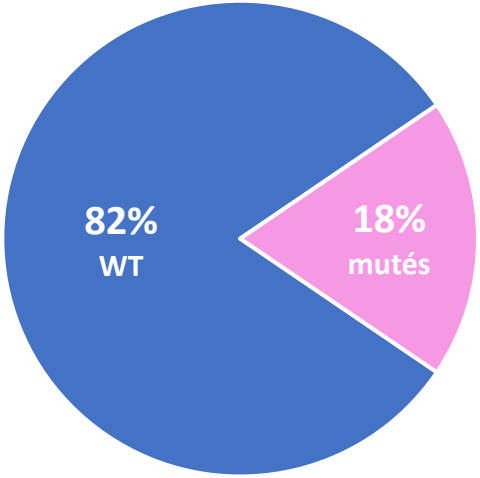
7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

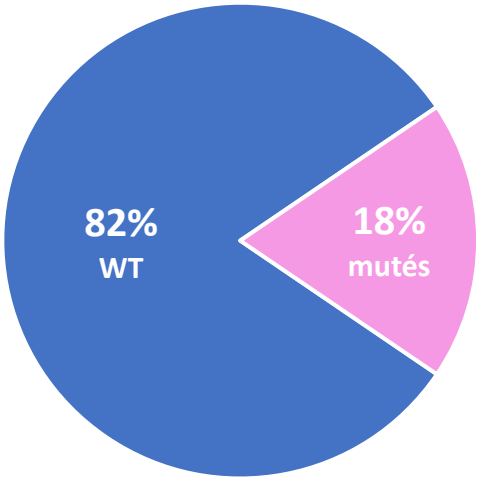
99
inclus

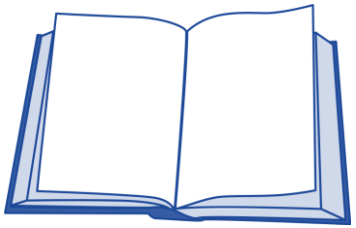
Analyse NGS

Résultats – inclus : mutations (NGS)



Résultats – inclus : mutations (NGS)



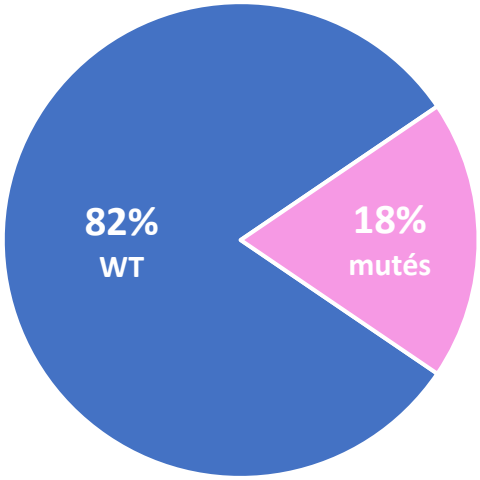


10 – 20%

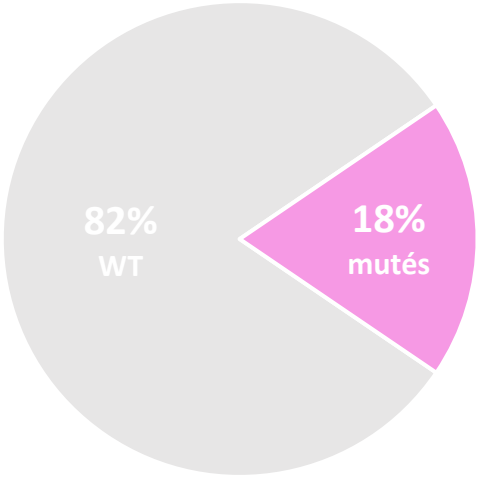
mutations somatiques EGFR,
adénocarcinomes,
européens

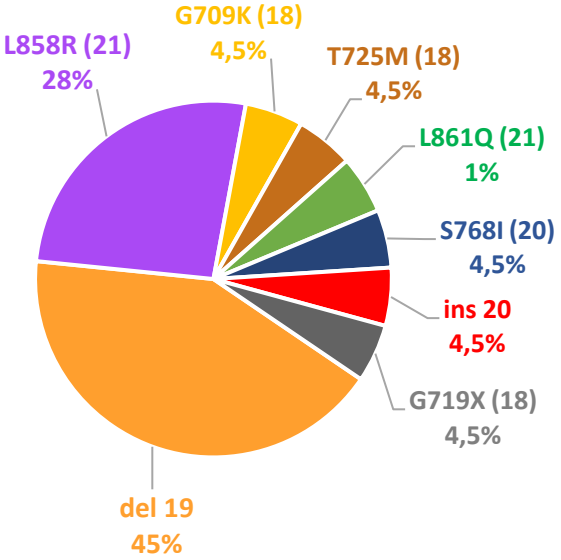
WHO. Tumours of the lung, pleura, thymus and heart. Lyon, France: IARC Press, 2015.

Résultats – inclus : mutations (NGS)

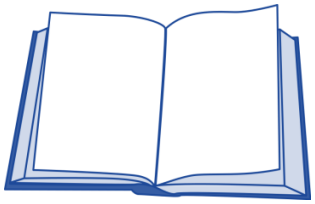


Résultats – inclus : mutations (NGS)





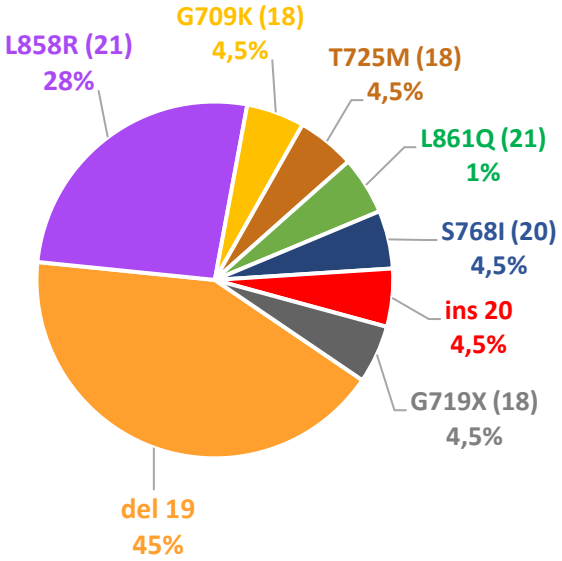
Résultats – inclus : mutations (NGS)



~ 45% exon 19

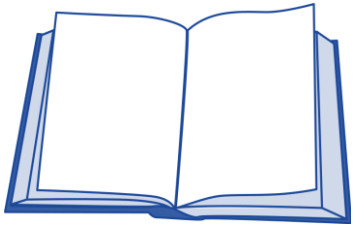
~ 40% L858R

~ 15% ≠ point or insertion mutations in exons 18 - 21



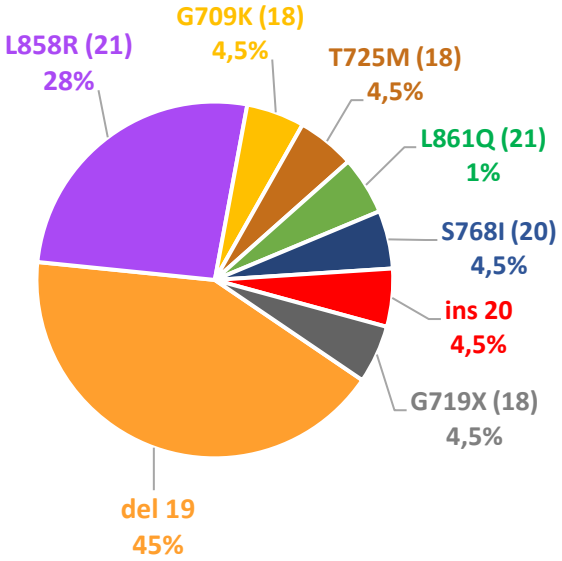
Revannasiddaiah S, Thakur P, Bhardwaj B, Susheela SP, Madabhavi I. Pulmonary adenocarcinoma: implications of the recent advances in molecular biology, treatment and the IASLC/ATS/ERS classification. J Thorac Dis 2014;6:S502-25.

Résultats – inclus : mutations (NGS)



90% del 19 et L858R

WHO. Tumours of the lung, pleura, thymus and heart. Lyon, France: IARC Press, 2015.



Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

2 invalides Idylla™ et NGS

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

2 invalides Idylla™ et NGS

Détail

Résultats – invalides Idylla™ et NGS

	type prélèvement	format extraction	% CT	C° ADN (ng/µL)	ADN dégradé?	Idylla™
1	biopsie (exiguë)	coupe	80%	0,3	oui	NI
2	PO	dissection	35%	0,1	non	NI

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

2 invalides Idylla™ et NGS

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

2 invalides Idylla™ et NGS

26 invalides Idylla™

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

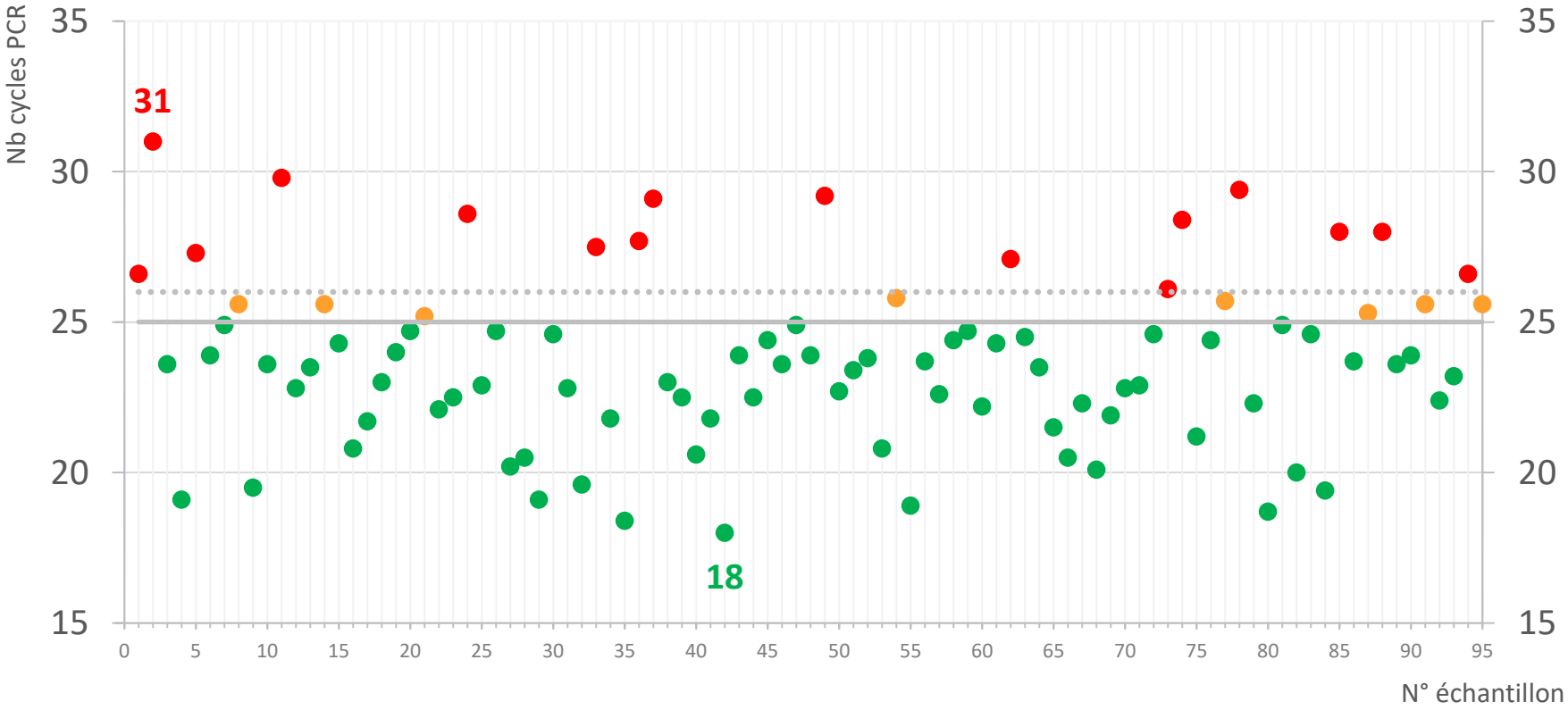
2 invalides Idylla™ et NGS

26 invalides Idylla™

Critère(s) de validité?

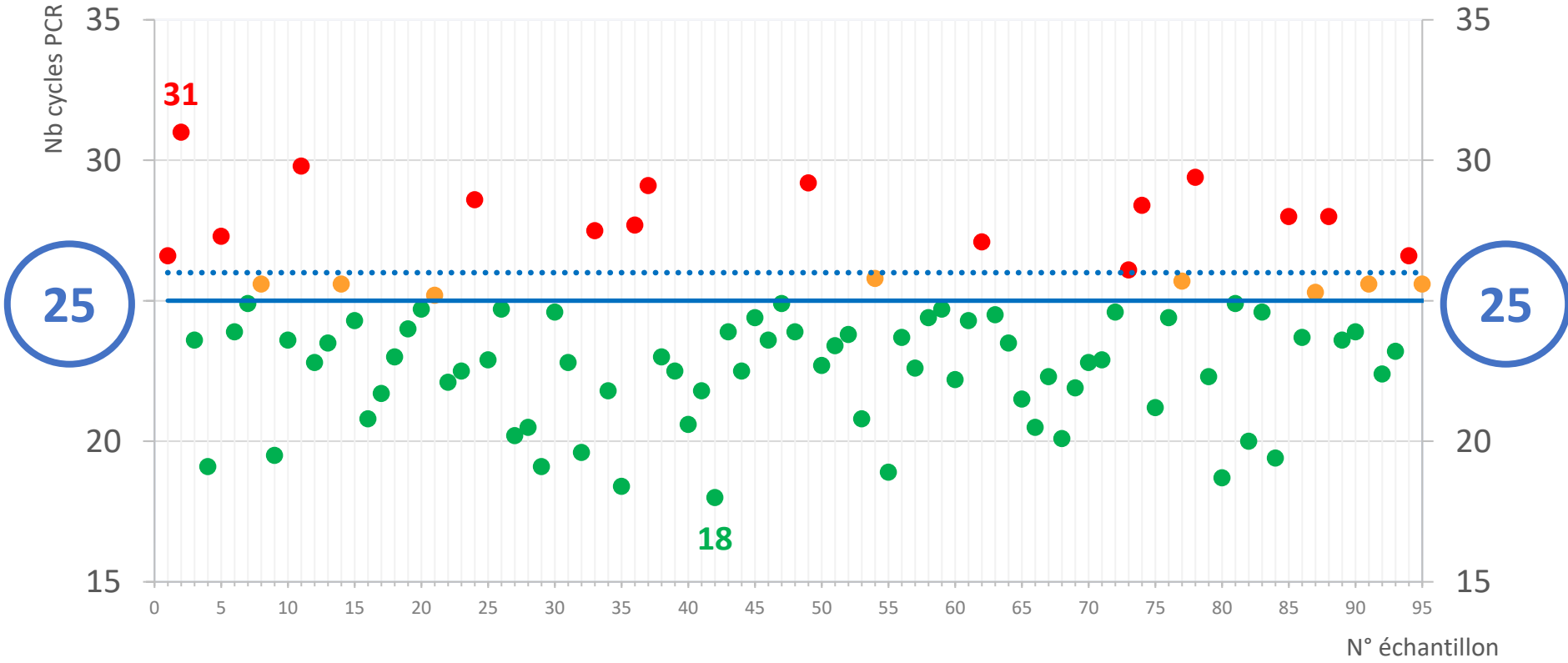
Résultats – validité Idylla™ : C_T moyens

Résultats – validité Idylla™ : C_T moyens



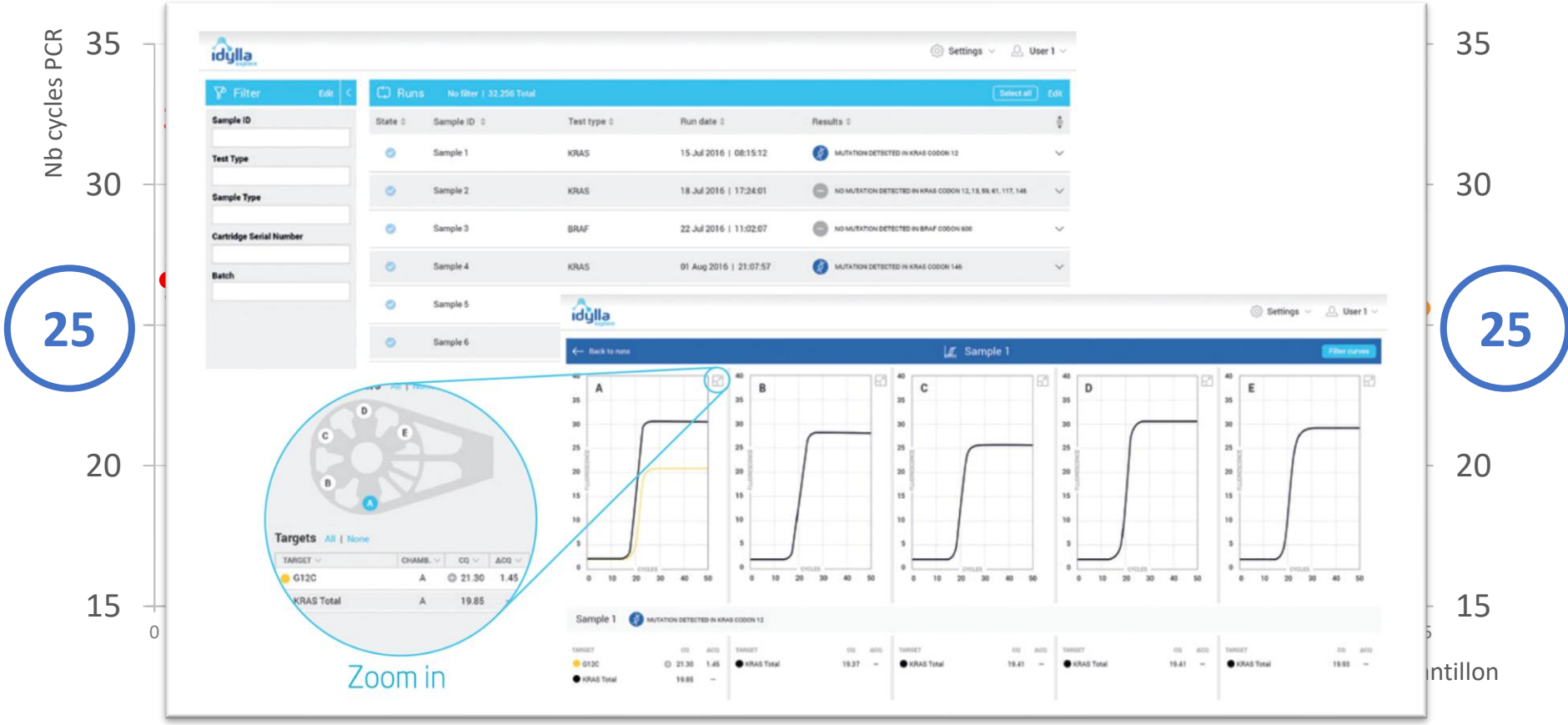
$C_T \leq 25$ $25 < C_T \leq 26$ $26 < C_T$

Résultats – validité Idylla™ : C_T moyens



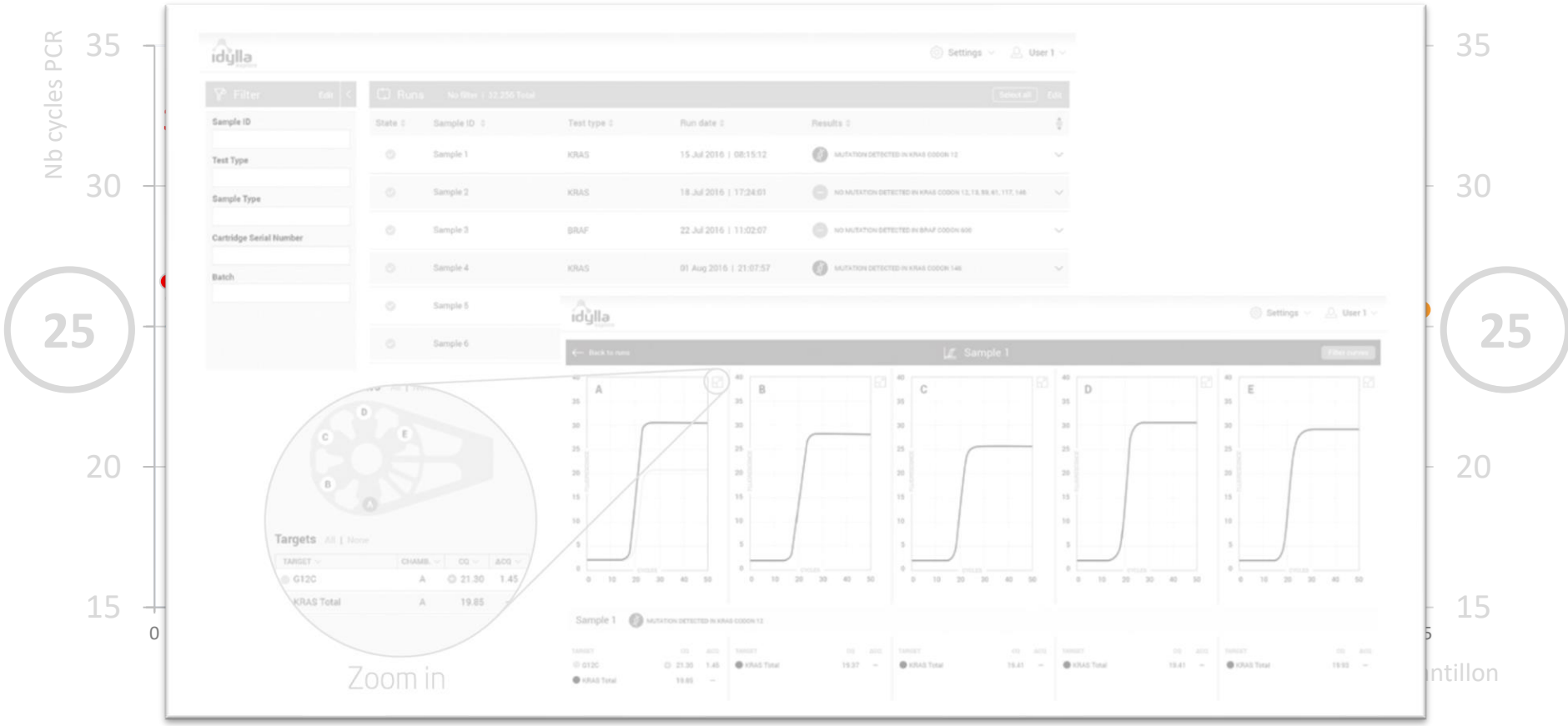
$C_T \leq 25$ $25 < C_T \leq 26$ $26 < C_T$

Résultats – validité Idylla™ : C_T moyens



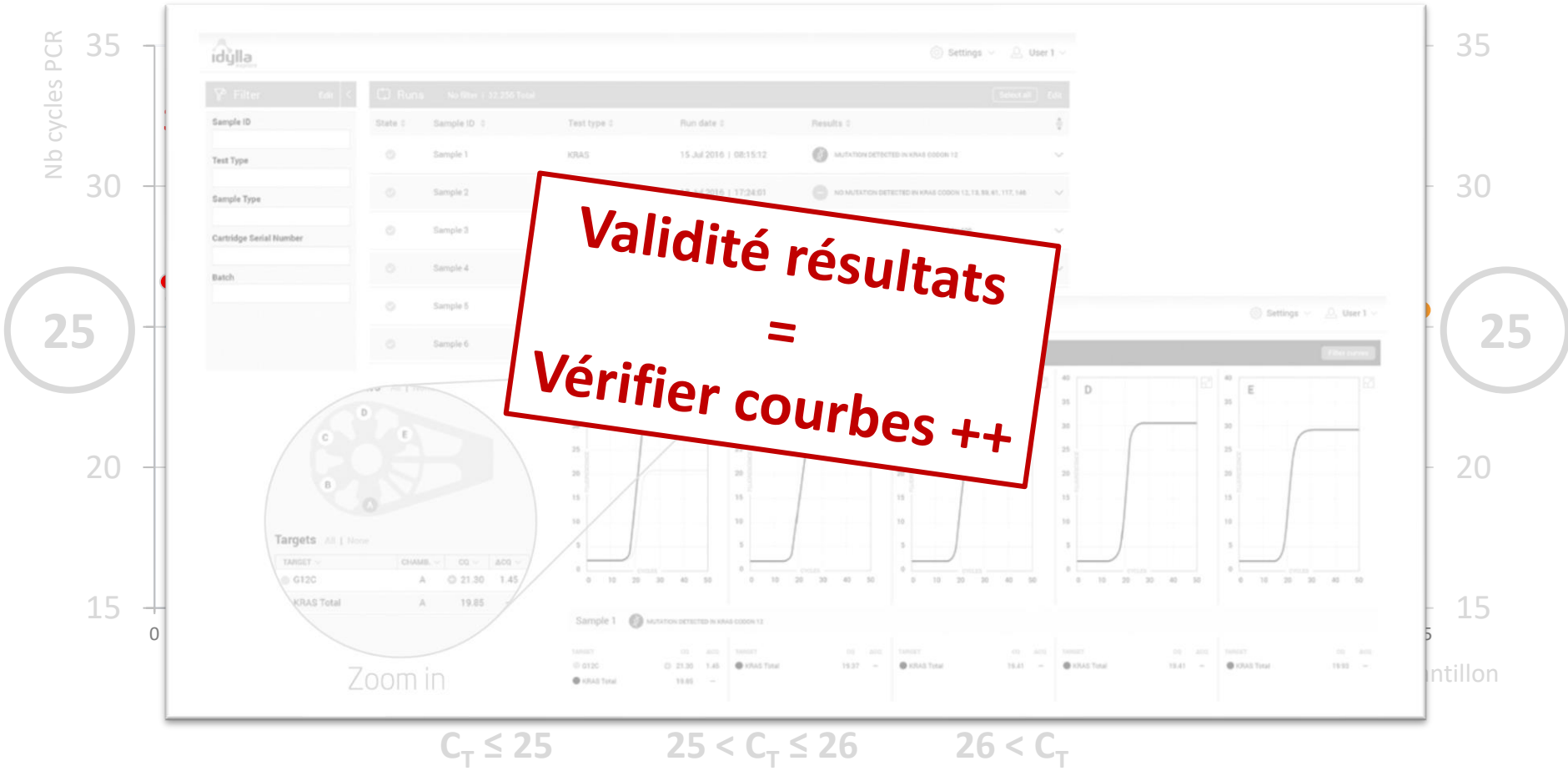
$C_T \leq 25$ $25 < C_T \leq 26$ $26 < C_T$

Résultats – validité Idylla™ : C_T moyens



$C_T \leq 25$ $25 < C_T \leq 26$ $26 < C_T$

Résultats – validité Idylla™ : C_T moyens



$C_T \leq 25$ $25 < C_T \leq 26$ $26 < C_T$

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

2 invalides Idylla™ et NGS

26 invalides Idylla™

Critère(s) de validité?

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

2 invalides Idylla™ et NGS

26 invalides Idylla™

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

2 invalides Idylla™ et NGS

26 invalides Idylla™

Détail

Résultats – détail invalides Idylla™

	NGS	fréquence allélique	type prélèvement	format extraction	% CT	C° ADN (ng/µL)	ADN dégradé?	COBAS®
1	NI		biopsie	coupe	80%	0,299	oui	annulé
2			PO	dissection	35%	0,101	non	annulé
3	⊖		biopsie	coupe	15%	2,4	oui	annulé
4	⊖		biopsie	coupe	30%	67	non	⊖
5	L858R (21)	34%	cyto	coupe	80%	8,4	non	L858R (21)
6	⊖		cyto	coupe	80%	2,5	oui	⊖
7	⊖		biopsie	coupe	25%	50	non	⊖
8	⊖		biopsie	coupe	60%	62	non	⊖
9	⊖		biopsie	dissection	20%	21	oui	⊖
10	⊖		cyto	coupe	10%	18	non	⊖
11	ins exon 20	15%	biopsie	coupe	30%	13,7	non	ins exon 20
12	⊖		biopsie	coupe	50%	68	non	⊖
13	⊖		biopsie	coupe	30%	11,4	non	⊖
14	⊖		cyto	coupe	50%	1,6	non	
15	⊖		biopsie	coupe	50%	12	non	
16	⊖		biopsie	dissection	80%	2,3	oui	⊖
17	⊖		PO	dissection	90%	121,2	non	
18	⊖		biopsie	dissection	95%	29	non	⊖
19	⊖		biopsie	dissection	30%	10,4	non	
20	⊖		biopsie	coupe	60%	24,6	non	⊖
21	⊖		biopsie	dissection	10%	17	non	⊖
22	⊖		cyto	coupe	90%	1,5	non	⊖
23	⊖		PO	coupe	60%	197	non	
24	del 19	41%	PO	dissection	60%	148,5	non	Del 19
25	⊖		biopsie	dissection	40%	48,5	non	⊖
26	⊖		biopsie	coupe	80%	73	non	⊖
27	⊖		PO	dissection	30%	99	non	
28	⊖		biopsie	dissection	80%	61	non	

Résultats – détail invalides Idylla™

	NGS	fréquence allélique	type prélèvement	format extraction	% CT	C° ADN (ng/µL)	ADN dégradé?	COBAS®
1	NI		biopsie	coupe	80%	0,299	oui	annulé
2			PO	dissection	35%	0,101	non	annulé
3	⊖		biopsie	coupe	15%	2,4	oui	annulé
4	⊖		biopsie	coupe	30%	67	non	⊖
5	L858R (21)	34%	cyto	coupe	80%	8,4	non	L858R (21)
6	⊖		cyto	coupe	80%	2,5	oui	⊖
7	⊖		biopsie	coupe	25%	50	non	⊖
8	⊖		biopsie	coupe	60%	62	non	⊖
9	⊖		biopsie	dissection	20%	21	oui	⊖
10	⊖		cyto	coupe	10%	18	non	⊖
11	ins exon 20	15%					non	ins exon 20
12	⊖						non	⊖
13	⊖		biopsie	coupe	30%	11,4	non	⊖
14	⊖		cyto	coupe	50%	1,6	non	
15	⊖		biopsie	coupe	50%	12	non	
16	⊖		biopsie	dissection	80%	2,3	oui	⊖
17	⊖		PO	dissection	90%	121,2	non	
18	⊖		biopsie	dissection	95%	29	non	⊖
19	⊖		biopsie	dissection	30%	10,4	non	
20	⊖		biopsie	coupe	60%	24,6	non	⊖
21	⊖		biopsie	dissection	10%	17	non	⊖
22	⊖		cyto	coupe	90%	1,5	non	⊖
23	⊖		PO	coupe	60%	197	non	
24	del 19	41%	PO	dissection	60%	148,5	non	Del 19
25	⊖		biopsie	dissection	40%	48,5	non	⊖
26	⊖		biopsie	coupe	80%	73	non	⊖
27	⊖		PO	dissection	30%	99	non	
28	⊖		biopsie	dissection	80%	61	non	

Pas de point commun…

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

2 invalides Idylla™ et NGS

26 invalides Idylla™

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

72%
valides (71)

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

72%
valides (71)

Résultats

166
screening

67
exclus

1,5% oublis (5)

7,5% bloc cassé (1)

91% cellularité tumorale insuffisante (61)
- relative : CT < 10%
- absolue

99
inclus

28%
invalides (28)

72%
valides (71)

Tableau de contingence

Résultats – tableau de contingence

Résultats – tableau de contingence

	NGS muté	NGS non muté
Idylla muté	13	0
Idylla non muté	1	57

Résultats – tableau de contingence

	NGS muté	NGS non muté
Idylla muté	13	0
Idylla non muté	1	57
	Se ~ 93%	Sp 100%

Résultats – tableau de contingence

	NGS muté	NGS non muté	
Idylla muté	13	0	VPP 100%
Idylla non muté	1	57	VPN ~98%
	Se ~ 93%	Sp 100%	

Résultats – tableau de contingence

	NGS muté 'malades'	NGS non muté 'non malades'	
Idylla muté	13	0	VPP : 100%
Idylla non muté	1	57	VPN : ~98%
	Se : ~93%	Sp : 100%	

Résultats – autres aspects - mutations

Résultats – autres aspects - mutations

KRAS	subs	Exon 2 : c.34G>T ; p.Gly12Cys (G12C) x 12
		Exon 2 : c.35G>A ; p.Gly12Asp (G12D) x 7
		Exon 2 : c.35G>T ; p.Gly12Val (G12V) x 5
		Exon 2 : c.37G>T ; p.(Gly13Cys) (G13C) x 3
		Exon 2 : c.35G>C ; p.(Gly12Ala) (G12A) x2
		Exon 2 : c.37G>C ; p.(Gly13Arg) (G13R) x 1
		Exon 2 : c.38G>A ; p.(Gly13Asp) (G13D) x1
		Exon 3 : c.182A>T ; p.(Gln61Leu) (Q61L) x1
		Exon 3 : c.183A>C ; p.(Gln61His) (Q61H) x1
MET	del	c.2942-36_2942-13delGTCTTTAACAAGCTCTTTCTTTCT
		c.3070_3082+7delACTTTTCCAGAAGGTATATT;p.?
NRAS	subs	exon 3 : c.182A>G ; p.Gln61Arg (Q61R)

Résultats – autres aspects - mutations

STK11	subs del ins	exon 1 : c.109C>T ; p.(Gln37*)
		exon 1 : c.163_165del ; 40
		exon 1 : c.169dup ; p.(Glu57Glyfs*106)
		exon 4 : c.493G>T ; p.(Glu165*)
		exon 4 : c.503A>C ; p.(His168Pro)
		exon 4 : c.580G>C ; p.(Asp194His)
		exon 4 : c.580G>A ; p.(Asp194Asn)
		exon 4 : c.598-1G>A
		exon 5 : c.617C>A ; p.(Ala206Glu)
		exon 6 : c.842del ; p.(Pro281Argfs*6)
		exon 8 : c.1052A>G ; p.(Glu351Gly)
BRAF	subs	exon 11 : c.1406G>T ; p.(Gly469Val)
		exon 15 : c.1742A>T ; p.(Asn581Ile)
		exon 15 : c.1786G>C ; p.(Gly596Arg)
HER2	ins	exon 20 : c.2313_2324dup ; p.(Tyr772_Ala775dup) x 2
ALK		exon 23
PIK3CA	subs	exon 10 : c.1633G>A ; p.(Glu545Lys) x 2
		exon 21 : c.3049G>C
EGFR	ampli	24 copies

Résultats – autres aspects - délais

Résultats – autres aspects - délais

Réception ➜ sélection ➜ enregistrement ➜ extraction ➜ analyse ➜ interprétation ➜ CR **NGS**

Réception ➜ sélection ➜ enregistrement ➜ extraction ➜ analyse ➜ interprétation ➜ CR **Idylla**

Résultats – autres aspects - délais

Réception → egistrement → extraction → analyse → interprétation → CR **NGS**

Réception enregistrement → extraction → analyse → interprétation → CR **Idylla**

Min 0 j
Moy 3 j
Max 32 j

Résultats – autres aspects - délais

Réception → egistrement → extraction → ation → CR **NGS**

Min 0 j
Moy 3 j
Max 32 j

Min 6 j
Moy 11 j
Max 21 j

Réception enregistrement → extraction → analyse → interprétation → CR **Idylla**

Résultats – autres aspects - délais

Réception → egistrement → extraction → ation → CR **NGS**

Min 0 j
Moy 3 j
Max 32 j

Min 6 j
Moy 11 j
Max 21 j

Réception enregistrement → extraction → a rétation → CR **Idylla**

1 j max

Résultats – autres aspects - coûts

Résultats – autres aspects - coûts

	RIHN
Idylla™	N504 (315,9 euros)
Cobas®	N504 (315,9 euros)
NGS ADN ciblé	N452 (882,9 euros)
RNAseq	N453 (1503,9 euros)

Conclusion

Conclusion

- Idylla™ : caractérisation rapide et automatisée d'une majorité des variants d'intérêt théranostique du gène EGFR

Conclusion

- Idylla™ : caractérisation rapide et automatisée d'une majorité des variants d'intérêt théranostique du gène EGFR

- Performances d'analyse satisfaisantes

Conclusion

- Idylla™ : caractérisation rapide et automatisée d'une majorité des variants d'intérêt théranostique du gène EGFR
- Performances d'analyse satisfaisantes
- Sélection pré analytique des prélèvements

Conclusion

- Idylla™ : caractérisation rapide et automatisée d'une majorité des variants d'intérêt théranostique du gène EGFR
- Performances d'analyse satisfaisantes
- Sélection pré analytique des prélèvements
- Etude des courbes d'amplification de chaque chambre de PCR - C_Q

Conclusion

- Idylla™ : caractérisation rapide et automatisée d'une majorité des variants d'intérêt théranostique du gène EGFR
- Performances d'analyse satisfaisantes
- Sélection pré analytique des prélèvements
- Etude des courbes d'amplification de chaque chambre de PCR - C_Q
- Analyse complémentaire recommandée : cas non contributifs et/ou non mutés Idylla™

Conclusion

- Idylla™ : caractérisation rapide et automatisée d'une majorité des variants d'intérêt théranostique du gène EGFR

- Performances d'analyse satisfaisantes

- Sélection pré analytique des prélèvements

- Etude des courbes d'amplification de chaque chambre de PCR - C_Q

- Analyse complémentaire recommandée : cas non contributifs et/ou non mutés Idylla™

  NGS : panel plus exhaustif (EGFR, BRAF, KRAS, STK11, PIK3CA, ERBB2),

Conclusion

- Idylla™ : caractérisation rapide et automatisée d'une majorité des variants d'intérêt théranostique du gène EGFR
- Performances d'analyse satisfaisantes
- Sélection pré analytique des prélèvements
- Etude des courbes d'amplification de chaque chambre de PCR - C_Q
- Analyse complémentaire recommandée : cas non contributifs et/ou non mutés Idylla™

  NGS : panel plus exhaustif (EGFR, BRAF, KRAS, STK11, PIK3CA, ERBB2), voire RNAseq (ALK, ROS1, RET, NTRKs, NRG1)

Conclusion

- Idylla™ : caractérisation rapide et automatisée d'une majorité des variants d'intérêt théranostique du gène EGFR

- Performances d'analyse satisfaisantes

- Sélection pré analytique des prélèvements

- Etude des courbes d'amplification de chaque chambre de PCR - C_Q

- Analyse complémentaire recommandée : cas non contributifs et/ou non mutés Idylla™

  NGS : panel plus exhaustif (EGFR, BRAF, KRAS, STK11, PIK3CA, ERBB2), voire RNAseq (ALK, ROS1, RET, NTRKs, NRG1)

- ADN extrait non récupérable - Epuisement matériel exigu