

Eindrapport tipping point onderzoek – deel 1

Uitgevoerd door Cochrane Nederland

Opgeleverd op 11 augustus 2023

In opdracht van Zorginstituut Nederland

In het kader van het uitvoeringstraject moleculaire diagnostiek

Algemene disclaimer

Het Zorginstituut heeft in het kader van het uitvoeringstraject moleculaire diagnostiek¹ zelf het tipping-point onderzoek uitgezet en aanbesteed. De uitvoering van dit onderzoek is gegund aan Cochrane Nederland (deel 1) en het Nederlands Kanker Instituut (NKI) met consortium (deel 2). Het doel was om meer zicht te krijgen op de werkwijze waarmee (nieuwe) moleculaire diagnostiek moet worden beoordeeld binnen de bestaande wettelijke kaders van de Stand van de Wetenschap en Praktijk (SWP). Cochrane Nederland heeft voor twee onderwerpen systematische reviews uitgevoerd om inzicht te krijgen in de manier waarop de effectiviteit en plaatsbepaling van (nieuwe) moleculaire diagnostiek beoordeeld moet worden op basis van het klinisch nut (deel 1). Het NKI heeft op basis van wetenschappelijke literatuur en input van experts gekeken naar andere determinanten die relevant zijn in het kader van deze beoordeling (deel 2). Het Zorginstituut heeft beide onderzoeken begeleid en heeft op belangrijke momenten input opgehaald bij experts (bijvoorbeeld bij de afstemming van de onderzoeksvragen voor de systematische reviews). In het periodieke overleg voor deelproject 1 zijn betrokken partijen op hoofdlijnen geïnformeerd over de voortgang en deelresultaten. Dit periodiek overleg heeft het Zorginstituut elke 6 weken georganiseerd in het kader van het uitvoeringstraject moleculaire diagnostiek. Cochrane Nederland heeft de eindrapportage opgeleverd op 11 augustus 2023 en het NKI op 11 oktober 2023. Het Zorginstituut heeft deze eindrapportages niet geconsulteerd, het zijn geen besluitvormende stukken. De onderzoeken zijn uitgezet ter ondersteuning en versterking van de reguliere taken en werkzaamheden van het Zorginstituut. De eindrapportages zijn producten van de onderzoeksgroepen. De resultaten zijn met uiterste zorgvuldigheid opgeschreven op basis van actuele kennis en ontwikkelingen. Er kunnen geen rechten ontleend worden aan deze eindrapporten.

¹ Zorginstituut Nederland. Uitvoeringstraject moleculaire diagnostiek, looptijd sept 2021 tot oktober 2023.



Cochrane
Netherlands

Moleculaire Diagnostiek in de oncologie: plaatsbepaling aan de hand van het klinisch nut

Eindrapportage

11 augustus 2023

Johanna Damen
Bada Yang
Lotty Hoof



Samenstelling projectteam:

Onderzoekers

- Dr. J.A.A. Damen
- Dr. B. Yang
- Drs. K. van der Braak
- Drs. L. Huis in 't Veld
- Drs. D. Idema
- Drs. Tabea Kaul
- Dr. K. Luijken
- Dr. C. Orelia
- Dr. S.G. Elias
- Prof. dr. L Hooft

Informatiespecialist

- Drs. R. Spijker, Cochrane Netherlands en Julius Centrum, UMC Utrecht

Contactgegevens

Prof. dr. Lotty Hooft
Cochrane Netherlands / Julius Centrum
Universitair Medisch Centrum Utrecht
Huispostnummer Str. 6.131
Postbus 85500
3508 GA Utrecht
T: 088 755 9301
E: cochrane@umcutrecht.nl
W: www.cochrane.nl

*Disclaimer: The views and opinions expressed in this document are those of the authors and do not necessarily reflect those of The Cochrane Collaboration.
The authors have no conflicts of interest to declare.*

Lijst met gebruikte afkortingen

BI	Betrouwbaarheidsinterval
ddPCR	<i>Droplet Digital Polymerase chain reaction</i>
FFPE	<i>Formalin-Fixed Paraffin-Embedded</i>
FISH	Fluorescence in situ hybridization
NGS	Next generation sequencing
NSCLC	Niet-kleincellig longcarcinoom [<i>non-small-cell lung carcinoma</i>]
ORR	Objectief responspercentage [<i>objective response rate</i>]
OS	Algehele overleving [<i>overall survival</i>]
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PFS	Ziektevrije overleving [<i>progression free survival</i>]
PICO	Populatie, interventie, controle, uitkomst [<i>outcome</i>]
RCT	Randomized Controlled Trial
RT-PCR	Reverse transcriptase-polymerase chain reaction
SR	Systematische review
TMB	Tumor mutational burden
WES	Whole exome sequencing
WGS	Whole genome sequencing

Inhoudsopgave

1. Inleiding	5
2. Vraagstelling	5
3. Logic model.....	5
4. Niet-kleincellig longcarcinoom	7
4.1 Formuleren PICO's	7
4.2 Bevindingen	9
5. Pancreascarcinoom.....	12
5.1 Formuleren PICO's	12
5.2 Bevindingen	13
6. Uitdagingen en aanbevelingen	15
7. Conclusies	18
Referenties.....	20
Bijlagen.....	22
Bijlage 1. Rapportage Niet-kleincellig longcarcinoom.....	23
Bijlage 2. Rapportage Pancreascarcinoom	156

1. Inleiding

In september 2020 heeft de Minister voor Medische Zorg en Sport het Zorginstituut verzocht om advies te geven over de effectiviteit, plaatsbepaling en de toegankelijkheid en implementatie van moleculaire diagnostiek in de Nederlandse zorgpraktijk. De scope binnen deze adviesaanvraag is de predictieve diagnostiek van oncologische ziekten. In het bijzonder betreft het de vraag hoe de huidige innovatieve ontwikkelingen in de moleculaire tumordiagnostiek, waaronder de ontwikkeling van bredere DNA/RNA-testen die zich focussen op meerdere biomarkers, zich verhouden tot de doorontwikkeling van bestaande testen. Onder de bredere DNA/RNA-testen wordt Whole Genome Sequencing (WGS) en Whole Exome Sequencing (WES) geschaard, alsmede brede Next Generation Sequencing (NGS) (eventueel gecombineerd met Archer fusie analyse). Smalle testen zijn alle testen die één of enkele genen omvatten en smalle NGS panels.

Binnen de oncologie speelt moleculaire diagnostiek, een verzamelnaam voor voorspellende testen die de genetische eigenschappen van tumoren bepalen, met name een rol bij het selecteren van patiënten die in aanmerking komen voor doelgerichte geneesmiddelen (met andere woorden: het voorspellen van respons op behandeling). Nieuwe, vaak dure, doelgerichte geneesmiddelen komen in rap tempo op de markt, terwijl de effectiviteit en plaatsbepaling van de moleculaire diagnostische testen voor de selectie van patiënten niet altijd duidelijk is. Daarnaast is vaak onvoldoende duidelijk in welke gevallen een brede moleculaire test ingezet dient te worden, en wanneer een gerichte smalle test, of sequentieel meerdere testen, volstaat. Een brede moleculaire test is duurder en vraagt specifieke kennis en expertise. Echter, wanneer meerdere gerichte testen ingezet moeten worden, is het soms efficiënter om direct een brede test in te zetten. Het optimum waarbij het beter is om met een brede test te beginnen wordt het *Tipping Point* genoemd. De vraag is wanneer sequentieel testen en/of gericht smal testen, beter vervangen kan worden door een brede testmethode.

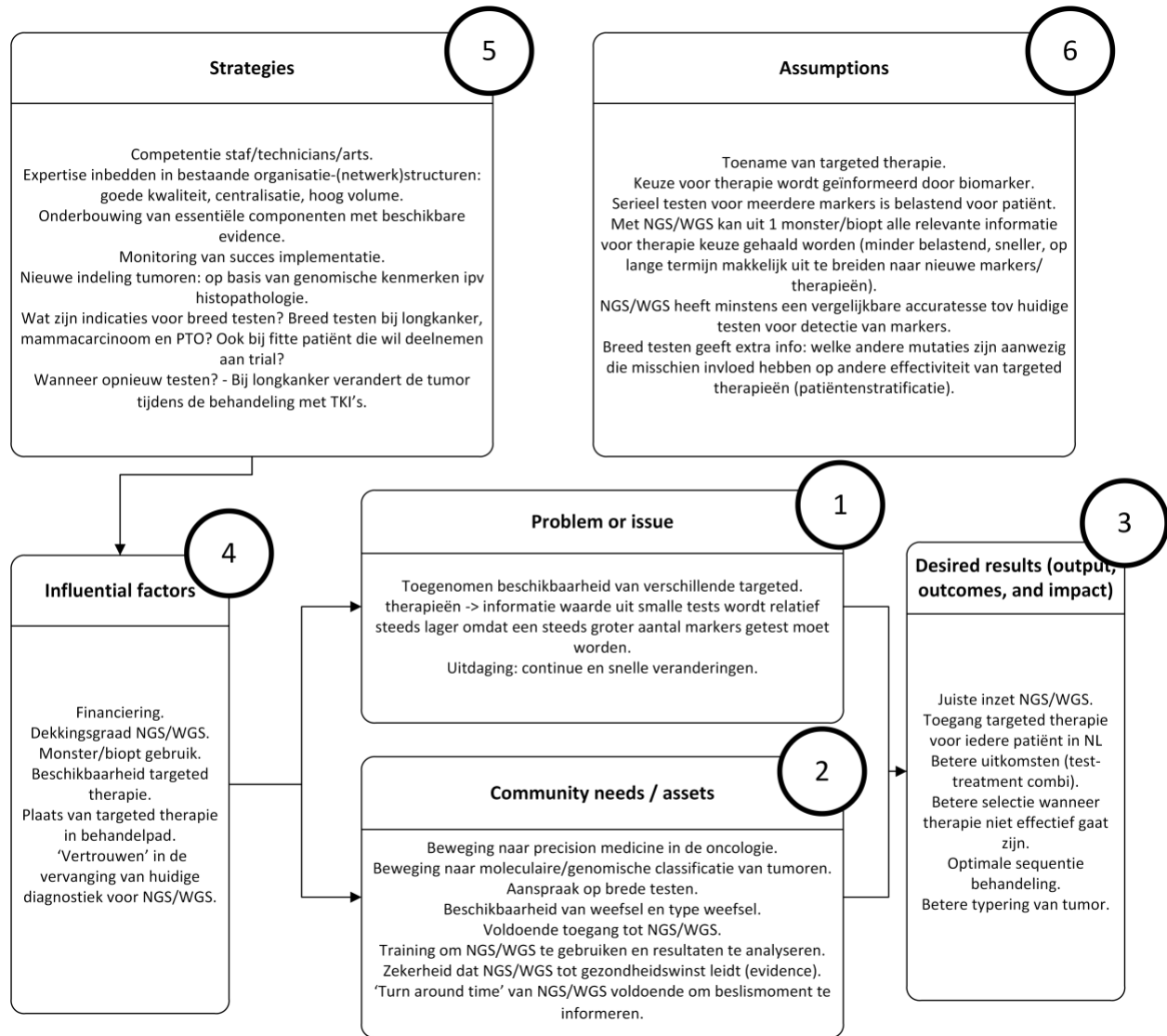
2. Vraagstelling

Het Zorginstituut heeft de volgende vraagstelling geformuleerd: “Wat is het klinisch nut van brede moleculaire diagnostiek in vergelijking met smalle moleculaire diagnostiek binnen de behandeling van kanker?” Hierbij gaat het Zorginstituut uit van meerdere indicatiegebieden, waarvoor Cochrane Netherlands de effectiviteit van verschillende predictieve biomarkers in afzonderlijke uitgangsvragen (PICO's) onderzocht heeft.

3. Logic model

Cochrane Netherlands heeft voorgesteld om eerst de complexiteit van de plaatsbepaling van moleculaire diagnostiek in de oncologie binnen de Nederlandse zorgpraktijk goed in kaart te brengen, met behulp van een *logic model* (CICI framework¹). Om het model in te vullen, is onder leiding van medewerkers van Cochrane Netherlands input opgehaald tijdens een bijeenkomst gehouden waarbij adviseurs van het Zorginstituut en leden van de aan het Zorginstituut verbonden expertgroep aanwezig waren. Het doel van het *logic model* is om een goed beeld te verkrijgen van de plaats van het

onderhavige project, inclusief de inbedding en disseminatie van de uitkomsten, en hoe de verschillende onderdelen met elkaar in verhouding staan. Het ingevulde *logic model* is weergegeven in Figuur 1.



Figuur 1: Logic model voor plaatsbepaling moleculaire diagnostiek bij kanker in de Nederlandse zorgpraktijk

4. Niet-kleincellig longcarcinoom

4.1 Formuleren PICO's

Het Zorginstituut heeft niet-kleincellig longcarcinoom (NSCLC) geselecteerd als eerste indicatiegebied. De volledige rapportage voor het indicatiegebied niet-kleincellig longcarcinoom is te vinden in Bijlage 1. Voor dit indicatiegebied zijn drie uitgangsvragen (PICO's) geformuleerd waarvoor Cochrane Netherlands de evidence heeft verzameld en uitgewerkt.

PICO 1 en 2 hebben betrekking op de inzet van brede testen in vergelijking met smal testen. Hierbij wordt onderscheid gemaakt tussen het klinisch nut van het inzetten van een brede test in vergelijking tot het niet uitvoeren van moleculaire diagnostiek of het inzetten van één of meerdere smalle testen, en de concordantie van de uitslag van een brede test in vergelijking met een smalle test. In de oorspronkelijke PICO's was gekozen voor de uitkomstmaat diagnostische accuratesse (sensitiviteit, specificiteit en voorspellende waarden). Echter, een referentiestandaard waarmee de resultaten van de moleculaire testen vergeleken worden bestaat niet in dit vakgebied. Indien een brede test meer mutaties detecteert dan een smalle test, dan kan niet worden vastgesteld of dit een fout-positief resultaat is, of dat de brede test gevoeliger is en daarom meer mutaties oppikt. In overleg met het Zorginstituut is gekozen voor concordantie als uitkomstmaat, omdat bij hoge concordantie aangenomen kan worden dat de accuratesse van beide testen vergelijkbaar is, en de nieuwe, brede, test dus vergelijkbaar is met de huidige smalle testen.

In PICO 1 en 2 wordt onderscheid gemaakt tussen zeldzame (bijvoorbeeld ROS1, RET, MET) en niet-zeldzame (EGFR, BRAF, ALK) moleculaire aberraties. Voor zowel zeldzame als niet-zeldzame moleculaire aberraties heeft het Zorginstituut bewijs in de vorm van klinisch nut studies nodig om een uitspraak te doen over de effectiviteit van breed testen. Afhankelijk van het beschikbare bewijs en de kwaliteit van bewijs is de verwachting dat de benodigde bewijsvoering voor niet-zeldzame (PICO 1) versus zeldzame (PICO 2) studies anders zal zijn. Besloten is om voor zowel zeldzame als niet-zeldzame mutaties klinisch nut studies te includeren. Wanneer deze niet beschikbaar bleken te zijn, of van onvoldoende methodologische kwaliteit, zouden ook concordantiestudies meegenomen worden.

Tevens werd door de expertgroep geopperd dat immunotherapie mogelijk niet of minder effectief is in patiënten met STK11 of KEAP1 mutaties. Moleculaire diagnostiek kan dus mogelijk ook worden ingezet voor het selecteren van patiënten waarbij een bepaalde behandeling géén baat zal hebben. PICO 3 heeft betrekking op dit vraagstuk.

Het Zorginstituut heeft uiteindelijk de volgende uitgangsvragen vastgesteld:

PICO 1

P: Patienten met stadium IIIB/IV NSCLC met mogelijk een moleculaire aberratie (EGFR, BRAF, ALK)

	I	C*
Testen voor mutaties	NGS	PCR
	WGS	Gerichte PCR's
Testen voor structurele	NGS, TSO500, RNA-NGS	FISH of gerichte RNA-NGS

veranderingen	WGS	Gerichte RNA-NGS
---------------	-----	------------------

* Deze tests kunnen ook sequentieel ingezet worden. Met sequentieel testen wordt bedoeld dat gestart wordt met een (of meerdere) single gene tests (bv. Idylla, ddPCR, FISH, etc) wat bij een negatieve uitslag gevolgd wordt door een smal panel NGS.

O: Kwaliteit van leven en overleving (OS) (cruciaal), objectief responspercentage (ORR) en ziektevrije overleving (PFS) (belangrijk), concordantie (cruciaal), en percentage failed tests (belangrijk). N.B.: Omdat het om een vergelijking gaat, worden de uitkomsten voor zowel de index test als de controle test onderzocht.

Studieopzet: randomized controlled trial (RCT), niet-gerandomiseerd vergelijkend cohortonderzoek of cross-sectioneel vergelijkend onderzoek

PICO 2

P: Patienten met stadium IIIB/IV NSCLC met mogelijk een laag prevalentie (<5% van totale populatie) moleculaire aberratie (ROS1, RET, MET, HER2, NRG, MET exon 14 skipping, RET, HER2 mutaties en NTRK1/2/3, KRAS G12C en studie targets)

I: Breed DNA en RNA based NGS, of WGS, WES gevolgd door doelgerichte therapie

C: Volgens de vigerende richtlijn standaard systemische behandeling of best supportive care

O: Kwaliteit van leven en overleving (OS) (cruciaal), en objectief responspercentage (ORR) en ziektevrije overleving (PFS) (belangrijk). Concordantie (cruciaal), en percentage failed tests (belangrijk).

Studieopzet: RCT, niet-gerandomiseerd vergelijkend cohortonderzoek, of cross-sectioneel vergelijkend onderzoek.

Het Zorginstituut kijkt naar de netto balans (clinical benefit) tussen positieve en negatieve effecten op de uitkomsten. Indien geen gegevens worden gevonden voor harde eindpunten (cruciaal), dan worden relevante intermediaire eindpunten (belangrijk) tevens meegenomen.

PICO 3A

P: Patiënten met stadium IIIB/IV NSCLC met een indicatie voor immunotherapie (d.w.z. PD-1 of PD-L1 positief) en positief voor co-mutaties (waaronder STK11 en/of KEAP1), of met een lage *tumor mutational burden* (TMB)

I: Systemische behandeling zonder immunotherapie

C: Usual care immunotherapie

O: Kwaliteit van leven en OS (cruciaal), en ORR en PFS (belangrijk)

PICO 3B

P: Patiënten met stadium IIIB/IV NSCLC met een indicatie voor immunotherapie

I: Moleculaire analyse op co-mutaties (waaronder STK11 en KEAP1), gevolgd door systemische behandeling volgens vigerende richtlijn indien een mutatie aanwezig is, en immunotherapie indien de mutaties niet aanwezig zijn

C: Eerstelijns immunotherapie (usual care)

O: Kwaliteit van leven en OS (cruciaal), en ORR en PFS (belangrijk)

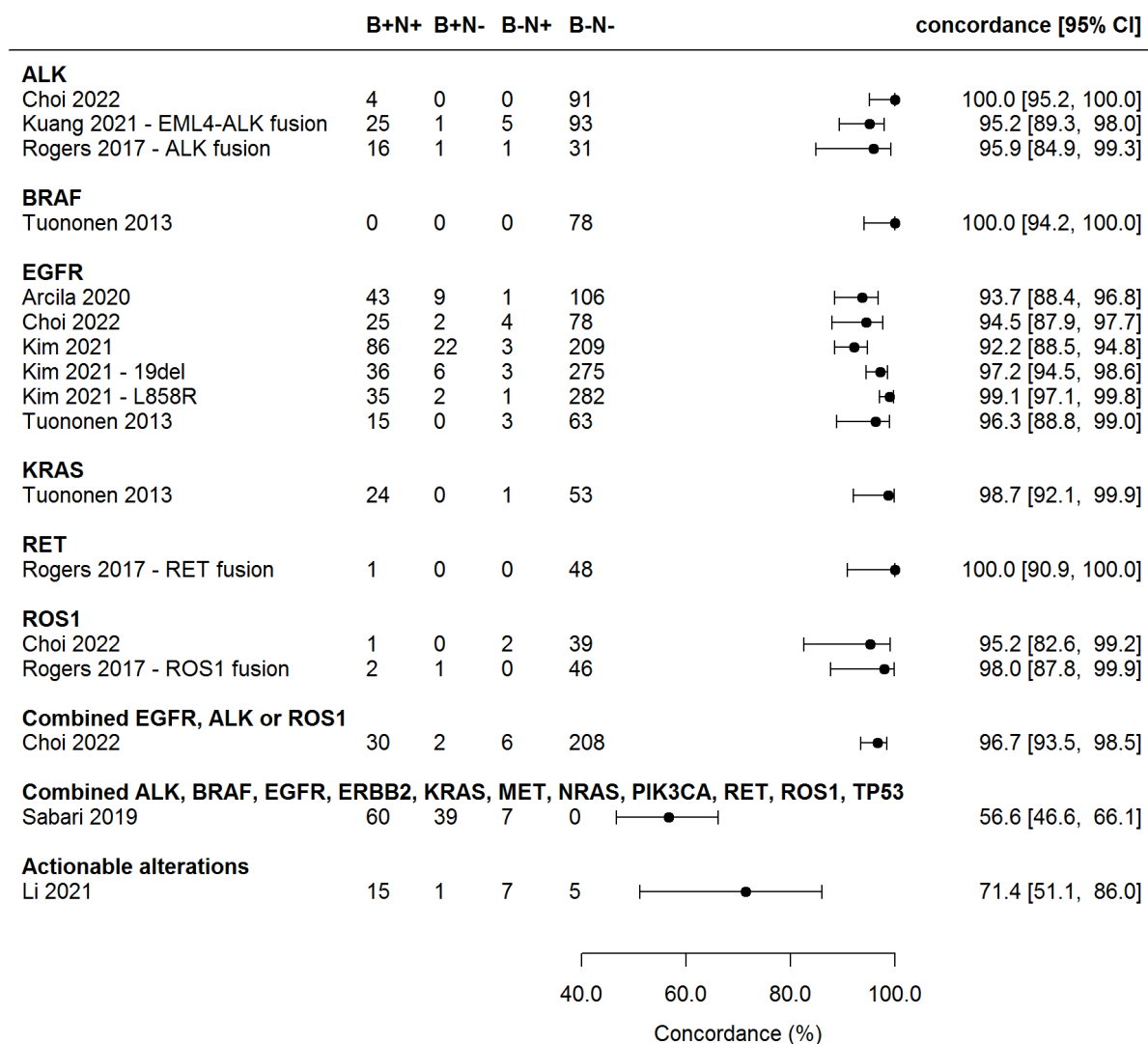
4.2 Bevindingen

Voor PICO 1 en 2 heeft Cochrane Netherlands systematisch de literatuur doorzocht tot aan 2 februari 2022. Er werd gezocht naar zowel gerandomiseerde studies als niet-gerandomiseerde studies die een vergelijking maakten tussen moleculaire diagnostiek met een brede test gevolgd door targeted therapie in vergelijking met gebruikelijke zorg volgens de vigerende richtlijn.

Er werden geen gerandomiseerde studies gevonden die deze vergelijking maakten, maar er werd wel één niet-gerandomiseerde voor-na studie gevonden die een vergelijking maakte tussen gebruikelijke zorg versus moleculaire diagnostiek met een breed NGS panel bij patiënten met stadium IV NSCLC.² Hoewel de mediane overleving in de NGS groep beter was in vergelijking tot de niet-NGS groep (25,3 maanden (95% BI 19,6-32,2) versus 14,6 maanden (95% CI 12,8-17,2)), was het risico op vertekening door confounding ernstig hoog in dit onderzoek. Het is onduidelijk of de betere overleving een gevolg is van de inzet van het NGS panel, of van de betere behandelmogelijkheden die in dezelfde periode geïntroduceerd werden. Daarnaast was de toepasbaarheid onduidelijk vanwege de slechte rapportage.

Voor PICO 1 en 2 werd daarnaast gezocht naar vergelijkende cross-sectionele studies die zowel een brede test als een smalle test uitvoeren op materiaal van dezelfde patiënt en waarin vervolgens een vergelijking gemaakt kon worden tussen beide testen, of waarin het percentage gefaalde testen beschreven werd. In deze fase van het project werden brede testen gedefinieerd als WGS, WES of NGS met minstens 150 genen. Smalle testen zijn alle testen die één of enkele genen omvatten, zoals FISH, RT-PCR en ddPCR, en smalle NGS panels met bijvoorbeeld 50 genen. In totaal werden acht cross-sectionele studies gevonden die de concordantie beschreven tussen een breed NGS-panel en een smalle test. De resultaten van deze onderzoeken zijn weergegeven in Figuur 2. De concordantie voor het EGFR gen varieerde tussen 92,2% en 99,1% (4 studies³⁻⁶) terwijl deze voor het ALK gen lag tussen 95,2% en 100% (3 studies⁶⁻⁸). Voor BRAF⁵ en RET⁸ werd een concordantie van 100% gevonden, elk in één studie. De concordantie voor KRAS was 98,7% (1 studie⁵) en voor ROS was deze 95,2% en 98,0% (2 studies⁶⁻⁸). De concordantie voor de combinatie van verschillende genen was lager en tussen 56,6% en 96,7% (3 studies⁶⁻⁹⁻¹⁰). Hoewel de gevonden schattingen van concordantie meestal hoog waren, was de kwaliteit en toepasbaarheid van de ingesloten onderzoeken niet ideaal; elk onderzoek scoorde een hoge kans op vertekening of *applicability concerns* voor minstens één van de drie kwaliteitsdomeinen (selectie van patiënten, uitvoering van testen, *flow and timing*). De zekerheid van het bewijs werd dan ook ingeschat als zeer laag.

Concordance



Figuur 2: concordantie tussen brede (B) en smalle (N) testen voor de moleculaire diagnostiek van mutaties bij patiënten met NSCLC.

Voor PICO 3 werd de literatuur doorzocht op 21 maart 2022 en werden gerandomiseerde studies geïnccludeerd die de effectiviteit van immunotherapie in vergelijking met het niet geven van immunotherapie bestudeerden bij patiënten met NSCLC met een indicatie voor immunotherapie. Studies werden geïnccludeerd indien ze, of patiënten includeerden met een mutatie die een mogelijk negatief voorspellende waarde heeft voor immunotherapie, of de effectiviteit van immunotherapie vergeleken tussen patiënten met en zonder een dergelijke mutatie (d.w.z. een subgroepenanalyse). Alle soorten mutaties in alle genen werden ingesloten, met uitzondering van mutaties waarvoor in Nederland een doelgerichte therapie geregistreerd is (d.w.z. EGFR, ALK, ROS1, en BRAF). Tevens werd gezocht naar studies waarbij gerandomiseerd werd tussen een groep waarbij negatieve selectie voor immunotherapie werd toegepast op basis van de resultaten van moleculaire diagnostiek naar co-

mutaties en een groep waarbij deze negatieve selectie niet werd toegepast. Echter werden geen studies gevonden met deze vergelijking. Uiteindelijk werden 15 artikelen geïncludeerd die acht unieke gerandomiseerde studies beschreven, namelijk Checkmate 057,¹¹ Checkmate 026,¹² POPLAR,¹³ Checkmate 227, Impower 110,¹⁴ Keynote 010, OAK¹⁵ en MYSTIC.¹⁶ In deze studies werd immunotherapie vergeleken met chemotherapie en er werden 43 subgroepanalyses beschreven met betrekking tot een specifieke mutatiestatus of de *tumor mutational burden* (TMB). Zes van de acht studies hadden een hoog risico op vertekening in minstens één domein van de Cochrane Risk of Bias tool.¹⁷ De kans op vertekening in de 43 subgroepanalyses was echter meestal laag (28 analyses) of onduidelijk (14 analyses), hoewel de meerderheid van de subgroepanalyses niet vooraf beschreven werd in registraties of protocollen (32 analyses). In één subgroepanalyse werd een sterker behandel-effect gevonden voor algehele overleving (in het voordeel van immunotherapie) in de subgroep met een $TMB \geq 20$ mut/Mb gemeten in het bloed (bTMB).¹⁶ Voor progressievrije overleving werd in één subgroepanalyse een sterker behandel-effect van immunotherapie gevonden in de subgroep met een hogere bTMB¹⁶ en in een andere subgroepanalyse werd een sterker behandel-effect gevonden in de groep met een hogere tumor TMB (tTMB)¹² maar in de andere subgroepanalyses werden geen verschillen gevonden (moderate certainty evidence). In de overige subgroepanalyses met betrekking tot algehele en progressievrije overleving werden geen verschillen gevonden voor mutaties in KEAP1, KEAP1/NEF2L2, MDM2, STK11, TP53/ATM (low certainty evidence) en KRAS (moderate certainty evidence). In vier subgroepanalyses was het behandel-effect van immunotherapie op het objectief responspercentage mogelijk sterker in de subgroep met een hoge TMB, echter was dit verschil niet significant in één subgroepanalyse en werden in de overige analyses geen betrouwbaarheidsintervallen beschreven (low certainty evidence).

5. Pancreascarcinoom

5.1 Formuleren PICO's

Het Zorginstituut heeft pancreascarcinoom geselecteerd als tweede indicatiegebied. Hiervoor zijn uitgangsvragen (PICO's) geformuleerd waarvoor Cochrane Netherlands de evidence heeft verzameld en uitgewerkt. Bij het opstellen van de PICO's werden de huidige richtlijnen gevolgd. Echter, aangezien de richtlijnen van het pancreascarcinoom niet up-to-date zijn (bijvoorbeeld is olaparib, gebruikt bij BRCA-gemuteerde tumoren en vergoed vanuit de basisverzekering, nog niet in de richtlijnen opgenomen), werden ook de aan het Zorginstituut gebonden experts geraadpleegd bij het opstellen van de PICO's.

De PICO's hebben betrekking op de inzet van breed testen. Hierbij wordt onderscheid gemaakt tussen het klinisch nut van het inzetten van een brede test in vergelijking tot het niet uitvoeren van moleculaire diagnostiek of het inzetten van één of meerdere smalle testen, en de concordantie van de uitslag van een brede test in vergelijking met een smalle test.

Net als bij het NSCLC heeft het Zorginstituut idealiter bewijs in de vorm van klinisch nut studies nodig om een uitspraak te doen over de effectiviteit van breed testen. Wanneer deze er niet zijn, of van onvoldoende methodologische kwaliteit, zullen ook concordantiestudies meegenomen worden. De verwachting van de expertgroep is dat er weinig tot geen klinisch nut studies beschikbaar zijn en er dus gekeken zal worden naar concordantie.

Zoals in hoofdstuk 3 beschreven, is de grens tussen een brede en smalle moleculaire diagnostiek niet eenduidig. Een dergelijke grens kan verschillen per indicatiegebied, gezien het totaal aantal relevante mutaties tumorafhankelijk is. Voor pancreascarcinoom is in overleg met het Zorginstituut en de aan het Zorginstituut verbonden expertgroep afgesproken dat de definitie van een brede test niet alleen bepaald kan worden op basis van het aantal genen, maar dat er ook gekeken dient te worden welke genen gedekt worden met de test. Een test met bijvoorbeeld 50 genen zal meestal beschouwd worden als een smalle test omdat het BRCA gen (relevant voor pancreascarcinoom), vaak niet gedekt wordt door dit soort testen. Besloten is dat alle testen met minstens 50 genen en 1 megabases voorgelegd zouden worden aan de expertgroep en de experts zouden vervolgens aangeven of de test breed of smal is.

Daarnaast heeft een gesprek met niet-UMC experts inzichtelijk gemaakt dat niet alle brede testen gelijkwaardig zijn. Een WES of WGS is vaak duurder en vereist, door het gebruik van vriesmateriaal, een andere infrastructuur dan bij testen op basis van FFPE materiaal. De meerwaarde van deze testen boven die van brede NGS-panels dient daarom te worden onderzocht. In overleg met het Zorginstituut werd besloten om een aparte PICO op te nemen waarbij de vergelijking tussen WES en WGS enerzijds en brede NGS-panels anderzijds centraal staat.

Voor het vaststellen van de relevante mutaties voor pancreascarcinoom werden we geïnformeerd door de lijst van klinisch minimaal noodzakelijke targets (KMNT) die is opgesteld door de expertgroep. Relevante mutaties voor pancreascarcinoom zijn onder andere mutaties in BRCA1/2, dMMR/MSI-H, NTRK fusies, KRAS, HER2 amplificaties en NRG1 fusies.

Het Zorginstituut heeft uiteindelijk de volgende twee uitgangsvragen vastgesteld:

PICO 1

P: Patiënten met gemetastaseerde (stadium IV) of niet-resectabele ('locally advanced' stadium III) pancreascarcinoom met mogelijk een moleculaire aberratie

I: Brede moleculaire test (testen met minstens 50 genen en 1 megabase dekking en alle relevante kankergenen gedekt, e.g., brede NGS, WES, WGS, TSO-500)

C: Smalle moleculaire test (testen met minder dan 50 genen en 1 megabase dekking, of niet alle relevante kankergenen gedekt e.g., gerichte NGS, PCR, FISH, Idylla), die eventueel sequentieel kan worden ingezet*. Voor klinische nut-studies werd ook gezocht naar een controlegroep waarbij moleculaire diagnostiek niet wordt uitgevoerd; in een dergelijke groep zullen patiënten waarschijnlijk standaard systemische behandeling of best support care krijgen volgens de vigerende richtlijnen.

O: Kwaliteit van leven (QoL; cruciaal); Overall survival (OS; cruciaal); Concordantie (cruciaal); Progression free survival (PFS; belangrijk); Objective response rate (ORR; belangrijk); Percentage failed tests (belangrijk)

Studieopzet: Gerandomiseerd of niet-gerandomiseerd vergelijkende studie (uitkomsten: QoL, OS, PFS, ORR); Cross-sectioneel gepaarde studie (uitkomsten: concordantie, percentage failed tests)

PICO 2

P: Patiënten met gemetastaseerd (stadium IV) of niet-resectabel ('locally advanced' stadium III) pancreascarcinoom met mogelijk een moleculaire aberratie

I: WGS of WES

C: Brede NGS

O: Kwaliteit van leven (QoL; cruciaal); Overall survival (OS; cruciaal); Concordantie (cruciaal); Progression free survival (PFS; belangrijk); Objective response rate (ORR; belangrijk); Percentage failed tests (belangrijk)

Studieopzet: Gerandomiseerd of niet-gerandomiseerd vergelijkende studie (uitkomsten: QoL, OS, PFS, ORR); Cross-sectioneel gepaarde studie (uitkomsten: concordantie, percentage failed tests)

Het Zorginstituut kijkt naar de netto balans (clinical benefit) tussen positieve en negatieve effecten op de uitkomsten. Indien geen gegevens worden gevonden voor harde eindpunten (cruciaal), dan werden relevante intermediaire eindpunten (belangrijk) tevens meegenomen.

5.2 Bevindingen

De literatuur werd doorzocht tot 24 oktober 2022 naar gerandomiseerde en niet-gerandomiseerde studies die een vergelijking maakten tussen breed testen en smal testen bij patiënten met gemetastaseerd of niet-resectabel pancreascarcinoom. Uiteindelijk werd 1 onderzoek geïnccludeerd waarin de concordantie tussen breed en smal testen werd onderzocht (PICO 1).¹⁸ We vonden geen

studies naar het klinisch nut van breed testen ten opzichte van niet breed testen. Daarnaast vonden we ook geen studies die WGS/WES met brede NGS vergeleken (PICO 2).

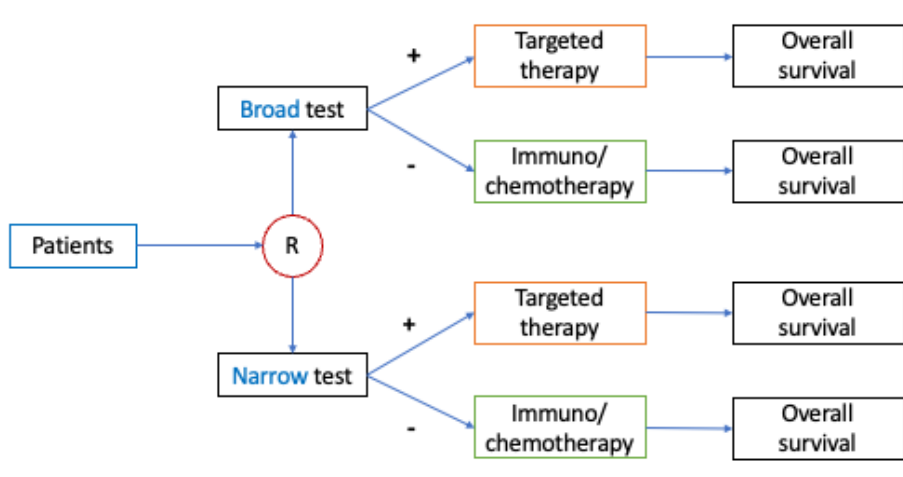
Het onderzoek van Ishizawa en collega's onderzocht de concordantie tussen een breed 409-gen NGS-panel en PCR voor de detectie van KRAS mutaties in monsters van 26 patiënten met pancreascarcinoom. Het risico op vertekening bij deze studie uit Japan was hoog, omdat de patiënten geselecteerd waren op basis van de beschikbaarheid van samples en de uitslagen van KRAS mutatie analyses. De concordantie tussen het NGS-panel en PCR was 80.8% (95% BI 62.1-91.5%). Van de 5 patiënten met discordante resultaten waren er 2 NGS negatief maar PCR positief, en 3 NGS positief maar PCR negatief. De twee patiënten die NGS negatief maar PCR positief waren bleken bij nader onderzoek van de ruwe NGS-data toch positief. De concordantie voor 5 specifieke mutaties binnen de KRAS gen varieerde tussen 92.3% en 100%.

6. Uitdagingen en aanbevelingen

Tijdens de bijeenkomst met de expertgroep waarbij het logic model werd ingevuld, kwamen verschillende knelpunten en uitdagingen naar voren die aandacht vereisten tijdens de uitvoering van het project en de interpretatie van de resultaten.

Ten eerste bleek dat het onderscheid tussen een brede test en een smalle test niet altijd duidelijk is vanwege het ontbreken van een algemeen geldende definitie. NGS kan een laag of hoog aantal genen omvatten, en waar de grens ligt is niet eerder beschreven. Duidelijk is wel dat testen zoals WGS en WES worden beschouwd als brede testen, terwijl veel smalle testen zoals FISH en PCR zich richten op één of enkele genen. Om te bepalen of een NGS breed of smal is, moeten vooraf drempelwaarden met betrekking tot het aantal baseparen of genen worden vastgesteld. Tijdens het eerste deel van het project, gericht op het indicatiegebied niet-kleincellig longcarcinoom, hebben we na overleg met de expertgroep besloten om NGS te classificeren als brede test indien minstens 150 genen gedekt waren. Echter, in het tweede deel van het project, gericht op het indicatiegebied pancreascarcinoom, is deze definitie herzien na nieuw overleg met de expertgroep. In deze fase is afgesproken dat de definitie van een brede test niet alleen kan worden bepaald op basis van het aantal genen, maar dat ook dient te worden gekeken naar de specifieke genen die gedekt worden met de test. Zo zal een test met bijvoorbeeld 50 genen meestal worden beschouwd als een smalle test als het BRCA-gen (relevant voor pancreascarcinoom) niet wordt gedekt. Om deze reden is besloten dat alle testen met minstens 50 genen en 1 megabases voorgelegd zouden worden aan de experts, die vervolgens zouden beslissen of de test als breed of smal wordt beschouwd.

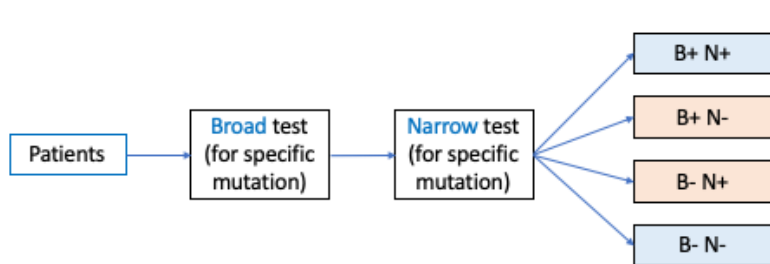
Ten tweede werd in dit vroege stadium van het project al voorzien dat er waarschijnlijk weinig tot geen gerandomiseerde studies beschikbaar zouden zijn die een directe vergelijking maken tussen een teststrategie met een brede test en een strategie met één of meerdere smalle testen (Figuur 3). Een dergelijke ideale studieopzet zou in staat zijn om directe schattingen te maken van de gezondheidseffecten indien wordt overgestapt naar een brede test. Bovendien werd verwacht dat ook het aanbod niet-gerandomiseerde vergelijkende studies met patiënt-relevante uitkomsten zoals overleving of objectief responspercentage beperkt zou zijn. Daarnaast zijn (peer-reviewed) gegevens over lange-termijn uitkomsten (5 jaar of langer) niet beschikbaar, omdat de meeste doelgerichte behandelingen pas kortgeleden ontwikkeld zijn.



Figuur 3: De ideale studieopzet omvat een gerandomiseerde (R) vergelijking tussen de inzet van een brede test of een smalle test, gevolgd door doelgerichte behandeling indien een mutatie wordt gedetecteerd en immunotherapie of chemotherapie indien geen mutatie wordt aangetroffen waarvoor een doelgerichte behandeling beschikbaar is.

Grote gerandomiseerde studies die het klinisch nut van breed testen in vergelijking met smal testen onderzoeken, zijn momenteel niet beschikbaar en het wordt ook niet verwacht dat deze studies in de toekomst uitgevoerd zullen worden. Het vermoedelijke kleine verschil tussen de groepen vereist heel grote groepsgroottes om dit verschil aan te tonen. Daarnaast blijven er continue nieuwe doelgerichte geneesmiddelen op de markt komen, waardoor er gedurende een studie wijzigingen kunnen optreden in de gehanteerde behandelingen. Dit zal de interpretatie van de resultaten compliceren. Daarom zullen we moeten zoeken naar alternatieve vormen van bewijsvoering, waarbij naast klinisch nut ook overige overwegingen een doorslaggevende rol kunnen hebben.

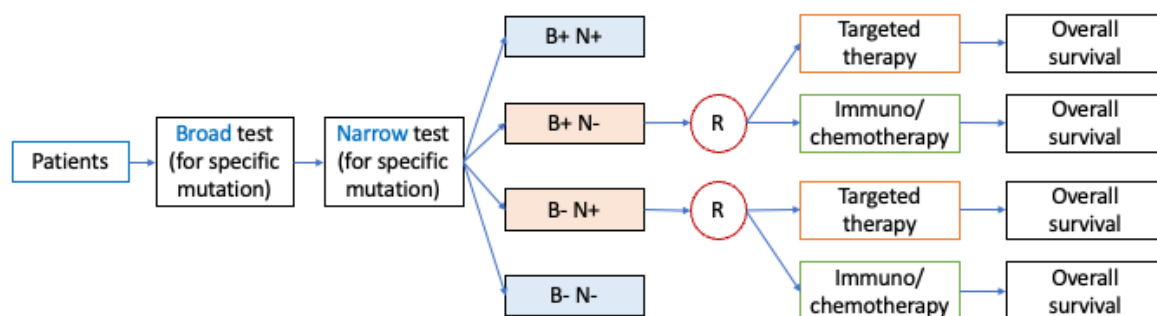
Een alternatieve benadering is om de diagnostische accuratesse van de smalle test te vergelijken met de die van de brede test. Echter, bij moleculaire diagnostiek ontbreekt een duidelijke referentiestandaard om de aan- of afwezigheid van de betreffende mutaties vast te stellen. Studies waarin de diagnostische accuratesse van de testen beschreven worden, nemen oftewel de smalle test als referentietest of de brede test. Dit maakt het onmogelijk om de diagnostische accuratesse van brede en smalle testen te bepalen en met elkaar te vergelijken. Als alternatieve uitkomstmaat is gekozen voor concordantie tussen de brede en smalle test (Figuur 4). Een hoge concordantie duidt erop dat de testen vergelijkbare resultaten opleveren. Echter, bij discordantie is het onduidelijk welke test beter presteert.



Figuur 4: Studieopzet voor concordantiestudies. Alle patiënten krijgen zowel de smalle als de brede test en vervolgens worden de resultaten van deze testen tegen elkaar uitgezet. B+: brede test positief; B-: brede test negatief; N+: smalle test positief; N-: smalle test negatief.

Een alternatieve onderzoeksopzet die informatie kan opleveren over welke test ‘juist’ was in het geval van een discordantie (d.w.z. beter het behandelingsvoorspelt) is weergegeven in Figuur 5. Hierbij worden discordante patiënten gerandomiseerd tussen doelgerichte behandeling of gebruikelijke systemische behandeling. Vervolgens kunnen gezondheidseffecten bestudeerd worden. Als het effect van doelgerichte behandeling groter zou zijn bij brede test positieven dan bij smalle test positieven, dan kunnen we concluderen dat de brede test ‘juist’ was.

Een mogelijke reden waarom een brede test een mutatie vindt terwijl een smalle test deze niet detecteert, is dat een smalle test mogelijk niet het volledige gen bestrijkt. Dit betekent dat de mutatie zich mogelijk bevindt in het deel van het gen dat niet getest werd. Ook kan het zijn dat één van de testen gevoeliger is, waardoor mutaties gedetecteerd worden zelfs als deze in een heel laag percentage tumorcellen aanwezig zijn. In dat geval kan een doelgerichte behandeling mogelijk minder effectief zijn indien de mutatie voorkomt in een laag percentage tumorcellen.



Figuur 5: Studieopzet waarbij discordante patiënten gerandomiseerd (R) worden tussen doelgerichte behandeling of immunotherapie / chemotherapie. B+: brede test positief; B-: brede test negatief; N+: smalle test positief; N-: smalle test negatief.

Het gebrek aan informatie over het klinisch nut en de diagnostische accuratesse van zowel brede als smalle testen heeft gevolgen voor de gebruikelijke vervolgstappen binnen het Zorginstituut. Indien geen directe gegevens beschikbaar zijn over het klinisch nut van een test, wordt normaal gesproken het vergelijkend analyseraam gebruikt.¹⁹ Binnen dit analyseraam worden twee test-behandeling strategieën met elkaar vergeleken, waarbij met behulp van een hypothetisch cohort van patiënten de mogelijke patiëntenuitkomsten worden doorgerekend op basis van de diagnostische accuratesse. Hierbij worden aannames gedaan met betrekking tot de gevolgen voor terecht-positieve, terecht-negatieve, fout-positieve en fout-negatieve testresultaten op basis van de literatuur. Echter, vanwege het ontbreken van een referentietest voor moleculaire diagnostiek is het niet mogelijk om op de gebruikelijke manier het vergelijkend analyseraam in te vullen. Meer onderzoek is nodig om de noodzakelijke aanpassingen binnen het vergelijkend analyseraam te identificeren, zodat dit ook ingezet kan worden bij het nemen van beslissingen in situaties waarbij geen referentietest beschikbaar is.

Daarnaast is het belangrijk om de toepassing van zowel brede als smalle testen in de huidige praktijk te monitoren, zoals ook gedaan is in de WIDE studie.²⁰ In deze studie werd WGS onafhankelijk van, of parallel aan de gebruikelijke zorg ingezet. Hierbij werden tevens gegevens verzameld over behandelbeslissingen. In de toekomst worden idealiter ook gegevens over gezondheidseffecten bij patiënten verzameld en gekoppeld aan testuitslagen en behandelbeslissingen.

7. Conclusies

Met betrekking tot het indicatiegebied niet-kleincellig longcarcinoom:

- Er werden geen gerandomiseerde studies gevonden die het klinisch nut van de inzet van brede moleculaire diagnostiek vergeleken met smalle diagnostiek.
- De concordantie tussen brede en smalle moleculaire testen bleek meestal hoog (>90% in de meeste studies) (very low level of evidence). Alleen in studies waarbij concordantie voor meerdere genen gecombineerd werd berekend, werden lagere concordantiepercentages gevonden. Echter, de methodologische kwaliteit van de meeste studies was problematisch of kon niet worden vastgesteld door gebrekkige rapportage.
- Er werden geen studies gevonden die een vergelijking maakten tussen breed testen met behulp van WGS of WES en smal testen.
- Er werden geen studies gevonden die het klinisch nut bepaalden van moleculaire diagnostiek om patiënten te selecteren die mogelijk geen baat hebben bij immunotherapie.
- Er werden 8 RCT's gevonden met in totaal 43 subgroepanalyses die betrekking hadden op een specifieke mutatiestatus of TMB als mogelijke voorspeller van de effectiviteit van immunotherapie.
- De effectiviteit van immunotherapie op algehele overleving bleek over het algemeen sterker in de hoog-TMB subgroepen vergeleken met de laag-TMB subgroepen, maar het verschil was in de meeste gevallen niet statistisch significant (moderate level of evidence).
- De effectiviteit van immunotherapie op algehele overleving en progressievrije overleving is mogelijk sterker in de subgroep met een lage bTMB-MSAF ten opzichte van de subgroep met een hoog bTMB-MSAF (moderate level of evidence).
- De effectiviteit van immunotherapie op het objectieve responspercentage is mogelijk sterker in de subgroep met een hoge TMB, maar resultaten voor deze uitkomst werden in slechts vier studies beschreven (low level of evidence).
- Er zijn geen aanwijzingen voor verschillen tussen de subgroepen van KEAP1, KEAP1/NEF2L2, MDM2, STK11 en de risicoscore van vijf genen met betrekking tot de uitkomst algehele overleving (low level of evidence), en ook niet voor de subgroepen gebaseerd op mutaties in KRAS (moderate level of evidence).

Met betrekking tot het indicatiegebied pancreascarcinoom:

- In dit literatuuronderzoek werden geen studies geïdentificeerd die het klinische nut van de inzet van brede moleculaire diagnostiek onderzochten, evenals studies die het percentage gefaalde testen beschreven. Ook werden er geen studies gevonden die de concordantie tussen verschillende brede testen beschreven.
- Wegens het gebrek aan data en hoge risico op bias is het trekken van een sterke conclusie over de concordantie tussen brede en smalle moleculaire tests bij patiënten met pancreascarcinoom niet mogelijk. De zekerheid van bewijs (GRADE) is zeer laag.
- Meer studies zijn nodig naar andere typen mutaties en naar andere typen tests (zoals WGS of WES) in een grotere patiëntengroep.

Methodologische uitdagingen en aanbevelingen:

- Doordat de diagnostische accuratesse van de brede en smalle testen niet bekend is, is het momenteel niet mogelijk het vergelijkend analyseraam in te vullen en de resultaten van de cross-sectionele studies door te rekenen naar mogelijk klinisch nut.
- Als de concordantie tussen brede en smalle testen hoog is, zal in de meerderheid van de patiënten de inzet van de brede test waarschijnlijk niet leiden tot andere behandelbeslissingen in vergelijking met de smalle testen. In gevallen waarin de brede en smalle testen discordante resultaten laten zien, heeft de keuze van de test wel gevolgen voor de patiënt. Een nieuw analyseraamwerk dient ontwikkeld te worden dat data over concordantie als startpunt hanteert.
- Aangezien het niet mogelijk is om studies uit te voeren waarin het klinisch nut van brede testen direct wordt vergeleken met smalle testen, kan vervolgonderzoek zich richten op het systematisch verzamelen van gegevens over de inzet van breed en smal testen in de klinische praktijk, evenals de behandelbeslissingen volgend op de testresultaten en patiënt-relevante uitkomstmaten.

Referenties

1. Pfadenhauer LM, Gerhardus A, Mozygemba K, et al. Making sense of complexity in context and implementation: the Context and Implementation of Complex Interventions (CICI) framework. *Implementation science* 2017;12(1):1-17.
2. Al-Ahmadi A, Ardeshir-Larijani F, Fu P, et al. Next Generation Sequencing of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Utilization Based on Race and Impact on Survival. *Clinical Lung Cancer* 2021;22(1):16-22.e1. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2020.08.004>
3. Arcila ME, Yang SR, Momeni A, et al. Ultrarapid EGFR Mutation Screening Followed by Comprehensive Next-Generation Sequencing: A Feasible, Informative Approach for Lung Carcinoma Cytology Specimens With a High Success Rate. *JTO Clinical and Research Reports* 2020;1(3) doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtocrr.2020.100077>
4. Kim JH, Yoon S, Lee DH, et al. Real-world utility of next-generation sequencing for targeted gene analysis and its application to treatment in lung adenocarcinoma. *Cancer Medicine* 2021;10(10):3197-204. doi: <https://doi.org/10.1002/cam4.3874>
5. Tuononen K, Maki-Nevala S, Sarhadi VK, et al. Comparison of targeted next-generation sequencing (NGS) and real-time PCR in the detection of EGFR, KRAS, and BRAF mutations on formalin-fixed, paraffin-embedded tumor material of non-small cell lung carcinoma-superiority of NGS. *Genes, Chromosomes & Cancer* 2013;52(5):503-11. doi: <https://doi.org/10.1002/gcc.22047>
6. Choi YJ, Choi JY, Kim JW, et al. Comparison of the Data of a Next-Generation Sequencing Panel from K-MASTER Project with That of Orthogonal Methods for Detecting Targetable Genetic Alterations. *Cancer Research & Treatment* 2022;54(1):30-39. doi: <https://doi.org/10.4143/crt.2021.218>
7. Kuang Y, Xu P, Wang J, et al. Detecting ALK Rearrangement with RT-PCR: A Reliable Approach Compared with Next-Generation Sequencing in Patients with NSCLC. *Molecular Diagnosis & Therapy* 2021;25(4):487-94. doi: <https://doi.org/10.1007/s40291-021-00532-8>
8. Rogers TM, Arnau GM, Ryland GL, et al. Multiplexed transcriptome analysis to detect ALK, ROS1 and RET rearrangements in lung cancer. *Scientific Reports* 2017;7:42259. doi: <https://doi.org/10.1038/srep42259>
9. Li W, Li Y, Guo L, et al. Metastatic NSCLCs With Limited Tissues: How to Effectively Identify Driver Alterations to Guide Targeted Therapy in Chinese Patients. *JTO Clinical and Research Reports* 2021;2(5):100167. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtocrr.2021.100167>
10. Sabari JK, Offin M, Stephens D, et al. A Prospective Study of Circulating Tumor DNA to Guide Matched Targeted Therapy in Lung Cancers. *Journal of the National Cancer Institute* 2019;111(6):575-83. doi: <https://doi.org/10.1093/jnci/djy156>
11. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015;373(17):1627-39. doi: 10.1056/NEJMoa1507643 [published Online First: 2015/09/29]
12. Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, et al. First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2017;376(25):2415-26. doi: 10.1056/NEJMoa1613493 [published Online First: 2017/06/22]
13. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet* 2016;387(10030):1837-46. doi: 10.1016/s0140-6736(16)00587-0 [published Online First: 2016/03/14]
14. Herbst RS, Giaccone G, de Marinis F, et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of PD-L1-Selected Patients with NSCLC. *The New England journal of medicine* 2020;383(14):1328-39. doi: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1917346>

15. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2017;389(10066):255-65. doi: 10.1016/s0140-6736(16)32517-x [published Online First: 2016/12/17]
16. Rizvi NA, Cho BC, Reinmuth N, et al. Durvalumab With or Without Tremelimumab vs Standard Chemotherapy in First-line Treatment of Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer: The MYSTIC Phase 3 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncology* 2020;6(5):661-74. doi: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.0237>
17. Higgins JPT, Altman DG, Gøtzsche PC, et al. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ* 2011;343:d5928. doi: 10.1136/bmj.d5928
18. Ishizawa T, Makino N, Matsuda A, et al. Usefulness of rapid on-site evaluation specimens from endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for cancer gene panel testing: A retrospective study. *PLoS One* 2020;15(1):e0228565. doi: 10.1371/journal.pone.0228565 [published Online First: 20200130]
19. Derksen JTMS, P. C.; Ligtenberg, G. Rapport Medische tests (beoordeling stand van de wetenschap en praktijk). Publicatienummer 293. College voor zorgverzekeringen., 2011.
20. Samsom KG, Schipper LJ, Roepman P, et al. Feasibility of whole-genome sequencing-based tumor diagnostics in routine pathology practice. *J Pathol* 2022;258(2):179-88. doi: 10.1002/path.5988 [published Online First: 20220803]

Bijlagen

Bijlage 1. Rapportage Niet-kleincellig longcarcinoom

Bijlage 2. Rapportage Pancreascarcinoom

Moleculaire Diagnostiek in de oncologie: plaatsbepaling aan de hand van het klinisch nut

Rapportage indicatiegebied
Niet-Kleincellig Longcarcinoom

September 2022

Johanna Damen
Bada Yang
Kim Luijken
Kim van der Braak
Tabea Kaul
Claudia Orelia
René Spijker
Sjoerd Elias
Lotty Hooft



Samenstelling projectteam:

Onderzoekers

- Dr. J.A.A. Damen
- Drs. B. Yang
- Dr. K. Luijken
- Drs. K. van der Braak
- Drs. Tabea Kaul
- Dr. C. Orelia
- Drs. R. Spijker
- Dr. S.G. Elias
- Prof. dr. L Hooft

Informatiespecialist

- Drs. R. Spijker, Cochrane Netherlands en Julius Centrum, UMC Utrecht

Contactgegevens

Prof. dr. Lotty Hooft
Cochrane Netherlands / Julius Centrum
Universitair Medisch Centrum Utrecht
Huispostnummer Str. 6.131
Postbus 85500
3508 GA Utrecht
T: 088 755 9301
E: cochrane@umcutrecht.nl
W: www.cochrane.nl

Disclaimer: The views and opinions expressed in this document are those of the authors and do not necessarily reflect those of The Cochrane Collaboration.

Lijst met gebruikte afkortingen

BI	Betrouwbaarheidsinterval
ddPCR	<i>Droplet Digital Polymerase chain reaction</i>
FFPE	<i>Formalin-Fixed Paraffin-Embedded</i>
FISH	Fluorescence in situ hybridization
NGS	Next generation sequencing
NSCLC	Niet-kleincellig longcarcinoom [<i>non-small-cell lung carcinoma</i>]
ORR	Objectief responspercentage [<i>objective response rate</i>]
OS	Algehele overleving [<i>overall survival</i>]
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PFS	Ziektevrije overleving [<i>progression free survival</i>]
PICO	Populatie, interventie, controle, uitkomst [<i>outcome</i>]
RCT	Randomized Controlled Trial
RT-PCR	Reverse transcriptase-polymerase chain reaction
SR	Systematische review
TMB	Tumor mutational burden
WES	Whole exome sequencing
WGS	Whole genome sequencing

Inhoudsopgave

1. Inleiding	28
2. Vraagstelling	28
3. Logic model.....	28
4. Formuleren PICO's indicatiegebied NSCLC.....	30
4.1 PICO 1 en 2.....	30
4.2 PICO 3.....	32
5. Methode	32
5.1 Identificatie en selectie van relevante onderzoeken	32
5.2 Data-extractie en analyses.....	33
6. Resultaten	35
6.1 PICO 1 en 2.....	35
6.1.1 Selectie van onderzoeken	35
6.1.2 Beschrijving geïncludeerde onderzoeken.....	35
6.1.3 Resultaten	40
6.2 PICO 3.....	44
6.2.1 Selectie van onderzoeken	44
6.2.2 Beschrijving geïncludeerde onderzoeken.....	44
6.2.3 Beschrijving subgroepanalyses	48
6.2.4 Resultaten	52
7. Conclusies en discussiepunten	57
Referenties.....	60
Bijlagen.....	63
Bijlage 1. Zoekstrategieën.....	64
1A: PICO 1 en 2	64
1B: PICO 3	67
Bijlage 2. Study flow.....	70
2A: PICO 1 en 2	70
2B: PICO 3	71
Bijlage 3. Uitgesloten onderzoeken	72
3A: PICO 1 en 2	72
3B: PICO 3	88
Bijlage 4. Gedetailleerde kenmerken geïncludeerde onderzoeken	98
4A: PICO 1 en 2	98

4B: PICO 3	102
Bijlage 5. Overzicht van de kans op vertekening (risk of bias) in de geïncludeerde onderzoeken .	114
5A: PICO 1 en 2	114
5B: PICO 3	128
Bijlage 6. GRADE summary of findings tabellen	145
6A: PICO 1 en 2	145
Bijlage 7. Aanvullen de resultaten en groepsgroottes van subgroepanalyses	147

1. Inleiding

In september 2020 heeft de Minister voor Medische Zorg en Sport het Zorginstituut verzocht om advies te geven over de effectiviteit, plaatsbepaling en de toegankelijkheid en implementatie van moleculaire diagnostiek in de Nederlandse zorgpraktijk. De scope binnen deze adviesaanvraag is de predictieve diagnostiek van oncologische ziekten. In het bijzonder betreft het de vraag hoe de huidige innovatieve ontwikkelingen in de moleculaire tumordiagnostiek, waaronder de ontwikkeling van bredere DNA/RNA-testen welke zich focussen op meerdere biomarkers, zich verhouden tot de doorontwikkeling van bestaande testen. Onder de bredere DNA/RNA-testen wordt Whole Genome Sequencing (WGS) en Whole Exome Sequencing (WES) geschaard, alsmede brede next generation sequencing (NGS) met minstens 150 genen (eventueel gecombineerd met Archer fusie analyse). Smalle testen zijn alle testen die één of enkele genen omvatten en smalle NGS panels met bijvoorbeeld 50 genen.

Binnen de oncologie speelt moleculaire diagnostiek, een verzamelnaam voor voorspellende testen die de genetische eigenschappen van tumoren bepalen, met name een rol bij het selecteren van patiënten die in aanmerking komen voor doelgerichte geneesmiddelen (met andere woorden: het voorspellen van respons op behandeling). Nieuwe, vaak dure, doelgerichte geneesmiddelen komen in rap tempo op de markt, terwijl de effectiviteit en plaatsbepaling van de moleculaire diagnostische testen voor de selectie van patiënten niet altijd duidelijk is. Daarnaast is vaak onvoldoende duidelijk in welke gevallen een brede moleculaire test ingezet dient te worden, en wanneer een gerichte smalle test, of sequentieel meerdere testen, volstaat. Een brede moleculaire test is duurder en vraagt specifieke kennis en expertise. Echter, wanneer meerdere gerichte testen ingezet moeten worden, is het soms efficiënter om direct een brede test in te zetten. Het optimum waarbij het beter is om met een brede test te beginnen wordt het *Tipping Point* genoemd. De vraag is wanneer sequentieel testen en/of gericht smal testen, beter vervangen kan worden door een brede testmethode.

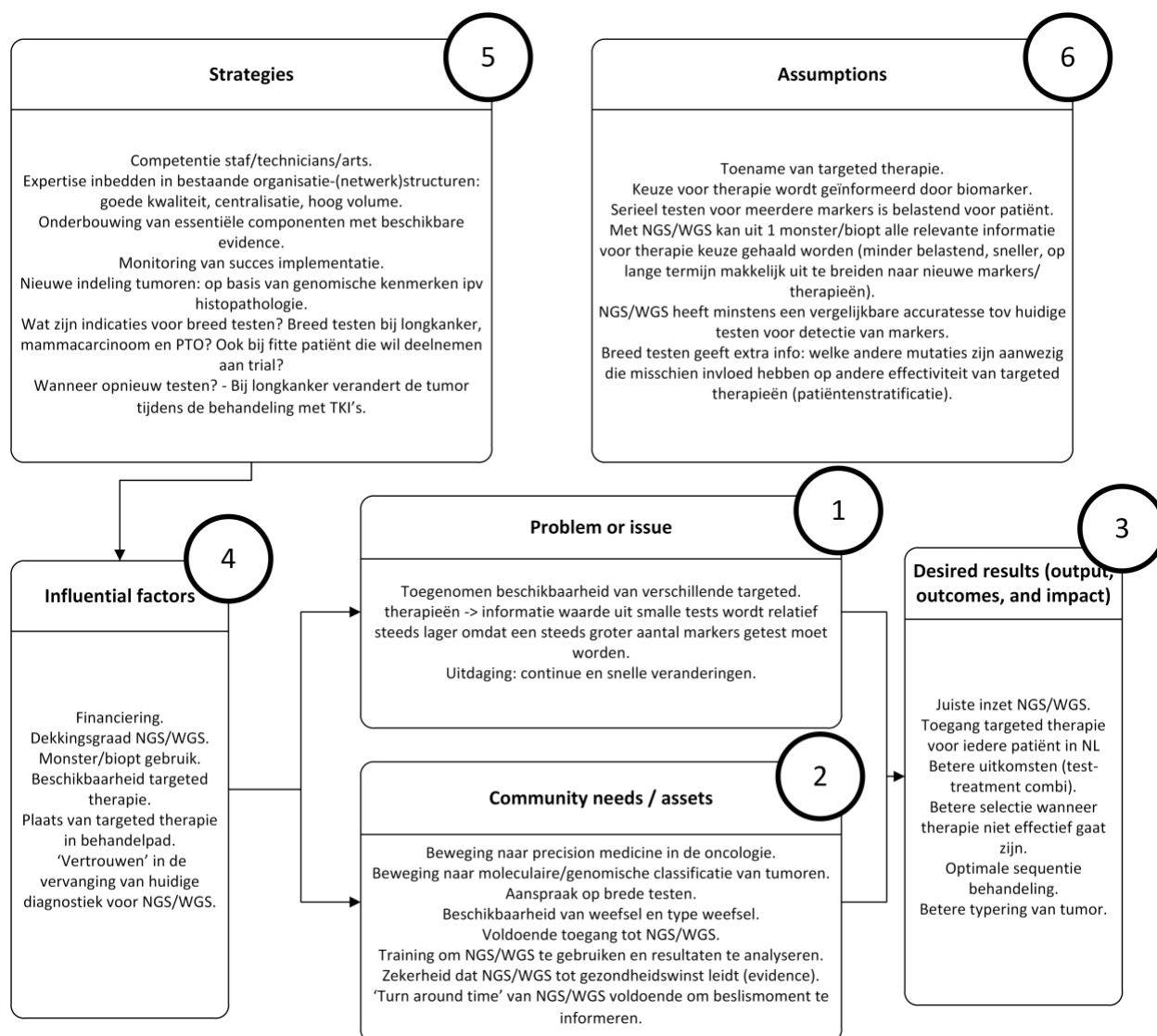
2. Vraagstelling

Het Zorginstituut heeft de volgende vraagstelling geformuleerd: “Wat is het klinisch nut van brede moleculaire diagnostiek in vergelijking met smalle moleculaire diagnostiek binnen de behandeling van kanker?” Hierbij gaat het Zorginstituut uit van meerdere indicatiegebieden, waarvoor Cochrane Netherlands de effectiviteit van verschillende predictieve biomarkers in afzonderlijke uitgangsvragen (PICO's) zal onderzoeken.

3. Logic model

Cochrane Netherlands heeft voorgesteld om eerst de complexiteit van de plaatsbepaling van moleculaire diagnostiek in de oncologie binnen de Nederlandse zorgpraktijk goed in kaart te brengen, met behulp van een *logic model* (CICI framework¹). Om het model in te vullen, is onder leiding van medewerkers van Cochrane Netherlands input opgehaald tijdens een bijeenkomst gehouden op 8 december 2021 van 9:30 tot 11:30 uur via Webex waarbij adviseurs van het Zorginstituut en leden van de aan het Zorginstituut verbonden expertgroep aanwezig waren. Namens het Zorginstituut waren aanwezig Ingrid de Groot, Lotte Hermsen, Yoka Kusumanto en Ilse Verstijnen. Namens de expertgroep

waren aanwezig Maxime van Berge Henegouwen (arts-assistent Klinische Genetica), Haiko Bloemendal (internist-oncoloog), Andre Gelderblom (oncoloog), Kim Monkhorst (patholoog), Ed Schuurung (klinisch moleculair bioloog in de pathologie), en Egbert Smit (longarts). Namens Cochrane Netherlands waren aanwezig Anneke Damen, Lotty Hoof, en René Spijker (discussieleider). Het doel van het *logic model* is om een goed beeld te verkrijgen van de plaats van het onderhavige project, inclusief de inbedding en disseminatie van de uitkomsten, en hoe de verschillende onderdelen met elkaar in verhouding staan. Na afloop van de bijeenkomst met de expertgroep heeft Cochrane Netherlands het *logic model* ingevuld en voorgelegd aan het Zorginstituut en de expertgroep. Vervolgens is het model aangepast op basis van deze feedback. Het ingevulde model is weergegeven in Figuur 1.



Figuur 1: Logic model voor plaatsbepaling moleculaire diagnostiek bij kanker in de Nederlandse zorgpraktijk

Tijdens de bijeenkomst kwam een aantal knelpunten en uitdagingen naar voren waar tijdens de uitvoer van het project en de interpretatie van de resultaten aandacht aan besteed zal worden.

Ten eerste is bij moleculaire diagnostiek geen duidelijke referentiestandaard beschikbaar, dat wil zeggen er is geen best mogelijke manier om de aan- of afwezigheid van de betreffende mutaties vast te stellen. Het is daarom niet mogelijk om de diagnostische accuratesse van brede en smalle testen te bepalen en met elkaar te vergelijken. Daardoor worden vervolgstappen een uitdaging en is het niet mogelijk om op de gebruikelijke manier het vergelijkend analyseraam in te vullen.

Ten tweede zal het uitdagend worden om voor de uitgangsvragen (PICO's) over klinisch nut studies te vinden die gebruik maken van de ideale studieopzet (vergelijkende gerandomiseerde studies) om te bewijzen of veronderstelde effecten als gevolg van het gebruiken van de brede testen causaal zijn. Experts geven aan dat dergelijke vergelijkende gerandomiseerde studies niet of nauwelijks (kunnen) worden uitgevoerd. Daarnaast zijn (peer-reviewed) gegevens over lange-termijn uitkomsten (5 jaar of langer) niet beschikbaar, omdat de meeste doelgerichte behandelingen pas kortgeleden ontwikkeld zijn.

Ten derde is het onderscheid tussen een brede test en een smalle test niet altijd te maken, omdat er geen algemene definitie is. NGS kan een laag aantal genen omvatten of een hoog aantal genen, en waar de grens ligt is niet eerder beschreven. Duidelijk is wel dat testen zoals WGS en WES vallen onder de brede testen. Daarnaast richten veel smalle testen, waaronder FISH en PCR, zich op één of enkele genen. NGS kan zowel breed of smal zijn en hiertoe dienen op voorhand afkwapwaardes met betrekking tot het aantal baseparen of genen te worden bepaald.

Tevens kwam tijdens de bijeenkomst naar voren dat moleculaire diagnostiek ook ingezet kan worden om patiënten te selecteren die waarschijnlijk géén baat hebben bij bepaalde behandelingen, zoals behandeling met immunotherapie. Daarom is besloten een derde PICO op te nemen die betrekking heeft op de inzet van moleculaire diagnostiek bij het selecteren van deze patiënten.

4. Formuleren PICO's indicatiegebied NSCLC

Het Zorginstituut heeft niet-kleincellig longcarcinoom (NSCLC) geselecteerd als eerste indicatiegebied. Hiervoor zijn uitgangsvragen (PICO's) geformuleerd waarvoor Cochrane Netherlands de evidence zal verzamelen en uitwerken.

4.1 PICO 1 en 2

PICO 1 en 2 hebben betrekking op de inzet van brede testen. Hierbij wordt onderscheid gemaakt tussen het klinisch nut van het inzetten van een brede test in vergelijking tot het niet uitvoeren van moleculaire diagnostiek of het inzetten van één of meerdere smalle testen, en de concordantie van de uitslag van een brede test in vergelijking met een smalle test. In de oorspronkelijke PICO's was gekozen voor de uitkomstmaat diagnostische accuratesse (sensitiviteit, specificiteit en voorspellende waarden). Echter, een referentiestandaard waarmee de resultaten van de moleculaire testen vergeleken worden bestaat niet in dit vakgebied. Indien een brede test meer mutaties detecteert dan een smalle test, dan kan niet worden vastgesteld of dit een fout-positief resultaat is, of dat de brede test gevoeliger is en daarom meer mutaties oppikt. In overleg met het Zorginstituut is gekozen voor concordantie als uitkomstmaat, omdat bij hoge concordantie aangenomen kan worden dat de accuratesse van beide testen vergelijkbaar is, en de nieuwe, brede test dus vergelijkbaar is met de huidige smalle testen.

In PICO 1 en 2 wordt onderscheid gemaakt tussen zeldzame (bijvoorbeeld ROS1, RET, MET) en niet-zeldzame (EGFR, BRAF, ALK) moleculaire aberraties. Voor zowel zeldzame als niet-zeldzame moleculaire aberraties heeft het Zorginstituut bewijs in de vorm van klinisch nut studies nodig om een uitspraak te doen over de effectiviteit van breed testen. Afhankelijk van het beschikbare bewijs en de kwaliteit van bewijs is de verwachting dat de benodigde bewijsvoering voor niet-zeldzame (PICO 1) versus zeldzame (PICO 2) studies anders zal zijn. Besloten is om voor zowel zeldzame als niet-zeldzame mutaties klinisch nut studies te includeren. Wanneer deze er niet zijn, of van onvoldoende methodologische kwaliteit, zullen ook concordantiestudies meegenomen worden. De verwachting van de expertgroep is dat er weinig tot geen klinisch nut studies beschikbaar zijn en er dus gekeken zal worden naar concordantie.

Het Zorginstituut heeft uiteindelijk de volgende twee uitgangsvragen vastgesteld:

PICO 1

P: Patienten met stadium IIIB/IV NSCLC met mogelijk een moleculaire aberratie (EGFR, BRAF, ALK)

	I	C*
Testen voor mutaties	NGS	PCR
	WGS	Gerichte PCR's
Testen voor structurele veranderingen	NGS, TSO500, RNA-NGS	FISH of gerichte RNA-NGS
	WGS	Gerichte RNA-NGS

* Met sequentieel testen wordt bedoeld dat gestart wordt met een (of meerdere) single gene tests (bv. Idylla, ddPCR, FISH, etc) wat bij een negatieve uitslag gevolgd wordt door een smal panel NGS.

O: Kwaliteit van leven en overleving (OS) (cruciaal), objectief responspercentage (ORR) en ziektevrije overleving (PFS) (belangrijk), concordantie (cruciaal), en percentage failed tests (belangrijk). Nb. Omdat het om een vergelijking gaat, worden de uitkomsten voor zowel de index test als de controle test onderzocht.

Studieopzet: randomized controlled trial (RCT), niet-gerandomiseerd vergelijkend cohortonderzoek of cross-sectioneel vergelijkend onderzoek

PICO 2

P: Patienten met stadium IIIB/IV NSCLC met mogelijk een laag prevalentie (<5% van totale populatie) moleculaire aberratie (ROS1, RET, MET, HER2, NRG, MET exon 14 skipping, RET, HER2 mutaties en NTRK1/2/3, KRAS G12C en studie targets)

I: Breed DNA en RNA based NGS, of WGS, WES gevolgd door doelgerichte therapie

C: Volgens de vigerende richtlijn standaard systemische behandeling of best supportive care

O: Kwaliteit van leven en overleving (OS) (cruciaal), en objectief responspercentage (ORR) en ziektevrije overleving (PFS) (belangrijk). Concordantie (cruciaal), en percentage failed tests (belangrijk).

Studieopzet: RCT, niet-gerandomiseerd vergelijkend cohortonderzoek, of cross-sectioneel vergelijkend onderzoek.

Het Zorginstituut kijkt naar de netto balans (clinical benefit) tussen positieve en negatieve effecten op de uitkomsten. Indien geen gegevens worden gevonden voor harde eindpunten (cruciaal), dan worden relevante intermediaire eindpunten (belangrijk) tevens meegenomen.

4.2 PICO 3

Door de expertgroep werd geopperd dat immunotherapie mogelijk niet of minder effectief is in patiënten met STK11 of KEAP1 mutaties. Moleculaire diagnostiek kan dus mogelijk ook worden ingezet voor het selecteren van patiënten waarbij een bepaalde behandeling géén baat zal hebben.

Het Zorginstituut heeft hiertoe de volgende PICO opgesteld (PICO 3A):

P: Patiënten met stadium IIIB/IV NSCLC met een indicatie voor immunotherapie (d.w.z. PD-L1 positief) en positief voor co-mutaties (waaronder STK11 en/of KEAP1), of met een lage *tumor mutational burden* (TMB)

I: Systemische behandeling zonder immunotherapie

C: Usual care immunotherapie

O: Kwaliteit van leven en OS (cruciaal), en ORR en PFS (belangrijk)

Tevens werd de volgende PICO ook uitgewerkt (PICO 3B):

P: Patiënten met stadium IIIB/IV NSCLC met een indicatie voor immunotherapie

I: Moleculaire analyse op co-mutaties (waaronder STK11 en KEAP1), gevolgd door systemische behandeling volgens vigerende richtlijn indien een mutatie aanwezig is, en immunotherapie indien de mutaties niet aanwezig zijn

C: Eerstelijns immunotherapie (usual care)

O: Kwaliteit van leven en OS (cruciaal), en ORR en PFS (belangrijk)

Vooraf werd afgesproken dat indien geen relevante studies gevonden worden die passen bij PICO 3A of 3B er ook gezocht zal worden naar zogenoemde predictive factor studies waarbij de uitblijvende behandelrespons van immunotherapie geassocieerd wordt met de aanwezigheid van STK11 en KEAP1 mutaties. Op 18 augustus 2022 werd samen met het Zorginstituut besloten dat er voldoende bewijs gevonden is uit RCTs en er dus niet gezocht zal worden naar predictive factor studies.

5. Methode

5.1 Identificatie en selectie van relevante onderzoeken

Aan de hand van de aldus geformuleerde onderzoeksvragen werd gezocht naar relevante onderzoeken voor PICO 1 en 2, en separaat voor PICO 3 (zie hoofdstuk 4). Zoekstrategieën werden ontwikkeld en criteria geformuleerd voor in- en exclusie van studies die de verschillende uitgangsvragen zouden kunnen beantwoorden. Er werd gezocht in de elektronische databases MEDLINE en Embase. Voor PICO 3 werd tevens gezocht in de *Cochrane Central Register of Controlled Trials* (CENTRAL).

Voor PICO 1 en 2 werden klinisch nut studies (gerandomiseerd of niet-gerandomiseerd) ingesloten die een vergelijking maakten tussen moleculaire diagnostiek met een brede test gevolgd door targeted therapie in vergelijking met gebruikelijke zorg volgens de vigerende richtlijn. Daarnaast werden

vergelijkende cross-sectionele studies geïnccludeerd die zowel een brede test als een smalle test uitvoeren op materiaal van dezelfde patiënt en waarin vervolgens een vergelijking gemaakt kon worden tussen de mutaties gevonden met de beide testen, of waarin het percentage gefaalde testen beschreven werd. Brede testen werden gedefinieerd als WGS, WES of NGS met minstens 150 genen. Smalle testen zijn alle testen die één of enkele genen omvatten, zoals FISH, RT-PCR en ddPCR, en smalle NGS panels met bijvoorbeeld 50 genen.

Voor PICO 3 werden gerandomiseerde studies geïnccludeerd die de effectiviteit van immunotherapie in vergelijking met het niet geven van immunotherapie bestudeerden bij patiënten met NSCLC met een indicatie voor immunotherapie. Studies werden geïnccludeerd indien ze, oftewel patiënten includeerden met een mutatie die een mogelijk negatief voorspellende waarde voor immunotherapie, of een subgroepanalyse uitvoerden bij patiënten met een mutatie die een mogelijk negatief voorspellende waarde heeft. Alle soorten mutaties in alle genen werden ingesloten, met uitzondering van mutaties waarvoor in Nederland een doelgerichte therapie geregistreerd is (d.w.z. EGFR, ALK, ROS1, en BRAF). Tevens werden studies ingesloten waarbij gerandomiseerd werd tussen een groep waarbij negatieve selectie voor immunotherapie werd toegepast op basis van de resultaten van moleculaire diagnostiek naar co-mutaties en een groep waarbij deze negatieve selectie niet werd toegepast.

Voor alle drie de PICO's werden studies uitgesloten die patiënten met verschillende soorten kanker samen includeerden, zonder resultaten van gestratificeerde analyses voor NSCLC te presenteren. Ook studies die meerdere soorten longkanker includeerden en resultaten niet apart presenteerden voor NSCLC werden uitgesloten. Hoewel in alle PICO's de populatie bestond uit patiënten met stadium IIIb/IV NSCLC werden ook studies ingesloten die tevens patiënten met lagere stadia NSCLC includeerden (*mixed populations*). Studies die alleen lage stadia NSCLC includeerden (bijvoorbeeld alleen stadium I/II) werden niet meegenomen.

De selectie van onderzoeken werd uitgevoerd door twee onderzoekers onafhankelijk van elkaar. Verschillen tussen twee beoordelaars werden bediscussieerd. In geval geen overeenstemming bereikt kon worden, werd een derde onderzoeker ingeschakeld, wiens/wier oordeel leidend was.

5.2 Data-extractie en analyses

Van iedere publicatie werden beschrijvende gegevens verzameld (kenmerken van de patiënten, indextests, interventie, controlebehandeling), klinische uitkomsten en de resultaten (concordantie, percentage gefaalde testen en klinische uitkomsten zoals overleving en ORR). Tevens werd van ieder onderzoek de methodologische kwaliteit bepaald. Voor niet-gerandomiseerde vergelijkende studies werd daartoe ROBINS-I gebruikt.² Er zijn geen checklists beschikbaar om de methodologische kwaliteit te beoordelen voor concordantiestudies en studies geïnccludeerd voor PICO 3. Daarom werd door Cochrane Nederland voor beide type studies een checklist ontwikkeld: voor concordantiestudies gebaseerd op QUADAS-2³ en QUADAS-C⁴ en voor PICO 3 studies gebaseerd op de Cochrane risk of bias tool⁵ aangevuld met items geformuleerd op basis van discussie tussen de onderzoekers.

Extractie van de resultaten en beoordeling van de methodologische kwaliteit werden uitgevoerd door twee onderzoekers onafhankelijk van elkaar. Verschillen tussen twee beoordelaars werden bediscussieerd. In geval geen overeenstemming bereikt kon worden, werd een derde onderzoeker ingeschakeld, wiens/wier oordeel leidend was.

Vervolgens werd overwogen of meta-analyse van de bevindingen mogelijk was. Meta-analyse werd alleen uitgevoerd indien de patiënten, interventies en uitkomsten in de verschillende studies voldoende vergelijkbaar waren⁶ en minstens vijf studies beschikbaar waren.⁷ Voor PICO 1 en 2 werd aan beide voorwaarden niet voldaan en dus bleek een meta-analyse niet mogelijk. Studiekarakteristieken en resultaten werden daarom beschrijvend gepresenteerd. Concordanties tussen brede en smalle testen werden berekend op basis van absolute aantallen en 95% betrouwbaarheidsintervallen (BI) werden vervolgens berekend volgens de methode van Wilson.⁸ Concordanties werden weergegeven in de vorm van een forest plot. Voor PICO 3 was een meta-analyse eveneens niet mogelijk wegens uitgesproken klinische verschillen tussen de studies. Maten van effectiviteit (hazard ratios) van de immunotherapie ten opzichte van chemotherapie, met daarbij behorende 95% BIs, werden per subgroep gepresenteerd in forest plots.

Aansluitend werden door twee onderzoekers onafhankelijk van elkaar aan de hand van de GRADE-methodiek *certainty of evidence* toegekend aan de uitkomsten die betrekking hebben op het klinisch nut.⁹ Ook voor PICO 3 werd aan de hand van de GRADE methodiek *certainty of evidence* toegekend. Voor beide PICO's hebben we beoordeeld of het werkelijk effect groter is dan nul (oftewel $HR < 1$). Ten slotte werd ook voor de concordantie uitkomst de *certainty of evidence* toegekend.

De GRADE *levels of certainty* hebben de volgende betekenis:

High: er is veel vertrouwen dat het werkelijk effect aan 1 kant van een gespecificeerde afkapwaarde ligt (of tussen 2 afkapwaardes in).

Moderate: er is redelijk vertrouwen dat het werkelijk effect aan 1 kant van een gespecificeerde afkapwaarde ligt (of tussen 2 afkapwaardes in), maar er is een mogelijkheid dat het hier van afwijkt.

Low: er is beperkt vertrouwen dat het werkelijke effect aan 1 kant van een gespecificeerde afkapwaarde ligt (of tussen 2 afkapwaardes in): het werkelijke effect kan hier substantieel van afwijken.

Very low: er is weinig vertrouwen dat het werkelijke effect aan 1 kant van een gespecificeerde afkapwaarde ligt (of tussen 2 afkapwaardes in): het werkelijke effect wijkt hier mogelijk substantieel van af.

6. Resultaten

6.1 PICO 1 en 2

6.1.1 Selectie van onderzoeken

De zoekactie werd uitgevoerd op 2 februari 2022. De gehanteerde zoekstrategieën staan vermeld in Bijlage 1A. Deze zoekactie resulteerde in 3984 resultaten (Bijlage 2A). Na ontdubbelen bleven 2544 artikelen over, waarvan er 2376 op basis van titel en/of abstract niet relevant bleken. Van de overgebleven 168 werd het volledige artikel bekeken waarvan er 159 werden uitgesloten, meestal omdat er geen brede test werd onderzocht (n=98). Een overzicht van de uitgesloten onderzoeken is te vinden in bijlage 3A. Uiteindelijk werden negen onderzoeken geïncludeerd, één betrof een niet-gerandomiseerd onderzoek naar het klinisch nut van breed testen ten op zichte van niet breed testen,¹⁰ terwijl de overige acht onderzoeken de concordantie tussen breed en smal testen beschreven.¹¹⁻¹⁸

6.1.2 Beschrijving geïncludeerde onderzoeken

Een overzicht van de geïncludeerde onderzoeken is weergegeven in Tabel 1 en Bijlage 4.

Het klinisch nut onderzoek¹⁰ werd uitgevoerd in de Verenigde Staten en includeerde 1032 patiënten met stadium 4 NSCLC (86.3% adenocarcinoom). In het onderzoek werd een niet-gerandomiseerde voor-na vergelijking gemaakt tussen gebruikelijke zorg (tot 2013; 774 patiënten) en moleculaire diagnostiek met een breed NGS panel (ingevoerd sinds 2013; 258 patiënten). Er wordt geen beschrijving gegeven van de niet-NGS groep; onduidelijk is of en zo ja welke moleculaire testen ingezet werden in de periode dat NGS nog niet ingevoerd was. Patiënten in de NGS-groep werden gematched op basis van leeftijd, geslacht, etniciteit, roken, tumor stadium en chirurgische behandeling aan patiënten die geen NGS hadden gekregen.

Van de acht concordantie-onderzoeken maakten er zes gebruik van data verzameld voor klinische doeleinden,^{11 13-16 18} in één onderzoek werd gebruik gemaakt van data verzameld voor een ander onderzoek¹² en in het laatste onderzoek werd data speciaal verzameld om de vergelijking tussen breed smal testen te maken.¹⁷ De grootte van de onderzoekspopulatie varieerde van 28¹⁵ tot 391¹³ met een mediaan van 115. Twee onderzoeken includeerden alleen patiënten met adenocarcinoom^{11 13} terwijl de overige onderzoeken een mix van verschillende types NSCLC includeerden. In twee onderzoeken werden alleen stadium 4 patiënten meegenomen,^{15 17} twee andere onderzoeken includeerden een mix van stadium 1 tot 4^{13 14} en in de overige onderzoeken werd het stadium niet beschreven. Er werden geen onderzoeken geïdentificeerd die de resultaten van WGS of WES vergeleken met een smalle test. Alle onderzoeken bestudeerden verschillende brede NGS panels, waaronder MSK-IMPACT en MSK-AmpliSeq,^{11 17} SNUH FIRST panel en K-MASTER panel,¹² OncoPanel,¹³ Burning Rock Biotech,^{14 15} Agena Lung Fusion panel¹⁶ en een op maat gemaakt panel.¹⁸ Verschillende smalle testen werden gehanteerd, waaronder RT-PCR, FISH, en smalle NGS panels. Verdere details met betrekking tot de brede en smalle testen zijn weergegeven in Bijlage 4. De meeste studies bestudeerden het EGFR gen (3 studies^{11 13 18}), het ALK gen (2 studies^{14 16}) of de combinatie van verschillende genen (3 studies^{12 15 17}). Daarnaast werden ook BRAF,¹⁸ KRAS,¹⁸ RET¹⁶ en ROS1¹⁶ beschreven.

Tabel 1 Overzicht van ingesloten onderzoek naar het klinisch nut en de concordantie tussen breed testen en smal testen bij patiënten met stadium IIIb/IV NSCLC

Reference	PICO	Genes	Study dates	Data collection	Country	Sample size	Median age (range) in years & % Female sex	Cancer type & stage	Sample type	Intervention test & number of genes	Control test & number of genes.
<i>Clinical utility study</i>											
Al-Ahmadi 2021	1, 2	NA	NGS: August 2013 to December 2017 No NGS: before 2013, not further specified.	Routinely collected data, nonrandomized before-after study using propensity score matching	USA	NGS: 258 No NGS: 774	64.8 (29.9 to 92.5) 53% female	Only reported for NGS arm. Adenocarcinoma: 86.3% Squamous: 8.2% Large cell neuroendocrine: 1% Adenosquamous: 2.4% Stage 4: 100%	NGS: FFPE No NGS: NR	NGS using FoundationOne. Approximately 320 genes.	NR
<i>Concordance studies</i>											
Arcila 2020	1	EGFR	September 2018 to November 2019	Routinely collected data	USA	222	NR	Adenocarcinoma: 100% Stage: NR	Solid (FFPE)	NGS using MSK-IMPACT or MSK-AmpliSeq. No further information on manufacturer. 468 and 96 genes.	RT-PCR using Idylla EGFR mutation assay, an automated cartridge-based assay. 1 gene.
Choi 2022	1, 2	ALK, EGFR, ROS1 (combined)	June 2017 and October 2020	Collected for other trials	Korea	246	NR	NSCLC: 100% Stage: NR	Solid (FFPE)	NGS using SNUH FIRST Cancer Panel or K-MASTER Cancer Panel. 183 and 409 genes.	For EGFR, pyrosequencing or RT-PCR using PNAclap EGFR Mutation Detection Kit (Panagene, Daejeon, Korea) or PANAMutyper EGFR Kit (Panagene). For ROS1 RT-PCR using Gene Fusion Detection Kit. For

Reference	PICO	Genes	Study dates	Data collection	Country	Sample size	Median age (range) in years & % Female sex	Cancer type & stage	Sample type	Intervention test & number of genes	Control test & number of genes.
											ALK fusion IHC. For ALK rearrangements FISH. All single-gene tests.
Kim 2021	1	EGFR	March 2017 to October 2018	Routinely collected data	Korea	391	63 (25-86) 41.2% female	Adenocarcinoma: 100% Stage 1: 5.4% Stage 2: 3.6% Stage 3: 6.4% Stage 4: 84.4%	Broad: Solid (FFPE) Narrow: unclear	NGS using MiSeq platform (Illumina) with OncoPanel AMC version 3 (OP_AMCv3). 382 genes.	Conventional single-targeting PCR, not further specified. 1 gene.
Kuang 2021	1	ALK	November 2017 to October 2019	Routinely collected data	China	124	60 (26-87) 58.7% female	Adenocarcinoma: 81.5% Squamous cell carcinoma: 16.1% Other: 2.4% Stage 1-3a: 48.4% 3b-4: 47.6% Unknown: 4.0%	Solid (FFPE)	NGS using Burning Rock Biotech [Guangzhou, China], Colon & Lung Cancer Research Panel or Oncomine Comprehensive Assay v3 (ThermoFisher). 168, 13 and 161 genes.	RNA-based RT-PCR: AmoyDx EML4-ALK Fusion Gene Diagnostic Kit (Cat no. ADx-FF04; Amoy Diagnostics Co., Xiamen, China). 1 gene.
Li 2021	NR	Actionable alterations, not further specified	May 2017 to June 2019	Routinely collected data	China	28	NR	NSCLC: 100% Stage 4: 100%	Broad: Blood/ plasma (cell-free DNA) Narrow: Solid (FFPE)	Burning Rock Biotech plasma NGS. 168 genes.	Burning Rock Biotech tissue NGS. 56 genes.
Rogers 2017	1, 2	ALK, RET, ROS1	NR	Routinely collected data	Australia	49	NR	NSCLC: 100% Stage: NR	Solid (FFPE)	Agena Lung Fusion panel v.1. 3 genes.	ALK, ROS1, and RET FISH. All single gene.
Sabari 2019	1, 2	ALK, BRAF, EGFR, ERBB2, KRAS, MET,	October 2016 to January 2018	Intentionally collected data	USA & Australia	106	65 (28-91) 59.0% female	Adenocarcinoma: 91.4% Squamous: 4.2%	Not specified, "tissue biopsy"	NGS using MSK-IMPACT hybridization	Targeted plasma NGS (ResBio ctDx-Lung). 21 genes.

Reference	PICO	Genes	Study dates	Data collection	Country	Sample size	Median age (range) in years & % Female sex	Cancer type & stage	Sample type	Intervention test & number of genes	Control test & number of genes.
		NRAS, PIK3CA, RET, ROS1, TP53 (combined)						Large Cell: 1.0% Other: 3.4% Stage 4: 100%		capture-based assay. 468 genes.	
Tuononen 2013	1, 2	BRAF, EGFR, KRAS	NR	Routinely collected data	Finland	81	Mean (range): 64 (44-86) 54.3% female	Adenocarcinoma: 91.4% Other: 8.6% Stage: NR	Solid (FFPE)	Targeted NGS, using a Illumina HiSeq2000 sequencer and a custom panel. 192 genes.	TheraScreen EGFR PCR kit (Qiagen); TheraScreen KRAS PCR kit (Qiagen); AmoyDx BRAF V600E Mutation Detection Kit (Amoy Diagnosticsc). All single gene.

NA: not applicable, NR: not reported.

Tabel 2 geeft een overzicht van de kans op vertekening en de *applicability concerns* in de ingesloten onderzoeken (ROBINS-I en een checklist gebaseerd op QUADAS-2 en QUADAS-C; zie ook bijlage 5A voor de onderbouwing hiervan).

Het klinisch nut onderzoek van Al-Ahmadi en collega's¹⁰ scoorde een serieus risico op vertekening voor het domein *confounding* omdat niet voor alle relevante confounders gecorrigeerd werd. De kans op vertekening voor het domein *classification of interventions* was serieus omdat gegevens met betrekking tot de controlegroep ontbraken. De kans op vertekening voor de domeinen *selection bias*, *deviations from intended interventions* en *missing data* kon niet worden ingeschat vanwege onvoldoende informatie. De *applicability concerns* waren onduidelijk omdat onvoldoende informatie beschikbaar was met betrekking tot de populatie, interventie en controle.

Van de acht concordantie studies, scoorden er drie een hoge kans op vertekening voor het domein *patient selection* omdat retrospectief patiënten werden geïncludeerd die moleculaire diagnostiek hadden ondergaan in plaats van alle patiënten die in aanmerking kwamen voor moleculaire diagnostiek.^{12 13 17} In de overige onderzoeken was onduidelijk hoe patiënten geselecteerd waren. De kans op vertekening voor het domein *index tests* was onduidelijk voor alle onderzoeken. In vijf onderzoeken was de kans op vertekening voor het domein *flow and timing* hoog, meestal doordat slechts een selectieve set van patiënten één of beide indextesten had ondergaan.^{11-14 17} In één onderzoek was het risico op vertekening voor dit domein onduidelijk¹⁵ en in de overige twee onderzoeken werd het risico ingeschat als laag.^{16 18} Tevens werd vaak niet beschreven hoe concordantie precies bepaald was. Onduidelijk is hoe studies omgingen met verschillende mutaties op hetzelfde gen, bijvoorbeeld indien een specifieke mutatie gevonden was met beide testen en een andere specifieke mutatie slechts door één test geïdentificeerd was, was onduidelijk of dit als concordant of als discordant aangemerkt was. In twee onderzoeken werden *applicability concerns* voor het domein *patient selection* ingeschat als hoog omdat ook patiënten met stadium I-IIIb werden geïncludeerd¹⁴ of omdat alleen patiënten werden ingesloten die eerder niet reageerden op doelgerichte therapie.¹⁷ In vijf onderzoeken werden *applicability concerns* voor het domein *index tests* ingeschat als hoog omdat als brede test NGS panels met 150 tot 200 genen gebruikt werden of omdat een selecte set patiënten getest waren met nog smallere NGS panels (<100 genen).^{11 14-16 18}

Tabel 2 Kans op vertekening en *applicability concerns* voor onderzoeken betreffende het klinisch nut en de conordantie van breed testen en smal testen bij patiënten met stadium IIIb/IV NSCLC

Reference	Risk of bias								Applicability concerns		
	Confounding	Selection bias	Classification of interventions	Deviations from intended interventions	Missing data	Measurement of outcomes	Selection of the reporter result	Patient selection	Index tests	Outcome	
Clinical utility study											

AI-Ahmadi 2021	Serious	Unclear	Serious	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear	Unclear	Unclear
<i>Concordance studies</i>										
	Patient selection			Index tests		Flow and timing		Patient selection		Index tests
Arcila 2020	Unclear			Unclear		High		Unclear		High
Choi 2022	High			Unclear		High		Unclear		Unclear
Kim 2021	High			Unclear		High		Low		Low
Kuang 2021	Unclear			Unclear		High		High		High
Li 2021	Unclear			Unclear		Unclear		Unclear		High
Rogers 2017	Unclear			Unclear		Low		Unclear		High
Sabari 2019	High			Unclear		High		High		Low
Tuononen 2013	Unclear			Unclear		Low		Low		High

6.1.3 Resultaten

Klinisch nut

In het klinisch nut onderzoek was de mediane overleving in de NGS groep (geïnccludeerd tussen 2013 en 2017) 25,3 maanden (95% BI 19,6-32,2) en in de niet-NGS groep (geïnccludeerd voor 2013) werd een mediane overleving van 14,6 maanden (95% CI 12,8-17,2) gevonden. Het verschil tussen de groepen was statistisch significant met een *hazard ratio* (HR) van 0,82 (95% BI 0,69-0,97).¹ In 123 van de 258 patiënten in de NGS groep werd een *actionable alteration* gevonden en 75 patiënten ontvingen doelgerichte therapie, meestal gericht op mutaties in het EGFR gen. Er werden geen resultaten gepresenteerd voor de overige uitkomsten in de geformuleerde PICO's, namelijk kwaliteit van leven, ORR en ziektevrije overleving.

Concordantie

De resultaten van de concordantie onderzoeken zijn weergegeven in Figuur 2.

ALK

Drie onderzoeken bestudeerden de concordantie voor mutaties in ALK en vonden dat deze hoger dan 95% was.^{12 14 16} Het onderzoek van Choi en collega's bestudeerde de EML4-ALK fusie.¹² Hierbij werden geen discordanties gevonden tussen de brede en smalle test. In het onderzoek van Rogers en collega's

¹ Vermeld dient te worden dat in de analyses niet gecorrigeerd werd voor mogelijke verschillen in systemische behandeling tussen de groepen. In 2015 werden bijvoorbeeld de middelen nivolumab, atezolizumab en pembrolizumab goedgekeurd door de FDA (<https://tinyurl.com/2pvn478r>) en in 2012 werd goedkeuring voor het middel pemetrexed uitgebreid (<https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/2012-notifications>). Verschillen tussen de groepen kunnen dus het gevolg zijn van de beschikbaarheid van bewezen effectievere behandelmogelijkheden.

werden twee discordanties voor ALK fusies gevonden waarvan één keer de brede test een mutatie vond die niet gevonden werd door de smalle test (breed+/smal-) en één keer de smalle test een mutatie detecteerde die niet gevonden werd door de brede test (breed-/smal+).¹⁶ De patiënt die breed-/smal+ discordant was, bleek negatief op immunohistochemie. In het derde onderzoek was de meerderheid van de discordanties breed-/smal+ (vijf uit zes discordanties).¹⁴ Vier van deze vijf breed-/smal+ discordanties werden getest met een extra smalle test (FISH of Sanger sequencing) waarvan er drie positief werden bevonden. Deze extra smalle test werd ook uitgevoerd op materiaal van de breed+/smal- discordante patiënt en deze extra test bleek positief te zijn.

BRAF

In één onderzoek werd de concordantie voor het BRAF gen beschreven en in dit onderzoek werden geen discordante paren gevonden.¹⁸ Alle patiënten scoorden op beide testen negatief voor mutaties.

EGFR

In vier onderzoeken werd de concordantie voor het EGFR gen beschreven.^{11-13 18} Deze varieerde tussen 92,2% en 99,1%. In twee onderzoeken werden discordanties vaker veroorzaakt doordat de brede test geen mutatie vond terwijl de smalle test deze wel vond (breed-/smal+). Dit was het geval in vier van de zes discordanties in het onderzoek van Choi en collega's.¹² In het onderzoek van Tuononen en collega's waaren alle drie de discordanties breed-/smal+.¹⁸ Twee van deze drie werden vervolgens getest met Sanger sequencing en hierbij werden geen mutaties gevonden. In een derde onderzoek werd in negen van de tien discordanties juist wel een mutatie gevonden door de brede test en niet door de smalle test (breed+/smal-).¹¹ In deze negen patiënten werden 17 extra mutaties gevonden door de brede test. 15 van deze mutaties werden niet gedekt door de gehanteerde assay en voor twee mutaties was de assay niet gevoelig genoeg. Het vierde onderzoek berekende concordantie en discordantie voor 2 specifieke mutaties in het EGFR gen (exon 19 deletion en L858R) en voor het EGFR gen als geheel.¹³ De L858R mutatie werd in twee van de drie discordanties alleen opgepikt door de brede test (breed+/smal-) terwijl de exon 19 deletion bij zes van de negen discordanties alleen gedetecteerd was met de brede test (breed+/smal-). Voor het gehele EGFR gen werd in 22 van de 25 discordanties alleen door de brede test een mutatie gedetecteerd (breed+/smal-). In 14 van deze 22 discordanties werd de mutatie gemist doordat deze niet gedekt werd door de smalle test.

KRAS

De concordantie tussen de brede en smalle test voor het KRAS gen was 98,7% (95% BI 92,1-99,9) in één onderzoek.¹⁸ In de studie werd één breed-/smal+ discordantie gevonden en deze bleek negatief op basis van een extra smalle test.

RET

Ook de RET fusie werd in één onderzoek beschreven en de concordantie hiervoor was 100%.¹⁶

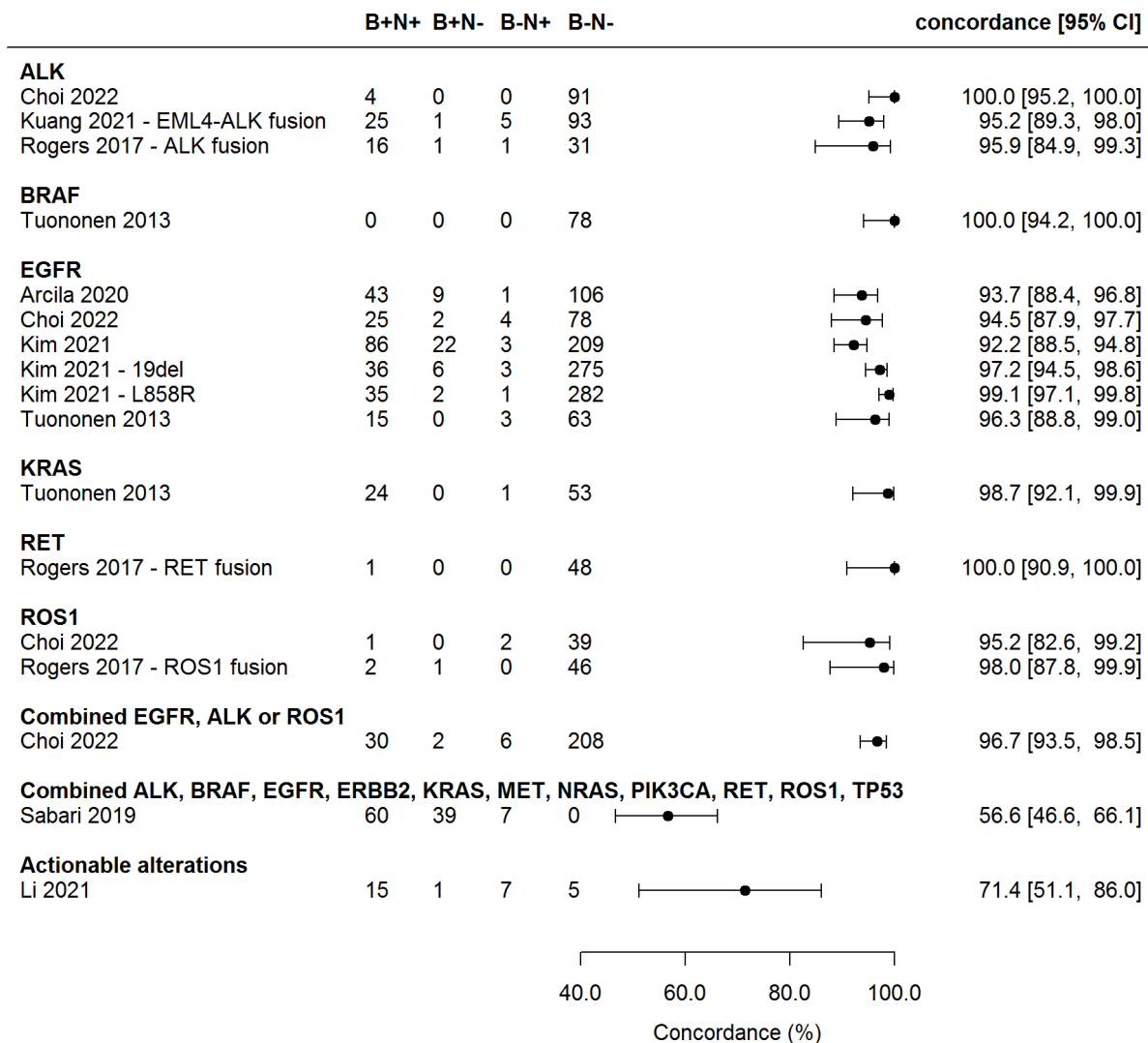
ROS1

Concordantie voor het ROS1 gen werd beschreven in twee onderzoeken en bedroeg 95,2% (95% BI 82,6-99,2)¹² en 98,0% (95% BI 87,8-99,9) voor de ROS1 fusie.¹⁶ In het eerste onderzoek werden twee breed-/smal+ discordanties gevonden¹² terwijl in het tweede onderzoek één breed+/smal- discordantie gevonden werd.¹⁶

Gecombineerde genen

In drie onderzoeken werden concordanties voor combinaties van verschillende genen gerapporteerd.¹²
¹⁵ ¹⁷ Het onderzoek van Choi en collega's combineerde de genen EGFR, ALK en ROS1 en vond een concordantie van 96,7% (95% BI 93,5-98,5). In acht patiënten werden discordante resultaten gevonden, waarvan twee breed+/smal- en zes breed-/smal+.{Choi, 2022 #33} Sabari en collega's combineerden de genen ALK, BRAF, EGFR, ERBB2, KRAS, MET, NRAS, PIK3CA, RET, ROS1 en TP53 en vond een concordantie van 56,6% (95% BI 46,6-66,1).¹⁷ De meerderheid van de discordante patiënten (39 van 46) was breed+/smal-. Opvallend is dat geen van de ingesloten patiënten negatief was op beide testen. Het derde onderzoek rapporteerde een concordantie van 71,4% (95% BI 51,1-86,0) voor mutaties waarvoor een doelgerichte behandeling beschikbaar is (niet verder gespecificeerd).¹⁵ Zeven van de acht discordante resultaten waren breed+/smal-. In al deze onderzoeken was onduidelijk hoe concordantie exact gedefinieerd was, het was bijvoorbeeld onduidelijk hoe patiënten geassocieerd zijn die concordant waren op één mutatie maar discordant op een andere mutatie.

Concordance



Figuur 2: concordantie tussen brede (B) en smalle (N) testen voor de moleculaire diagnostiek van mutaties bij patiënten met NSCLC.

Percentage gefaalde testen

Het percentage gefaalde testen werd in twee onderzoeken beschreven.^{11 14} In het eerste onderzoek waren 16 van de 165 brede testen (9,7%) niet succesvol en waren alle smalle testen wel succesvol (0 uit 218 testen).¹¹ In het tweede onderzoek waren 29 uit 153 smalle testen (19,0%) niet succesvol.¹⁴ Gegevens voor de brede test werden niet beschreven.

6.2 PICO 3

6.2.1 Selectie van onderzoeken

De zoekactie voor PICO 3 werd uitgevoerd op 21 maart 2022 volgens de zoekstrategieën beschreven in Bijlage 1B. De zoekstrategie resulteerde in 1759 resultaten (Bijlage 2B) waarvan er 1417 overbleven na ontdebellen. Via referentielijsten van systematische reviews werden nog 11 potentieel relevante referenties gevonden. In totaal werden 1428 titels en abstracts bekeken waarvan er 1320 niet relevant bleken. Op basis van volledig artikel werden nog eens 93 artikelen uitgesloten (zie Bijlage 3B voor de referenties en redenen voor exclusie). Uiteindelijk werden 15 artikelen geïnccludeerd die acht unieke gerandomiseerde studies beschreven, namelijk Checkmate 057,¹⁹ Checkmate 026,²⁰ POPLAR,²¹ Checkmate 227,²² Impower 110,²³ Keynote 010,²⁴ OAK²⁵ en MYSTIC.²⁶

6.2.2 Beschrijving geïnccludeerde onderzoeken

De acht ingesloten onderzoeken includeerden wereldwijd patiënten tussen november 2012 en februari 2018 en hadden een mediane groepsgrootte van 794 (range 287 tot 1225) (Tabel 3). Studies includeerden patiënten met stadium 3b/4^{19 21 24 25} of met alleen stadium 4^{20 22 23 26} NSCLC. Eén onderzoek includeerde alleen patiënten met niet-plaveiselcel NSCLC,¹⁹ terwijl de overige onderzoeken zowel plaveiselcel als niet-plaveiselcel NSCLC patiënten insloten. In vier onderzoeken werden patiënten met EGFR of ALK alteraties uitgesloten.^{20 22 23 26} Drie onderzoeken includeerden alleen patiënten die eerder platinum chemotherapie gekregen hadden.^{21 24 25} De mediane leeftijd lag in alle onderzoeken tussen 62 en 65 jaar. Verdere details met betrekking tot de studiepopulaties zijn bescheven in Tabel 3. De onderzochte immunotherapie betrof atezolizumab in drie onderzoeken,^{21 23 25} nivolumab in twee onderzoeken,^{19 20} pembrolizumab in één onderzoek²⁴ en de combinaties nivolumab + ipilimumab²² en durvalumab + tremelimumab²⁶ elk in één onderzoek. Chemotherapie bestond uit docetaxel^{19 21 24 25} of platina-gebaseerde chemotherapie.^{20 22 23 26}

Tabel 3 Overzicht van ingesloten onderzoeken betreffende mutaties met een negatief voorspellende waarde voor de effectiviteit van immunotherapie

Reference	Population	Study dates	Country	Sample size	Age (years) & sex	ECOG/WHO performance score	Cancer type & stage	Mutations	Treatment
Borghaei 2015 Checkmate 057	Stage 3b/4 or recurrent nonsquamous NSCLC.	November 2012 to December 2013	Argentina, Australia, Austria, Brazil, Canada, Chile, Czech Republic, France, Germany, Hong Kong, Hungary, Italy, Mexico, Norway, Peru, Poland, Romania, Russian Federation, Singapore, Spain, Switzerland, USA.	582	Median age (range): 62 (21 to 85) 45% female	0: 31% 1: 69% 2: 0% 3: <1%	Type: Adenocarcinoma: 93% Large cell carcinoma: 2% Broncho-alveolar carcinoma: 1% Other 4% Stage: 3b: 8% 4: 92%	EGFR: 14% ALK: 4% ROS1: NR BRAF V600: NR	Second-line. Chemotherapy: Docetaxel Immunotherapy: Nivolumab
Carbone 2017 Checkmate 026	Stage 4 or recurrent (non)squamous NSCLC, no previous systemic therapy, PD-L1 \geq 1%, no sensitizing EGFR or ALK genetic alterations.	March 2014 to April 2015	Argentina, Austria, Australia, Belgium, Brazil, Canada, Czech Republic, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Italy, Japan, South Korea, Mexico, The Netherlands, Poland, Romania, Spain, Sweden, Switzerland, Taiwan, Turkey, UK, USA	541	Median age (range): 65 (32 - 89) 40% female	0: 32% 1: 67% \geq 2: 1%	Type: Squamous: 23% Nonsquamous: 77% Stage: 4: 93% Recurrent: 6%	EGFR: 0% ALK: 0% ROS1: NR BRAF V600: NR	First-line. Platinum-based doublet chemotherapy. Nonsquamous: Pemetrexed + Cisplatin or Pemetrexed + Carboplatin; Squamous: Gemcitabine + Cisplatin or Gemcitabine + Carboplatin or Paclitaxel + Carboplatin. Immunotherapy: Nivolumab
Fehrenbacher 2016 POPLAR	Stage 3b/4 (non)squamous NSCLC, previous post-platinum chemotherapy.	August 2013 to March 2014	Belgium, Canada, France, Germany, Italy, Korea, Poland, Spain, Sweden, Thailand, Turkey, United Kingdom and USA	287	Median age (range) immuno: 62 (42-82) Median age (range)	0: 33% 1: 67%	Type: Squamous: 34% Nonsquamous: 66% Stage 3b/4: 100%	EGFR: 11% of 166 patients EMLA-ALK: 2.5% of 119 patients ROS1:NR BRAF V600:NR	Second- and third line. Chemotherapy: Docetaxel Immunotherapy: Atezolizumab

Reference	Population	Study dates	Country	Sample size	Age (years) & sex	ECOG/WHO performance score	Cancer type & stage	Mutations	Treatment
					chemo: 62 (36-84)				
					41% female				
Hellmann 2018 Checkmate 227	Stage 4 or recurrent (non)squamous NSCLC, PD-L1 \geq 1%, no previous systemic anticancer therapy, no sensitizing EGFR or ALK genetic alterations.	August 2015 to November 2016	Argentina, Australia, Austria, Belgium, Brazil, Canada, Chile, China, Czech Republic, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Ireland, Israel, Italy, Japan, Republic of Korea, Lebanon, Mexico, The Netherlands, Peru, Poland, Romania, Russian Federation, South Africa, Spain, Switzerland, Taiwan, UK, USA	1189	Median age: 64 35% female	0: 34% 1: 66% \geq 2: <1%	Type: Squamous: 30% Nonsquamous: 70% Stage 4 or recurrent: 100%	EGFR: 0% ALK: 0% ROS1: NR BRAF V600: NR	First-line. Platinum-based chemotherapy. Nonsquamous: Pemetrexed + Cisplatin or Carboplatin; Squamous: Gemcitabine + cisplatin or Gemcitabine + Carboplatin Immunotherapy: Nivolumab + Ipilimumab
Herbst 2020 Impower 110	Stage 4 (non)squamous NSCLC, PD-L1 \geq 1%, no previous chemotherapy, no sensitizing EGFR or ALK genetic alterations.	July 2015 to February 2018	Brazil, China, France, Germany, UK, Greece, Hungary, Italy, Japan, Poland, Republic of Korea, Romania, Russia, Serbia, Spain, Thailand, Turkey, Ukraine, USA.	554	Median age (range): 65 (30-84) 27% female	0: 35% 1: 65%	Type: Squamous: 30% Nonsquamous: 70% Stage 4: 100%	EGFR: 0% ALK: 0% ROS1: NR BRAF V600: NR	First-line. Platinum-based chemotherapy. Nonsquamous: Cisplatin; Squamous: Cisplatin + Gemcitabine or Carboplatin + Gemcitabine. Immunotherapy: Atezolizumab
Herbst 2021 Keynote 010	Stage 3b/4 (non)squamous NSCLC, PD-L1 \geq 1%, progressed after platinum-based chemotherapy. Previous TKI therapy for patients with EGFR	August 2013 to February 2015	Argentina, Australia, Belgium, Brazil, Canada, Chile, Czech Republic, Denmark, France, Germany, Greece, Hungary, Italy, Japan, Lithuania, Netherlands,	1034	Median age (IQR): 61 (54-69) 36% female	0: 34% 1: 66%	Type: Squamous: 25% Nonsquamous: 75% Stage 3b/4: 100%	EGFR: NR ALK: NR ROS1: NR BRAF V600: NR	Second-line. Chemotherapy: Docetaxel Immunotherapy: Pembrolizumab

Reference	Population	Study dates	Country	Sample size	Age (years) & sex	ECOG/WHO performance score	Cancer type & stage	Mutations	Treatment
	mutations or ALK gene rearrangement.		Portugal, Russia, South Africa, South Korea, Spain, Taiwan, UK, USA						
Rittmeyer 2017 OAK	Stage 3b/4 (non)squamous NSCLC, previous platinum based combination therapy. Previous TKI therapy for patients with EGFR mutations or ALK fusion oncogene.	March 2014 to April 2015	Argentina, Austria, Brazil, Canada, Chile, Finland, France, Germany, Greece, Guatemala, Hungary, Italy, Japan, Korea, Netherlands, New Zealand, Norway, Panama, Poland, Portugal, Russian Federation, Serbia, Spain, Sweden, Switzerland, Taiwan, Thailand, Turkey, Ukraine, UK, USA	1225	Median age (range): 64 (33-85) 39% female	0: 37% 1: 63%	Type: Squamous: 26% Nonsquamous: 74% Stage 3b/4: 100%	EGFR: 12% of 713 patients EML4-ALK: 0.4% of 424 patients ROS1: NR BRAF V600: NR	Second- and third-line. Chemotherapy: Docetaxel Immunotherapy: Atezolizumab
Rizvi 2020 MYSTIC	Stage 4 (non)squamous NSCLC, no previous systemic therapy, no sensitizing EGFR or ALK genetic alterations.	July 2015 to June 2016	Australia, Belgium, Canada, France, Germany, Hungary, Italy, Japan, Republic of Korea, The Netherlands, Russian Federation, Spain, Switzerland, Taiwan, Thailand, Vietnam ,USA	1118	Median age (IQR): 64.5 30% female	0: 42% 1: 58%	Type: Squamous: 30% Nonsquamous: 70% Stage IV: 100%	EGFR: 0% ALK: 0% ROS1: NR BRAF V600:NR	First-line. Platinum-based doublet chemotherapy. Paclitaxel + Carboplatin; Nonsquamous: Pemetrexed + Cisplatin or Pemetrexed + Carboplatin; Squamous: Gemcitabine + Cisplatin or Gemcitabine + Carboplatin Immunotherapy: Durvalumab + Tremelimumab

Een overzicht van het risico op vertekening in de ingesloten onderzoeken is opgenomen in Tabel 4. Voor het domein *random sequence generation* was dit risico laag. *Allocation concealment* was onvoldoende beschreven in drie onderzoeken waardoor het risico niet ingeschat kon worden.^{19 20 22} Het risico op vertekening voor het domein *blinding of subjective outcome assessment* was meestal hoog omdat niet geblindeerd werd.²¹⁻²⁵ Voor objectieve uitkomsten was dit risico laag omdat de blindering geen invloed heeft op het vaststellen van objectieve uitkomsten zoals mortaliteit. In één onderzoek vond meer uitval van patiënten plaats in de chemotherapie groep in vergelijking met de immunotherapiegroep waardoor het risico op vertekening voor het domein *incomplete outcome data* werd ingeschat als hoog.²⁴ In alle onderzoeken, op één na,²² was beschreven dat er gekozen was voor een *intention-to-treat* analyse en de kans op vertekening vanwege selectieve rapportage van uitkomsten was laag in alle onderzoeken. *Applicability concerns* waren laag voor alle onderzoeken en alle domeinen, met uitzondering van de Keynote 010 studie waarin dit onduidelijk was voor het patiënten domein omdat onduidelijk was hoeveel patiënten eerstelijns doelgerichte therapie hadden ontvangen.²⁴

Tabel 4: Kans op vertekening in ingesloten onderzoeken betreffende mutaties met een negatief voorspellende waarde voor de effectiviteit van immunotherapie

Reference; study	Risk of bias									Applicability concerns		
	Random sequence generation	Allocation concealment	Blinding of participants and personnel	Blinding of objective outcome	Blinding of subjective outcome	Incomplete outcome data	Intention-to-treat analysis used	Selective reporting of	Patients	Intervention	Control	
Borghaei 2015; Checkmate 057	Low	Unclear	Unclear	Low	Unclear	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Carbone 2017; Checkmate 026	Low	Unclear	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Fehrenbacher 2016; POPLAR	Low	Low	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Hellmann 2018; Checkmate 227	Low	Unclear	Unclear	NA	High	Low	Unclear	Low	Low	Low	Low	Low
Herbst 2020; Impower 110	Low	Low	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Herbst 2021; Keynote 010	Low	Low	High	Low	High	High	Low	Low	Low	Unclear	Low	Low
Rittmeyer 2017; OAK	Low	Low	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Rizvi 2020; MYSTIC	Low	Low	High	Low	Low	Unclear	Low	Low	Low	Low	Low	Low

6.2.3 Beschrijving subgroepanalyses

In totaal werden 15 artikelen gepubliceerd met daarin subgroepanalyses uitgevoerd voor de acht studies. In deze 15 artikelen werden 43 subgroepanalyses uitgevoerd die betrekking hadden op een specifieke mutatiestatus, of de *tumor mutational burden* (TMB). Binnen de Checkmate 057 studie werden twee subgroepanalyses uitgevoerd, beide voor KRAS mutaties, en voor de uitkomsten algehele overleving en progressievrije overleving.¹⁹ Drie subgroepanalyses werden uitgevoerd voor de Checkmate 026 studie, alle drie voor de TMB in tumorweefsel (tTMB), en voor de uitkomsten algehele overleving, progressievrije overleving, en objectief responspercentage.²⁰ Eén subgroepanalyse werd uitgevoerd voor

de Checkmate 227 studie, deze had betrekking op tTMB voor de uitkomst progressievrije overleving.²² Vier subgroepanalyses werden gevonden voor de Impower 110 studie. De subgroepen hadden betrekking op twee verschillende afkapwaarden voor de TMB in bloed (bTMB) en de uitkomsten algehele overleving en progressievrije overleving.²³ Voor de Keynote 010 studie werden drie subgroepanalyses uitgevoerd met betrekking tot tTMB en voor de uitkomsten algehele overleving, progressievrije overleving en objectief responspercentage.²⁴ Vier subgroepanalyses werden beschreven voor de MYSTIC studie, drie daarvan keken naar bTMB voor de uitkomsten algehele overleving, progressievrije overleving en objectief responspercentage. De vierde subgroepanalyse had betrekking op de tTMB voor de uitkomst algehele overleving.²⁵ Tot slot werden 26 subgroepanalyses uitgevoerd voor de OAK en POPLAR studies. Twaalf subgroepanalyses werden uitgevoerd binnen de OAK studie, waarvan één keek naar de bTMB voor de uitkomst objectief responspercentage²⁷ en twee beschreven progressievrije overleving voor subgroepen met betrekking tot bTMB²⁷ en *Low allele frequency* bTMB (LAF-bTMB).²⁸ De overige negen subgroepanalyses hadden algehele overleving als uitkomst en beschreven subgroepen met betrekking tot bTMB (2 subgroepen),^{27,29} KEAP1,²⁹ KEAP1/NEF2L2,³⁰ KRAS,²⁵ MDM2,²⁹ STK11,²⁹ LAF-bTMB²⁸ en een risicoscore bestaande uit mutaties in de genen CREBBP, KEAP1, RAF1, STK11 en TP53.³¹ Zes subgroepanalyses werden uitgevoerd voor de POPLAR studie, vier voor algehele overleving en twee voor progressievrije overleving. De vier subgroepanalyses voor algehele overleving richtten zich op bTMB,²⁷ KEAP1/NEF2L2,³⁰ LAF-bTMB²⁸ en de risicoscore bestaande uit vijf mutaties.³¹ Progressievrije overleving werd beschreven voor subgroepen met betrekking tot bTMB²⁷ en LAF-bTMB.²⁸ In acht subgroepanalyses werden de OAK en POPLAR studies gecombineerd en vijf hiervan rapporteerden de uitkomst algehele overleving. Deze vijf analyses richtten zich op bTMB,³² KEAP1/NEF2L2,³⁰ TP53/ATM comutatie,³³ LAF-bTMB²⁸ en bTMB gecombineerd met ctDNA *maximum somatic allele frequency* (bTMB-MSAF).³⁴ Drie subgroepanalyses voor de uitkomst progressievrije overleving keken naar TP53/ATM comutatie,³³ LAF-bTMB²⁸ en bTMB-MSAF.³⁴ Verschillende manieren werden gehanteerd om de tTMB en bTMB uit te drukken: in een deel van de subgroepanalyses werd het aantal mutaties per 1000 basenparen gerapporteerd (mut/Mb) terwijl soms ook gekozen werd voor het aantal mutaties per 1100 basenparen (mut/1.1Mb) of het totaal aantal mutaties in het exoom (mut/ex). Een overzicht van alle subgroepanalyses, de moleculaire testen om mutatiestatus vast te stellen en de gehanteerde afkapwaarden voor TMB is weergegeven in Bijlage 4B.

De kans op vertekening in de subgroepanalyses (Tabel 5) was meestal laag (28 analyses) of onduidelijk (14 analyses). In één subgroepanalyse was er een hoge kans op vertekening omdat waarschijnlijk een zeer selectieve subset van patiënten geïnccludeerd was en waarschijnlijk ook verschillende moleculaire testen gehanteerd werden.²⁵ In 15 analyses was het tijdstip van de moleculaire diagnostiek onduidelijk, in tien analyses was onduidelijk of de patiënten geïnccludeerd in de subgroepanalyse representatief waren voor de volledige studiepoulatie en in drie analyses was onduidelijk of dezelfde moleculaire test was gebruikt voor alle patiënten. Subgroepanalyses waren meestal niet vooraf beschreven in registraties of protocollen (32 analyses).

Tabel 5: Kans op vertekening in subgroepanalyses betreffende mutaties met een negatief voorspellende waarde voor de effectiviteit van immunotherapie

Reference and subgroup	Timing of molecular analysis before starting treatment	Random or representative inclusion of participants	Same molecular test for all participants	Risk of bias in subgroup analysis	Pre-registration of subgroup analysis
OS					
Herbst 2020; Impower 110	Unclear	No	Yes	Unclear risk	Yes
bTMB (cut-off 20)					
Herbst 2020; Impower 110	Unclear	No	Yes	Unclear risk	Yes
bTMB (cut-off 16)					
Rizvi 2020; MYSTIC	Unclear	Unclear	Yes	Unclear risk	Yes
bTMB					
Gandara 2018; OAK	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
bTMB					
Gandara 2021; OAK	Unclear	Unclear	Yes	Unclear risk	No
bTMB					
Gandara 2018; POPLAR	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
bTMB					
Chen 2019; OAK & POPLAR	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
bTMB					
Carbone 2017; Checkmate026	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
tTMB					
Herbst 2021; Keynote 010	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
tTMB					
Rizvi 2020; MYSTIC	Unclear	Unclear	Yes	Unclear risk	Yes
tTMB					
Gandara 2021; OAK	Unclear	Unclear	Yes	Unclear risk	No
KEAP1					
Zhu 2021; OAK	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
KEAP1/NEF2L2					
Zhu 2021; OAK & POPLAR	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
KEAP1/NEF2L2					
Zhu 2021; POPLAR	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
KEAP1/NEF2L2					
Borghaei 2015; Checkmate 057	Unclear	Unclear	Unclear	Unclear risk	Yes
KRAS					
Rittmeyer 2017; OAK	Unclear	No	Unclear	High risk	No
KRAS					
Gandara 2021; OAK	Unclear	Unclear	Yes	Unclear risk	No
MDM2					
Gandara 2021; OAK	Unclear	Unclear	Yes	Unclear risk	No
STK11					

Reference and subgroup	Timing of molecular analysis before starting treatment	Random or representative inclusion of participants	Same molecular test for all participants	Risk of bias in subgroup analysis	Pre-registration of subgroup analysis
Chen 2019; OAK & POPLAR TP53/ATM	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
Wang 2020; OAK LAF-bTMB	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
Wang 2020; POPLAR LAF-bTMB	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
Wang 2020; OAK & POPLAR LAF-bTMB	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
Yu 2020; OAK & POPLAR bTMB-MSAF	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
Lin 2021; OAK 5-genomic mutation signature	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
Lin 2021; POPLAR 5-genomic mutation signature	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
PFS					
Herbst 2020; Impower 110 bTMB (cut-off 20)	Unclear	No	Yes	Unclear risk	Yes
Herbst 2020; Impower 110 bTMB (cut-off 16)	Unclear	No	Yes	Unclear risk	Yes
Rizvi 2020; MYSTIC bTMB	Unclear	Unclear	Yes	Unclear risk	Yes
Gandara 2018; OAK bTMB	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
Gandara 2018; POPLAR bTMB	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
Hellmann 2018; Checkmate 227 tTMB	Yes	Yes	Yes	Low risk	Yes
Carbone 2017; Checkmate026 tTMB	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
Herbst 2021; Keynote 010 tTMB	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
Borghaei 2015; Checkmate 057 KRAS	Unclear	Unclear	Unclear	Unclear risk	Yes
Chen 2019; OAK & POPLAR TP53/ATM	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
Wang 2020; OAK LAF-bTMB	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
Wang 2020; OAK & POPLAR	Yes	Yes	Yes	Low risk	No

Reference and subgroup	Timing of molecular analysis before starting treatment	Random or representative inclusion of participants	Same molecular test for all participants	Risk of bias in subgroup analysis	Pre-registration of subgroup analysis
LAF-bTMB					
Wang 2020; POPLAR	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
LAF-bTMB					
Yu 2020; OAK & POPLAR	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
bTMB-MSAF					
ORR					
Rizvi 2020; MYSTIC	Unclear	Unclear	Yes	Unclear risk	Yes
bTMB					
Gandara 2018; OAK	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
bTMB					
Carbone 2017; Checkmate026	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
tTMB					
Herbst 2021; Keynote 010	Yes	Yes	Yes	Low risk	No
tTMB					

NB: bij de beoordeling van de kans op vertekening in de subgroepanalyses dient ook de kans op vertekening in de hele studie meegenomen te worden (zie Tabel 4). Indien de kans op vertekening in de studie hoog is, is de kans op vertekening in de subgroepanalyse ook hoog.

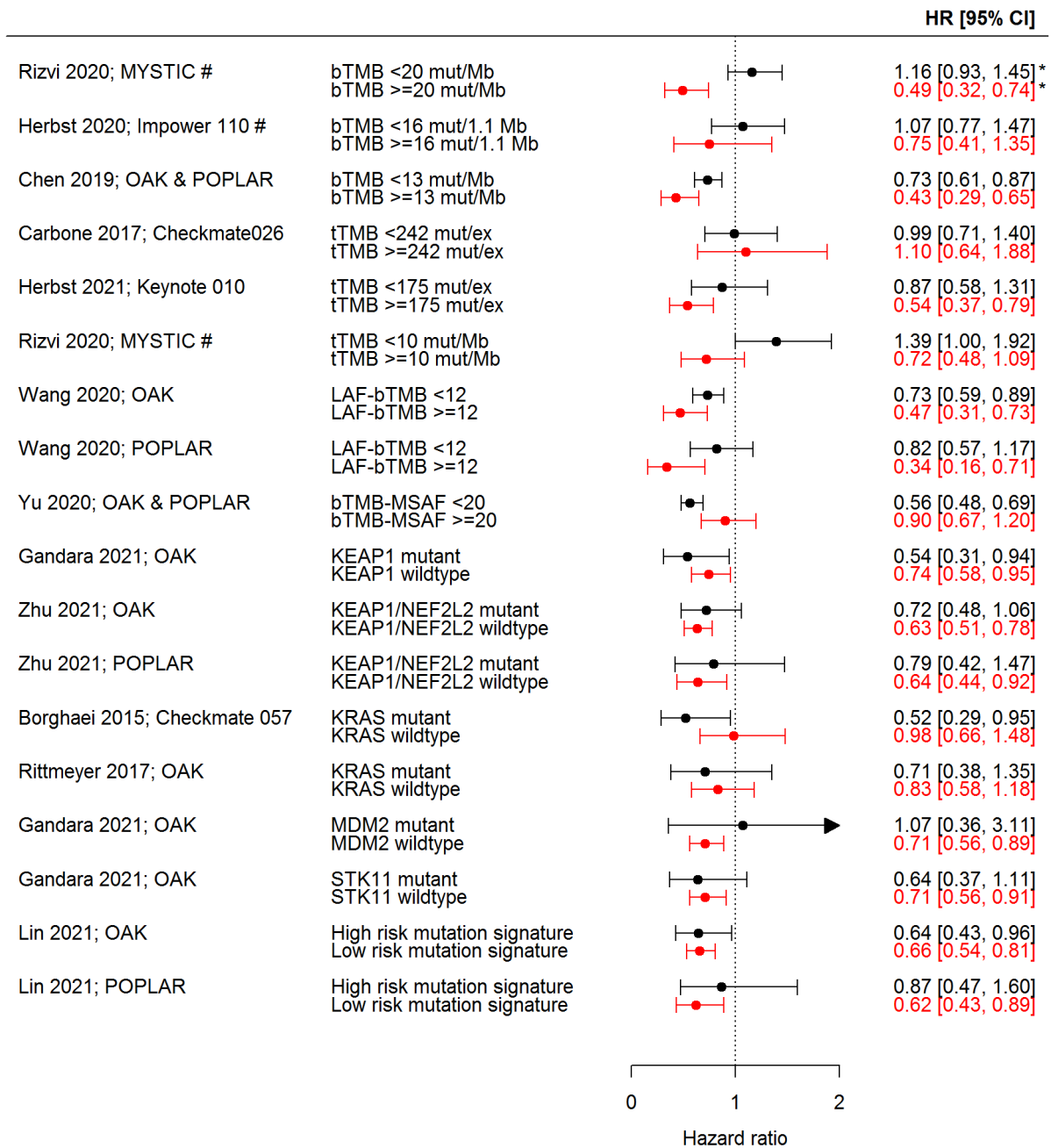
6.2.4 Resultaten

Algehele overleving

In totaal werden 25 subgroepanalyses uitgevoerd voor de uitkomst algehele overleving waarvan er 18 konden worden opgenomen in de *forest plot* (Figuur 3). Zeven subgroepanalyses werden uitgevoerd voor bTMB^{23 26 27 29 32} en drie subgroepanalyses werden uitgevoerd voor tTMB.^{20 24 26} In de MYSTIC studie werd een statistisch significant effect subgroepeffect gevonden: in de subgroep met een bTMB \geq 20 mut/Mb werd een behandelingseffect gevonden in het voordeel van de groep die immunotherapie kreeg (hazard ratio=0,49 (95% BI 0,32-0,74)) terwijl in de subgroep met een bTMB<20 geen verschil in overleving werd gevonden tussen de immunotherapie- en de chemotherapiegroep.²⁶ In de overige subgroepanalyses waren de puntschattingen voor het behandelings-effect van immunotherapie meestal lager (wijzend op een sterker behandelings-effect) in de subgroep met een hogere TMB, maar de BI's van beide subgroepen overlaptten. In drie subgroepanalyses werd een multivariabele analyses gedaan waarbij de interactie tussen behandelings-effect en subgroep bepaald werd. Deze interactieterm was significant voor bTMB met een afkapwaarde van 16 in de POPLAR studie²⁷ en met een afkapwaarde van 13 in de OAK en POPLAR studie samen.³² In de OAK studie alleen werd geen significante interactie gevonden voor een bTMB met een afkapwaarde van 16 (Tabel 6).²⁷ In de drie subgroepanalyses die betrekking hadden op de LAF-bTMB werden overlappende BI's gevonden maar waren de puntschattingen voor het behandelings-effect lager in de subgroep met een hogere LAF-bTMB. De interactieterm voor het subgroepeffect was wel statistisch significant voor deze drie subgroepanalyses (Tabel 6).²⁸ In één

subgroepanalyse werd geen significant subgroep-effect gevonden voor bTMB-MSAF, echter lijken de resultaten wel te wijzen op een sterker behandel-effect in de groep met een lage bTMB-MSAF.³⁴ Voor KEAP1, KEAP1/NEF2L2, KRAS, MDM2, STK11 en de risicoscore van vijf genen werden geen subgroep-effecten gevonden.^{19 25 29-31} Eén subgroepanalyse werd uitgevoerd voor TP53/ATM comutatiestatus. Hierin werd geen verschil in overleving gevonden voor zowel de chemotherapiegroep als de immunotherapiegroep in patiënten met comutatie versus patiënten zonder comutatie (chemotherapie: HR=0,74 [95% BI 0,47-1,17], immunotherapie: HR=0,66 [95% BI 0,39-1,11]).³³ Informatie over groeps-grootte in elk van de subgroepen en exacte mediane overleving is weergegeven in Bijlage 7.

Overall survival



Figuur 3: Resultaten van subgroepanalyses betreffende mutaties met een negatief voorspellende waarde voor de effectiviteit van immunotherapie voor de uitkomst algehele overleving. Resultaten van overlappende analyses zijn niet gepresenteerd in de figuur. *niet-overlappende betrouwbaarheidsintervallen; # vooraf gespecificeerde analyses. Mut/Mb: aantal mutaties per 1000 basenparen; mut/1.1Mb: aantal mutaties per 1100 basenparen; mut/ex: aantal mutaties in het exoom.

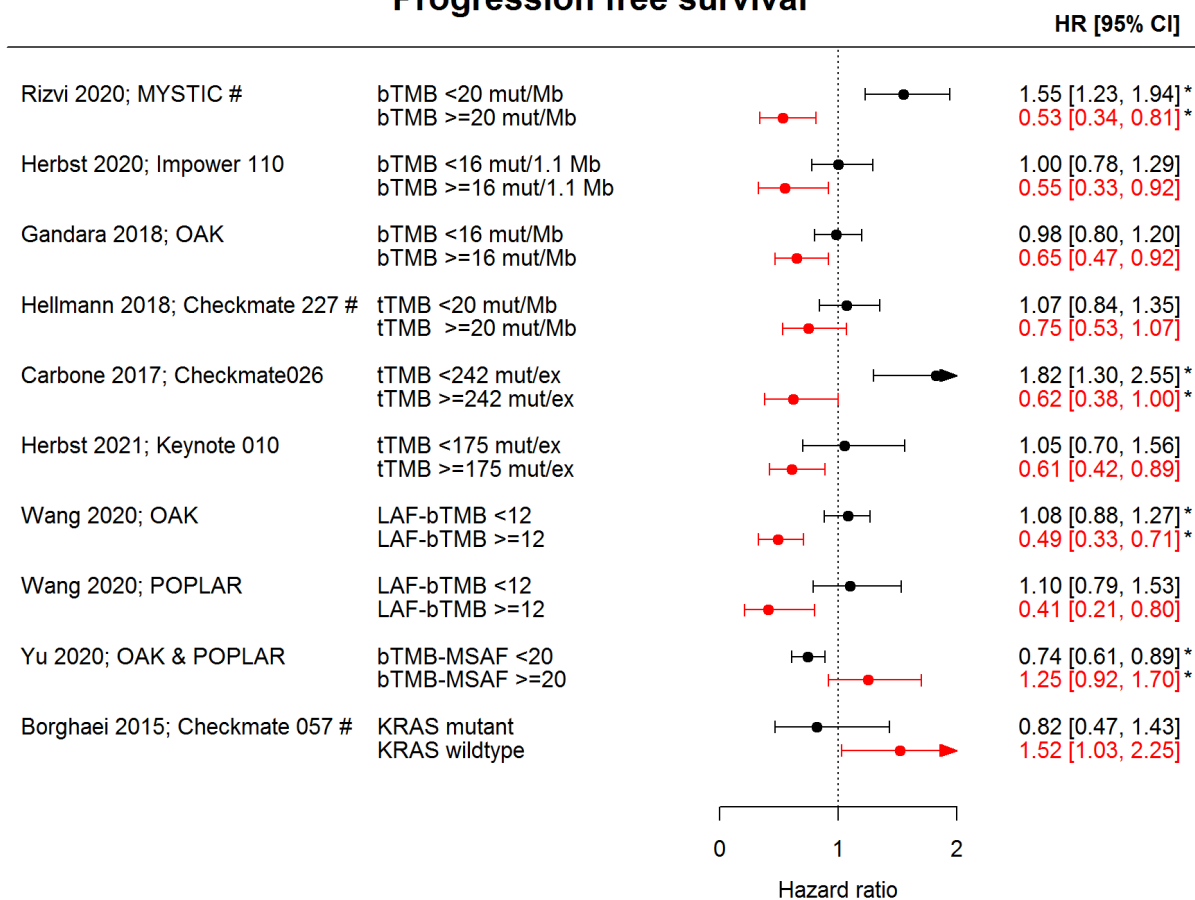
Tabel 6: Resultaten multivariabele analyses betreffende mutaties met een negatief voorspellende waarde voor de effectiviteit van immunotherapie voor de uitkomsten algehele overleving en progressievrije overleving

Reference; study	Subgroup	Cut-off	P-value for interaction	Variables in model
OS				
Gandara 2018; POPLAR	bTMB	16 mut/Mb	0.34	Treatment, bTMB subgroup and treatment by subgroup interaction.
Chen 2019; OAK & POPLAR	bTMB	13 mut/Mb	0.023	Treatment, bTMB subgroup, treatment by subgroup interaction, age, sex, race, performance status, histology, number of metastatic sites, number of prior therapies, tobacco use history
Gandara 2018; OAK	bTMB	16 mut/Mb	0.75	Treatment, bTMB subgroup and treatment by subgroup interaction.
Wang 2020; POPLAR	LAF-bTMB	12	0.04	NR
Wang 2020; OAK & POPLAR	LAF-bTMB	12	0.006	NR
Wang 2020; OAK	LAF-bTMB	12	0.06	NR
PFS				
Gandara 2018; POPLAR	bTMB	16 mut/Mb	0.055	Treatment, bTMB subgroup and treatment by subgroup interaction.
Gandara 2018; OAK	bTMB	16 mut/Mb	0.036	Treatment, bTMB subgroup and treatment by subgroup interaction.
Wang 2020; POPLAR	LAF-bTMB	12	0.01	NR
Wang 2020; OAK & POPLAR	LAF-bTMB	12	<0.001	NR
Wang 2020; OAK	LAF-bTMB	12	<0.001	NR

Progressievrije overleving

In totaal werden 14 subgroepanalyses uitgevoerd voor de uitkomst progressievrije overleving waarvan er 10 gepresenteerd konden worden in de *forest plot* (Figuur 4). Vijf subgroepanalyses richtten zich op bTMB^{23 26 27} en drie subgroepanalyses werden uitgevoerd voor tTMB.^{20 22 24} Voor zowel bTMB als tTMB werden in één subgroepanalyse niet-overlappende BI's gevonden: het behandel-effect van immunotherapie was sterker in de subgroep met een hogere bTMB of een hogere tTMB.^{20 26} In de overige subgroepanalyses werden geen subgroepeffecten gevonden, maar was een vergelijkbare trend te zien. Ook voor LAF-bTMB werd gevonden dat het behandel-effect van immunotherapie sterker was in de subgroep met een hogere LAF-bTMB. In twee van de drie subgroepanalyses was geen overlap tussen de BI's en in alle drie de subgroepanalyses was de interactieterm statistisch significant.²⁸ Voor bTMB-MSAF werd het omgekeerde gevonden: het behandel-effect van immunotherapie was statistisch significant sterker in de groep met een lage bTMB-MSAF.³⁴ Voor KRAS werd geen subgroepeffect gevonden in één subgroepanalyse.¹⁹ Eén subgroepanalyse werd uitgevoerd voor TP53/ATM comutatiestatus. Hierin werd geen verschil in overleving gevonden in patiënten met comutatie versus patiënten zonder comutatie in de chemotherapiegroep terwijl in de immunotherapiegroep een betere overleving werd gevonden in patiënten met comutatie (chemotherapie: HR=0,98 [95% BI 0,62-1,56], immunotherapie: HR=0,49 [95% BI 0,33-0,73]).³³ Informatie over groeps-grootte in elk van de subgroepen en de exacte mediane overleving is weergegeven in Bijlage 7.

Progression free survival



Figuur 4: Resultaten van subgroepanalyses betreffende mutaties met een negatief voorspellende waarde voor de effectiviteit van immunotherapie voor de uitkomst progressievrije overleving. Resultaten van overlappende analyses zijn niet gepresenteerd in de figuur. *niet-overlappende betrouwbaarheidsintervallen; # vooraf gespecificeerde analyses. Mut/Mb: aantal mutaties per 1000 basenparen; mut/1.1Mb: aantal mutaties per 1100 basenparen; mut/ex: aantal mutaties in het exoom.

Objectief responspercentage

Voor de uitkomst objectief responspercentage werden vier subgroepanalyses uitgevoerd die allemaal betrekking hadden op TMB (Tabel 7).^{20 24 26 27} In alle vier de subgroepanalyses was het objectief responspercentage het hoogst in de subgroep met een hoge TMB en behandeld met immunotherapie. In één subgroepanalyse waren de verschillen tussen de groepen echter niet significant (overlappende BI's)²⁴ en in de andere subgroepanalyses werden geen BI's gerapporteerd waardoor niet beoordeeld kon worden of de verschillen statistisch significant zijn.

Tabel 7: Resultaten van subgroepanalyses betreffende mutaties met een negatief voorspellende waarde voor de effectiviteit van immunotherapie voor de uitkomst objectief responspercentage

Reference; study	Subgroup	Chemo-therapy	Immuno-therapy	Difference in ORR (95% CI)	Subgroup	Chemo-therapy	Immuno-therapy	Difference in ORR (95% CI)
Gandara 2018; OAK	bTMB <16 mut/Mb	12% N=209	13% N=216	1% (-5% to 7%)	bTMB ≥16 mut/Mb	10% N=81	21% N=77	11% (0% to 22%)
Rizvi 2020; MYSTIC	bTMB <20 mut/Mb	31.4% N=185	16.7% N=204	-15% (-23% to -6%)	bTMB ≥20 mut/Mb	21.0% N=70	48.4% N=64	27% (11% to 43%)
Carbone 2017; Checkmate 026	tTMB <242 mut/ex	33% N=94	23% N=111	-10% (-22% to 3%)	tTMB ≥242 mut/ex	28% N=60	47% N=47	18% (0% to 37%)
Herbst 2021; Keynote 010	tTMB <175 mut/ex	21.1% (95% CI 9.6-37.3) N=38	16.9% (95% CI 9.5-26.7) N=83	-4% (-19% to 11%)	tTMB ≥175 mut/ex	9.8% (95% CI 3.3-21.4) N=51	24.7% (95% CI 15.8-35.5) N=81	15% (2% to 27%)

Mut/Mb: aantal mutaties per 1000 basenparen; mut/ex: aantal mutaties in het exoom.

7. Conclusies en discussiepunten

Met betrekking tot PICO 1 en 2:

- Er werden geen gerandomiseerde studies gevonden die het klinisch nut van de inzet van brede moleculaire diagnostiek vergeleken met smalle diagnostiek.
- De mediane overleving bij patiënten waarbij moleculaire diagnostiek werd uitgevoerd met behulp van een breed NGS panel is langer dan de overleving van patiënten waarbij dit panel niet gebruikt werd (HR 0,82 (95% BI 0,69-0,97), 1 niet-gerandomiseerd onderzoek, very low level of evidence). Opgemerkt dient te worden dat in dit onderzoek onvoldoende gecorrigeerd werd voor verschillen tussen de groepen. Het is aannemelijk dat het gevonden verschil (deels) verklaard kan worden door de beschikbaarheid van effectievere behandelmogelijkheden.
- Er werden geen niet-gerandomiseerde onderzoeken geïdentificeerd die het klinisch nut van breed testen beschreven voor de cruciale uitkomst kwaliteit van leven en de belangrijke uitkomsten ORR en ziektevrije overleving.
- Omdat een referentiestandaard om de resultaten van de brede en smalle testen te verifiëren niet bestaat, was het niet mogelijk om de diagnostische accuratesse van de testen te bepalen.
- De concordantie tussen de brede en smalle moleculaire testen bleek meestal hoog (>90% in de meeste studies) (very low level of evidence). Alleen in studies waarbij concordantie voor meerdere genen gecombineerd werd berekend, werden lagere concordantie percentages gevonden. Echter, de methodologische kwaliteit van de meeste studies was problematisch of kon niet worden vastgesteld door gebrekkige rapportage.
- BRAF is een gen waarin mutaties vaak voorkomen en waarvoor in Nederland doelgerichte therapie geregistreerd is, echter werd slechts één studie gevonden waarin concordantie tussen

breed en smal testen voor dit gen werd beschreven. Er werden geen studies gevonden voor meerdere zeldzame mutaties, zoals mutaties in de MET, HER2 en NTRK genen.

- Bewijs met betrekking tot het percentage gefaalde testen is beperkt. Slechts één onderzoek beschreef het percentage gefaalde testen voor zowel de brede als de smalle test en daarin bleek dat dit percentage hoger lag voor de brede test dan voor de smalle test (9,7% vs. 0%).
- Er werden geen studies gevonden die een vergelijking maakten tussen breed testen met behulp van WGS of WES en smal testen.
- Voor de selectie van doelgerichte behandeling is het noodzakelijk de exacte mutatie te weten (referentie: communicatie klinisch expert). Regelmatig werd echter niet beschreven voor welke variant(en) concordantie bepaald was.
- Ingesloten studies waren heterogeen met betrekking tot de gehanteerde brede en smalle testen. De gerapporteerde informatie over deze testen was tevens beperkt waardoor applicability soms lastig te beoordelen was.
- Doordat de diagnostische accuratesse van de brede en smalle testen niet bekend is, is het momenteel niet mogelijk het vergelijkend analyseraam in te vullen en de resultaten van de cross-sectionele studies door te rekenen naar mogelijk klinisch nut. Een nieuw analyseraamwerk dient ontwikkeld te worden dat resultaten met betrekking tot concordantie als startpunt hanteert.
- Als de concordantie tussen brede en smalle testen in de meeste gevallen hoog is, zal in de meerderheid van de patiënten de inzet van de brede test niet tot andere behandelbeslissingen leiden in vergelijking tot de smalle testen. In patiënten waarin de brede en smalle testen discordante resultaten laten zien, heeft de keuze van de test wel gevolgen voor de patiënt. Voor mutaties in het EGFR gen werd in de meerderheid van de discordante patiënten (mediaan 67%) vaker een mutatie gevonden door de brede test die niet gedetecteerd werd met de smalle test. Voor andere genen varieerde dit percentage vaker. Het is onduidelijk of behandeling met doelgerichte middelen zal leiden tot gezondheidswinst in deze discordante patiënten. Ook is het mogelijk dat bij de inzet van een brede test meerdere mutaties gevonden worden in één patiënt, wat ook mogelijk invloed zal hebben op behandelbeslissingen.

Met betrekking tot PICO 3:

- Er werden geen studies gevonden die het klinisch nut bepaalden van moleculaire diagnostiek om patiënten te selecteren die mogelijk geen baat hebben bij immunotherapie.
- Er werden 8 RCT's gevonden met in totaal 43 subgroepanalyses die betrekking hadden op een specifieke mutatiestatus of TMB als mogelijke voorspeller van de effectiviteit van immunotherapie. Hierbij hadden de meeste analyses betrekking op varianten van de TMB (bTMB, tTMB, LAF-bTMB en bTMB-MSAF).
- De kans op vertekening in deze subgroepanalyses was wisselend: meestal laag (28 analyses), onduidelijk (14 analyses) of hoog (1 analyse)
- Meta-analyse van de resultaten was niet mogelijk wegens klinische verschillen tussen de studies.
- De effectiviteit van immunotherapie op algehele overleving bleek in de hoog-TMB subgroepen (bTMB, tTMB of LAF-bTMB) over het algemeen sterker vergeleken met de laag-TMB subgroepen, maar het verschil was in de meeste gevallen niet statistisch significant (moderate level of evidence).

- De effectiviteit van immunotherapie op algehele overleving en progressievrije overleving is mogelijk sterker in de subgroep met een lage bTMB-MSAF ten opzichte van de subgroep met een hoog bTMB-MSAF (moderate level of evidence).
- De effectiviteit van immunotherapie op het objectief responspercentage is mogelijk sterker in de subgroep met een hoge TMB, maar resultaten voor deze uitkomst werden in slechts vier studies beschreven (low level of evidence).
- Er zijn geen aanwijzingen voor verschillen tussen de subgroepen van KEAP1, KEAP1/NEF2L2, MDM2, STK11 en de risicoscore van vijf genen met betrekking tot de uitkomst algehele overleving (low level of evidence), en ook niet voor de subgroepen gebaseerd op mutaties in KRAS (moderate level of evidence).
- Met uitzondering van één subgroepanalyse met betrekking tot KRAS mutatie status (waarin geen subgroepeffect gevonden werd; very low level of evidence), werden geen subgroepanalyses uitgevoerd voor specifieke mutaties voor de uitkomsten progressievrije overleving en het objectief responspercentage.
- Deze bevindingen geven nog geen antwoord op de vraag of het gebruik van de brede test klinische uitkomsten zal verbeteren door betere selectie van patienten voor immunotherapie. Hiervoor zou, net als bij concordantie, een apart raamwerk nodig zijn.

Referenties

1. Pfadenhauer LM, Gerhardus A, Mozygemba K, et al. Making sense of complexity in context and implementation: the Context and Implementation of Complex Interventions (CICI) framework. *Implementation science* 2017;12(1):1-17.
2. Sterne JAC, Hernán MA, Reeves BC, et al. ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomised studies of interventions. *BMJ* 2016;355:i4919. doi: 10.1136/bmj.i4919
3. Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, et al. QUADAS-2: A Revised Tool for the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies. *Annals of Internal Medicine* 2011;155(8):529-36. doi: 10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00009
4. Yang B, Mallett S, Takwoingi Y, et al. QUADAS-C: A Tool for Assessing Risk of Bias in Comparative Diagnostic Accuracy Studies. *Ann Intern Med* 2021;174(11):1592-99. doi: 10.7326/m21-2234 [published Online First: 2021/10/27]
5. Higgins JPT, Altman DG, Gøtzsche PC, et al. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ* 2011;343:d5928. doi: 10.1136/bmj.d5928
6. Higgins JPT TJ, Chandler J, Cumpston M, Li T, Page MJ, Welch VA (editors). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* version 6.1 (updated September 2020). : Cochrane, 2020. Available from: www.training.cochrane.org/handbook, 2020.
7. Int'Hout J, Ioannidis JP, Borm GF. The Hartung-Knapp-Sidik-Jonkman method for random effects meta-analysis is straightforward and considerably outperforms the standard DerSimonian-Laird method. *BMC Med Res Methodol* 2014;14:25. doi: 10.1186/1471-2288-14-25 [published Online First: 2014/02/20]
8. Wilson EB. Probable inference, the law of succession, and statistical inference. *Journal of the American Statistical Association* 1927;22(158):209-12.
9. Guyatt G, Oxman AD, Akl EA, et al. GRADE guidelines: 1. Introduction-GRADE evidence profiles and summary of findings tables. *J Clin Epidemiol* 2011;64(4):383-94. doi: 10.1016/j.jclinepi.2010.04.026 [published Online First: 2011/01/05]
10. Al-Ahmadi A, Ardeshir-Larijani F, Fu P, et al. Next Generation Sequencing of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Utilization Based on Race and Impact on Survival. *Clinical Lung Cancer* 2021;22(1):16-22.e1. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2020.08.004>
11. Arcila ME, Yang SR, Momeni A, et al. Ultrarapid EGFR Mutation Screening Followed by Comprehensive Next-Generation Sequencing: A Feasible, Informative Approach for Lung Carcinoma Cytology Specimens With a High Success Rate. *JTO Clinical and Research Reports* 2020;1(3) doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtocrr.2020.100077>
12. Choi YJ, Choi JY, Kim JW, et al. Comparison of the Data of a Next-Generation Sequencing Panel from K-MASTER Project with That of Orthogonal Methods for Detecting Targetable Genetic Alterations. *Cancer Research & Treatment* 2022;54(1):30-39. doi: <https://doi.org/10.4143/crt.2021.218>
13. Kim JH, Yoon S, Lee DH, et al. Real-world utility of next-generation sequencing for targeted gene analysis and its application to treatment in lung adenocarcinoma. *Cancer Medicine* 2021;10(10):3197-204. doi: <https://doi.org/10.1002/cam4.3874>
14. Kuang Y, Xu P, Wang J, et al. Detecting ALK Rearrangement with RT-PCR: A Reliable Approach Compared with Next-Generation Sequencing in Patients with NSCLC. *Molecular Diagnosis & Therapy* 2021;25(4):487-94. doi: <https://doi.org/10.1007/s40291-021-00532-8>
15. Li W, Li Y, Guo L, et al. Metastatic NSCLCs With Limited Tissues: How to Effectively Identify Driver Alterations to Guide Targeted Therapy in Chinese Patients. *JTO Clinical and Research Reports* 2021;2(5):100167. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtocrr.2021.100167>

16. Rogers TM, Arnau GM, Ryland GL, et al. Multiplexed transcriptome analysis to detect ALK, ROS1 and RET rearrangements in lung cancer. *Scientific Reports* 2017;7:42259. doi: <https://doi.org/10.1038/srep42259>
17. Sabari JK, Offin M, Stephens D, et al. A Prospective Study of Circulating Tumor DNA to Guide Matched Targeted Therapy in Lung Cancers. *Journal of the National Cancer Institute* 2019;111(6):575-83. doi: <https://doi.org/10.1093/jnci/djy156>
18. Tuononen K, Maki-Nevala S, Sarhadi VK, et al. Comparison of targeted next-generation sequencing (NGS) and real-time PCR in the detection of EGFR, KRAS, and BRAF mutations on formalin-fixed, paraffin-embedded tumor material of non-small cell lung carcinoma-superiority of NGS. *Genes, Chromosomes & Cancer* 2013;52(5):503-11. doi: <https://doi.org/10.1002/gcc.22047>
19. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015;373(17):1627-39. doi: 10.1056/NEJMoa1507643 [published Online First: 2015/09/29]
20. Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, et al. First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2017;376(25):2415-26. doi: 10.1056/NEJMoa1613493 [published Online First: 2017/06/22]
21. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet* 2016;387(10030):1837-46. doi: 10.1016/s0140-6736(16)00587-0 [published Online First: 2016/03/14]
22. Hellmann MD, Ciuleanu TE, Pluzanski A, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. *New England Journal of Medicine* 2018;378(22):2093-104. doi: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1801946>
23. Herbst RS, Giaccone G, de Marinis F, et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of PD-L1-Selected Patients with NSCLC. *The New England journal of medicine* 2020;383(14):1328-39. doi: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1917346>
24. Herbst RS, Garon EB, Kim DW, et al. Five Year Survival Update From KEYNOTE-010: Pembrolizumab Versus Docetaxel for Previously Treated, Programmed Death-Ligand 1-Positive Advanced NSCLC. *Journal of Thoracic Oncology: Official Publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 2021;16(10):1718-32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.05.001>
25. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2017;389(10066):255-65. doi: 10.1016/s0140-6736(16)32517-x [published Online First: 2016/12/17]
26. Rizvi NA, Cho BC, Reinmuth N, et al. Durvalumab With or Without Tremelimumab vs Standard Chemotherapy in First-line Treatment of Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer: The MYSTIC Phase 3 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncology* 2020;6(5):661-74. doi: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.0237>
27. Gandara DR, Paul SM, Kowanetz M, et al. Blood-based tumor mutational burden as a predictor of clinical benefit in non-small-cell lung cancer patients treated with atezolizumab. *Nature Medicine* 2018;24(9):1441-48. doi: <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0134-3>
28. Wang Z, Duan J, Wang G, et al. Allele Frequency-Adjusted Blood-Based Tumor Mutational Burden as a Predictor of Overall Survival for Patients With NSCLC Treated With PD-(L)1 Inhibitors. *J Thorac Oncol* 2020;15(4):556-67. doi: 10.1016/j.jtho.2019.12.001 [published Online First: 2019/12/18]
29. Gandara D, Reck M, Moro-Sibilot D, et al. Fast progression in non-small cell lung cancer: results from the randomized phase III OAK study evaluating second-line atezolizumab versus docetaxel. *Journal for Immunotherapy of Cancer* 2021;9(3):03. doi: <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-001882>

30. Zhu H, Xie D, Yu Y, et al. KEAP1/NFE2L2 Mutations of Liquid Biopsy as Prognostic Biomarkers in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Results From Two Multicenter, Randomized Clinical Trials. *Frontiers in Oncology* 2021;11:659200. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.659200>
31. Lin J, Wang X, Zhang C, et al. A 5-Genomic Mutation Signature Can Predict the Survival for Patients With NSCLC Receiving Atezolizumab. *Frontiers in Immunology* 2021;12:606027. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.606027>
32. Chen YT, Seeruttun SR, Wu XY, et al. Maximum Somatic Allele Frequency in Combination With Blood-Based Tumor Mutational Burden to Predict the Efficacy of Atezolizumab in Advanced Non-small Cell Lung Cancer: A Pooled Analysis of the Randomized POPLAR and OAK Studies. *Frontiers in Oncology* 2019;9:1432. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01432>
33. Chen Y, Chen G, Li J, et al. Association of Tumor Protein p53 and Ataxia-Telangiectasia Mutated Comutation With Response to Immune Checkpoint Inhibitors and Mortality in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Network Open* 2019;2(9):e1911895. doi: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.11895>
34. Yu Y, Zeng D, Ou Q, et al. Association of Survival and Immune-Related Biomarkers With Immunotherapy in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-analysis and Individual Patient-Level Analysis. *JAMA Network Open* 2019;2(7):e196879. doi: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.6879>

Bijlagen

Bijlage 1. Zoekstrategieën

Bijlage 2. Study flow

Bijlage 3. Uitgesloten onderzoeken

Bijlage 4. Gedetailleerde kenmerken geïnccludeerde onderzoeken

Bijlage 5. Overzicht van de kans op vertekening (risk of bias) in de geïnccludeerde onderzoeken

Bijlage 6. GRADE summary of findings tabellen

Bijlage 7. Aanvullen de resultaten en groepsgroottes van subgroepanalyses

Bijlage 1. Zoekstrategieën

1A: PICO 1 en 2

MEDLINE (Ovid)

Datum zoekactie: 2 februari 2022

Ovid MEDLINE(R) ALL <1946 to February 02, 2022>		
#	Searches	Results
1	exp Lung Neoplasms/ or (((lung\$ or pulmon\$) adj5 (tumor\$ or tumour\$ or cancer\$ or onco\$ or carcinoma or malign* or neoplas\$ or adenocarcinoma*)) or nslc).ti,ab,kw.	356376
2	exp High-Throughput Nucleotide Sequencing/ or exp Whole Genome Sequencing/ or exp Multiplex Polymerase Chain Reaction/ or (Trusight or TSO500 or next-gen* or illumina or (whole adj2 (genome or exome)) or NGS or WGS or WES or ((DNA or RNA or genomic or molecular or comprehensive) adj2 profiling) or multi-gene or gene-panel or deep-sequenc* or Archer-fusion or nano-pore or pacific-bioscience or (multiplex adj2 PCR)).ti,ab,kf.	223378
3	exp Mutation/ or (ALK or BRAF or EGFR or HER2 or KRAS or MET or NRG1 or NTRK* or (RET adj fusion) or (ROS1 adj fusion) or mutation* or mutant* or ((genomic or somatic) adj variant*) or (ALB1 or ATM or ATR or BARD1 or BRAF non-V600mut or BRCA* or BRIP1 or CCND* or CSF1* or CDK* or CHEK* or FANCA* or FGFR* or FLT* or GNA11 or GNAQ or GNAS or HER4 or HRD-sig or KDR or KIT or MAP2K* or MAP3K1 or MRE11 or MSI or MST1R or NBN or NF1 or NRAS or PALB2 or PDGFR* or PIK3CA or PPP2R2A or PRA1 or PTCH1 or RAD50 or RAD51* or RAD54L or RAF1)).ti,ab,kf.	1789620
4	exp "Predictive Value of Tests"/ or exp "Sensitivity and Specificity"/ or sensitivity.ti,ab,kf. or specificity.ti,ab,kf. or concordan*.ti,ab,kf. or discordan*.ti,ab,kf. or (accurate or accurac*).ti,ab,kf. or predictive-value.ti,ab,kw. or (false-negative or false-positive).ti,ab,kf. or (yield* or utility).ti,ab,kf. or (clinical adj benefit).ti,ab,kf.	3085605
5	((randomized controlled trial or controlled clinical trial).pt. or (randomized or randomised or randomly or trial or groups).ab.) not (exp animals/ not humans/)	2836413
6	((controlled clinical trial or multicenter study or pragmatic clinical trial).pt. or non-randomized controlled trials as topic/ or interrupted time series analysis/ or controlled before-after studies/ or (trial or multicenter or multi center or multicentre or multi centre).ti. or (intervention? or effect? or impact? or controlled or control group? or (before adj5 after) or (pre adj5 post) or ((pretest or pre test) and (posttest or post test)) or quasiexperiment* or quasi experiment* or pseudo experiment* or pseudoexperiment* or evaluat* or time series or time point? or repeated measur* or (stepped-wedge or (cluster adj2 random*))).ti,ab.) not ((exp Animals/ not Humans/) or review.pt. or meta analysis.pt. or news.pt. or comment.pt. or editorial.pt. or cochrane database of systematic reviews.jn. or comment on.cm. or (systematic review or literature review).ti.)	7719854
7	4 or 5 or 6	10685192
8	1 and 2 and 3 and 7	2290

Embase (embase.com)

Datum zoekactie: 3 februari 2022

No.	Query	Results
#1	'lung cancer'/exp/mj OR (((lung* OR pulmon*) NEAR/5 (tumor* OR tumour* OR cancer* OR onco* OR carcinoma OR malign* OR neoplas* OR adenocarcinoma)):ti,ab,kw) OR nslc:ti,ab,kw	444655
#2	'high throughput sequencing'/exp/mj OR 'whole genome sequencing'/exp/mj OR 'whole exome sequencing'/exp/mj OR 'multiplex polymerase chain reaction'/exp/mj OR 'deep sequencing'/exp/mj OR trusight:ti,ab,kw OR tso500:ti,ab,kw OR 'next gen*':ti,ab,kw OR illumina:ti,ab,kw OR ((whole NEAR/2 (genome OR exome)):ti,ab,kw) OR ngs:ti,ab,kw OR wgs:ti,ab,kw OR wes:ti,ab,kw OR (((dna OR rna OR genomic OR molecular OR comprehensive) NEAR/2 profiling):ti,ab,kw) OR 'multi gene':ti,ab,kw OR 'gene panel':ti,ab,kw OR 'deep sequenc*':ti,ab,kw OR 'archer fusion':ti,ab,kw OR 'nano pore':ti,ab,kw OR 'pacific bioscience':ti,ab,kw OR (multiplex:ti,ab,kw AND near2:ti,ab,kw AND pcr:ti,ab,kw)	283597
#3	'mutation'/exp/mj OR alk:ti,ab,kw OR braf:ti,ab,kw OR egfr:ti,ab,kw OR her2:ti,ab,kw OR kras:ti,ab,kw OR met:ti,ab,kw OR nrg1:ti,ab,kw OR ntrk*:ti,ab,kw OR ((ret NEAR/1 fusion):ti,ab,kw) OR ((ros1 NEAR/1 fusion):ti,ab,kw) OR mutation*:ti,ab,kw OR (((genomic OR somatic) NEAR/1 variant*):ti,ab,kw) OR ((alb1:ti,ab,kw OR atm:ti,ab,kw OR atr:ti,ab,kw OR bard1:ti,ab,kw OR braf:ti,ab,kw) AND 'non v600mut':ti,ab,kw) OR brca*:ti,ab,kw OR bri1:ti,ab,kw OR ccnd*:ti,ab,kw OR csf1*:ti,ab,kw OR cdk*:ti,ab,kw OR chek*:ti,ab,kw OR fanca*:ti,ab,kw OR fgfr*:ti,ab,kw OR flt*:ti,ab,kw OR gna11:ti,ab,kw OR gnaq:ti,ab,kw OR gnas:ti,ab,kw OR her4:ti,ab,kw OR 'hrd sig':ti,ab,kw OR kdr:ti,ab,kw OR kit:ti,ab,kw OR map2k*:ti,ab,kw OR map3k1:ti,ab,kw OR mre11:ti,ab,kw OR msi:ti,ab,kw OR mst1r:ti,ab,kw OR nbn:ti,ab,kw OR nf1:ti,ab,kw OR nras:ti,ab,kw OR palb2:ti,ab,kw OR pdgfr*:ti,ab,kw OR pik3ca:ti,ab,kw OR ppp2r2a:ti,ab,kw OR pra1:ti,ab,kw OR ptch1:ti,ab,kw OR rad50:ti,ab,kw OR rad51*:ti,ab,kw OR rad54l:ti,ab,kw OR raf1:ti,ab,kw	1788347
#4	'sensitivity and specificity'/exp/mj OR 'concordance'/exp/mj OR 'predictive value'/exp/mj OR 'diagnostic value'/exp/mj OR sensitivity:ti,ab,kw OR specificity:ti,ab,kw OR 'predictive value':ti,ab,kw OR 'false negative':ti,ab,kw OR 'false positive':ti,ab,kw OR concordan*:ti,ab,kw OR discordan*:ti,ab,kw OR accura*:ti,ab,kw OR yield*:ti,ab,kw OR utility:ti,ab,kw OR ((clinical NEAR/1 benefit):ti,ab,kw)	3684772
#5	'multicenter study'/exp OR 'pragmatic trial'/exp OR 'controlled clinical trial'/exp OR 'controlled clinical trial (topic)'/exp OR (((trial:ti OR multicenter:ti OR multi:ti) AND center:ti OR multicentre:ti OR multi:ti) AND centre:ti) OR ((intervention:ti,ab OR interventions:ti,ab OR effect:ti,ab OR effects:ti,ab OR impact*:ti,ab OR controlled:ti,ab OR 'control group*':ti,ab OR ((before NEAR/5 after):ti,ab) OR ((pre NEAR/5 post):ti,ab) OR ((pretest:ti,ab OR 'pre test':ti,ab) AND (posttest:ti,ab OR 'post test':ti,ab)) OR quasiexperiment*:ti,ab OR quasi:ti,ab) AND experiment*:ti,ab) OR 'pseudo experiment*':ti,ab OR pseudoexperiment*:ti,ab OR evaluat*:ti,ab OR 'time series':ti,ab OR 'time point*':ti,ab OR 'repeated measur*':ti,ab OR 'stepped wedge':ti,ab OR (cluster:ti,ab AND adj2:ti,ab AND random*:ti,ab)	7500141

#6	('randomized controlled trial'/de OR 'controlled clinical trial'/de OR random*:ti,ab,tt OR 'randomization'/de OR 'intermethod comparison'/de OR placebo:ti,ab,tt OR compare:ti,tt OR compared:ti,tt OR comparison:ti,tt OR ((evaluated:ab OR evaluate:ab OR evaluating:ab OR assessed:ab OR assess:ab) AND (compare:ab OR compared:ab OR comparing:ab OR comparison:ab)) OR ((open NEXT/1 label):ti,ab,tt) OR (((double OR single OR doubly OR singly) NEXT/1 (blind OR blinded OR blindly)):ti,ab,tt) OR 'double blind procedure'/de OR ((parallel NEXT/1 group*):ti,ab,tt) OR crossover:ti,ab,tt OR 'cross over':ti,ab,tt OR (((assign* OR match OR matched OR allocation) NEAR/6 (alternate OR group OR groups OR intervention OR interventions OR patient OR patients OR subject OR subjects OR participant OR participants)):ti,ab,tt) OR assigned:ti,ab,tt OR allocated:ti,ab,tt OR ((controlled NEAR/8 (study OR design OR trial)):ti,ab,tt) OR volunteer:ti,ab,tt OR volunteers:ti,ab,tt OR 'human experiment'/de OR trial:ti,tt) NOT (((random* NEXT/1 sampl* NEAR/8 ('cross section*' OR questionnaire* OR survey OR surveys OR database OR databases)):ti,ab,tt) NOT ('comparative study'/de OR 'controlled study'/de OR 'randomised controlled':ti,ab,tt OR 'randomized controlled':ti,ab,tt OR 'randomly assigned':ti,ab,tt) OR ('cross-sectional study' NOT ('randomized controlled trial'/de OR 'controlled clinical study'/de OR 'controlled study'/de OR 'randomised controlled':ti,ab,tt OR 'randomized controlled':ti,ab,tt OR 'control group':ti,ab,tt OR 'control groups':ti,ab,tt)) OR ('case control*':ti,ab,tt AND random*:ti,ab,tt NOT ('randomised controlled':ti,ab,tt OR 'randomized controlled':ti,ab,tt)) OR ('systematic review':ti,tt NOT (trial:ti,tt OR study:ti,tt)) OR (nonrandom*:ti,ab,tt NOT random*:ti,ab,tt) OR 'random field*':ti,ab,tt OR (('random cluster' NEAR/4 sampl*):ti,ab,tt) OR (review:ab AND review:it NOT trial:ti,tt) OR ('we searched':ab AND (review:ti,tt OR review:it)) OR 'update review':ab OR ((databases NEAR/5 searched):ab) OR ((rat:ti,tt OR rats:ti,tt OR mouse:ti,tt OR mice:ti,tt OR swine:ti,tt OR porcine:ti,tt OR murine:ti,tt OR sheep:ti,tt OR lambs:ti,tt OR pigs:ti,tt OR piglets:ti,tt OR rabbit:ti,tt OR rabbits:ti,tt OR cat:ti,tt OR cats:ti,tt OR dog:ti,tt OR dogs:ti,tt OR cattle:ti,tt OR bovine:ti,tt OR monkey:ti,tt OR monkeys:ti,tt OR trout:ti,tt OR marmoset*:ti,tt) AND 'animal experiment'/de) OR ('animal experiment'/de NOT ('human experiment'/de OR 'human'/de)))	5049724
#7	#4 OR #5 OR #6	15275847
#8	#1 AND #2 AND #3 AND #7	8339
#9	#8 AND [embase]/lim NOT 'conference abstract'/it	1694

1B: PICO 3

MEDLINE (Ovid)

Datum zoekactie: 21 maart 2022

Ovid MEDLINE(R) ALL <1946 to March 21, 2022>		
#	Searches	Results
1	exp Lung Neoplasms/ or (((lung\$ or pulmon\$) adj5 (tumor\$ or tumour\$ or cancer\$ or onco\$ or carcinoma or malign* or neoplas\$ or adenocarcinoma*)) or nslc).ti,ab,kw.	359565
2	exp B7-H1 Antigen/ or exp Programmed Cell Death 1 Receptor/ or (PD-L1 or PDL1 or b7-h1 or cd274 or PD1 or PD-1).ti,ab,kf.	35990
3	exp Immune Checkpoint Inhibitors/ or exp Bevacizumab/ or exp Nivolumab/ or exp Ipilimumab/ or (checkpoint-inhibitor* or pembrolizumab or bevacizumab or atezolizumab or ipilimumab or nivolumab).ti,ab,nm,kf.	53835
4	2 or 3	76355
5	1 and 4	12691
6	exp Mutation/ or exp Kelch-Like ECH-Associated Protein 1/	820079
7	(mutation* or keap1 or stk11 or ikb1 or klhl19 or inrf2).ti,ab,kf.	708971
8	6 or 7	1154405
9	5 and 8	2492
10	(randomized controlled trial or controlled clinical trial).pt. or random*.ab. or placebo.ab. or trial.ab. or groups.ab.	3601789
11	9 and 10	526

Embase (embase.com)

Datum zoekactie: 22 maart 2022

No.	Query	Results
#1	'lung cancer'/exp OR 'lung cancer' OR (((lung* OR pulmon*) NEAR/5 (tumor* OR tumour* OR cancer* OR onco* OR carcinoma OR malign* OR neoplas* OR adenocarcinoma)):ti,ab,kw) OR nslc:ti,ab,kw	548941
#2	'programmed death 1 ligand 1'/exp OR 'programmed death 1'/exp OR 'pd l1':ti,ab,kw OR pdl1:ti,ab,kw OR 'b7 h1':ti,ab,kw OR cd274:ti,ab,kw OR pd1:ti,ab,kw OR 'pd 1':ti,ab,kw	80033
#3	'checkpoint inhibitor'/exp OR 'pembrolizumab'/exp OR 'bevacizumab'/exp OR 'atezolizumab'/exp OR 'ipilimumab'/exp OR 'nivolumab'/exp OR 'checkpoint inhibitor*':ti,ab,kw OR pembrolizumab:ti,ab,tn,kw OR bevacizumab:ti,ab,tn,kw OR atezolizumab:ti,ab,tn,kw OR ipilimumab:ti,ab,tn,kw OR nivolumab:ti,ab,tn,kw	131440
#4	#2 OR #3	179026
#5	#1 AND #4	41232

#6	'mutation'/exp OR 'kelch like ech associated protein 1'/exp OR 'protein kinase lkb1'/exp OR mutation*:ti,ab,kw OR keap1:ti,ab,kw OR stk11:ti,ab,kw OR lkb1:ti,ab,kw OR klhl19:ti,ab,kw OR inrf2:ti,ab,kw	1552013
#7	#5 AND #6	10074
#8	('randomized controlled trial'/de OR 'controlled clinical trial'/de OR random*:ti,ab,tt OR 'randomization'/de OR 'intermethod comparison'/de OR placebo:ti,ab,tt OR compare:ti,tt OR compared:ti,tt OR comparison:ti,tt OR ((evaluated:ab OR evaluate:ab OR evaluating:ab OR assessed:ab OR assess:ab) AND (compare:ab OR compared:ab OR comparing:ab OR comparison:ab)) OR ((open NEXT/1 label):ti,ab,tt) OR (((double OR single OR doubly OR singly) NEXT/1 (blind OR blinded OR blindly)):ti,ab,tt) OR 'double blind procedure'/de OR ((parallel NEXT/1 group*):ti,ab,tt) OR crossover:ti,ab,tt OR 'cross over':ti,ab,tt OR (((assign* OR match OR matched OR allocation) NEAR/6 (alternate OR group OR groups OR intervention OR interventions OR patient OR patients OR subject OR subjects OR participant OR participants)):ti,ab,tt) OR assigned:ti,ab,tt OR allocated:ti,ab,tt OR ((controlled NEAR/8 (study OR design OR trial)):ti,ab,tt) OR volunteer:ti,ab,tt OR volunteers:ti,ab,tt OR 'human experiment'/de OR trial:ti,tt) NOT (((random* NEXT/1 sampl* NEAR/8 ('cross section*' OR questionnaire* OR survey OR surveys OR database OR databases)):ti,ab,tt) NOT ('comparative study'/de OR 'controlled study'/de OR 'randomised controlled':ti,ab,tt OR 'randomized controlled':ti,ab,tt OR 'randomly assigned':ti,ab,tt) OR ('cross-sectional study' NOT ('randomized controlled trial'/de OR 'controlled clinical study'/de OR 'controlled study'/de OR 'randomised controlled':ti,ab,tt OR 'randomized controlled':ti,ab,tt OR 'control group':ti,ab,tt OR 'control groups':ti,ab,tt)) OR ('case control*':ti,ab,tt AND random*:ti,ab,tt NOT ('randomised controlled':ti,ab,tt OR 'randomized controlled':ti,ab,tt)) OR ('systematic review':ti,tt NOT (trial:ti,tt OR study:ti,tt)) OR (nonrandom*:ti,ab,tt NOT random*:ti,ab,tt) OR 'random field*':ti,ab,tt OR (('random cluster' NEAR/4 sampl*):ti,ab,tt) OR (review:ab AND review:it NOT trial:ti,tt) OR ('we searched':ab AND (review:ti,tt OR review:it)) OR 'update review':ab OR ((databases NEAR/5 searched):ab) OR ((rat:ti,tt OR rats:ti,tt OR mouse:ti,tt OR mice:ti,tt OR swine:ti,tt OR porcine:ti,tt OR murine:ti,tt OR sheep:ti,tt OR lambs:ti,tt OR pigs:ti,tt OR piglets:ti,tt OR rabbit:ti,tt OR rabbits:ti,tt OR cat:ti,tt OR cats:ti,tt OR dog:ti,tt OR dogs:ti,tt OR cattle:ti,tt OR bovine:ti,tt OR monkey:ti,tt OR monkeys:ti,tt OR trout:ti,tt OR marmoset*':ti,tt) AND 'animal experiment'/de) OR ('animal experiment'/de NOT ('human experiment'/de OR 'human'/de)))	5094311
#9	#7 AND #8	2185
#10	#9 AND [embase]/lim	2159
#11	#9 AND [embase]/lim NOT 'conference abstract'/it	756

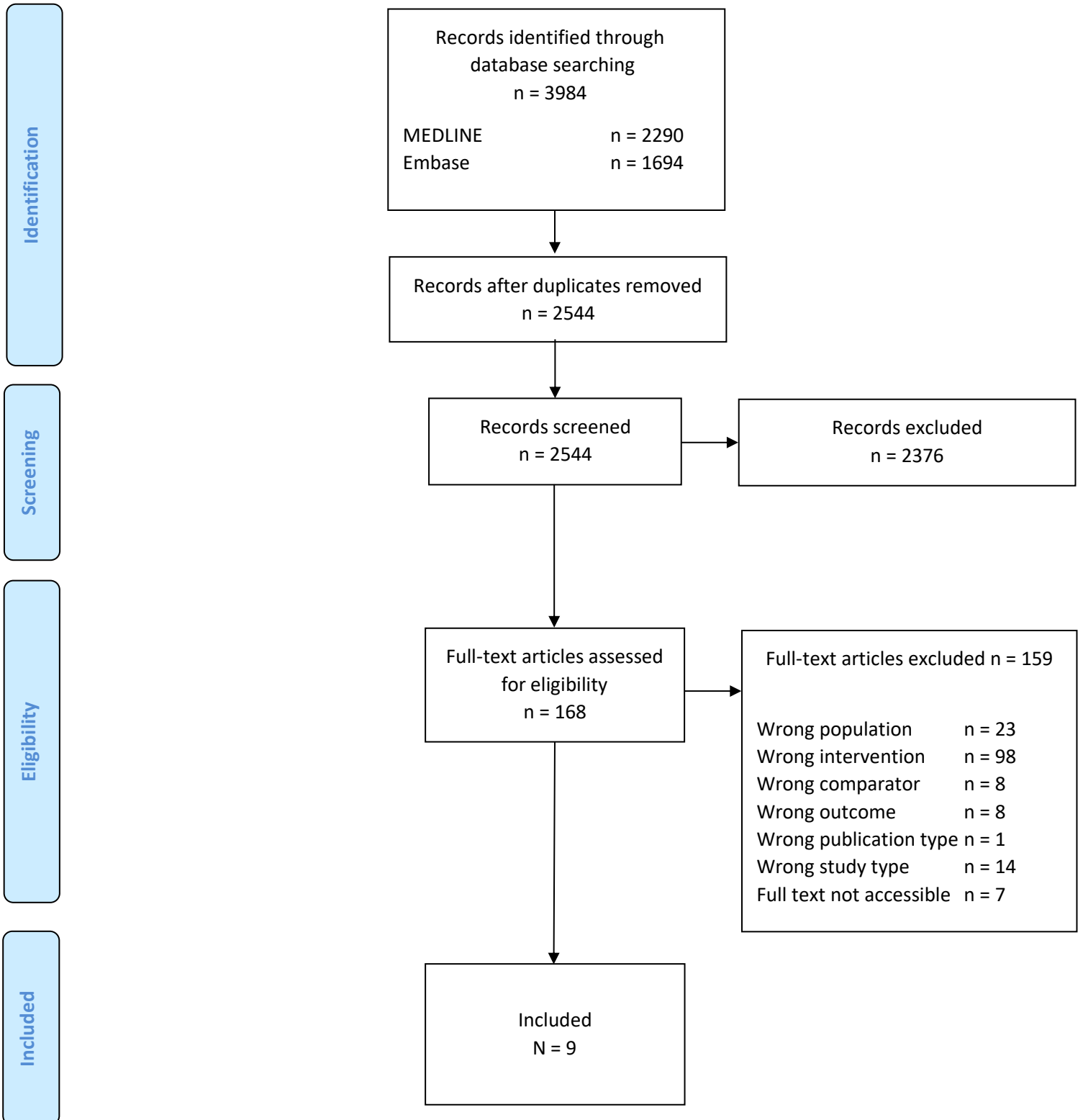
CENTRAL
Datum zoekactie: 22 maart 2022

No.	Query	Results
#1	(((lung* or pulmon*) adj5 (tumor* or tumour* or cancer* or onco* or carcinoma or malign* or neoplas* or adenocarcinoma*)) or nsclc):ti,ab,kw,mh,eh	25303
#2	MESH DESCRIPTOR Lung Neoplasms EXPLODE ALL TREES	8264
#3	#1 OR #2	25454
#4	MESH DESCRIPTOR B7-H1 Antigen EXPLODE ALL TREES	117
#5	MESH DESCRIPTOR Programmed Cell Death 1 Receptor EXPLODE ALL TREES	90
#6	((PD-L1 or PDL1 or b7-h1 or cd274 or PD1 or PD-1)):TI,AB,KY	4162
#7	MESH DESCRIPTOR Immune Checkpoint Inhibitors EXPLODE ALL TREES	949
#8	MESH DESCRIPTOR Bevacizumab EXPLODE ALL TREES	2086
#9	MESH DESCRIPTOR Nivolumab EXPLODE ALL TREES	530
#10	MESH DESCRIPTOR Ipilimumab EXPLODE ALL TREES	234
#11	((checkpoint-inhibitor* or pembrolizumab or bevacizumab or atezolizumab or ipilimumab or nivolumab)):TI,AB,KY	12013
#12	#4 OR #5 OR #6 OR #7 OR #8 OR #9 OR #10 OR #11	13762
#13	#3 AND #12	2971
#14	MESH DESCRIPTOR Mutation EXPLODE ALL TREES	2505
#15	MESH DESCRIPTOR Kelch-Like ECH-Associated Protein 1 EXPLODE ALL TREES	1
#16	((mutation* or keap1 or stk11 or ikb1 or klhl19 or inf2)):TI,AB,KY	13669
#17	#14 OR #15 OR #16	14382
#18	#13 AND #17	600
#19	(conference):so	22797
#20	(clinicaltrials.gov or WHO):so	166623
#21	#19 OR #20	189419
#22	#18 NOT #21	477

Bijlage 2. Study flow

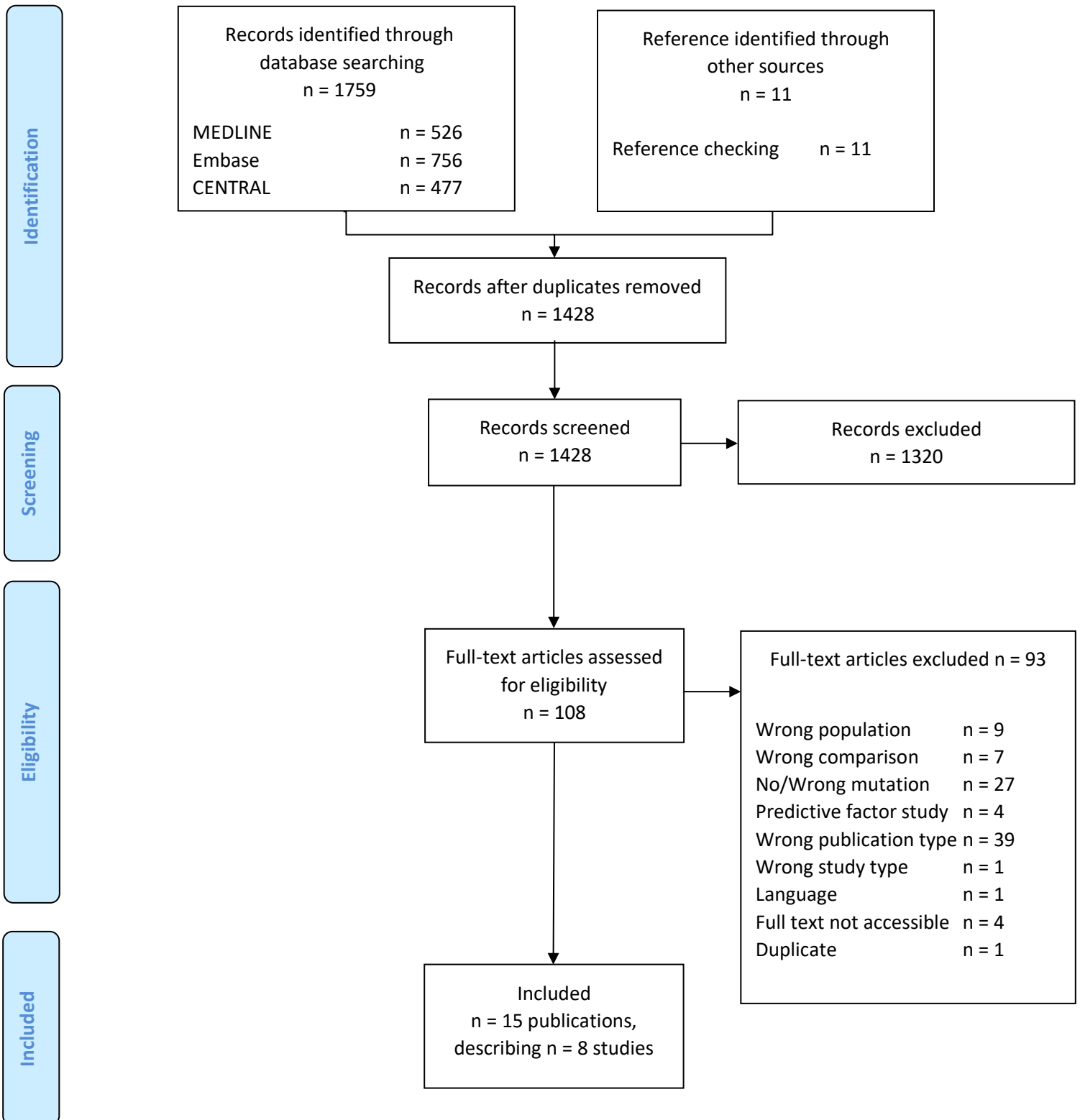
2A: PICO 1 en 2

Figuur. Study flow van de selectie van primaire onderzoeken betreffende het klinisch nut en de conordantie tussen breed testen en smal testen bij patiënten met stadium IIIb/IV NSCLC



2B: PICO 3

Figuur. Study flow van de selectie van primaire onderzoeken betreffende mutaties met een negatief voorspellende waarde voor effectiviteit van immunotherapie



Bijlage 3. Uitgesloten onderzoeken

3A: PICO 1 en 2

Uitgesloten studies betreffende het klinisch nut en de conordantie van breed testen en smal testen bij patiënten met stadium IIIb/IV NSCLC

Reference	Reason for exclusion
Aguado 2021 ¹	Wrong intervention
Ai 2021 ²	Wrong study type
Ali 2016 ³	Wrong population
Alidousty 2021 ⁴	Wrong population
Al-Turkmani 2020 ⁵	Wrong intervention
Ariyasu 2021 ⁶	Wrong intervention
Babayyan 2020 ⁷	Wrong intervention
Bai 2019 ⁸	Wrong intervention
Bartels 2017 ⁹	Wrong intervention
Becker 2013 ¹⁰	Wrong intervention
Belilovski 2017 ¹¹	No PDF
Benayed 2019 ¹²	Wrong population
Bessi 2020 ¹³	Wrong intervention
Bilusic 2021 ¹⁴	Wrong population
Bonanno 2020 ¹⁵	Wrong population
Bormann 2022 ¹⁶	Wrong study type
Borsu 2016 ¹⁷	Wrong population
Bustamante 2021 ¹⁸	Wrong intervention
Cabanillas 2017 ¹⁹	Wrong study type
Canterbury 2021 ²⁰	Wrong intervention
Cao 2019 ²¹	Wrong comparator
Cernomaz 2016 ²²	Wrong intervention
Chang 2019 ²³	Wrong study type
Chang 2021 ²⁴	Wrong study type
Chen 2019 ²⁵	No PDF
Chen 2020 ²⁶	Wrong intervention
Chen 2020 ²⁷	Wrong study type
Chen 2021 ²⁸	Wrong comparator
Chevalier 2020 ²⁹	No PDF
Chevrier 2014 ³⁰	Wrong intervention
Chong 2021 ³¹	Wrong study type
Clave 2019 ³²	Wrong intervention
Cohen 2020 ³³	Wrong intervention
Colling 2019 ³⁴	Wrong intervention
Couraud 2014 ³⁵	Wrong intervention
Cousin 2017 ³⁶	Wrong comparator

Reference	Reason for exclusion
Couto 2017 ³⁷	Wrong outcome
Dacic 2016 ³⁸	Wrong population
Dagogo-Jack 2018 ³⁹	Wrong intervention
Dalal 2018 ⁴⁰	Wrong intervention
Dall'Olio 2020 ⁴¹	Wrong intervention
de Biase 2020 ⁴²	Wrong intervention
De Luca 2018 ⁴³	Wrong intervention
DiBardino 2016 ⁴⁴	Wrong outcome
Drilon 2015 ⁴⁵	Wrong population
Endris 2013 ⁴⁶	Wrong intervention
Fassunke 2015 ⁴⁷	Wrong population
Fernandes 2021 ⁴⁸	Wrong intervention
Flaherty 2020 ⁴⁹	Wrong outcome
Francaviglia 2019 ⁵⁰	Wrong intervention
Freitas 2020 ⁵¹	Wrong intervention
Fu 2021 ⁵²	Wrong comparator
Fujita 2015 ⁵³	Wrong intervention
Fumagalli 2019 ⁵⁴	Wrong intervention
Gao 2016 ⁵⁵	No PDF
Gao 2021 ⁵⁶	No PDF
Garcia 2018 ⁵⁷	Wrong intervention
Garcia 2021 ⁵⁸	Wrong intervention
Garofalo 2016 ⁵⁹	Wrong population
Haiduk 2021 ⁶⁰	Wrong intervention
Hasmats 2014 ⁶¹	Wrong outcome
Hatakeyama 2018 ⁶²	Wrong population
Haynes 2019 ⁶³	Wrong intervention
He 2021 ⁶⁴	Wrong intervention
Heeke 2018 ⁶⁵	Wrong intervention
Hinrichs 2015 ⁶⁶	Wrong intervention
Huang 2019 ⁶⁷	Wrong intervention
Illei 2017 ⁶⁸	Wrong study type
Imperial 2019 ⁶⁹	Wrong comparator
Inoue 2017 ⁷⁰	Wrong intervention
Jiang 2018 ⁷¹	No PDF
Jiang 2020 ⁷²	Wrong intervention
Jin 2020 ⁷³	Wrong comparator
Jing 2018 ⁷⁴	Wrong intervention
Karnes 2014 ⁷⁵	Wrong intervention
Kim 2021 ⁷⁶	No PDF
Konig 2015 ⁷⁷	Wrong intervention

Reference	Reason for exclusion
Krug 2018 ⁷⁸	Wrong intervention
Kuang 2009 ⁷⁹	Wrong intervention
Lambert 2022 ⁸⁰	Wrong study type
Lambros 2017 ⁸¹	Wrong intervention
Lee 2021 ⁸²	Wrong intervention
Legras 2018 ⁸³	Wrong intervention
Letovanec 2018 ⁸⁴	Wrong intervention
Lettig 2019 ⁸⁵	Wrong intervention
Li 2018 ⁸⁶	Wrong population
Li 2019 ⁸⁷	Wrong intervention
Li 2021 ⁸⁸	Wrong population
Lin 2019 ⁸⁹	Wrong population
Linehan 2021 ⁹⁰	Wrong publication type
Liu 2018 ⁹¹	Wrong intervention
Lombardi 2020 ⁹²	Wrong intervention
Machado-Rugolo 2019 ⁹³	Wrong intervention
Malapelle 2015 ⁹⁴	Wrong intervention
Mao 2021 ⁹⁵	Wrong intervention
Marchetti 2012 ⁹⁶	Wrong population
Marchetti 2015 ⁹⁷	Wrong population
Marin 2020 ⁹⁸	Wrong intervention
Maxwell 2019 ⁹⁹	Wrong intervention
Mehta 2020 ¹⁰⁰	Wrong intervention
Mehta 2021 ¹⁰¹	Wrong intervention
Mellert 2021 ¹⁰²	Wrong intervention
Moskalev 2013 ¹⁰³	Wrong intervention
Moskalev 2014 ¹⁰⁴	Wrong intervention
Nagasaka 2021 ¹⁰⁵	Wrong study type
Nastase 2022 ¹⁰⁶	Wrong comparator
Nicolazzo 2021 ¹⁰⁷	Wrong intervention
Ohira 2016 ¹⁰⁸	Wrong intervention
Page 2022 ¹⁰⁹	Wrong outcome
Papadimitrakopoulou 2020 ¹¹⁰	Wrong population
Papadopoulou 2019 ¹¹¹	Wrong intervention
Park 2020 ¹¹²	Wrong intervention
Pecuchet 2016 ¹¹³	Wrong intervention
Peng 2021 ¹¹⁴	Wrong intervention
Pierry 2018 ¹¹⁵	Wrong intervention
Provencio 2019 ¹¹⁶	Wrong intervention
Ramos-Paradas 2021 ¹¹⁷	Wrong outcome
Reynolds 2017 ¹¹⁸	Wrong intervention

Reference	Reason for exclusion
Romero 2021 ¹¹⁹	Wrong intervention
Sakaguchi 2021 ¹²⁰	Wrong intervention
Sakai 2019 ¹²¹	Wrong intervention
Schubart 2021 ¹²²	Wrong intervention
Selvarajah 2021 ¹²³	Wrong intervention
Sepulveda-Hermosilla 2021 ¹²⁴	Wrong intervention
Serna-Blasco 2021 ¹²⁵	Wrong intervention
Seto 2020 ¹²⁶	Wrong intervention
Sharma 2021 ¹²⁷	Wrong intervention
So 2021 ¹²⁸	Wrong intervention
Song 2018 ¹²⁹	Wrong comparator
Song 2021 ¹³⁰	Wrong intervention
Steendam 2019 ¹³¹	Wrong population
Stitz 2021 ¹³²	Wrong intervention
Su 2017 ¹³³	Wrong population
Tachon 2019 ¹³⁴	Wrong intervention
Tan 2020 ¹³⁵	Wrong population
Tong 2018 ¹³⁶	Wrong intervention
Tran 2019 ¹³⁷	Wrong intervention
Vaclova 2021 ¹³⁸	Wrong intervention
Van Haele 2020 ¹³⁹	Wrong intervention
Vaughn 2018 ¹⁴⁰	Wrong intervention
Vendrell 2017 ¹⁴¹	Wrong intervention
Verlingue 2018 ¹⁴²	Wrong outcome
Vinayagamoorthy 2019 ¹⁴³	Wrong study type
Volckmar 2019 ¹⁴⁴	Wrong outcome
Won 2015 ¹⁴⁵	Wrong population
Xia 2021 ¹⁴⁶	Wrong intervention
Xu 2016 ¹⁴⁷	Wrong intervention
Xu 2017 ¹⁴⁸	Wrong intervention
Xu 2017 ¹⁴⁹	Wrong intervention
Yamamoto 2017 ¹⁵⁰	Wrong intervention
Yang 2021 ¹⁵¹	Wrong population
Yi 2021 ¹⁵²	Wrong study type
Zeng 2020 ¹⁵³	Wrong intervention
Zhang 2018 ¹⁵⁴	Wrong intervention
Zhang 2021 ¹⁵⁵	Wrong population
Zhao 2021 ¹⁵⁶	Wrong intervention
Zheng 2014 ¹⁵⁷	Wrong study type
Zhou 2019 ¹⁵⁸	Wrong intervention
Zhu 2019 ¹⁵⁹	Wrong study type

Referenties

1. Aguado C, Teixido C, Roman R, et al. Multiplex RNA-based detection of clinically relevant MET alterations in advanced non-small cell lung cancer. *Molecular Oncology* 2021;15(2):350-63. doi: <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12861>
2. Ai X, Cui J, Zhang J, et al. Clonal Architecture of EGFR Mutation Predicts the Efficacy of EGFR-Tyrosine Kinase Inhibitors in Advanced NSCLC: A Prospective Multicenter Study (NCT03059641). *Clinical Cancer Research* 2021;27(3):704-12. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-20-3063>
3. Ali SM, Hensing T, Schrock AB, et al. Comprehensive genomic profiling identifies a subset of Crizotinib-responsive ALK-rearranged non-small cell lung cancer not detected by fluorescence in situ hybridization. *Oncologist* 2016;21(6):762-70. doi: <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2015-0497>
4. Alidousty C, Duerbaum N, Wagener-Rydzek S, et al. Prevalence and potential biological role of TERT amplifications in ALK translocated adenocarcinoma of the lung. *Histopathology* 2021;78(4):578-85. doi: <https://doi.org/10.1111/his.14256>
5. Al-Turkmani MR, Suriawinata MA, Deharvengt SJ, et al. Rapid EGFR mutation testing in lung cancer tissue samples using a fully automated system and single-use cartridge. *Practical Laboratory Medicine* 2020;20:e00156. doi: <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2020.e00156>
6. Ariyasu R, Uchibori K, Ninomiya H, et al. Feasibility of next-generation sequencing test for patients with advanced NSCLC in clinical practice. *Thoracic Cancer* 2021;12(4):504-11. doi: <https://doi.org/10.1111/1759-7714.13786>
7. Babayan A, Neumann MHD, Herdean A, et al. Multicenter evaluation of independent high-throughput and RT-QPCR technologies for the development of analytical workflows for circulating miRNA analysis. *Cancers* 2020;12(5) doi: <https://doi.org/10.3390/cancers12051166>
8. Bai H, Xia J, Zhao X, et al. Detection of EGFR mutations using target capture sequencing in plasma of patients with non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Pathology* 2019;72(5):379-85. doi: <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2019-205699>
9. Bartels S, Persing S, Hasemeier B, et al. Molecular Analysis of Circulating Cell-Free DNA from Lung Cancer Patients in Routine Laboratory Practice: A Cross-Platform Comparison of Three Different Molecular Methods for Mutation Detection. *Journal of Molecular Diagnostics* 2017;19(5):722-32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2017.05.008>
10. Becker K, Vollbrecht C, Koitzsch U, et al. Deep ion sequencing of amplicon adapter ligated libraries: A novel tool in molecular diagnostics of formalin fixed and paraffin embedded tissues. *Journal of Clinical Pathology* 2013;66(9):803-06. doi: <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2013-201549>
11. Belilovski R, Ilouze M, Dudnik E, et al. [the Impact of Molecular Profiling Using Next-Generation Sequencing in Advanced Lung Cancer]. *Harefuah* 2017;156(11):686-91.
12. Benayed R, Offin M, Mullaney K, et al. High Yield of RNA Sequencing for Targetable Kinase Fusions in Lung Adenocarcinomas with No Mitogenic Driver Alteration Detected by DNA Sequencing and Low Tumor Mutation Burden. *Clinical Cancer Research* 2019;25(15):4712-22. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-19-0225>
13. Bessi S, Pepe F, Ottaviantonio M, et al. Comparison between two different next generation sequencing platforms for clinical relevant gene mutation test in solid tumours. *Journal of Clinical Pathology* 2020;73(9):602-04. doi: <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2019-206422>
14. Bilusic M, Girardi D, Zhou Y, et al. Molecular Profiling of Exceptional Responders to Cancer Therapy. *Oncologist* 2021;26(3):186-95. doi: <https://doi.org/10.1002/onco.13600>

15. Bonanno L, Pavan A, Ferro A, et al. Clinical Impact of Plasma and Tissue Next-Generation Sequencing in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: A Real-World Experience. *Oncologist* 2020;25(12):e1996-e2005. doi: <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2020-0148>
16. Bormann C, Lee J, Barritault M, et al. Evaluating Targeted Next-Generation Sequencing Assays and Reference Materials for NTRK Fusion Detection. *Journal of Molecular Diagnostics* 2022;24(1):18-32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2021.09.008>
17. Borsu L, Intriери J, Thampi L, et al. Clinical Application of Picodroplet Digital PCR Technology for Rapid Detection of EGFR T790M in Next-Generation Sequencing Libraries and DNA from Limited Tumor Samples. *Journal of Molecular Diagnostics* 2016;18(6):903-11. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2016.07.004>
18. Bustamante A, J G, Janse S, et al. Treatment of Non-Small-Cell Lung Cancer Based on Circulating Cell-Free DNA and Impact of Variation Allele Frequency. *Clinical Lung Cancer* 2021;22(4):e519-e27. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clc.2020.11.007>
19. Cabanillas R, Dineiro M, Castillo D, et al. A novel molecular diagnostics platform for somatic and germline precision oncology. *Molecular Genetics & Genomic Medicine* 2017;5(4):336-59. doi: <https://doi.org/10.1002/mgg3.291>
20. Canterbury CR, Fernandes H, Crapanzano JP, et al. ALK Gene Rearrangements in Lung Adenocarcinomas: Concordance of Immunohistochemistry, Fluorescence In Situ Hybridization, RNA In Situ Hybridization, and RNA Next-Generation Sequencing Testing. *JTO Clinical and Research Reports* 2021;2(10):100223. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtocrr.2021.100223>
21. Cao W, Yan C, Wang H, et al. Validity of an NGS-based multiple gene panel in identifying actionable mutations for patients with NSCLC in a Chinese hospital. *Oncology Letters* 2019;17(6):5425-34. doi: <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10265>
22. Cernomaz AT, Macovei, II, Pavel I, et al. Comparison of next generation sequencing, SNaPshot assay and real-time polymerase chain reaction for lung adenocarcinoma EGFR mutation assessment. *BMC Pulmonary Medicine* 2016;16(1):88. doi: <https://doi.org/10.1186/s12890-016-0250-0>
23. Chang H, Sasson A, Srinivasan S, et al. Bioinformatic Methods and Bridging of Assay Results for Reliable Tumor Mutational Burden Assessment in Non-Small-Cell Lung Cancer. *Molecular Diagnosis & Therapy* 2019;23(4):507-20. doi: <https://doi.org/10.1007/s40291-019-00408-y>
24. Chang JC, Offin M, Falcon C, et al. Comprehensive Molecular and Clinicopathologic Analysis of 200 Pulmonary Invasive Mucinous Adenocarcinomas Identifies Distinct Characteristics of Molecular Subtypes. *Clinical Cancer Research* 2021;27(14):4066-76. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-21-0423>
25. Chen LF, Chen XY, Lin J, et al. [The characteristics of lung adenocarcinoma driver gene variants detected by high-throughput sequencing and quantitative fluorescence PCR]. *Chung-Hua Ping Li Hsueh Tsa Chih - Chinese Journal of Pathology* 2019;48(10):772-78. doi: <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2019.10.005>
26. Chen L, Chen M, Lin J, et al. Identifying a wide range of actionable variants using capture-based ultra-deep targeted sequencing in treatment-naive patients with primary lung adenocarcinoma. *International Journal of Clinical & Experimental Pathology* 2020;13(3):525-35.
27. Chen Y, Zhang XC, Yan WQ, et al. Establishment and application of a method of next generation sequencing of 285 genes in lung cancer based on Ion-Proton platform. *Translational Cancer Research* 2020;9(7):4239-49. doi: <https://doi.org/10.21037/tcr-19-2855>
28. Chen Y, Yan W, Xie Z, et al. Comparative analysis of target gene exon sequencing by cognitive technology using a next generation sequencing platform in patients with lung cancer. *Molecular & Clinical Oncology* 2021;14(2):36. doi: <https://doi.org/10.3892/mco.2020.2198>

29. Chevalier LM, Billaud A, Passot C, et al. EGFR molecular characterization in non-small cell bronchic cancer: comparative prospective study by NGS and Idylla platform technologies. *Annales de Pathologie* 2020;40(5):389-400. doi: <https://doi.org/10.1016/j.annpat.2020.01.006>
30. Chevrier S, Arnould L, Ghiringhelli F, et al. Next-generation sequencing analysis of lung and colon carcinomas reveals a variety of genetic alterations. *International Journal of Oncology* 2014;45(3):1167-74. doi: <https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2528>
31. Chong W, Wang Z, Shang L, et al. Association of clock-like mutational signature with immune checkpoint inhibitor outcome in patients with melanoma and NSCLC. *Molecular Therapy Nucleic Acids* 2021;23:89-100. doi: <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2020.10.033>
32. Clave S, Rodon N, Pijuan L, et al. Next-generation Sequencing for ALK and ROS1 Rearrangement Detection in Patients With Non-small-cell Lung Cancer: Implications of FISH-positive Patterns. *Clinical Lung Cancer* 2019;20(4):e421-e29. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2019.02.008>
33. Cohen D, Hondelink LM, Solleveld-Westerink N, et al. Optimizing Mutation and Fusion Detection in NSCLC by Sequential DNA and RNA Sequencing. *Journal of Thoracic Oncology: Official Publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 2020;15(6):1000-14. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.01.019>
34. Colling R, Bancroft H, Langman G, et al. Fully automated real-time PCR for EGFR testing in non-small cell lung carcinoma. *Virchows Archiv* 2019;474(2):187-92. doi: <https://doi.org/10.1007/s00428-018-2486-y>
35. Couraud S, Vaca-Paniagua F, Villar S, et al. Noninvasive diagnosis of actionable mutations by deep sequencing of circulating free DNA in lung cancer from never-smokers: a proof-of-concept study from BioCAST/IFCT-1002. *Clinical Cancer Research* 2014;20(17):4613-24. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-13-3063>
36. Cousin S, Grellety T, Toulmonde M, et al. Clinical impact of extensive molecular profiling in advanced cancer patients. *Journal of hematology & oncology* 2017;10(1):45. doi: <https://doi.org/10.1186/s13045-017-0411-5>
37. Couto PP, Bastos-Rodrigues L, Schayek H, et al. Spectrum of germline mutations in smokers and non-smokers in Brazilian non-small-cell lung cancer (NSCLC) patients. *Carcinogenesis* 2017;38(11):1112-18. doi: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgx089>
38. Dacic S, Villaruz LC, Abberbock S, et al. ALK FISH patterns and the detection of ALK fusions by next generation sequencing in lung adenocarcinoma. *Oncotarget* 2016;7(50):82943-52. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12705>
39. Dagogo-Jack I, Azzolli CG, Fintelman F, et al. Clinical Utility of Rapid EGFR Genotyping in Advanced Lung Cancer. *JCO Precision Oncology* 2018:1-13. doi: <https://doi.org/10.1200/po.17.00299>
40. Dalal AA, Guerin A, Mutebi A, et al. Economic analysis of BRAF gene mutation testing in real world practice using claims data: costs of single gene versus panel tests in patients with lung cancer. *Journal of Medical Economics* 2018;21(7):649-55. doi: <https://doi.org/10.1080/13696998.2018.1450261>
41. Dall'Olio FG, Conci N, Rossi G, et al. Comparison of Sequential Testing and Next Generation Sequencing in advanced Lung Adenocarcinoma patients – A single centre experience. *Lung Cancer* 2020;149:5-9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2020.08.008>
42. de Biase D, Acquaviva G, Visani M, et al. Molecular Diagnostic of Solid Tumor Using a Next Generation Sequencing Custom-Designed Multi-Gene Panel. *Diagnostics* 2020;10(4):23. doi: <https://doi.org/10.3390/diagnostics10040250>
43. De Luca C, Rappa AG, Gragnano G, et al. Idylla assay and next generation sequencing: an integrated EGFR mutational testing algorithm. *Journal of Clinical Pathology* 2018;71(8):745-50. doi: <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2018-205197>

44. DiBardino DM, Saqi A, Elvin JA, et al. Yield and Clinical Utility of Next-Generation Sequencing in Selected Patients With Lung Adenocarcinoma. *Clinical Lung Cancer* 2016;17(6):517-22.e3. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2016.05.017>
45. Drilon A, Wang L, Arcila ME, et al. Broad, Hybrid Capture-Based Next-Generation Sequencing Identifies Actionable Genomic Alterations in Lung Adenocarcinomas Otherwise Negative for Such Alterations by Other Genomic Testing Approaches. *Clinical Cancer Research* 2015;21(16):3631-39. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-14-2683>
46. Endris V, Penzel R, Warth A, et al. Molecular diagnostic profiling of lung cancer specimens with a semiconductor-based massive parallel sequencing approach: feasibility, costs, and performance compared with conventional sequencing. *Journal of Molecular Diagnostics* 2013;15(6):765-75. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2013.06.002>
47. Fassunke J, Haller F, Hebele S, et al. Utility of different massive parallel sequencing platforms for mutation profiling in clinical samples and identification of pitfalls using FFPE tissue. *International Journal of Molecular Medicine* 2015;36(5):1233-43. doi: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2015.2339>
48. Fernandes MGO, Cruz-Martins N, Souto M, et al. Clinical Application of Next-Generation Sequencing of Plasma Cell-Free DNA for Genotyping Untreated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancers* 2021;13(11):30. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers13112707>
49. Flaherty KT, Gray RJ, Chen AP, et al. Molecular landscape and actionable alterations in a genomically guided cancer clinical trial: National cancer institute molecular analysis for therapy choice (NCI-MATCH). *Journal of Clinical Oncology* 2020;38(33):3883-94. doi: <https://doi.org/10.1200/jco.19.03010>
50. Francaviglia I, Magliacane G, Lazzari C, et al. Identification and monitoring of somatic mutations in circulating cell-free tumor DNA in lung cancer patients. *Lung Cancer* 2019;134:225-32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2019.06.010>
51. Freitas HC, Torrezan GT, Cunha IWD, et al. Mutational Portrait of Lung Adenocarcinoma in Brazilian Patients: Past, Present, and Future of Molecular Profiling in the Clinic. *Frontiers in Oncology* 2020;10:1068. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01068>
52. Fu J, Guo W, Yan C, et al. Combining targeted sequencing and ultra-low-pass whole-genome sequencing for accurate somatic copy number alteration detection. *Functional and Integrative Genomics* 2021;21(2):161-69. doi: <https://doi.org/10.1007/s10142-021-00767-y>
53. Fujita S, Masago K, Takeshita J, et al. Validation of an Ion Torrent Sequencing Platform for the Detection of Gene Mutations in Biopsy Specimens from Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer. *PLoS ONE [Electronic Resource]* 2015;10(6):e0130219. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130219>
54. Fumagalli C, Catania C, Ranghiero A, et al. Molecular Profile of Advanced Non-Small Cell Lung Cancers in Octogenarians: The Door to Precision Medicine in Elderly Patients. *Journal of Clinical Medicine* 2019;8(1):18. doi: <https://doi.org/10.3390/jcm8010112>
55. Gao J, Wu H, Shi X, et al. Comparison of Next-Generation Sequencing, Quantitative PCR, and Sanger Sequencing for Mutation Profiling of EGFR, KRAS, PIK3CA and BRAF in Clinical Lung Tumors. *Clinical Laboratory* 2016;62(4):689-96. doi: <https://doi.org/10.7754/clin.lab.2015.150837>
56. Gao Y, Huang F, Shen M, et al. Evaluation of different platform detection of cfDNA tumor mutation in patients with NSCLC. *Chinese Journal of Laboratory Medicine* 2021;44(10):948-55. doi: <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn114452-20210723-00450>
57. Garcia J, Forestier J, Dusserre E, et al. Cross-platform comparison for the detection of RAS mutations in cfDNA (ddPCR Biorad detection assay, BEAMing assay, and NGS strategy). *Oncotarget* 2018;9(30):21122-31. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24950>

58. Garcia J, Kamps-Hughes N, Geiguer F, et al. Sensitivity, specificity, and accuracy of a liquid biopsy approach utilizing molecular amplification pools. *Scientific Reports* 2021;11(1):10761. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89592-8>
59. Garofalo A, Sholl L, Reardon B, et al. The impact of tumor profiling approaches and genomic data strategies for cancer precision medicine. *Genome Medicine* 2016;8(1):79. doi: <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0333-9>
60. Haiduk T, Brockmann M, Tillmann RL, et al. Comparison of Biocartis IDYLLA TM cartridge assay with Qiagen GeneReader NGS for detection of targetable mutations in EGFR, KRAS/NRAS, and BRAF genes. *Experimental & Molecular Pathology* 2021;120:104634. doi: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2021.104634>
61. Hasmats J, Green H, Orear C, et al. Assessment of whole genome amplification for sequence capture and massively parallel sequencing. *PLoS ONE [Electronic Resource]* 2014;9(1):e84785. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084785>
62. Hatakeyama K, Nagashima T, Urakami K, et al. Tumor mutational burden analysis of 2,000 Japanese cancer genomes using whole exome and targeted gene panel sequencing. *Biomedical Research (Japan)* 2018;39(3):159-67. doi: <https://doi.org/10.2220/biomedres.39.159>
63. Haynes BC, Blidner RA, Cardwell RD, et al. An Integrated Next-Generation Sequencing System for Analyzing DNA Mutations, Gene Fusions, and RNA Expression in Lung Cancer. *Translational Oncology* 2019;12(6):836-45. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2019.02.012>
64. He C, Wei C, Wen J, et al. Comprehensive analysis of NGS and ARMS-PCR for detecting EGFR mutations based on 4467 cases of NSCLC patients. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 2021 doi: <https://doi.org/10.1007/s00432-021-03818-w>
65. Heeke S, Hofman V, Long-Mira E, et al. Use of the Ion PGM and the GeneReader NGS Systems in Daily Routine Practice for Advanced Lung Adenocarcinoma Patients: A Practical Point of View Reporting a Comparative Study and Assessment of 90 Patients. *Cancers* 2018;10(4):21. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers10040088>
66. Hinrichs JW, van Blokland WT, Moons MJ, et al. Comparison of next-generation sequencing and mutation-specific platforms in clinical practice. *American Journal of Clinical Pathology* 2015;143(4):573-78. doi: <https://doi.org/10.1309/ajcp40xetvyamjpy>
67. Huang H, Springborn S, Haug K, et al. Evaluation, Validation, and Implementation of the Idylla System as Rapid Molecular Testing for Precision Medicine. *Journal of Molecular Diagnostics* 2019;21(5):862-72. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2019.05.007>
68. Illei PB, Belchis D, Tseng LH, et al. Clinical mutational profiling of 1006 lung cancers by next generation sequencing. *Oncotarget* 2017;8(57):96684-96. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18042>
69. Imperial R, Nazer M, Ahmed Z, et al. Matched Whole-Genome Sequencing (WGS) and Whole-Exome Sequencing (WES) of Tumor Tissue with Circulating Tumor DNA (ctDNA) Analysis: Complementary Modalities in Clinical Practice. *Cancers* 2019;11(9):19. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers11091399>
70. Inoue Y, Shiihara J, Miyazawa H, et al. A highly specific and sensitive massive parallel sequencer-based test for somatic mutations in non-small cell lung cancer. *PLoS ONE [Electronic Resource]* 2017;12(4):e0176525. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176525>
71. Jiang RR, Wang YJ, Teng XD, et al. [Comparison of different massive parallel sequencing platforms for mutation profiling in formalin-fixed and paraffin-embedded samples]. *Chung-Hua Ping Li Hsueh Tsa Chih - Chinese Journal of Pathology* 2018;47(8):591-96. doi: <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2018.08.005>

72. Jiang R, Zhang B, Teng X, et al. Validating a targeted next-generation sequencing assay and profiling somatic variants in Chinese non-small cell lung cancer patients. *Scientific Reports* 2020;10(1):2070. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58819-5>
73. Jin S, Zhou C, Hou X, et al. A multicenter real-world study of tumor-derived DNA from pleural effusion supernatant in genomic profiling of advanced lung cancer. *Translational Lung Cancer Research* 2020;9(4):1507-15. doi: <https://doi.org/10.21037/tlcr-20-882>
74. Jing C, Mao X, Wang Z, et al. Next-generation sequencing-based detection of EGFR, KRAS, BRAF, NRAS, PIK3CA, Her-2 and TP53 mutations in patients with non-small cell lung cancer. *Molecular Medicine Reports* 2018;18(2):2191-97. doi: <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9210>
75. Karnes HE, Duncavage EJ, Bernadt CT. Targeted next-generation sequencing using fine-needle aspirates from adenocarcinomas of the lung. *Cancer Cytopathology* 2014;122(2):104-13. doi: <https://doi.org/10.1002/cncy.21361>
76. Kim SW, Do SI, Na K. External Validation of ALK and ROS1 Fusions Detected Using an Oncomine Comprehensive Assay. *Anticancer Research* 2021;41(9):4609-17. doi: <https://doi.org/10.21873/anticancer.15274>
77. Konig K, Peifer M, Fassunke J, et al. Implementation of Amplicon Parallel Sequencing Leads to Improvement of Diagnosis and Therapy of Lung Cancer Patients. *Journal of Thoracic Oncology: Official Publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 2015;10(7):1049-57. doi: <https://doi.org/10.1097/jto.0000000000000570>
78. Krug AK, Enderle D, Karlovich C, et al. Improved EGFR mutation detection using combined exosomal RNA and circulating tumor DNA in NSCLC patient plasma. *Annals of Oncology* 2018;29(3):700-06. doi: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx765>
79. Kuang Y, Rogers A, Yeap BY, et al. Noninvasive detection of EGFR T790M in gefitinib or erlotinib resistant non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research* 2009;15(8):2630-36. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-08-2592>
80. Lambert SL, Zhang C, Guo C, et al. Association of Baseline and Pharmacodynamic Biomarkers With Outcomes in Patients Treated With the PD-1 Inhibitor Bupimab. *Journal of Immunotherapy* 2022;17:17. doi: <https://doi.org/10.1097/cji.0000000000000408>
81. Lambros L, Caumont C, Guibourg B, et al. Evaluation of a fast and fully automated platform to diagnose EGFR and KRAS mutations in formalin-fixed and paraffin-embedded non-small cell lung cancer samples in less than one day. *Journal of Clinical Pathology* 2017;70(6):544-49. doi: <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2016-204202>
82. Lee E, Jones V, Topkas E, et al. Reduced sensitivity for EGFR T790M mutations using the Idylla EGFR Mutation Test. *Journal of Clinical Pathology* 2021;74(1):43-47. doi: <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2020-206527>
83. Legras A, Barritault M, Tallet A, et al. Validity of Targeted Next-Generation Sequencing in Routine Care for Identifying Clinically Relevant Molecular Profiles in Non-Small-Cell Lung Cancer: Results of a 2-Year Experience on 1343 Samples. *Journal of Molecular Diagnostics* 2018;20(4):550-64. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2018.04.002>
84. Letovanec I, Finn S, Zygoura P, et al. Evaluation of NGS and RT-PCR Methods for ALK Rearrangement in European NSCLC Patients: Results from the European Thoracic Oncology Platform Lungscape Project. *Journal of Thoracic Oncology: Official Publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 2018;13(3):413-25. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2017.11.117>
85. Lettig L, Sahnane N, Pepe F, et al. EGFR T790M detection rate in lung adenocarcinomas at baseline using droplet digital PCR and validation by ultra-deep next generation sequencing. *Translational Lung Cancer Research* 2019;8(5):584-92. doi: <https://doi.org/10.21037/tlcr.2019.09.18>

86. Li BT, Shen R, Buonocore D, et al. Ado-Trastuzumab Emtansine for Patients With HER2-Mutant Lung Cancers: Results From a Phase II Basket Trial. *Journal of Clinical Oncology* 2018;36(24):2532-37. doi: <https://doi.org/10.1200/jco.2018.77.9777>
87. Li J, Gan S, Blair A, et al. A Highly Verified Assay for KRAS Mutation Detection in Tissue and Plasma of Lung, Colorectal, and Pancreatic Cancer. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 2019;143(2):183-89. doi: <https://doi.org/10.5858/arpa.2017-0471-oa>
88. Li J, Zhang B, Zhang Y, et al. Concomitant mutation status of ALK-rearranged non-small cell lung cancers and its prognostic impact on patients treated with crizotinib. *Translational Lung Cancer Research* 2021;10(3):1525-35. doi: <https://doi.org/10.21037/tlcr-21-160>
89. Lin C, Shi X, Yang S, et al. Comparison of ALK detection by FISH, IHC and NGS to predict benefit from crizotinib in advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2019;131:62-68. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2019.03.018>
90. Linehan A, O'Reilly M, Lynch E, et al. 104 Comparison of immunohistochemistry and polymerase chain reaction for single gene vs multigene panel with next generation sequencing for identifying targetable mutations in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2021;156:S43-S44. doi: [https://doi.org/10.1016/s0169-5002\(21\)00302-0](https://doi.org/10.1016/s0169-5002(21)00302-0)
91. Liu L, Shao D, Deng Q, et al. Next generation sequencing-based molecular profiling of lung adenocarcinoma using pleural effusion specimens. *Journal of Thoracic Disease* 2018;10(5):2631-37. doi: <https://doi.org/10.21037/jtd.2018.04.125>
92. Lombardi A, Russo M, Luce A, et al. Comparative Study of NGS Platform Ion Torrent Personal Genome Machine and Therascreen Rotor-Gene Q for the Detection of Somatic Variants in Cancer. *Highthroughput* 2020;9(1):11. doi: <https://doi.org/10.3390/ht9010004>
93. Machado-Rugolo J, Fabro AT, Ascheri D, et al. Usefulness of complementary next-generation sequencing and quantitative immunohistochemistry panels for predicting brain metastases and selecting treatment outcomes of non-small cell lung cancer. *Human Pathology* 2019;83:177-91. doi: <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2018.08.026>
94. Malapelle U, Vigliar E, Sgariglia R, et al. Ion Torrent next-generation sequencing for routine identification of clinically relevant mutations in colorectal cancer patients. *Journal of Clinical Pathology* 2015;68(1):64-68. doi: <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2014-202691>
95. Mao L, Zhao W, Li X, et al. Mutation Spectrum of EGFR From 21,324 Chinese Patients With Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Successfully Tested by Multiple Methods in a CAP-Accredited Laboratory. *Pathology Oncology Research* 2021;27:602726. doi: <https://doi.org/10.3389/pore.2021.602726>
96. Marchetti A, Del Grammastro M, Filice G, et al. Complex mutations & subpopulations of deletions at exon 19 of EGFR in NSCLC revealed by next generation sequencing: potential clinical implications. *PLoS ONE [Electronic Resource]* 2012;7(7):e42164. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042164>
97. Marchetti A, Palma JF, Felicioni L, et al. Early Prediction of Response to Tyrosine Kinase Inhibitors by Quantification of EGFR Mutations in Plasma of NSCLC Patients. *Journal of Thoracic Oncology: Official Publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 2015;10(10):1437-43. doi: <https://doi.org/10.1097/jto.0000000000000643>
98. Marin E, Reyes R, Arcocha A, et al. Prospective evaluation of single nucleotide variants by two different technologies in paraffin samples of advanced non-small cell lung cancer patients. *Diagnostics* 2020;10(11):03. doi: <https://doi.org/10.3390/diagnostics10110902>
99. Maxwell P, Hynes SO, Fuchs M, et al. Practical guide for the comparison of two next-generation sequencing systems for solid tumour analysis in a universal healthcare system. *Journal of Clinical Pathology* 2019;72(3):225-31. doi: <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2017-204917>

100. Mehta A, Vasudevan S, Sharma SK, et al. Biomarker testing for advanced lung cancer by next-generation sequencing; A valid method to achieve a comprehensive glimpse at mutational landscape. *Applied Cancer Research* 2020;40(1) doi: <https://doi.org/10.1186/s41241-020-00089-8>
101. Mehta A, Kumar S, Kumar D, et al. Plasma biopsy by Tag-sequencing: an acceptable alternative to tumor tissue profiling in non-small-cell lung cancer. *Polish Journal of Pathology* 2021;72(2):117-25. doi: <https://doi.org/10.5114/pjp.2021.109514>
102. Mellert H, Reese J, Jackson L, et al. Targeted Next-Generation Sequencing of Liquid Biopsy Samples from Patients with NSCLC. *Diagnostics* 2021;11(2):21. doi: <https://doi.org/10.3390/diagnostics11020155>
103. Moskalev EA, Stohr R, Rieker R, et al. Increased detection rates of EGFR and KRAS mutations in NSCLC specimens with low tumour cell content by 454 deep sequencing. *Virchows Archiv* 2013;462(4):409-19. doi: <https://doi.org/10.1007/s00428-013-1376-6>
104. Moskalev EA, Frohnauer J, Merkelbach-Bruse S, et al. Sensitive and specific detection of EML4-ALK rearrangements in non-small cell lung cancer (NSCLC) specimens by multiplex amplicon RNA massive parallel sequencing. *Lung Cancer* 2014;84(3):215-21. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2014.03.002>
105. Nagasaka M, Asad MFB, Al Hallak MN, et al. Impact of XPO1 mutations on survival outcomes in metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2021;160:92-98. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2021.08.010>
106. Nastase A, Dima SO, Lupo A, et al. Molecular Markers for Long-term Survival in Stage IIIA (N2) NSCLC Patients. *Cancer Genomics & Proteomics* 2022;19(1):94-104. doi: <https://doi.org/10.21873/cgp.20306>
107. Nicolazzo C, Gelibter A, Bottillo I, et al. Comparison of two blood-based genotyping tests to investigate the KRAS G12C mutation in patients with non-small-cell lung cancer at failure of first-line treatments. *Diagnostics* 2021;11(12) doi: <https://doi.org/10.3390/diagnostics11122196>
108. Ohira T, Sakai K, Matsubayashi J, et al. Tumor volume determines the feasibility of cell-free DNA sequencing for mutation detection in non-small cell lung cancer. *Cancer Science* 2016;107(11):1660-66. doi: <https://doi.org/10.1111/cas.13068>
109. Page RD, Drusbosky LM, Dada H, et al. Clinical Outcomes for Plasma-Based Comprehensive Genomic Profiling Versus Standard-of-Care Tissue Testing in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical Lung Cancer* 2022;23(1):72-81. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clc.2021.10.001>
110. Papadimitrakopoulou VA, Han JY, Ahn MJ, et al. Epidermal growth factor receptor mutation analysis in tissue and plasma from the AURA3 trial: Osimertinib versus platinum-pemetrexed for T790M mutation-positive advanced non-small cell lung cancer. *Cancer* 2020;126(2):373-80. doi: <https://doi.org/10.1002/cncr.32503>
111. Papadopoulou E, Tsoulos N, Tsantikidi K, et al. Clinical feasibility of NGS liquid biopsy analysis in NSCLC patients. *PLoS ONE [Electronic Resource]* 2019;14(12):e0226853. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226853>
112. Park E, Shim HS. Detection of Targetable Genetic Alterations in Korean Lung Cancer Patients: A Comparison Study of Single-Gene Assays and Targeted Next-Generation Sequencing. *Cancer Research & Treatment* 2020;52(2):543-51. doi: <https://doi.org/10.4143/crt.2019.305>
113. Pecuchet N, Zonta E, Didelot A, et al. Base-Position Error Rate Analysis of Next-Generation Sequencing Applied to Circulating Tumor DNA in Non-Small Cell Lung Cancer: A Prospective Study. *PLoS Medicine / Public Library of Science* 2016;13(12):e1002199. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002199>

114. Peng LX, Jie GL, Li AN, et al. MET amplification identified by next-generation sequencing and its clinical relevance for MET inhibitors. *Experimental Hematology & Oncology* 2021;10(1):52. doi: <https://doi.org/10.1186/s40164-021-00245-y>
115. Pierry C, Caumont C, Blanchard E, et al. Assessment of BRAF^{V600E} mutation in pulmonary Langerhans cell histiocytosis in tissue biopsies and bronchoalveolar lavages by droplet digital polymerase chain reaction. *Virchows Archiv* 2018;472(2):247-58. doi: <https://doi.org/10.1007/s00428-017-2185-0>
116. Provencio M, Pérez-Barríos C, Barquin M, et al. Next-generation sequencing for tumor mutation quantification using liquid biopsies. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2019:306-13. doi: <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0745>
117. Ramos-Paradas J, Hernandez-Prieto S, Lora D, et al. Tumor mutational burden assessment in non-small-cell lung cancer samples: results from the TMB² harmonization project comparing three NGS panels. *Journal for Immunotherapy of Cancer* 2021;9(5):05. doi: <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-001904>
118. Reynolds JP, Zhou Y, Jakubowski MA, et al. Next-generation sequencing of liquid-based cytology non-small cell lung cancer samples. *Cancer Cytopathology* 2017;125(3):178-87. doi: <https://doi.org/10.1002/cncy.21812>
119. Romero A, Jantus-Lewintre E, Garcia-Pelaez B, et al. Comprehensive cross-platform comparison of methods for non-invasive EGFR mutation testing: results of the RING observational trial. *Molecular Oncology* 2021;15(1):43-56. doi: <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12832>
120. Sakaguchi T, Iketani A, Furuhashi K, et al. Comparison of the analytical performance between the OncoPrint Dx Target Test and a conventional single gene test for epidermal growth factor receptor mutation in non-small cell lung cancer. *Thoracic Cancer* 2021;12(4):462-67. doi: <https://doi.org/10.1111/1759-7714.13767>
121. Sakai K, Ohira T, Matsubayashi J, et al. Performance of OncoPrint Fusion Transcript kit for formalin-fixed, paraffin-embedded lung cancer specimens. *Cancer Science* 2019;110(6):2044-49. doi: <https://doi.org/10.1111/cas.14016>
122. Schubart C, Stohr R, Togel L, et al. MET Amplification in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)-A Consecutive Evaluation Using Next-Generation Sequencing (NGS) in a Real-World Setting. *Cancers* 2021;13(19):07. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers13195023>
123. Selvarajah S, Plante S, Speevak M, et al. A Pan-Canadian Validation Study for the Detection of EGFR T790M Mutation Using Circulating Tumor DNA From Peripheral Blood. *JTO Clinical and Research Reports* 2021;2(8):100212. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtocrr.2021.100212>
124. Sepulveda-Hermosilla G, Freire M, Blanco A, et al. Concordance Analysis of ALK Gene Fusion Detection Methods in Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer from Chile, Brazil, and Peru. *Journal of Molecular Diagnostics* 2021;23(9):1127-37. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2021.05.018>
125. Serna-Blasco R, Sanchez-Herrero E, Berrocal Renedo M, et al. R-Score: A New Parameter to Assess the Quality of Variants' Calls Assessed by NGS Using Liquid Biopsies. *Biology* 2021;10(10):24. doi: <https://doi.org/10.3390/biology10100954>
126. Seto K, Masago K, Fujita S, et al. Targeted RNA sequencing with touch imprint cytology samples for non-small cell lung cancer patients. *Thoracic Cancer* 2020;11(7):1827-34. doi: <https://doi.org/10.1111/1759-7714.13460>
127. Sharma S, Satapathy A, Aggarwal A, et al. Comparison of epidermal growth factor receptor mutation detection turnaround times and concordance among real-time polymerase chain reaction, high-throughput next-generation sequencing and the Biocartis Idylla TM platforms in non-small cell lung carcinomas. *Pathology, Research & Practice* 2021;220:153394. doi: <https://doi.org/10.1016/j.prp.2021.153394>

128. So MK, Park JH, Kim JW, et al. Analytical Validation of a Pan-Cancer Panel for Cell-Free Assay for the Detection of EGFR Mutations. *Diagnostics* 2021;11(6):02. doi: <https://doi.org/10.3390/diagnostics11061022>
129. Song Z, Cheng G, Xu C, et al. Clinicopathological characteristics of POLE mutation in patients with non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2018;118:57-61. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2018.02.004>
130. Song P, Chen SX, Yan YH, et al. Selective multiplexed enrichment for the detection and quantitation of low-fraction DNA variants via low-depth sequencing. *Nature Biomedical Engineering* 2021;5(7):690-701. doi: <https://doi.org/10.1038/s41551-021-00713-0>
131. Steendam CMJ, Atmodimedjo P, De Jonge E, et al. Plasma cell-free DNA testing of patients with EGFR mutant non-small-cell lung cancer: Droplet digital PCR versus next-generation sequencing compared with tissue-based results. *JCO Precision Oncology* 2019;3:1-9. doi: <https://doi.org/10.1200/po.18.00401>
132. Stitz R, Buder A, Silye R, et al. Validation of a next-generation sequencing assay for the detection of EGFR mutations in cell-free circulating tumor DNA. *Experimental & Molecular Pathology* 2021;123:104685. doi: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2021.104685>
133. Su D, Zhang D, Chen K, et al. High performance of targeted next generation sequencing on variance detection in clinical tumor specimens in comparison with current conventional methods. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 2017;36(1):121. doi: <https://doi.org/10.1186/s13046-017-0591-4>
134. Tachon G, Cortes U, Richard S, et al. Targeted RNA-sequencing assays: a step forward compared to FISH and IHC techniques? *Cancer Medicine* 2019;8(18):7556-66. doi: <https://doi.org/10.1002/cam4.2599>
135. Tan AC, Seet AOL, Lai GGY, et al. Molecular Characterization and Clinical Outcomes in RET-Rearranged NSCLC. *Journal of Thoracic Oncology: Official Publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 2020;15(12):1928-34. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.08.011>
136. Tong Y, Zhao Z, Liu B, et al. 5'/ 3' imbalance strategy to detect ALK fusion genes in circulating tumor RNA from patients with non-small cell lung cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 2018;37(1):68. doi: <https://doi.org/10.1186/s13046-018-0735-1>
137. Tran LS, Pham HT, Tran VU, et al. Ultra-deep massively parallel sequencing with unique molecular identifier tagging achieves comparable performance to droplet digital PCR for detection and quantification of circulating tumor DNA from lung cancer patients. *PLoS ONE [Electronic Resource]* 2019;14(12):e0226193. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226193>
138. Václavová T, Grazini U, Ward L, et al. Clinical impact of subclonal EGFR T790M mutations in advanced-stage EGFR-mutant non-small-cell lung cancers. *Nature communications* 2021;12(1):1780. doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22057-8>
139. Van Haele M, Vander B, Ceulemans A, et al. Rapid clinical mutational testing of KRAS, BRAF and EGFR: a prospective comparative analysis of the Idylla technique with high-throughput next-generation sequencing. *Journal of Clinical Pathology* 2020;73(1):35-41. doi: <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2019-205970>
140. Vaughn CP, Costa JL, Feilotter HE, et al. Simultaneous detection of lung fusions using a multiplex RT-PCR next generation sequencing-based approach: a multi-institutional research study. *BMC Cancer* 2018;18(1):828. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4736-4>
141. Vendrell JA, Taviaux S, Beganton B, et al. Detection of known and novel ALK fusion transcripts in lung cancer patients using next-generation sequencing approaches. *Scientific Reports* 2017;7(1):12510. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12679-8>

142. Verlingue L, Hollebecque A, Lacroix L, et al. Human epidermal receptor family inhibitors in patients with ERBB3 mutated cancers: Entering the back door. *European Journal of Cancer* 2018;92:1-10. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.12.020>
143. Vinayagamoorthy D, Walsh J, Gipson K, et al. Detecting EGFR mutations (L858R, T790M) using allele specific multiplex sequencing: A comparison with Pyrosequencing and TruSeq. *Journal of Solid Tumors* 2019;10(1):19-24. doi: <https://doi.org/10.5430/jst.v10n1p19>
144. Volckmar AL, Leichsenring J, Kirchner M, et al. Combined targeted DNA and RNA sequencing of advanced NSCLC in routine molecular diagnostics: Analysis of the first 3,000 Heidelberg cases. *International Journal of Cancer* 2019;145(3):649-61. doi: <https://doi.org/10.1002/ijc.32133>
145. Won JK, Keam B, Koh J, et al. Concomitant ALK translocation and EGFR mutation in lung cancer: a comparison of direct sequencing and sensitive assays and the impact on responsiveness to tyrosine kinase inhibitor. *Annals of Oncology* 2015;26(2):348-54. doi: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu530>
146. Xia P, Zhang L, Li P, et al. Molecular characteristics and clinical outcomes of complex ALK rearrangements identified by next-generation sequencing in non-small cell lung cancers. *Journal of Translational Medicine* 2021;19(1):308. doi: <https://doi.org/10.1186/s12967-021-02982-4>
147. Xu X, Yang Y, Li H, et al. Assessment of the clinical application of detecting EGFR, KRAS, PIK3CA and BRAF mutations in patients with non-small cell lung cancer using next-generation sequencing. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 2016;76(5):386-92. doi: <https://doi.org/10.1080/00365513.2016.1183813>
148. Xu T, Kang X, You X, et al. Cross-Platform Comparison of Four Leading Technologies for Detecting EGFR Mutations in Circulating Tumor DNA from Non-Small Cell Lung Carcinoma Patient Plasma. *Theranostics* 2017;7(6):1437-46. doi: <https://doi.org/10.7150/thno.16558>
149. Xu X, Li N, Zhao R, et al. Targeted next-generation sequencing for analyzing the genetic alterations in atypical adenomatous hyperplasia and adenocarcinoma in situ. *Journal of Cancer Research & Clinical Oncology* 2017;143(12):2447-53. doi: <https://doi.org/10.1007/s00432-017-2500-9>
150. Yamamoto G, Kikuchi M, Kobayashi S, et al. Routine genetic testing of lung cancer specimens derived from surgery, bronchoscopy and fluid aspiration by next generation sequencing. *International Journal of Oncology* 2017;50(5):1579-89. doi: <https://doi.org/10.3892/ijo.2017.3935>
151. Yang SR, Aypar U, Rosen EY, et al. A Performance Comparison of Commonly Used Assays to Detect RET Fusions. *Clinical Cancer Research* 2021;27(5):1316-28. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-20-3208>
152. Yi Y, Qiu Z, Yao Z, et al. CAMSAP1 Mutation Correlates With Improved Prognosis in Small Cell Lung Cancer Patients Treated With Platinum-Based Chemotherapy. *Frontiers in Cell & Developmental Biology* 2021;9:770811. doi: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.770811>
153. Zeng L, Li Y, Xu Q, et al. Comparison of Next-Generation Sequencing and Ventana Immunohistochemistry in Detecting ALK Rearrangements and Predicting the Efficacy of First-Line Crizotinib in Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *OncoTargets and therapy* 2020;13:7101-09. doi: <https://doi.org/10.2147/ott.s265974>
154. Zhang Y, Li J, Hua P, et al. Targeted next-generation sequencing in cytology specimens for molecular profiling of lung adenocarcinoma. *International Journal of Clinical & Experimental Pathology* 2018;11(7):3647-55.
155. Zhang Y, Xiong L, Xie F, et al. Next-generation sequencing of tissue and circulating tumor DNA: Resistance mechanisms to EGFR targeted therapy in a cohort of patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cancer Medicine* 2021;10(14):4697-709. doi: <https://doi.org/10.1002/cam4.3948>

156. Zhao S, Zhang Z, Zhan J, et al. Utility of comprehensive genomic profiling in directing treatment and improving patient outcomes in advanced non-small cell lung cancer. *BMC Medicine* 2021;19(1):223. doi: <https://doi.org/10.1186/s12916-021-02089-z>
157. Zheng Z, Liebers M, Zhelyazkova B, et al. Anchored multiplex PCR for targeted next-generation sequencing. *Nature Medicine* 2014;20(12):1479-84. doi: <https://doi.org/10.1038/nm.3729>
158. Zhou S, Wang H, Jiang W, et al. Clinicopathological Characteristics And EGFR-TKIs Efficacies In Lung Squamous Cell Carcinoma Patients Harboring An EGFR Sensitizing Mutation. *Oncotargets and therapy* 2019;12:8863-71. doi: <https://doi.org/10.2147/ott.s225760>
159. Zhu J, Zhao Y, Liu M, et al. Developing a New qPCR-Based System for Screening Mutation. *SMALL* 2019;15(9):e1805285. doi: <https://doi.org/10.1002/smll.201805285>

3B: PICO 3

Uitgesloten studies betreffende mutaties met een negatief voorspellende waarde voor effectiviteit van immunotherapie

Reference	Reason for exclusion
[no authors specified] 2014 ¹	Wrong publication type
[no authors specified] 2014 ²	No PDF
[no authors specified] 2018 ³	Wrong publication type
[no authors specified] 2019 ⁴	Wrong publication type
[no authors specified] 2019 ⁵	No PDF
Abdel-Rahman 2018 ⁶	Wrong publication type
Akamatsu 2021 ⁷	Wrong mutation
Arrieta 2020 ⁸	Wrong mutation
Ba 2021 ⁹	Wrong publication type
Batson 2017 ¹⁰	Wrong mutation
Blumenthal 2019 ¹¹	Wrong mutation
Brahmer 2015 ¹²	No/wrong mutation
Cabezon-Gutierrez 2021 ¹³	Predictive factor study
Chaft 2013 ¹⁴	Wrong population
Chen 2018 ¹⁵	Wrong language
Chen 2019 ¹⁶	Wrong publication type
Curioni-Fontecedro 2019 ¹⁷	No PDF
Dingemans 2019 ¹⁸	No PDF
Dingemans 2021 ¹⁹	Wrong publication type
Fehrenbacher 2016 ²⁰	No/wrong mutation
Ferrara 2020 ²¹	Wrong publication type
Forde 2021 ²²	Wrong publication type
Fukuhara 2020 ²³	Wrong mutation
Furuya 2018 ²⁴	Wrong publication type
Gadgeel 2019 ²⁵	Wrong publication type
Gadgeel 2020 ²⁶	Wrong publication type
Galvano 2021 ²⁷	Wrong publication type
Garassino 2019 ²⁸	Wrong publication type
Griesinger 2017 ²⁹	Wrong publication type
Hayashi 2022 ³⁰	Wrong mutation
Hayashi 2022 ³¹	Duplicate
Hellmann 2018 ³²	Wrong publication type
Herbst 2019 ³³	Wrong publication type
Herbst 2020 ³⁴	Wrong publication type
Honda 2018 ³⁵	Wrong publication type
Huang 2018 ³⁶	Wrong publication type
Jiang 2021 ³⁷	Wrong mutation
Kabbinavar 2014 ³⁸	Both arms immunotherapy

Kawashima 2018 ³⁹	Wrong publication type
Kawashima 2021 ⁴⁰	Wrong mutation
Khan 2018 ⁴¹	Wrong publication type
Kim 2017 ⁴²	Wrong publication type
Kitagawa 2019 ⁴³	Wrong mutation
Kozuki 2020 ⁴⁴	Wrong mutation
Kuo 2022 ⁴⁵	Wrong mutation
Landre 2020 ⁴⁶	Wrong mutation
Landre 2021 ⁴⁷	Wrong publication type
Leighl 2022 ⁴⁸	Both arms immunotherapy
Li 2019 ⁴⁹	Wrong mutation
Liang 2016 ⁵⁰	Wrong publication type
Liu 2018 ⁵¹	Wrong publication type
Liu 2019 ⁵²	Predictive factor study
Liu 2020 ⁵³	Wrong mutation
Liu 2021 ⁵⁴	Wrong population
Lopes 2018 ⁵⁵	Wrong publication type
Marinelli 2020 ⁵⁶	Predictive factor study
Melosky 2016 ⁵⁷	Wrong mutation
Melosky 2020 ⁵⁸	Wrong mutation
Mok 2019 ⁵⁹	No/wrong mutation
Ninomiya 2021 ⁶⁰	Wrong mutation
Owonikoko 2021 ⁶¹	Wrong population
Park 2018 ⁶²	Wrong publication type
Peters 2017 ⁶³	Wrong publication type
Piccirillo 2021 ⁶⁴	Wrong publication type
Qian 2020 ⁶⁵	Wrong mutation
Reck 2016 ⁶⁶	No/wrong mutation
Reck 2019 ⁶⁷	Wrong publication type
Reck 2020 ⁶⁸	Wrong publication type
Redman 2020 ⁶⁹	Wrong mutation
Rizvi 2019 ⁷⁰	Wrong publication type
Seto 2014 ⁷¹	Wrong mutation
Socinski 2018 ⁷²	Wrong comparison
Soo 2022 ⁷³	Wrong population
Stinchcombe 2019 ⁷⁴	Wrong population
Tan 2017 ⁷⁵	No immunotherapy
Toi 2020 ⁷⁶	Wrong publication type
Wang 2018 ⁷⁷	Wrong mutation
Wang 2020 ⁷⁸	Wrong publication type
West 2019 ⁷⁹	Wrong mutation
Willis 2019 ⁸⁰	Predictive factor study

Xu 2021 ⁸¹	Wrong publication type
Yamamoto 2021 ⁸²	Wrong population
Yang 2021 ⁸³	Wrong mutation
Yu 2019 ⁸⁴	Wrong study type
Zhang 2019 ⁸⁵	Wrong population
Zhang 2021 ⁸⁶	Wrong publication type
Zhang 2022 ⁸⁷	Wrong publication type
Zhao 2018 ⁸⁸	No immunotherapy
Zhao 2019 ⁸⁹	Wrong population
Zhao 2021 ⁹⁰	Wrong publication type
Zhou 2015 ⁹¹	No immunotherapy
Zhou 2020 ⁹²	No immunotherapy
Zhou 2021 ⁹³	Wrong population

References

1. Correction to Erlotinib alone or with bevacizumab as first-line therapy in patients with advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (JO25567): An open-label, randomised, multicentre, phase 2 study [Lancet Oncol (2014), 15, 1239-44]. *The Lancet Oncology* 2014;15(11):e475. doi: [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(14\)70506-6](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(14)70506-6)
2. Erlotinib plus bevacizumab is effective in EGFR-mutant NSCLC. *Cancer Discovery* 2014;4(11):OF18. doi: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-rw2014-194>
3. Corrections: Erlotinib and bevacizumab in patients with advanced non-small-cell lung cancer and activating EGFR mutations (BELIEF): an international, multicentre, single-arm, phase 2 trial (The Lancet Respiratory Medicine (2017) 5(5) (435–444), (S2213260017301297) (10.1016/S2213-2600(17)30129-7)). *The Lancet Respiratory Medicine* 2018;6(12):e57. doi: [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(18\)30454-5](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(18)30454-5)
4. Association of survival and blood-based genomic signature with atezolizumab for patients with second-line and third-line EGFR wildtype non-small cell lung cancer: Pooled analysis of individual patient data from the POPLAR and OAK trials. *Annals of Oncology* 2019;30:ix107. doi: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz438>
5. Efficacy and a novel clinicopathologic-genomic nomogram of atezolizumab in advanced non-small cell lung cancer (POPLAR and OAK): A combined analysis of two multicenter, randomized, phase II/III trials. *Journal of Clinical Oncology* 2019;37 doi: <https://doi.org/10.1200/jco.2019.37.15-suppl.2573>
6. Abdel-Rahman O. Smoking and EGFR status may predict outcomes of advanced NSCLC treated with PD-(L)1 inhibitors beyond first line: A meta-analysis. *The clinical respiratory journal* 2018;12(5):1809-19. doi: <https://doi.org/10.1111/crj.12742>
7. Akamatsu H, Toi Y, Hayashi H, et al. Efficacy of Osimertinib Plus Bevacizumab vs Osimertinib in Patients With EGFR T790M-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer Previously Treated With Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase Inhibitor: West Japan Oncology Group 8715L Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncology* 2021;7(3):386-94. doi: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.6758>
8. Arrieta O, Barrón F, Ramírez-Tirado LA, et al. Efficacy and Safety of Pembrolizumab Plus Docetaxel vs Docetaxel Alone in Patients with Previously Treated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: The

- PROLUNG Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncology* 2020;6(6):856-64. doi: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.0409>
9. Ba H, Liu L, Peng Q, et al. The relationship between blood-based tumor mutation burden level and efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors in advanced non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer* 2021;21(1):1220. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-021-08924-z>
 10. Batson S, Mitchell SA, Windisch R, et al. Tyrosine kinase inhibitor combination therapy in first-line treatment of non-small-cell lung cancer: systematic review and network meta-analysis. *OncoTargets and therapy* 2017;10:2473-82. doi: <https://doi.org/10.2147/ott.s134382>
 11. Blumenthal GM, Gong Y, Kehl K, et al. Analysis of time-to-treatment discontinuation of targeted therapy, immunotherapy, and chemotherapy in clinical trials of patients with non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology* 2019;30(5):830-38. doi: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz060>
 12. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015;373(2):123-35. doi: 10.1056/NEJMoa1504627 [published Online First: 2015/06/02]
 13. Cabezon-Gutierrez L, Custodio-Cabello S, Palka-Kotlowska M, et al. Biomarkers of Immune Checkpoint Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer: Beyond PD-L1. *Clinical Lung Cancer* 2021;22(5):381-89. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2021.03.006>
 14. Chaft JE, Rusch V, Ginsberg MS, et al. Phase II trial of neoadjuvant bevacizumab plus chemotherapy and adjuvant bevacizumab in patients with resectable nonsquamous non-small-cell lung cancers. *Journal of Thoracic Oncology* 2013;8(8):1084-90. doi: <https://doi.org/10.1097/jto.0b013e31829923ec>
 15. Chen L, Zhao P, Cao K, et al. Efficacy and safety of immune checkpoint inhibitors in the treatment of non-small cell lung cancer: A meta-analysis. *Journal of Mind and Behavior* 2018;38(8):780-91. doi: <https://doi.org/10.3781/j.issn.1000-7431.2018.33.118>
 16. Chen Y, Zhou Y, Tang L, et al. Immune-Checkpoint Inhibitors as the First Line Treatment of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of Cancer* 2019;10(25):6261-68. doi: <https://doi.org/10.7150/jca.34677>
 17. Curioni-Fontecedro A, Mok T, Socinski MA, et al. IMpower150: An Exploratory analysis of efficacy outcomes in patients with EGFR mutations. *Swiss Medical Weekly* 2019;149:14S.
 18. Dingemans AM, Smit EF, De Langen J, et al. Chemotherapy in KRAS-mutated chemotherapy naive non-small cell lung cancer patients: A phase III comparing cisplatin-pemetrexed with carboplatin-paclitaxel-bevacizumab: NVALT 22 (NCT02743923). *Journal of Clinical Oncology* 2019;37 doi: https://doi.org/10.1200/jco.2019.37.15_suppl.tps9127
 19. Dingemans AM, Ernst S, Mellema W, et al. LBA50 A randomized phase III study comparing cisplatin-pemetrexed (cis-pem) with carboplatin (C)-paclitaxel (P)-bevacizumab (B) in chemotherapy naive patients (pts) with advanced KRAS mutated non-small cell lung cancer (NSCLC): NVALT22. *Annals of Oncology* 2021;32:S1327. doi: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.08.2129>
 20. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet* 2016;387(10030):1837-46. doi: 10.1016/s0140-6736(16)00587-0 [published Online First: 2016/03/14]
 21. Ferrara R, Imbimbo M, Malouf R, et al. Single or combined immune checkpoint inhibitors compared to first-line platinum-based chemotherapy with or without bevacizumab for people with advanced non-small cell lung cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2020;12:CD013257. doi: <https://doi.org/10.1002/14651858.cd013257.pub3>
<https://doi.org/10.1002/14651858.cd013257.pub2>

22. Forde PM, Spicer J, Lu S, et al. Nivolumab (NIVO) + platinum-doublet chemotherapy (chemo) vs chemo as neoadjuvant treatment (tx) for resectable (IB-IIIa) non-small cell lung cancer (NSCLC) in the phase 3 CheckMate 816 trial. *Cancer Research* 2021;81(13 SUPPL) doi: <https://doi.org/10.1158/1538-7445.am2021-ct003>
23. Fukuhara T, Saito H, Furuya N, et al. Evaluation of plasma EGFR mutation as an early predictor of response of erlotinib plus bevacizumab treatment in the NEJ026 study. *EBioMedicine* 2020;57:102861. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102861>
24. Furuya N, Fukuhara T, Saito H, et al. Phase III study comparing bevacizumab plus erlotinib to erlotinib in patients with untreated NSCLC harboring activating EGFR mutations: NEJ026. *Journal of Clinical Oncology* 2018;36(15) doi: <https://doi.org/10.1200/jco.2018.36.15-suppl.9006>
25. Gadgeel S, Rodriguez-Abreu D, Felip E, et al. KRAS mutational status and efficacy in KEYNOTE-189: Pembrolizumab (pembro) plus chemotherapy (chemo) vs placebo plus chemo as firstline therapy for metastatic non-squamous NSCLC. *Annals of Oncology* 2019;30:xi64-xi65. doi: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz453.002>
26. Gadgeel SM, Rodriguez-Abreu D, Felip E, et al. Pembrolizumab plus pemetrexed and platinum vs placebo plus pemetrexed and platinum as first-line therapy for metastatic nonsquamous NSCLC: Analysis of KEYNOTE-189 by STK11 and KEAP1 status. *Cancer Research* 2020;80(16 SUPPL) doi: <https://doi.org/10.1158/1538-7445.am2020-lb-397>
27. Galvano A, Gristina V, Malapelle U, et al. The prognostic impact of tumor mutational burden (TMB) in the first-line management of advanced non-oncogene addicted non-small-cell lung cancer (NSCLC): a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Esmo Open* 2021;6(3):100124. doi: <https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2021.100124>
28. Garassino M, Rodriguez-Abreu D, Gadgeel S, et al. OA04. 06 Evaluation of TMB in KEYNOTE-189: pembrolizumab plus chemotherapy vs placebo plus chemotherapy for nonsquamous NSCLC. *Journal of Thoracic Oncology* 2019;14(10):S216-S17.
29. Griesinger F, Kowanetz MZWSDESCARNAS. Tumor mutation burden (TMB) is associated with improved efficacy of atezolizumab in 1L and 2L+ NSCLC patients. *Oncology research and treatment* 2017;40:220-21. doi: <https://doi.org/10.1159/000479566>
30. Hayashi H, Sugawara S, Fukuda Y, et al. A Randomized Phase II Study Comparing Nivolumab with Carboplatin-Pemetrexed for EGFR-Mutated NSCLC with Resistance to EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors (WJOG8515L). *Clinical Cancer Research* 2022;28(5):893-902. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-21-3194>
31. Hayashi H, Sugawara S, Fukuda Y, et al. A Randomized Phase II Study Comparing Nivolumab with Carboplatin-Pemetrexed for EGFR-Mutated NSCLC with Resistance to EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors (WJOG8515L). *Clinical Cancer Research* 2022;28(5):893-902. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-21-3194>
32. Hellmann M, Ciuleanu TEPALJSOGA-V. Nivolumab (nivo) + ipilimumab (ipi) vs platinum-doublet chemotherapy (PT-DC) as first-line (1L) treatment (tx) for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): initial results from CheckMate 227. *Cancer research* 2018;78(13) doi: <https://doi.org/10.1158/1538-7445.am2018-ct077>
33. Herbst RS, De Marinis F, Giaccone G, et al. Clinical efficacy of atezolizumab (atezo) in biomarker subgroups by SP142, SP263 and 22C3 PD-L1 immunohistochemistry (IHC) assays and by blood tumour mutational burden (bTMB): Results from the IMpower110 study. *Annals of Oncology* 2019;30:xi62-xi63. doi: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz453>
34. Herbst RS, De Marinis F, Giaccone G, et al. Clinical efficacy of atezolizumab (atezo) in biomarker subgroups by PD-L1 immunohistochemistry (IHC) assays and blood tumour mutational burden (bTMB): IMpower110. *Swiss Medical Weekly* 2020;150(SUPPL 247):31S-32S.

35. Honda T, Kouzuki T, Tsunetzuka Y, et al. Open-label multicenter randomized phase II study of docetaxel plus bevacizumab or pemetrexed plus bevacizumab for elderly (≥ 75 years old) patients (pts) with previously untreated advanced nonsquamous non-small cell lung cancer (NSCLC): TORG1323. *Annals of Oncology* 2018;29:viii506. doi: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy292.025>
36. Huang Q, Zhang H, Hai J, et al. Impact of PD-L1 expression, driver mutations and clinical characteristics on survival after anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy versus chemotherapy in non-small-cell lung cancer: A meta-analysis of randomized trials. *Oncoimmunology* 2018;7(12):e1396403. doi: <https://doi.org/10.1080/2162402x.2017.1396403>
37. Jiang Z, Zhang J, Sun H, et al. Icotinib alone or with bevacizumab as first-line therapy in Chinese patients with advanced nonsquamous non-small cell lung cancer and activating EGFR mutations: A retrospective study. *Thoracic Cancer* 2021;12(17):2369-74. doi: <https://doi.org/10.1111/1759-7714.14079>
38. Kabbinar F, Fehrenbacher L, Hainsworth J, et al. Biomarker analyses from a randomized, placebo-controlled, phase IIIb trial comparing bevacizumab with or without erlotinib as maintenance therapy for the treatment of advanced non-small-cell lung cancer (ATLAS). *Journal of Thoracic Oncology: Official Publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 2014;9(9):1411-17. doi: <https://doi.org/10.1097/jto.0000000000000274>
39. Kawashima Y, Fukuhara T, Furuya N, et al. Phase III study comparing bevacizumab plus erlotinib (BE) to erlotinib (E) in patients (pts) with untreated NSCLC harboring EGFR mutations: NEJ026. *Annals of Oncology* 2018;29:viii521. doi: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy292.063>
40. Kawashima Y, Fukuhara T, Saito H, et al. Bevacizumab plus erlotinib versus erlotinib alone in Japanese patients with advanced, metastatic, EGFR-mutant non-small-cell lung cancer (NEJ026): overall survival analysis of an open-label, randomised, multicentre, phase 3 trial. *The Lancet Respiratory medicine* 2021:72-82. doi: [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(21\)00166-1](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(21)00166-1)
41. Khan M, Lin J, Liao G, et al. Comparative analysis of immune checkpoint inhibitors and chemotherapy in the treatment of advanced non-small cell lung cancer: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicine* 2018;97(33):e11936. doi: <https://doi.org/10.1097/md.00000000000011936>
42. Kim JH, Kim HS, Kim BJ. Prognostic value of KRAS mutation in advanced non-small-cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors: A meta-analysis and review. *Oncotarget* 2017;8(29):48248-52. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17594>
43. Kitagawa C, Mori M, Ichiki M, et al. Gefitinib Plus Bevacizumab vs. Gefitinib Alone for EGFR Mutant Non-squamous Non-small Cell Lung Cancer. *In Vivo* 2019;33(2):477-82. doi: <https://doi.org/10.21873/invivo.11498>
44. Kozuki T, Nogami N, Hataji O, et al. Open-label, multicenter, randomized phase II study on docetaxel plus bevacizumab or pemetrexed plus bevacizumab for treatment of elderly (aged ≥75 years) patients with previously untreated advanced non-squamous non-small cell lung cancer: TORG1323. *Translational Lung Cancer Research* 2020;9(3):459-70. doi: <https://doi.org/10.21037/tlcr.2020.03.29>
45. Kuo CS, Chiu TH, Tung PH, et al. Afatinib Treatment Alone or with Bevacizumab in a Real-World Cohort of Non-Small Cell Lung Cancer Patients with Epidermal Growth Factor Receptor Mutation. *Cancers* 2022;14(2):09. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers14020316>
46. Landre T, Des Guetz G, Chouahnia K, et al. First-line angiogenesis inhibitor plus erlotinib versus erlotinib alone for advanced non-small-cell lung cancer harboring an EGFR mutation. *Journal of Cancer Research & Clinical Oncology* 2020;146(12):3333-39. doi: <https://doi.org/10.1007/s00432-020-03311-w>

47. Landre T, Justeau G, Assié JB, et al. Anti-PD-(L)1 for KRAS-mutant advanced non-small-cell lung cancers: a meta-analysis of randomized-controlled trials. *Cancer Immunology, Immunotherapy* 2021;719-26. doi: <https://doi.org/10.1007/s00262-021-03031-1>
48. Leighl NB, Laurie SA, Goss GD, et al. CCTG BR34: A Randomized Phase 2 Trial of Durvalumab and Tremelimumab With or Without Platinum-Based Chemotherapy in Patients With Metastatic NSCLC. *Journal of Thoracic Oncology* 2022;17(3):434-45. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.10.023>
49. Li J, Gu J. PD-L1 expression and EGFR status in advanced non-small-cell lung cancer patients receiving PD-1/PD-L1 inhibitors: a meta-analysis. *Future Oncology* 2019;15(14):1667-78. doi: <https://doi.org/10.2217/fo-2018-0639>
50. Liang W, He Q, Zhang J, et al. A bayesian network comparison of different agents or regimens as first-line treatment for advanced EGFR-mutated NSCLC. *Journal of Clinical Oncology* 2016;34
51. Liu SMASHLKMH. IMpower 133: Primary PFS, OS and Safety in a PH1/3 Study of 1L Atezolizumab + Carboplatin + Etoposide in Extensive-Stage SCLC. *Journal of thoracic oncology* 2018;13(10):S185-S86. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.08.013>
52. Liu L, Bai X, Wang J, et al. Combination of TMB and CNA Stratifies Prognostic and Predictive Responses to Immunotherapy Across Metastatic Cancer. *Clinical Cancer Research* 2019;25(24):7413-23. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-19-0558>
53. Liu Q, Luo X, Peng L, et al. Cost-effectiveness analysis of adding ramucirumab to the first-line erlotinib treatment for untreated EGFR-mutated metastatic non-small cell lung cancer in China. *BMJ Open* 2020;10(11) doi: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-040691>
54. Liu SV, Reck M, Mansfield AS, et al. Updated Overall Survival and PD-L1 Subgroup Analysis of Patients With Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer Treated With Atezolizumab, Carboplatin, and Etoposide (IMpower133). *Journal of Clinical Oncology* 2021;39(6):619-30. doi: <https://doi.org/10.1200/jco.20.01055>
55. Lopes G, Wu Y-L, Kudaba I, et al. Pembrolizumab (pembro) versus platinum-based chemotherapy (chemo) as first-line therapy for advanced/metastatic NSCLC with a PD-L1 tumor proportion score (TPS) \geq 1%: open-label, phase 3 KEYNOTE-042 study: American Society of Clinical Oncology, 2018.
56. Marinelli D, Mazzotta M, Scalera S, et al. KEAP1-driven co-mutations in lung adenocarcinoma unresponsive to immunotherapy despite high tumor mutational burden. *Annals of Oncology* 2020;31(12):1746-54. doi: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.2105>
57. Melosky B, Chu Q, Juergens R, et al. Pointed Progress in Second-Line Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: The Rapidly Evolving Field of Checkpoint Inhibition. *Journal of Clinical Oncology* 2016;34(14):1676-88. doi: <https://doi.org/10.1200/jco.2015.63.8049>
58. Melosky B, Juergens R, Hirsh V, et al. Amplifying Outcomes: Checkpoint Inhibitor Combinations in First-Line Non-Small Cell Lung Cancer. *Oncologist* 2020;25(1):64-77. doi: <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2019-0027>
59. Mok TSK, Wu YL, Kudaba I, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1-expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-042): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2019;393(10183):1819-30. doi: [10.1016/s0140-6736\(18\)32409-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(18)32409-7) [published Online First: 2019/04/09]
60. Ninomiya K, Teraoka S, Zenke Y, et al. Japanese Lung Cancer Society Guidelines for Stage IV NSCLC With EGFR Mutations. *JTO Clinical and Research Reports* 2021;2(1):100107. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtocrr.2020.100107>
61. Owonikoko TK, Park K, Govindan R, et al. Nivolumab and Ipilimumab as Maintenance Therapy in Extensive-Disease Small-Cell Lung Cancer: CheckMate 451. *Journal of Clinical Oncology* 2021;39(12):1349-59. doi: <https://doi.org/10.1200/jco.20.02212>

62. Park K, Lee J, Sakai H, et al. First-Line Nivolumab + Ipilimumab in Asian Patients With Advanced NSCLC and High TMB (≥ 10 mut/Mb): Results From CheckMate 227. *Journal of Thoracic Oncology* 2018;13(12):S1048. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.10.021>
63. Peters S, Creelan BH, MDS, MARM. Impact of tumor mutation burden on the efficacy of first-line nivolumab in stage iv or recurrent non-small cell lung cancer: An exploratory analysis of CheckMate 026. *Cancer research* 2017;77(13) doi: <https://doi.org/10.1158/1538-7445.am2017-ct082>
64. Piccirillo MC, Bonanno L, Garassino MC, et al. BEVERLY: A multicenter, randomized, phase III trial of bevacizumab + erlotinib vs erlotinib alone as firstline treatment of pts with EGFR-mutated, non-squamous, advanced NSCLC. *Tumori* 2021;107(2 SUPPL):3-4. doi: <https://doi.org/10.1177/03008916211041664>
65. Qian J, Nie W, Lu J, et al. Racial differences in characteristics and prognoses between Asian and white patients with nonsmall cell lung cancer receiving atezolizumab: An ancillary analysis of the POPLAR and OAK studies. *International Journal of Cancer* 2020;146(11):3124-33. doi: <https://doi.org/10.1002/ijc.32717>
66. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2016;375(19):1823-33. doi: [10.1056/NEJMoa1606774](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1606774) [published Online First: 2016/10/11]
67. Reck M, Schenker M, Lee KH, et al. Nivolumab plus ipilimumab versus chemotherapy as first-line treatment in advanced non-small-cell lung cancer with high tumour mutational burden: patient-reported outcomes results from the randomised, open-label, phase III CheckMate 227 trial. *European Journal of Cancer* 2019;116:137-47. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2019.05.008>
68. Reck M, Peters S, Ramalingam S, et al. Nivolumab (N) + low-dose ipilimumab (I) vs platinum-doublet chemotherapy (Chemo) as first-line (1L) treatment (TX) for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): Checkmate 227 part 1 final analysis. *Oncology Research and Treatment* 2020;43:233-34. doi: <https://doi.org/10.1159/000506491>
69. Redman MW, Papadimitrakopoulou VA, Minichiello K, et al. Biomarker-driven therapies for previously treated squamous non-small-cell lung cancer (Lung-MAP SWOG S1400): a biomarker-driven master protocol. *The Lancet Oncology* 2020;21(12):1589-601. doi: [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(20\)30475-7](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(20)30475-7)
70. Rizvi NA, Cho BC, Reinmuth N, et al. Blood tumor mutational burden (bTMB) and tumor PD-L1 as predictive biomarkers of survival in MYSTIC: First-line durvalumab (D) \pm tremelimumab (T) versus chemotherapy (CT) in metastatic (m) NSCLC. *Journal of Clinical Oncology* 2019;37 doi: https://doi.org/10.1200/jco.2019.37.15_suppl.9016
71. Seto T, Kato T, Nishio M, et al. Erlotinib alone or with bevacizumab as first-line therapy in patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (JO25567): an open-label, randomised, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncology* 2014;15(11):1236-44. doi: [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(14\)70381-x](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(14)70381-x)
72. Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, et al. Atezolizumab for first-line treatment of metastatic nonsquamous NSCLC. *New England Journal of Medicine* 2018;378(24):2288-301.
73. Soo RA, Han JY, Dafni U, et al. A randomised phase II study of osimertinib and bevacizumab versus osimertinib alone as second-line targeted treatment in advanced NSCLC with confirmed EGFR and acquired T790M mutations: the European Thoracic Oncology Platform (ETOP 10-16) BOOSTER trial. *Annals of Oncology* 2022;33(2):181-92. doi: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.11.010>
74. Stinchcombe TE, Janne PA, Wang X, et al. Effect of Erlotinib Plus Bevacizumab vs Erlotinib Alone on Progression-Free Survival in Patients With Advanced EGFR-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer:

- A Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncology* 2019;5(10):1448-55. doi: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.1847>
75. Tan PS, Bilger M, de Lima Lopes G, et al. Meta-analysis of first-line therapies with maintenance regimens for advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC) in molecularly and clinically selected populations. *Cancer Medicine* 2017;6(8):1847-60. doi: <https://doi.org/10.1002/cam4.1101>
76. Toi Y, Hayashi H, Fujimoto D, et al. A randomized phase II study of osimertinib with or without bevacizumab in advanced lung adenocarcinoma patients with EGFR T790M mutation (West Japan Oncology Group 8715L). *Annals of Oncology* 2020;31:S813-S14. doi: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.1573>
77. Wang S, Hao J, Wang H, et al. Efficacy and safety of immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer. *Oncoimmunology* 2018;7(8):e1457600. doi: <https://doi.org/10.1080/2162402x.2018.1457600>
78. Wang J, Lu S, Hu C, et al. Updated analysis of tislelizumab plus chemotherapy vs chemotherapy alone as first-line treatment of advanced squamous non-small cell lung cancer (SQ NSCLC). *Annals of Oncology* 2020;31:S817. doi: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.1578>
79. West H, McCleod M, Hussein M, et al. Atezolizumab in combination with carboplatin plus nab-paclitaxel chemotherapy compared with chemotherapy alone as first-line treatment for metastatic non-squamous non-small-cell lung cancer (IMpower130): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncology* 2019;20(7):924-37. doi: [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(19\)30167-6](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(19)30167-6)
80. Willis C, Fiander M, Tran D, et al. Tumor mutational burden in lung cancer: a systematic literature review. *Oncotarget* 2019;10(61):6604-22. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27287>
81. Xu Y, Wang Q, Xie J, et al. The Predictive Value of Clinical and Molecular Characteristics or Immunotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Frontiers in Oncology* 2021;11:732214. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.732214>
82. Yamamoto N, Seto T, Nishio M, et al. Erlotinib plus bevacizumab vs erlotinib monotherapy as first-line treatment for advanced EGFR mutation-positive non-squamous non-small-cell lung cancer: Survival follow-up results of the randomized JO25567 study. *Lung Cancer* 2021;151:20-24. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2020.11.020>
83. Yang H, Zhu J, Xiao R, et al. EGFR mutation status in non-small cell lung cancer receiving PD-1/PD-L1 inhibitors and its correlation with PD-L1 expression: a meta-analysis. *Cancer Immunology, Immunotherapy* 2021;20:20. doi: <https://doi.org/10.1007/s00262-021-03030-2>
84. Yu Y, Zeng D, Ou Q, et al. Association of Survival and Immune-Related Biomarkers With Immunotherapy in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-analysis and Individual Patient-Level Analysis. *JAMA Network Open* 2019;2(7):e196879. doi: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.6879>
85. Zhang Z, Zeng K, Zhao S, et al. Pemetrexed/carboplatin plus gefitinib as a first-line treatment for EGFR-mutant advanced nonsmall cell lung cancer: a Bayesian network meta-analysis. *Therapeutic Advances in Medical Oncology* 2019;11:1758835919891652. doi: <https://doi.org/10.1177/1758835919891652>
86. Zhang R, Zhu J, Liu Y, et al. Efficacy of immune checkpoint inhibitors in the treatment of non-small cell lung cancer patients with different genes mutation: A meta-analysis. *Medicine* 2021;100(10):e19713. doi: <https://doi.org/10.1097/md.00000000000019713>
87. Zhang N, Zhang J, Wang G, et al. Predictive Efficacy of Blood-Based Tumor Mutation Burden Assay for Immune Checkpoint Inhibitors Therapy in Non-Small Cell Lung Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Oncology* 2022;12:795933. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.795933>

88. Zhao B, Zhang W, Yu D, et al. Erlotinib in combination with bevacizumab has potential benefit in non-small cell lung cancer: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Lung Cancer* 2018;122:10-21. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2018.05.011>
89. Zhao Y, Liu J, Cai X, et al. Efficacy and safety of first line treatments for patients with advanced epidermal growth factor receptor mutated, non-small cell lung cancer: systematic review and network meta-analysis. *BMJ* 2019;367:l5460. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.l5460>
90. Zhao X, Wu X, Wang H, et al. Efficacy of gefitinib combined with bevacizumab versus gefitinib in advanced EGFR L858R NSCLC. *Journal of Clinical Oncology* 2021;39(15 SUPPL) doi: https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.15_suppl.e21185
91. Zhou C, Wu YL, Chen G, et al. BEYOND: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multicenter, Phase III Study of First-Line Carboplatin/Paclitaxel Plus Bevacizumab or Placebo in Chinese Patients With Advanced or Recurrent Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2015;33(19):2197-204. doi: <https://doi.org/10.1200/jco.2014.59.4424>
92. Zhou K, Zhao S, Guo W, et al. Efficacy and safety of erlotinib combined with bevacizumab in the treatment of non-small cell lung cancer: A systematic review and meta-analysis. *Medicine* 2020;99(3):e18771. doi: <https://doi.org/10.1097/md.00000000000018771>
93. Zhou Q, Xu CR, Cheng Y, et al. Bevacizumab plus erlotinib in Chinese patients with untreated, EGFR-mutated, advanced NSCLC (ARTEMIS-CTONG1509): A multicenter phase 3 study. *Cancer Cell* 2021;39(9):1279-91.e3. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2021.07.005>

Bijlage 4. Gedetailleerde kenmerken geïnccludeerde onderzoeken

4A: PICO 1 en 2

Overzicht brede en smalle testen

Reference	Detailed description of intervention test	Detailed description of control test	Resolver test
Al-Ahmadi 2021	NGS (FoundationOne) including approximately 320 genes. The sequencing method was validated on hybridization captured, adaptor ligation-based libraries using DNA extracted from 10 formalin-fixed paraffinembedded sections cut at 5 mm.	Not reported	NA
Arcila 2020	MSK-IMPACT: hybridization capture-based NGS assay for targeted deep sequencing of all exons and selected introns of 468 cancer genes. MSK-Ampliseq: an amplicon-based NGS assay for interrogation of targeted regions in 96 cancer genes in specimens with very scant tissue.	Rapid EGFR testing was performed using single-use cartridges on the Idylla platform according to the manufacturer's protocol. In brief, the Idylla EGFR mutation assay is an automated, cartridge-based assay that assesses 51 mutations. The cartridge is an enclosed system with a dedicated chamber for direct tissue input without the need for previous DNA extraction. Tissue lysis and nucleic acid amplification occur within the cartridge. Microfluidic channels then transport the nucleic acids into five separate chambers containing predeposited dried PCR reagents. Testing for specific variants in each chamber is performed by real-time PCR with a fluorophore-based detection system. Six fluorophores are incorporated per chamber, enabling the simultaneous analysis of mutations and an endogenous sample processing control (total EGFR). Fluorescence data are analyzed using the Test Type Package software version 1.2, which is translated into genetic variant calls on the basis of a proprietary analysis pipeline. The PCR amplification curves can be visualized through a web-based interface, Idylla Explore, that provides information on sample metrics, including cycle of quantification (Cq) for total and mutant EGFR and delta Cq (difference between the Cq of mutant EGFR and total EGFR from the same chamber [DCq]).	Cases with insufficient material for MSK-IMPACT were reflexed to the targeted MSK-Ampliseq panel (if requested). Cases without identifiable mitogenic drivers or those requiring confirmation of structural variants detected by MSK-IMPACT were reflexed to the MSK-Fusion solid panel, our custom clinical gene-fusion detection assay for solid tumors that utilizes ArcherDx Anchored Multiplex PCR (AMP) technology for targeted RNA sequencing.
Choi 2022	The SNUH FIRST panel v3.1 was performed with exons of 183 cancer-related genes, and the K-MASTER cancer panel v1.1 included the whole exomes of 409 cancer-related genes, the intronic regions of 23 genes, and three fusion genes. These panels used a hybrid capture method with DNA only. Threshold: The	PNAClamp EGFR Mutation Detection Kit (Panagene, Daejeon, Korea) or PANAMutyper EGFR Kit (Panagene). ROS1 Gene Fusion Detection Kit. ALK Fusion: IHC was performed using anti-ALK antibodies. ALK rearrangements were scored as positive when more than 15% of the	NA

Reference	Detailed description of intervention test	Detailed description of control test	Resolver test
Al-Ahmadi 2021	<p>NGS (FoundationOne) including approximately 320 genes. The sequencing method was validated on hybridization captured, adaptor ligation-based libraries using DNA extracted from 10 formalin-fixed paraffinembedded sections cut at 5 mm.</p> <p>pathogenic single nucleotide variant was generally defined as positive when the allele frequency was at least 5%, but for the actionable variant we studied in this study, 1% or more was defined as the cutoff.</p>	<p>Not reported</p> <p>tumor cells exhibited split or isolated 3' signals. ROS1 and EGFR: according to manufacturer's instructions.</p>	NA
Kim 2021	MiSeq platform (Illumina) with OncoPanel AMC version 3 (OP_AMCv3) targeting a total of 382 genes, including the entire exons of 199 genes, 184 hotspots, and the partial introns of 8 genes often rearranged in cancer.	NR	NA
Kuang 2021	The DNA-sequencing library preparation used a commercially available 168-gene panel by Burning Rock Biotech [Guangzhou, China]; the DNA/RNA-sequencing library preparation used two commercially available gene panels [13 and 161 genes] per the protocol of Ion AmpliSeq™ Colon & Lung Cancer Research Panel and OncoPrint™ Comprehensive Assay v3 [ThermoFisher, Waltham, MA, USA]. ALK fusion was detected using the AmoyDx EML4-ALK Fusion Gene Diagnostic Kit (Cat no. ADx-FF04; Amoy Diagnostics Co., Xiamen, China).	RNA-based RT-PCR: AmoyDx EML4-ALK Fusion Gene Diagnostic Kit (Cat no. ADx-FF04; Amoy Diagnostics Co., Xiamen, China). Detects a range of 26 known transcript variants of EML4-ALK fusion.	Samples with discordant results were validated using FISH or Sanger sequencing.
Li 2021	Burning Rock Biotech plasma NGS on 168 genes. 30 to 50 ng of ctDNA was used, and sequence libraries were constructed as described in the tissue NGS assay. Successful libraries were then sequenced on the NextSeq N500 platform (Illumina). Variants (SNVs, indels, and fusions) were identified and reported when the coverage was greater than or equal to 10,000, and the variant allele frequency was greater than or equal to 0.2%. CNVs were detected by normalizing the sequence coverage in target genes. Amplifications were called at segments with greater than or equal to 3 copies.	Burning Rock Biotech tissue NGS on 56 genes. 50 to 100 ng of genomic DNA was used, and sequencing libraries were generated through DNA fragmentation and PCR amplification, hybridization, and capture. Indexed successful libraries were mixed at a proper concentration and sequenced on the NextSeq N500 platform (Illumina, San Diego, CA). Sequencing data were analyzed using an in-house Molecular Diagnostics Management System provided by Burning Rock Biotech, and variants (SNVs, indels, and fusions) were identified and reported when the coverage was greater than or equal to 1000 and the variant allele frequency was greater than or equal to 2%. CNVs were detected by normalizing the sequence coverage in targeted genes. Amplifications were called at segments with greater than or equal to 6 copies.	NA
Rogers 2017	Multiplex screening of the samples was performed using the MassARRAY LungFusion v1.0 Panel (Agena Bioscience, San Diego, CA, USA) followed by a LungFusion Assay by Agena (AbA). ALK, RET	For ALK, ROS1 and RET FISH, a case was considered positive (rearranged) if 15% or greater of tumor cell nuclei were rearranged.	NA

Reference	Detailed description of intervention test	Detailed description of control test	Resolver test
Al-Ahmadi 2021	<p>NGS (FoundationOne) including approximately 320 genes. The sequencing method was validated on hybridization captured, adaptor ligation-based libraries using DNA extracted from 10 formalin-fixed paraffinembedded sections cut at 5 mm.</p> <p>and ROS1 Variant Panels (Agena Bioscience, San Diego, CA, USA) for further characterization of fusion positive samples.</p>	Not reported	NA
Sabari 2019	<p>MSK-IMPACT hybridization capture-based assay. DNA isolated from tumor tissue and matched normal peripheral blood was subjected to hybridization capture and deep-coverage NGS to detect somatic mutations in 468 cancer-related genes, including small insertions and deletions, CNAs, and chromosomal rearrangements. All mutations were called against the patient's matched normal sample, and mean overall coverage of sequencing depth ranged from 500 to 1000.</p>	<p>Targeted plasma NGS (ResBio ctDx-Lung) with 21 genes. Peripheral venous blood was collected in two Streck (Omaha, NE) tubes (10 mL each) and shipped via overnight express mail at room temperature to Resolution Bioscience (ResBio, Redmond, WA). DNA was extracted and targeted plasma NGS was performed using a validated, bias-corrected, hybrid-capture 21-gene assay, ResBio ctDx-Lung, performed in a laboratory certified via the Clinical Laboratory Improvement Amendments with median unique reads at 3000 and sensitive detection at variant allele frequency above 0.1%</p>	NA
Tuononen 2013	<p>Targeted NGS, using a Illumina HiSeq2000 sequencer and a custom panel of 192 genes. Isolated DNA (2–3 lg) was fragmented, ligated to adapters, and enriched for target regions using Agilent's SureSelect in-solution target capture and enrichment protocol. Paired-end sequencing of the target-enriched libraries was performed on Illumina HiSeq2000 sequencer (Illumina, San Diego, CA).</p>	<p>TeraScreen EGFR PCR kit (Qiagen); TeraScreen KRAS PCR kit (Qiagen); AmoyDx BRAF V600E Mutation Detection Kit (Amoy Diagnostics). The EGFR kit detects 19 deletions in exon 19 (without distinguishing between them), L858R, L861Q, G719S/A/C (without distinction), S768I, and 3 insertions in exon 20 (without distinction). The KRAS kit detects G12A, G12D, G12R, G12C, G12S, G12V, and G13D. The BRAF V600E kit detects V600E, whilst cross-reactivity to BRAF V600K, V600R, and V600D has also been observed.</p>	Sanger sequencing

NA: Not applicable

Conflicts of interest

Reference	Conflict of interest
Al-Ahmadi 2021	Honoraria for advisory boards for Seattle Genetics, Bayer, Ipsen, Astra Zeneca, and Bristol Myers Squibb.
Arcila 2020	Honoraria from Biocartis and Invivoscribe. Consulting fees from Invitae.
Choi 2022	No conflicts reported.
Kim 2021	No conflicts reported.
Kuang 2021	Employed by Amoy Diagnostics Co.
Li 2021	No conflicts reported
Rogers 2017	S.H., M.L. and O.P. are employees of Pfizer. Y.E. and D.I. are employees of Agena Bioscience.
Sabari 2019	Various authors received financial support or are consultants for several companies including (but not limited to) Pfizer, NovartisBayer, Roche, Merck, AstraZeneca and Genentech Roche.
Tuononen 2013	Supported by Pfizer, Astrazeneca and Lab21.

4B: PICO 3

Conflicts of interest en methodologische details

Reference; study	Conflicts of interest	Randomization details	Unit of allocation	Imputation
Borghaei 2015; Checkmate 057	Financial support by Bristol-Myers Squibb.	Randomization stratified by prior maintenance treatment (yes vs. no) and line of therapy (second line vs. third line)	Individuals	None
Carbone 2017; Checkmate 026	Funded by Bristol-Myers Squibb and ONO Pharmaceutical.	Randomization stratified by PD-L1 expression level <5% or ≥5% and histologic subtype (squamous or nonsquamous).	Individuals	None
Fehrenbacher 2016; POPLAR	Funding by F Hoffmann-La Roche/Genentech Inc. Various authors have disclosed employment at, receiving consulting fees from or are stockholders of commercial companies.	Stratification by PD-L1 expression, previous lines of chemotherapy (one vs two), and histology (non-squamous vs squamous).	Individuals	None
Hellmann 2018; Checkmate 227	Funded by Bristol-Myers Squibb and Ono Pharmaceutical. Various authors have disclosed employment at, receiving consulting fees from or are stockholders of commercial companies.	Randomization stratified by PD-L1 expression (threshold 1%) and tumour histological type.	Individuals	None
Herbst 2020; Impower 110	Funded by F. Hoffmann–La Roche/Genentech. Various authors have disclosed employment at or receiving consulting fees by commercial companies.	Randomization stratified by sex, ECOG score, histologic type, PD-L1.	Individuals	None
Herbst 2021; Keynote 010	Funded by Merck & Co. Various authors have disclosed employment at, receiving consulting fees from or are stockholders of commercial companies.	Randomization stratified by ECOG status and region (east Asia vs not). After 441 patients, stratification by PD-L1 was added.	Individuals	None
Rittmeyer 2017; OAK	Funded by F. Hoffmann-La Roche Ltd, Genentech, Inc. Various authors have disclosed employment at, receiving consulting fees from or are stockholders of commercial companies.	Randomization stratified by PD-L1 expression (IC0 vs IC1 vs IC2 vs IC3 level); number of previous chemotherapy regimens (one vs two); and histology (non-squamous vs squamous).	Individuals	None
Rizvi 2020; MYSTIC	Funded by AstraZeneca. Various authors have disclosed employment at, receiving consulting fees from or are stockholders of commercial companies.	Randomization stratified by PD-L1 TC ≥25% vs <25% and histologic subtype (squamous or nonsquamous).	Individuals	None

In- en exclusiecriteria

Reference; study	Inclusion criteria	Exclusion criteria
Borghaei 2015; Checkmate 057	Stage IIIB or IV or recurrent nonsquamous NSCLC after radiation therapy or surgical resection and had also had disease recurrence or progression during or after one prior platinum-based doublet chemotherapy regimen; Patients with known EGFR mutation or ALK translocation were allowed to have received or be receiving an additional line of tyrosine kinase inhibitor therapy; 18 years of age or older; ECOG performance-status score of 0 or 1; have adequate hematologic, hepatic, and renal function; patients with central nervous system metastases were eligible if the metastases had been treated and were stable.	Auto-immune disease, symptomatic interstitial lung disease, systemic immunosuppression; prior treatment with immunostimulatory antitumor agents including checkpoint-targeted agents; prior use of docetaxel.
Carbone 2017; Checkmate 026	Adults with histologically confirmed squamous-cell or nonsquamous stage IV or recurrent NSCLC; ECOG performance-status score of 0 or 1; measurable disease according to the Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST), version 1.1,15; PD-L1 > 1%; no previous systemic anti-cancer therapy as primary therapy for advanced or metastatic disease; patients with central nervous system metastases were eligible if they had been adequately treated and had been asymptomatic for at least 2 weeks before randomization; no use of glucocorticoids or at stable or decreasing dose of 10 mg or less of prednisone daily (or its equivalent); if palliative radiotherapy was given this had to be completed at least 2 weeks before randomization; if adjuvant or neoadjuvant chemotherapy was given this had to be completed at least 6 months before enrollment.	Patients with an autoimmune disease or known EGFR mutations or ALK translocations that were sensitive to available targeted therapy.
Fehrenbacher 2016; POPLAR	Patients with advanced NSCLC; previously treated with post-platinum chemotherapy; 18 years or older; had Eastern Cooperative Oncology Group performance status 0 or 1; measurable disease by RECIST v1.1; adequate haematological and end-organ function; and provided tumour specimens for central PD-L1 testing on formalin-fixed paraffin-embedded sections before enrolment.	Active or untreated CNS metastases; history of pneumonitis; autoimmune or chronic viral diseases; or previous treatment with docetaxel, CD137 agonists, anti-CTLA4, anti-PD-L1, or anti-PD-1 therapeutic antibodies, or PD-L1–PD-1 pathway-targeting agents.
Hellmann 2018; Checkmate 227	Adults, histologically confirmed squamous or nonsquamous stage IV or recurrent NSCLC and an Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance-status score of 0 or 1; no previous systemic anticancer therapy as primary therapy for advanced or metastatic disease; Prior adjuvant or neoadjuvant chemotherapy or prior definitive chemoradiation for locally advanced disease was allowed up to 6 months before enrollment. Prior palliative radiotherapy to non–central nervous system lesions must have been completed ≥2 weeks before randomization. Patients had to be off glucocorticoids or on stable or decreasing doses of ≤10 mg daily prednisone (or equivalent) for ≥2 weeks before randomization.	Known EGFR mutations or ALK translocations sensitive to targeted therapy, an autoimmune disease, or untreated central nervous system metastases.
Herbst 2020; Impower 110	Age 18 years or older; stage IV nonsquamous or squamous NSCLC measurable by RECIST v1.1; had a baseline ECOG performance score of 0 or 1; had not previously received chemotherapy; PD-L1 expression on at least 1% of tumor cells or tumor infiltrating immune cells covering at least 1% of the tumor area (as determined by the SP142 assay)	Active or untreated CNS metastases; known sensitizing EGFR mutation or ALK translocation.
Herbst 2021; Keynote 010	Patients with stage IIIB/IV PD-L1-positive non-small-cell lung cancer that progressed after at least platinum-based chemotherapy, aged at least 18 years. Progression as per Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST; version 1.1) after two or more cycles of platinum-doublet chemotherapy, as well as an appropriate tyrosine kinase inhibitor for those with an EGFR-sensitising mutation or ALK gene rearrangement; measurable disease as per investigator-assessed RECIST; an	Previous treatment with PD-1 checkpoint inhibitors or docetaxel, known active brain metastases or carcinomatous meningitis, active autoimmune disease requiring systemic steroids, and interstitial lung disease or history of pneumonitis requiring systemic steroids.

Reference; study	Inclusion criteria	Exclusion criteria
	Eastern Cooperative Oncology Group performance status of 0 or 1; provision of a tumour sample; and PD-L1 expression on at least 1% of tumour cells (ie, a tumour proportion score $\geq 1\%$).	
Rittmeyer 2017; OAK	Squamous or non-squamous non-small-cell lung cancer; 18 years or older; measurable disease per Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST; version 1.1); and had an Eastern Cooperative Oncology Group performance status of 0 or 1. Patients had received 1–2 previous cytotoxic chemotherapy regimens (≥ 1 platinum based combination therapy) for stage IIIB or IV non-small-cell lung cancer. Patients with EGFR mutations or an ALK fusion oncogene were additionally required to have received previous tyrosine kinase inhibitor therapy. Patients with treated asymptomatic supratentorial CNS metastases were eligible.	History of autoimmune disease; previous treatments with docetaxel, CD137 agonists, anti-CTLA4, or therapies targeting the PD-L1 and PD-1 pathway.
Rizvi 2020; MYSTIC	Adults with stage IV NSCLC were eligible if not previously received systemic therapy for advanced or metastatic NSCLC; had an ECOG performance status 0 to 1; demonstrated measurable disease according to Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) version 1.1,26 and had known tumor PD-L1 expression status prior to randomization.	Patients with sensitizing EGFR or ALK genetic alterations and those with symptomatic, unstable brain metastases were excluded.

Interventies en controles

Reference; study	Chemotherapy	Mode of administration	Dose	Frequency	Duration of therapy	Immuno-therapy	Mode of administration	Dose	Frequency	Duration of therapy
Borghaei 2015; Checkmate 057	Docetaxel	Intravenous	75 mg/m ²	Every 3 weeks	NR	Nivolumab	Intravenous	3 mg/kg	Every 2 weeks	NR
Carbone 2017; Checkmate 026	Platinum-based doublet chemotherapy. Nonsquamous: Pemetrexed + Cisplatin or Pemetrexed + Carboplatin; Squamous: Gemcitabine + Cisplatin or Gemcitabine + Carboplatin or Paclitaxel + Carboplatin.	Intravenous	Squamous: gemcitabine 1250 mg/m ² + cisplatin 75 mg/m ² ; gemcitabine 1000 mg/m ² + carboplatin AUC 5; paclitaxel 200 mg/m ² + carboplatin AUC 6; nonsquamous: pemetrexed 500 mg/m ² + cisplatin 75 mg/m ² ; pemetrexed 500 mg/m ² + carboplatin AUC 6; option for pemetrexed maintenance	Every 3 weeks; dose delays because of toxic effects were allowed.	4 to 6 cycles.	Nivolumab	Intravenous	3 mg/kg. Dose reductions were not allowed	Every 2 weeks. Dose delays because of toxic effects were allowed	NR

Reference; study	Chemotherapy	Mode of administration	Dose	Frequency	Duration of therapy	Immuno-therapy	Mode of administration	Dose	Frequency	Duration of therapy
			therapy. Two or fewer dose reductions because of toxic effects were allowed.							
Fehrenbacher 2016; POPLAR	Docetaxel	Intravenous	75 mg/m ²	1x/3 weeks	Docetaxel was given until disease progression or unacceptable toxicity.	Atezolizumab	Intravenous	1200 mg fixed dose	1x/3 weeks	As long as patients received clinical benefit according to investigator assessment (absence of unacceptable toxicity or symptomatic deterioration attributed to disease progression after an integrated assessment of radiographic data, biopsy results [if available], and clinical status), and patients consented to continuation.
Hellmann 2018; Checkmate 227	Platinum-based chemotherapy. Nonsquamous: Pemetrexed + Cisplatin or Carboplatin; Squamous: Gemcitabine + cisplatin or Gemcitabine + Carboplatin	NR	Nonsquamous NSCLC: Pemetrexed (500mg/m ²) + Cisplatin (75 mg/m ²) or Carboplatin (area under the concentration-time curve [AUC], 5 or 6); with optional maintenance therapy with pemetrexed (500 mg per square meter) after chemotherapy or with nivolumab	1x/3 weeks	Up to 4 cycles.	Nivolumab + Ipilimumab	Intravenous	Nivolumab (3 mg/kg) + Ipilimumab (1 mg/kg)	Nivolumab (1x/2 weeks) + Ipilimumab (1x/6 weeks)	Maximum 2 years

Reference; study	Chemotherapy	Mode of administration	Dose	Frequency	Duration of therapy	Immuno-therapy	Mode of administration	Dose	Frequency	Duration of therapy
			(360 mg every 3 weeks) plus pemetrexed (500 mg/m ²) after nivolumab plus chemotherapy. Squamous NSCLC: Gemcitabine (1000 or 1250 mg/m ²) + Cisplatin (75 mg/m ²) or Gemcitabine (1000 mg/m ²) + Carboplatin (AUC, 5).							
Herbst 2020; Impower 110	Platinum-based chemotherapy. Nonsquamous: Cisplatin; Squamous: Cisplatin + Gemcitabine or Carboplatin + Gemcitabine.	Intravenous	Nonsquamous NSCLC: cisplatin (75 mg/m ²) or carboplatin (area under the concentration–time curve [AUC], 6) in addition to pemetrexed (500 mg/m ²); Squamous NSCLC: cisplatin (75 mg/m ²) plus gemcitabine (1250 mg/m ²) or a regimen of carboplatin (AUC, 5) plus gemcitabine (1000 mg/m ²)	1x/3 weeks	4-6 cycles.	Atezolizumab	Intravenous	1200mg	1x/3 weeks	NR
Herbst 2021; Keynote 010	Docetaxel	Intravenous	75 mg/m ²	1x/3 weeks	Up to 2 years.	Pembrolizumab	Intravenous	2 mg/kg or 10 mg/kg (randomized)	1x/3 weeks	Up to 2 years
Rittmeyer 2017; OAK	Docetaxel	Intravenous	75 mg/m ²	1x/3 weeks	Until unacceptable toxicity or disease progression,	Atezolizumab	Intravenous	1200 mg fixed dose	1x/3 weeks	Until unacceptable toxicity or disease progression, as assessed by the investigator.

Reference; study	Chemotherapy	Mode of administration	Dose	Frequency	Duration of therapy	Immuno-therapy	Mode of administration	Dose	Frequency	Duration of therapy
					as assessed by the investigator.					Atezolizumab treatment could continue beyond disease progression if the investigator deemed the patient to be receiving clinical benefit.
Rizvi 2020; MYSTIC	Platinum-based doublet chemotherapy. Paclitaxel + Carboplatin; Nonsquamous: Pemetrexed + Cisplatin or Pemetrexed + Carboplatin; Squamous: Gemcitabine + Cisplatin or Gemcitabine + Carboplatin	Intravenous	Paclitaxel + carboplatin: paclitaxel 200 mg/m ² and carboplatin area under the curve (AUC) 5 or 6; Gemcitabine + cisplatin (squamous patients only): gemcitabine 1000 or 1250 mg/m ² + cisplatin 75 or 80 mg/m ² ; gemcitabine + carboplatin (squamous patients only): gemcitabine 1000 or 1250 mg/m ² + carboplatin AUC 5 or 6; pemetrexed + cisplatin (nonsquamous patients only): pemetrexed 500 mg/m ² + cisplatin 75 mg/m ² ; pemetrexed + carboplatin (nonsquamous patients only): pemetrexed 500 mg/m ² +	(1) paclitaxel + carboplatin: on day 1 of each 21-day cycle, for 4 to 6 cycles or until documented PD; (2) gemcitabine + cisplatin (squamous patients only): on days 1 and 8 of each 21-day cycle + cisplatin on day 1 of each 21-day cycle, for 4 to 6 cycles or until documented PD; (3) gemcitabine + carboplatin (squamous patients only): on days 1 and 8 of each 21-day cycle + carboplatin AUC 5 or 6 on day 1 of each 21-day cycle, for 4 to 6 cycles or until documented PD; (4) pemetrexed + cisplatin (nonsquamous patients only): on day 1 of each 21-	4-6 cycles.	Durvalumab + Tremelimumab	Intravenous	Durvalumab (20 mg/kg) + Tremelimumab (1 mg/kg)	Durvalumab (1x/4 weeks) + Tremelimumab (1x/4 weeks, up to 4 doses)	NR

Reference; study	Chemotherapy	Mode of administration	Dose	Frequency	Duration of therapy	Immuno-therapy	Mode of administration	Dose	Frequency	Duration of therapy
			carboplatin AUC 5 or 6.	day cycle, for 4 to 6 cycles or until documented PD (patients who have not progressed after 4 cycles are eligible for pemetrexed maintenance therapy); (5) pemetrexed + carboplatin (nonsquamous patients only):on day 1 of each 21-day cycle, for 4 to 6 cycles or until documented PD (patients who have not progressed after 4 cycles are eligible for pemetrexed maintenance therapy).						

Subgroepanalyses

Reference	Follow-up duration	Adjustment for confounders	Subgroup variable name	Cut-off	Test	Test details	Number of genes	Sample type
OS								
Herbst 2020; Impower 110	Median (range): 13.4 (0-35) months	No	bTMB	20 mut/1.1 Mb	NGS	Blood-based tumor mutational burden assay (Foundation Medicine)	394	Blood
Herbst 2020; Impower 110	Median (range): 13.4 (0-35) months	No	bTMB	16 mut/1.1 Mb	NGS	Blood-based tumor mutational burden assay (Foundation Medicine)	394	Blood
Rizvi 2020; MYSTIC	Median (range): 30.2 (0.3-37.2) months	No	bTMB	20 mut/Mb	NGS	GuardantOMNI next-generation sequencing platform (Guardant Health, Redwood City, CA, USA)	500	Plasma (Blood)
Gandara 2018; OAK	Median 21 months	No	bTMB	16 mut/Mb	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Gandara 2021; OAK	Median: 21 months Minimum: 19 months	No	bTMB	16 mut/Mb	NGS	FoundationOne next-generation sequencing assay	287	Blood
Gandara 2018; POPLAR	Median follow-up 14.8 months (range 0.2-19.6) in atezolizumab group and 15.7 months (range 0.1-18.7) in docetaxel group.	No	bTMB	16 mut/Mb	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Chen 2019; OAK & POPLAR	NR	Age, sex, race, performance status, histology, number of metastatic sites, number of prior	bTMB	13 mut/Mb	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood

Reference	Follow-up duration	Adjustment for confounders	Subgroup variable name	Cut-off	Test	Test details	Number of genes	Sample type
		therapies, tobacco use history						
Carbone 2017; Checkmate026	NR	No	tTMB	242 mut/ex	WES	Illumina HiSeq 2500 using 2 x 100-bp paired-end reads	Whole exome	Tumor tissue
Herbst 2021; Keynote 010	Median (range): 67.4 (60.0-77.9) months	ECOG performance status	tTMB	175 mut/ex	WES	In-house WES pipeline described in DOI: 10.1126/science.aar3593	Whole exome	Tissue
Rizvi 2020; MYSTIC	Median (range): 30.2 (0.3-37.2) months	No	tTMB	10 mut/Mb	NGS	FoundationOne tissue nextgeneration sequencing platform (Foundation Medicine, Cambridge, MA, USA)	324	Tissue
Gandara 2021; OAK	Median: 21 months Minimum: 19 months	No	KEAP1		NGS	FoundationOne T7 bait set panel	429	Tumor samples not further specified
Zhu 2021; OAK	NR	Tumor histology, baseline serum lactate dehydrogenase, TMB, smoking, race, age, sex and PD-L1 status	KEAP1/NEF2L2 mutation		NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Zhu 2021; OAK & POPLAR	NR	Tumor histology, baseline serum lactate dehydrogenase, TMB, smoking, race, age, sex and PD-L1 status	KEAP1/NEF2L2 mutation		NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Zhu 2021; POPLAR	NR	Tumor histology, baseline serum lactate dehydrogenase, TMB, smoking, race, age, sex and PD-L1 status	KEAP1/NEF2L2 mutation		NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood

Reference	Follow-up duration	Adjustment for confounders	Subgroup variable name	Cut-off	Test	Test details	Number of genes	Sample type
Borghaei 2015; Checkmate 057	Minimum of 17.2 months	No	KRAS		NR	NR	NR	NR
Rittmeyer 2017; OAK	Median 21 months	No	KRAS		NR	NR	NR	NR
Gandara 2021; OAK	Median: 21 months Minimum: 19 months	No	MDM2		NGS	FoundationOne T7 bait set panel	429	Tumor samples not further specified
Gandara 2021; OAK	Median: 21 months Minimum: 19 months	No	STK11		NGS	FoundationOne T7 bait set panel	429	Tumor samples not further specified
Chen 2019; OAK & POPLAR	NR	No	TP53/ATM comutation		NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Wang 2020; OAK	Median 8.9 months	NR	LAF-bTMB	12	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Wang 2020; POPLAR	Median 9.6 months	NR	LAF-bTMB	12	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Wang 2020; OAK & POPLAR	OAK: median 8.9 months; POPLAR median 9.6 months	NR	LAF-bTMB	12	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Yu 2020; OAK & POPLAR	NR	No	bTMB-MSAF	20	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood (MSAF is ctDNA)
Lin 2021; OAK	NR	5-gene mutation model	5-genomic mutation signature that included CREBBP, KEAP1, RAF1, STK11 and TP53 mutations.		NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Lin 2021; POPLAR	NR	5-gene mutation model	5-genomic mutation signature that included CREBBP, KEAP1, RAF1, STK11 and TP53 mutations.		NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood

Reference	Follow-up duration	Adjustment for confounders	Subgroup variable name	Cut-off	Test	Test details	Number of genes	Sample type
PFS								
Herbst 2020; Impower 110	Median (range): 13.4 (0-35) months	No	bTMB	20 mut/1.1 Mb	NGS	Blood-based tumor mutational burden assay (Foundation Medicine)	394	Blood
Herbst 2020; Impower 110	Median (range): 13.4 (0-35) months	No	bTMB	16 mut/1.1 Mb	NGS	Blood-based tumor mutational burden assay (Foundation Medicine)	394	Blood
Rizvi 2020; MYSTIC	Median (range): 10.6 (0-18) months	No	bTMB	20 mut/Mb	NGS	GuardantOMNI next-generation sequencing platform (Guardant Health, Redwood City, CA, USA)	500	Plasma (Blood)
Gandara 2018; OAK	Median 21 months	No	bTMB	16 mut/Mb	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Gandara 2018; POPLAR	Median follow-up was 14.8 months (range 0.2-19.6) in the atezolizumab group and 15.7 months (range 0.1-18.7) in the docetaxel group.	No	bTMB	16 mut/Mb	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Hellmann 2018; Checkmate 227	Minimum of 11.2 months	No	tTMB	20 mut/Mb	NGS	FoundationOne CDx assay	324	Archival or FFPE tumor samples
Carbone 2017; Checkmate026	NR	No	tTMB	242 mut/ex	WES	Illumina HiSeq 2500 using 2 x 100-bp paired-end reads	Whole exome	Tumor tissue
Herbst 2021; Keynote 010	Median (range): 67.4 (60.0-77.9) months	ECOG performance status	tTMB	175 mut/ex	WES	In-house WES pipeline described in DOI: 10.1126/science.aar3593	Whole exome	Tissue

Reference	Follow-up duration	Adjustment for confounders	Subgroup variable name	Cut-off	Test	Test details	Number of genes	Sample type
Borghaei 2015; Checkmate 057	NR	No	KRAS		NR	NR	NR	NR
Chen 2019; OAK & POPLAR	NR	No	TP53/ATM comutation		NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Wang 2020; OAK	Median 8.9 months	NR	LAF-bTMB	12	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Wang 2020; OAK & POPLAR	OAK: median 8.9 months; POPLAR median 9.6 months	NR	LAF-bTMB	12	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Wang 2020; POPLAR	Median 9.6 months	NR	LAF-bTMB	12	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Yu 2020; OAK & POPLAR	NR	No	bTMB-MSAF	20	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood (MSAF is ctDNA)
ORR								
Rizvi 2020; MYSTIC	NR	No	bTMB	20 mut/Mb	NGS	GuardantOMNI next-generation sequencing platform (Guardant Health, Redwood City, CA, USA)	500	Plasma (Blood)
Gandara 2018; OAK	Median 21 months	No	bTMB	16 mut/Mb	NGS	FoundationOne CDx (F1CDx)	394	Blood
Carbone 2017; Checkmate026	NR	No	tTMB	242 mut/ex	WES	Illumina HiSeq 2500 using 2 x 100-bp paired-end reads	Whole exome	Tumor tissue
Herbst 2021; Keynote 010	Median (range): 67.4 (60.0-77.9) months	ECOG performance status	tTMB	175 mut/ex	WES	In-house WES pipeline described in DOI: 10.1126/science.aar3593	Whole exome	Tissue

Bijlage 5. Overzicht van de kans op vertekening (risk of bias) in de geïncludeerde onderzoeken

5A: PICO 1 en 2

Klinisch nut studie

ROBINS-I	Effect of interest	Effect of assignment to intervention (intention-to-treat effect)
	Outcome being assessed	Overall survival
	Numerical result being assessed	HR 0.82 (95% CI 0.69-0.97; log-rank P= .002)
1. Confounding	1.1. Is there potential for confounding of the effect of intervention in this study?	Y
	1.2. Was the analysis based on splitting participants' follow up time according to intervention received?	N
	1.3. Were intervention discontinuations or switches likely to be related to factors that are prognostic for the outcome?	NA
	1.4. Did the authors use an appropriate analysis method that controlled for all the important confounding domains?	PN
	1.5. If Y/PY to 1.4: Were confounding domains that were controlled for measured validly and reliably by the variables available in this study?	NA
	1.6. Did the authors control for any post-intervention variables that could have been affected by the intervention?	N
	Risk of bias judgement (Domain 1)	Serious risk of bias
	Risk of bias judgement (Domain 1) - Support for judgement	At least one important confounding domain was not controlled for: chemotherapy, response to previous systemic treatment, comorbidities, functional status
2. Selection bias	2.1. Was selection of participants into the study (or into the analysis) based on participant characteristics observed after the start of intervention?	N
	2.2. If Y/PY to 2.1: Were the post-intervention variables that influenced selection likely to be associated with intervention?	NA

	2.3. If Y/PY to 2.2: Were the post-intervention variables that influenced selection likely to be influenced by the outcome	NA
	2.4. Do start of follow-up and start of intervention coincide for most participants?	NI
	2.5. If Y/PY to 2.2 and 2.3, or N/PN to 2.4: Were adjustment techniques used that are likely to correct for the presence of selection biases?	NA
	Risk of bias judgement (Domain 2)	Unclear risk of bias
	Risk of bias judgement (Domain 2) - Support for judgement	Insufficient information to judge risk of bias due to NI for question 2.4
3. Classification of interventions	3.1 Were intervention groups clearly defined?	N
	3.2 Was the information used to define intervention groups recorded at the start of the intervention?	Y
	3.3 Could classification of intervention status have been affected by the knowledge of the outcome or risk of the outcome?	PN
	Risk of bias judgement (Domain 3)	Serious risk of bias
	Risk of bias judgement (Domain 3) - Support for judgement	Intervention groups are not well defined.
4. Deviations from intended interventions	4.1. Were there deviations from the intended intervention beyond what would be expected in usual practice?	NI
	4.2. If Y/PY to 4.1: Were these deviations from intended intervention unbalanced between groups and likely to have affected the outcome?	NA
	Risk of bias judgement (Domain 4)	Unclear risk of bias
	Risk of bias judgement (Domain 4) - Support for judgement	No information about how the interventions were carried out
5. Missing data	5.1 Were outcome data available for all, or nearly all, participants?	PY
	5.2 Were participants excluded due to missing data on intervention status?	N
	5.3 Were participants excluded due to missing data on other variables needed for the analysis?	NI
	5.4 If PN/N to 5.1, or Y/PY to 5.2 or 5.3: Are the proportion of participants and	NA

	reasons for missing data similar across interventions?	
	5.5 If PN/N to 5.1, or Y/PY to 5.2 or 5.3: Is there evidence that results were robust to the presence of missing data?	NA
	Risk of bias judgement (Domain 5)	Unclear risk of bias
	Risk of bias judgement (Domain 5) - Support for judgement	Not enough information to answer question 5.3.
6. Measurement of outcomes	6.1 Could the outcome measure have been influenced by knowledge of the intervention received?	N
	6.2 Were outcome assessors aware of the intervention received by study participants?	PY
	6.3 Were the methods of outcome assessment comparable across intervention groups?	PY
	6.4 Were any systematic errors in measurement of the outcome related to intervention received?	PN
	Risk of bias judgement (Domain 6)	Low risk of bias
	Risk of bias judgement (Domain 6) - Support for judgement	Objective outcome, unlikely to be misclassified
7. Selection of the reported result	Is the reported effect estimate likely to be selected, on the basis of the results, from...	PN
	7.1 ... multiple outcome measurements within the outcome domain?	
	7.2 ... multiple analyses of the intervention-outcome relationship?	NI
	7.3 ... different subgroups?	NA
	Risk of bias judgement (Domain 7)	Low risk of bias
Risk of bias judgement (Domain 7) - Support for judgement	We cannot be certain whether multiple (sensitivity) analyses were left out. However, the primary analysis is relatively straightforward and it seems unlikely that this is a selectively reported result.	

Concerns regarding applicability

Domain		
Patient selection	Are there concerns that the included patients and setting do not match the review question?	Unclear concern
	Support for judgement.	There is no information on patient characteristics.

Intervention	Are there concerns that the intervention does not match the review question?	Unclear concern
	Support for judgement.	Although this a broad test with more than 200 targeted genes was used, further details about which genes/mutations were targeted and which treatments were provided (for which test results) remains unclear.
Comparator	Are there concerns that the comparator does not match the review question?	Unclear concern
	Support for judgement.	Almost no information regarding the control group.

Concordantie studies

Arcila 2020

DOMAIN 1: PATIENT SELECTION	Judgement
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Was a consecutive or random sample of patients enrolled? 	Yes
<ul style="list-style-type: none"> Did the study avoid inappropriate selection criteria? 	Unclear
Could the selection of patients have introduced bias?	Unclear risk
Support for judgement.	All samples submitted for routine testing in a time-period have been included. Unclear what criteria or prior testing these samples (or cases) have been through. Only other criterion is that sample has confirmed lung adenocarcinoma.
B. Concerns regarding applicability	
Are there concerns that the included patients and setting do not match the review question?	Unclear concern
Support for judgement.	There is no information on patient characteristics.
DOMAIN 2: INDEX TESTS	
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Were the index test results interpreted without knowledge of the results of the other index test(s)? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> If a threshold was used to define positivity, was it prespecified for all tests? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> Is undergoing one index test unlikely to affect the performance of the other index test(s)? 	Unclear
Could the conduct or interpretation of any of the index tests have introduced bias?	Unclear risk
Support for judgement.	No reported information on interpretation of tests, thresholds for both tests. Also unclear whether the tests could have affected each other.
B. Concerns regarding applicability	
Are there concerns that the index tests do not match the review question?	High concern
Support for judgement.	The NGS targets 468 genes and is comparable with WES. In 7.5% of cases a NGS was used that does not match our definition.
DOMAIN 4: FLOW AND TIMING	
A. Risk of Bias	

• Was there an appropriate interval between index tests?	Yes
• Were all patients included in the analysis?	No
Could the patient flow have introduced bias?	High risk
Support for judgement.	NGS (broad) testing was only performed on request, and some were not tested after request due to insufficient material.

Choi 2022

DOMAIN 1: PATIENT SELECTION	Judgement
A. Risk of Bias	
• Was a consecutive or random sample of patients enrolled?	No
• Did the study avoid inappropriate selection criteria?	No
Could the selection of patients have introduced bias?	High risk
Support for judgement.	Patients were selected on the availability of a diagnostic test, which could have other a priori chances.
B. Concerns regarding applicability	
Are there concerns that the included patients and setting do not match the review question?	Unclear concern
Support for judgement.	There is no information on patient characteristics.
DOMAIN 2: INDEX TESTS	
A. Risk of Bias	
• Were the index test results interpreted without knowledge of the results of the other index test(s)?	Unclear
• If a threshold was used to define positivity, was it prespecified for all tests?	Yes
• Is undergoing one index test unlikely to affect the performance of the other index test(s)?	Yes
Could the conduct or interpretation of any of the index tests have introduced bias?	Unclear risk
Support for judgement.	RoB unclear, as it is unsure whether the outcome of the orthogonal tests previously done, were known to the assessors doing the NGS testing.
B. Concerns regarding applicability	
Are there concerns that the index tests do not match the review question?	Unclear concern

Support for judgement.	The broad test is either targeting 183 genes (below 200), or targeting 409 genes (more than 200). It is unclear how many patients received one or the other test.
DOMAIN 4: FLOW AND TIMING	
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Was there an appropriate interval between index tests? 	No
<ul style="list-style-type: none"> Were all patients included in the analysis? 	No
Could the patient flow have introduced bias?	High risk
Support for judgement.	Tests are done on different samples, collected at a different time point. Unclear how much time has passed between time points and what treatments patients might have had in the meantime. Patients did not undergo all index tests, so selective samples are used.

Kim 2021

DOMAIN 1: PATIENT SELECTION		Judgement
A. Risk of Bias		
<ul style="list-style-type: none"> Was a consecutive or random sample of patients enrolled? 		No
<ul style="list-style-type: none"> Did the study avoid inappropriate selection criteria? 		No
Could the selection of patients have introduced bias?		High risk
Support for judgement.		Patients were selected/included if they had NGS testing as decided by the physician.
B. Concerns regarding applicability		
Are there concerns that the included patients and setting do not match the review question?		Low concern
Support for judgement.		Only 9% of patients had stage 1 or 2. It is unclear how many patient had stage 3a as they did not make a distinction between stage 3a and 3b. The majority of patients were stage 4 (84.4%).
DOMAIN 2: INDEX TESTS		
A. Risk of Bias		
<ul style="list-style-type: none"> Were the index test results interpreted without knowledge of the results of the other index test(s)? 		Unclear
<ul style="list-style-type: none"> If a threshold was used to define positivity, was it prespecified for all tests? 		Unclear

<ul style="list-style-type: none"> Is undergoing one index test unlikely to affect the performance of the other index test(s)? 	Unclear
Could the conduct or interpretation of any of the index tests have introduced bias?	Unclear risk
Support for judgement.	There is no information on how the narrow tests are being done.
B. Concerns regarding applicability	
Are there concerns that the index tests do not match the review question?	Low concern
Support for judgement.	Broad NGS panel includes > 200 genes.
DOMAIN 4: FLOW AND TIMING	
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Was there an appropriate interval between index tests? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> Were all patients included in the analysis? 	No
Could the patient flow have introduced bias?	High risk
Support for judgement.	There are many patients that did not received a PCR test (18%) for unclear reasons.

Kuang 2021

DOMAIN 1: PATIENT SELECTION	Judgement
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Was a consecutive or random sample of patients enrolled? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> Did the study avoid inappropriate selection criteria? 	Unclear
Could the selection of patients have introduced bias?	Unclear risk
Support for judgement.	No information on how participants were selected. This is most likely a retrospective review of pathology samples.
B. Concerns regarding applicability	
Are there concerns that the included patients and setting do not match the review question?	High concern
Support for judgement.	Half of included participants have stage 1-3a cancer.
DOMAIN 2: INDEX TESTS	
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Were the index test results interpreted without knowledge of the results of the other index test(s)? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> If a threshold was used to define positivity, was it prespecified for all tests? 	Unclear

<ul style="list-style-type: none"> Is undergoing one index test unlikely to affect the performance of the other index test(s)? 	Unclear
Could the conduct or interpretation of any of the index tests have introduced bias?	Unclear risk
Support for judgement.	NGS was done prior to RT-PCR. RT-PCR is a quantitative test but test methods not described, so difficult to judge bias due to selective threshold selection. Unclear whether there could have been pretreatment FFPE samples for NGS so that RT-PCR performance may have been influenced.
B. Concerns regarding applicability	
Are there concerns that the index tests do not match the review question?	High concern
Support for judgement.	The NGS used here is targeting about 160 genes, and is therefore not as comprehensive as whole genome sequencing.
DOMAIN 4: FLOW AND TIMING	
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Was there an appropriate interval between index tests? 	Yes
<ul style="list-style-type: none"> Were all patients included in the analysis? 	No
Could the patient flow have introduced bias?	High risk
Support for judgement.	In the ALK negative group, a higher percentage of patients was excluded because of RT-PCR failure.

Li 2021

DOMAIN 1: PATIENT SELECTION	Judgement
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Was a consecutive or random sample of patients enrolled? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> Did the study avoid inappropriate selection criteria? 	Unclear
Could the selection of patients have introduced bias?	Unclear risk
Support for judgement.	No details about where the patients came from. Only reported as 28 additional NSCLC cases on which plasma and tissue NGS were performed.
B. Concerns regarding applicability	
Are there concerns that the included patients and setting do not match the review question?	Unclear concern
Support for judgement.	No information on participant characteristics.

DOMAIN 2: INDEX TESTS	
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Were the index test results interpreted without knowledge of the results of the other index test(s)? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> If a threshold was used to define positivity, was it prespecified for all tests? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> Is undergoing one index test unlikely to affect the performance of the other index test(s)? 	Yes
Could the conduct or interpretation of any of the index tests have introduced bias?	Unclear risk
Support for judgement.	Very little information. Tests separately done on tissue and plasma.
B. Concerns regarding applicability	
Are there concerns that the index tests do not match the review question?	High concern
Support for judgement.	Broad tests is only 168 genes.
DOMAIN 4: FLOW AND TIMING	
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Was there an appropriate interval between index tests? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> Were all patients included in the analysis? 	Yes
Could the patient flow have introduced bias?	Unclear risk
Support for judgement.	Unclear whether molecular signature is likely to change within 8 weeks.

Rogers 2017

DOMAIN 1: PATIENT SELECTION		Judgement
A. Risk of Bias		
<ul style="list-style-type: none"> Was a consecutive or random sample of patients enrolled? 		Unclear
<ul style="list-style-type: none"> Did the study avoid inappropriate selection criteria? 		Unclear
Could the selection of patients have introduced bias?		Unclear risk
Support for judgement.		No information provided on the method of patient selection.
B. Concerns regarding applicability		
Are there concerns that the included patients and setting do not match the review question?		Unclear concern
Support for judgement.		No information on participant characteristics.
DOMAIN 2: INDEX TESTS		

A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Were the index test results interpreted without knowledge of the results of the other index test(s)? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> If a threshold was used to define positivity, was it prespecified for all tests? 	NA
<ul style="list-style-type: none"> Is undergoing one index test unlikely to affect the performance of the other index test(s)? 	Unclear
Could the conduct or interpretation of any of the index tests have introduced bias?	Unclear risk
Support for judgement.	Blinding not reported. Not enough information to judge whether order effects could have been present.
B. Concerns regarding applicability	
Are there concerns that the index tests do not match the review question?	High concern
Support for judgement.	The broad test targeted far less genes than a whole genome sequencing would.
DOMAIN 4: FLOW AND TIMING	
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Was there an appropriate interval between index tests? 	Yes
<ul style="list-style-type: none"> Were all patients included in the analysis? 	No
Could the patient flow have introduced bias?	Low risk
Support for judgement.	2/51 patients were excluded from the analysis which is a small proportion.

Sabari 2019

DOMAIN 1: PATIENT SELECTION		Judgement
A. Risk of Bias		
<ul style="list-style-type: none"> Was a consecutive or random sample of patients enrolled? 		No
<ul style="list-style-type: none"> Did the study avoid inappropriate selection criteria? 		Unclear
Could the selection of patients have introduced bias?		High risk
Support for judgement.		Patients were enrolled in a continuous, unblinded and nonrandom fashion. Patients had advanced NSCLC and either no known driver oncogene or had developed a resistance to targeted therapy; unclear where patients are coming from.
B. Concerns regarding applicability		
Are there concerns that the included patients and setting do not match the review question?		High concern

Support for judgement.	Study included patients who were resistant to previous targeted therapy and therefore tested positive for a specific mutation.
DOMAIN 2: INDEX TESTS	
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Were the index test results interpreted without knowledge of the results of the other index test(s)? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> If a threshold was used to define positivity, was it prespecified for all tests? 	NA
<ul style="list-style-type: none"> Is undergoing one index test unlikely to affect the performance of the other index test(s)? 	Yes
Could the conduct or interpretation of any of the index tests have introduced bias?	Unclear risk
Support for judgement.	Blinding not reported.
B. Concerns regarding applicability	
Are there concerns that the index tests do not match the review question?	Low concern
Support for judgement.	Broad NGS panel includes > 200 genes.
DOMAIN 4: FLOW AND TIMING	
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Was there an appropriate interval between index tests? 	No
<ul style="list-style-type: none"> Were all patients included in the analysis? 	No
Could the patient flow have introduced bias?	High risk
Support for judgement.	Tissue NGS was not performed on a large proportion of patients (insufficient tissue, poor DNA quality, declined biopsy).

Tuononen 2013

DOMAIN 1: PATIENT SELECTION	Judgement
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Was a consecutive or random sample of patients enrolled? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> Did the study avoid inappropriate selection criteria? 	Unclear
Could the selection of patients have introduced bias?	Unclear risk
Support for judgement.	No information on how patients were selected and poorly specified eligibility criteria.
B. Concerns regarding applicability	
Are there concerns that the included patients and setting do not match the review question?	Low concern
Support for judgement.	The patients 'had a clinical indication for EGFR mutation testing'. Although no further information is provided, since EGFR targeted therapy is usually given to stage 3b-4 cancer, this sample might match the target population.
DOMAIN 2: INDEX TESTS	
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Were the index test results interpreted without knowledge of the results of the other index test(s)? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> If a threshold was used to define positivity, was it prespecified for all tests? 	Unclear
<ul style="list-style-type: none"> Is undergoing one index test unlikely to affect the performance of the other index test(s)? 	Unclear
Could the conduct or interpretation of any of the index tests have introduced bias?	Unclear risk
Support for judgement.	Blinding not reported; real-time PCR should have a threshold but not reported; both tests are used on the same FFPE specimen but unclear whether one can affect the performance of the other.
B. Concerns regarding applicability	
Are there concerns that the index tests do not match the review question?	High concern
Support for judgement.	The NGS targets 192 genes.
DOMAIN 4: FLOW AND TIMING	
A. Risk of Bias	
<ul style="list-style-type: none"> Was there an appropriate interval between index tests? 	Yes
<ul style="list-style-type: none"> Were all patients included in the analysis? 	No

Could the patient flow have introduced bias?	Low risk
Support for judgement.	For EGFR testing, all 81 samples were included in the analysis. For KRAS and BRAF testing, 78 samples were included in the analysis (3 missing due to insufficient DNA).

5B: PICO 3

Ingesloten studies

Borghaei 2015; Checkmate 057

	Cochrane risk of bias tool	Judgement	Support
Bias	1. Random sequence generation	Low risk	"Patients were randomly assigned to ..." but no further details provided.
	2. Allocation concealment	Unclear risk	Not reported
	3. Blinding of participants and personnel	Unclear risk	Open label. Protocol and full text did not mention anything about personnel
	4. Blinding of objective outcome assessment	Low risk	
	5. Blinding of subjective outcome assessment	Unclear risk	Not reported
	6. Incomplete outcome data	Low risk	All the patients who underwent randomization were followed for survival, unless they had with-drawn consent for survival follow-up. For patients who withdrew consent for survival-related follow-up or were lost to follow-up, information regarding survival was obtained by means of a search of publicly available sources.
	7. Intention-to-treat analysis used	Low risk	"Demographic and efficacy analyses included all the patients who underwent randomization. Safety analyses included all the treated patients (those who received at least one dose of study drug)."
	8. Selective reporting of result	Low risk	
Applicability	1. Patients	Low concern	
	2. Intervention	Low concern	Continuation of or switch to maintenance therapy with pemetrexed, bevacizumab, or erlotinib was allowed in all patients. Patients with known EGFR mutation or ALK translocation were allowed to have received or be receiving an additional line of tyrosine kinase inhibitor therapy
	3. Control	Low concern	Reduction in nivolumab dose not permitted; nivolumab treatment could continue beyond initial disease progression if the investigator assessed that the patient was having clinical benefit and did not have an unacceptable level of side effects from the study drug; Continuation of or switch to maintenance therapy with pemetrexed, bevacizumab, or erlotinib was allowed in all patients.

Carbone 2017; Checkmate 026

	Cochrane risk of bias tool	Judgement	Support
Bias	1. Random sequence generation	Low risk	"Eligible patients were randomly assigned in a 1:1 ratio"
	2. Allocation concealment	Unclear risk	Not reported
	3. Blinding of participants and personnel	Low risk	Open-label study, blinded independent central review evaluated the primary and secondary endpoints.
	4. Blinding of objective outcome assessment	Low risk	Outcomes assessed by blinded independent central review
	5. Blinding of subjective outcome assessment	Low risk	Outcomes assessed by blinded independent central review
	6. Incomplete outcome data	Low risk	
	7. Intention-to-treat analysis used	Low risk	Not explicitly reported, but safe to assume. Although I really miss information on the proportion of people in the chemo group that ended up using immunotherapy too
	8. Selective reporting of result	Low risk	Although I missed one outcome that was specified in the protocol ("Disease-related Symptom Improvement Rate by Week 12")
Applicability	1. Patients	Low concern	Some patients have an ECOG >1, even though this is an exclusion criterion. Other than that it is a rather broad patient group (for instance, patients with central nervous system metastases and palliative radiotherapy or chemotherapy allowed under particular conditions).
	2. Intervention	Low concern	Maintenance therapy with pemetrex allowed in non-squamous NSCLC. Patients in the chemotherapy group who had disease progression according to RECIST, as assessed by the investigator and confirmed by an independent radiologist, could cross over to receive nivolumab, provided that eligibility criteria were met.
	3. Control	Low concern	

Fehrenbacher 2016; POPLAR

	Cochrane risk of bias tool	Judgement	Support
Bias	1. Random sequence generation	Low risk	Permuted block-randomisation (1:1) using an interactive voice or web response system (Brackett). The sequence was generated by Brackett; Brackett did not have any involvement in the rest of the trial.
	2. Allocation concealment	Low risk	The trial centres enrolled the patients. The study was open-label, and allocation was unmasked. But allocation was done by external organization.
	3. Blinding of participants and personnel	Low risk	It is an open-label study. Both groups had 1 loss to follow-up, but in the docetaxel group more patients withdrew (12 vs 5) and there were more patients that did not receive treatment (8 vs 2). As the numbers are relatively low, low risk of bias.
	4. Blinding of objective outcome assessment	Low risk	Primary endpoint is OS
	5. Blinding of subjective outcome assessment	High risk	No blinding of outcome assessors reported for PFS and ORR, only that tumours were assessed by imaging.
	6. Incomplete outcome data	Low risk	Patients were censored if they withdrew or if there was data missing, unclear how many patients at what time point were censored. There was an equal amount of patients in the survival follow-up and equal amount of lost to follow-up. There were more patients in the docetaxel group that withdrew (12 vs 5) without known reasons for withdrawal. So low risk is likely.
	7. Intention-to-treat analysis used	Low risk	ITT is used.
	8. Selective reporting of result	Low risk	Outcomes are clearly reported and are similar to trial registration.
Applicability	1. Patients	Low concern	Patients were previously treated with chemotherapy, but not docetaxel
	2. Intervention	Low concern	Second- and third line docetaxel. Cross-over between treatments was not permitted.
	3. Control	Low concern	Cross-over between treatments was not permitted.

Hellmann 2018; Checkmate 227

	Cochrane risk of bias tool	Judgement	Support
Bias	1. Random sequence generation	Low risk	"Patients with a PD-L1 expression level of at least 1% were randomly assigned (in a 1:1:1 ratio) (..)"
	2. Allocation concealment	Unclear risk	No information on allocation concealment in publication OR in ClinicalTrials.gov
	3. Blinding of participants and personnel	Unclear risk	Open-label study. Outcome is PFS. Unclear if "assessed by blinded independent central review" also applies to Nivolumab only group.
	4. Blinding of objective outcome assessment	NA	No objective outcomes.
	5. Blinding of subjective outcome assessment	High risk	This is an open-label study; it does clearly not report that outcome assessors were blinded for evaluation of PFS for Nivolumab only group. See support for judgement (4). The subjective outcome is PFS.
	6. Incomplete outcome data	Low risk	6/396 in immunotherapy arm withdrew consent and 4/583 in chemotherapy arm withdrew consent. No reasons for withdrawal were provided, but number of missings is not large. (Supplement Figure S1)
	7. Intention-to-treat analysis used	Unclear risk	Not reported.
	8. Selective reporting of result	Low risk	All outcomes reported in the protocol are also reported in the study. Standard definitions were used. No evidence of selection from multiple analyses.
Applicability	1. Patients	Low concern	
	2. Intervention	Low concern	Cross-over between treatments was not permitted
	3. Control	Low concern	Cross-over between treatments was not permitted.

Herbst 2020; Impower 110

	Cochrane risk of bias tool	Judgement	Support
Bias	1. Random sequence generation	Low risk	Although this could have been reported in greater detail, it seems that a computer program was used to randomize patients after they were included in the study and entered into the program. "After written informed consent has been obtained and eligibility has been established (including determination of tumor PD-L1 status by central testing), personnel at the study site will enter demographic and baseline characteristics in the interactive voice or Web-based response system (IxRS). For patients who are eligible for enrollment, the study site will obtain the patient's randomization number and treatment assignment from the IxRS. Randomization to one of two treatment arms will occur in a 1:1 ratio." (from protocol)
	2. Allocation concealment	Low risk	See support for judgment (1)
	3. Blinding of participants and personnel	Low risk	This is an open-label study; the outcomes are OS and PFS, therefore low risk of bias.
	4. Blinding of objective outcome assessment	Low risk	This is an open-label study; it does not report that outcome assessors were blinded. The objective outcome is OS.
	5. Blinding of subjective outcome assessment	High risk	This is an open-label study; it does not report that outcome assessors were blinded. The subjective outcome is PFS.
	6. Incomplete outcome data	Low risk	13 of 277 patients in the immunotherapy arm and 24 of 277 patients in the chemotherapy arm withdrew (supplementary Fig S2). Although reasons for withdrawal were not provided, the number of missings is not large.
	7. Intention-to-treat analysis used	Low risk	ITT analysis was used.
	8. Selective reporting of result	Low risk	No problems detected based on inspection of protocol paragraph 6.4 (Efficacy analyses). Both OS and PFS have standard definitions (the latter according to RECIST 1.1); timepoint is not a concern here since outcomes are time-to-event; no evidence of selection from multiple analyses.
Applicability	1. Patients	Low concern	
	2. Intervention	Low concern	
	3. Control	Low concern	

Herbst 2021; Keynote 010

	Cochrane risk of bias tool	Judgement	Support
Bias	1. Random sequence generation	Low risk	"Patients were randomly assigned (1:1:1) with a central interactive voice-response system"
	2. Allocation concealment	Low risk	"Allocation schedule was generated by the system vendor using a computerised randomised list generator"
	3. Blinding of participants and personnel	High risk	Open-label study. Only statistician was blinded. Outcomes are OS, PFS, ORR.
	4. Blinding of objective outcome assessment	Low risk	Open-label study, outcome assessors were not blinded. Objective outcome is OS.
	5. Blinding of subjective outcome assessment	High risk	This is an open-label study; it does not report that outcome assessors were blinded. The subjective outcomes are PFS and ORR.
	6. Incomplete outcome data	High risk	In the chemotherapy arm many more patients withdrew consent, but absolute numbers are low (45/317 in chemotherapy arm and 15/691 in immunotherapy arm).
	7. Intention-to-treat analysis used	Low risk	As treated population was used for analysis, but most patients were treated as randomized.
	8. Selective reporting of result	Low risk	All outcomes reported in the protocol are also reported in the study publication, standard definitions are used, no evidence of selection from multiple analyses.
Applicability	1. Patients	Unclear concern	Unclear part which of the included participants received first-line targeted therapy.
	2. Intervention	Low concern	
	3. Control	Low concern	

Rittmeyer 2017; OAK

	Cochrane risk of bias tool	Judgement	Support
Bias	1. Random sequence generation	Low risk	Permuted block-randomisation via an interactive voice or web response system (bracket) was used to assign patients in a 1:1 ratio
	2. Allocation concealment	low risk	The trial centres enrolled the patients. The study was open-label, and allocation was unmasked. But allocation was done by external organization.
	3. Blinding of participants and personnel	Low risk	Open label, both groups had similar loss to follow up, though ORR has more missing/unevaluable in docetaxel group than the atelolizumab group (19 vs 7%). More patients withdrew in docetaxel group (48 vs 26).
	4. Blinding of objective outcome assessment	Low risk	Primary endpoint is OS
	5. Blinding of subjective outcome assessment	High risk	No blinding of tumour assessments reported. Subjective outcomes were PFS and ORR.
	6. Incomplete outcome data	Low risk	Overall missing data = 6% due to patient withdrawal and loss to follow up. More patients withdrew in the chemo group than in the immuno group (8%, n=48 vs 4%, n=26).
	7. Intention-to-treat analysis used	Low risk	ITT analysis in first Rittmeyer publication is done for the first 850 patients, but not for the overall population, to stick to their original power calculation. As the majority is analysed ITT, the risk of bias is probably low.
	8. Selective reporting of result	Low risk	Outcomes are clearly reported and are similar to trial registration.
Applicability	1. Patients	Low concern	Some patients were EGFR or ALK mutation positive, they were additionally required to have received previous tyrosine kinase inhibitor therapy.
	2. Intervention	Low concern	Cross-over to atezolizumab was not permitted.
	3. Control	Low concern	

Rizvi 2020; MYSTIC

	Cochrane risk of bias tool	Judgement	Support
Bias	1. Random sequence generation	Low risk	"Patients were randomized (1:1:1) to receive 20 mg/kg of dur-valumab every 4 weeks until disease progression" allocated in blocks of six in each stratum via a schedule generated by Perceptive Informatics (Nottingham, UK) who used a computerized randomized list generator allocated in blocks of six in each stratum via a schedule generated by Perceptive Informatics (Nottingham, UK) who used a computerized randomized list generator."
	2. Allocation concealment	Low risk	See support for domain 1.
	3. Blinding of participants and personnel	High risk	Open-label study. Blinded independent reviewer for outcomes PFS and ORR.
	4. Blinding of objective outcome assessment	Low risk	Open-label study, outcome assessor not blinded for OS. Objective outcome is OS.
	5. Blinding of subjective outcome assessment	Low risk	This is an open-label study, blinded outcome assessor evaluated PFS and OS. "Tumor response was assessed by blinded independent central review using RECIST v1.1,"
	6. Incomplete outcome data	Unclear risk	It's hard to extract information on loss to follow-up, NR. They state something about missed visits, but do not report on incomplete data
	7. Intention-to-treat analysis used	Low risk	"Efficacy was analyzed on an ITT basis, including all randomized patients or subsets of this population based on PD-L1 expression or TMB levels. Safety analyses included all patients who received at least 1 dose of study treatment (as-treated population)."
	8. Selective reporting of result	Low risk	All outcomes reported in the protocol are also reported in the study publication, standard definitions are used, no evidence of selection from multiple analyses.
Applicability	1. Patients	Low concern	
	2. Intervention	Low concern	
	3. Control	Low concern	

Subgroepanalyses

Reference and subgroup OS	Timing of molecular analysis before starting treatment	Random or representative inclusion of participants	Same molecular test for all participants	Risk of bias in subgroup analysis	Pre-registration of subgroup analysis					
Herbst 2020; Impower 110 bTMB (cut-off 20)	Unclear	Not reported. Only reported: "Blood samples will be collected at screening and/or baseline, during therapy, and at first evidence of radiographic disease progression or loss of clinical benefit in order to better understand the changes in blood-based biomarker profiles and potential mechanisms of resistance upon progression." (protocol)	No	Of 554 randomized, only 389 included in subgroup analysis. While no clear reason is provided for missing test results, Table S6 in supplementary shows that the characteristics of 389 patients and the larger 554 patients are very similar	Yes	Although not explicitly reported, no other test is mentioned other than the one from Foundation Medicine	Unclear risk	Mostly due to unclear timing of the molecular test; risk of bias due to selective inclusion may be minimal as the subgroup is quite similar to the whole study group	Yes	"We performed prespecified subgroup analyses to assess the consistency of the treatment effect using unstratified hazard ratios"
Herbst 2020; Impower 110 bTMB (cut-off 16)	Unclear	Not reported. Only reported: "Blood samples will be collected at screening and/or baseline, during therapy, and at first evidence of radiographic disease progression or loss of clinical benefit in order to better understand the changes in blood-based biomarker profiles and potential mechanisms of resistance upon progression." (protocol)	No	Of 554 randomized, only 389 included in subgroup analysis. While no clear reason is provided for missing test results, Table S6 in supplementary shows that the characteristics of 389 patients and the larger 554 patients are very similar	Yes	Although not explicitly reported, no other test is mentioned other than the one from Foundation Medicine	Unclear risk	Mostly due to unclear timing of the molecular test; risk of bias due to selective inclusion may be minimal as the subgroup is quite similar to the whole study group	Yes	"We performed prespecified subgroup analyses to assess the consistency of the treatment effect using unstratified hazard ratios"
Rizvi 2020; MYSTIC bTMB	Unclear	No information on timing of molecular testing	Unclear	"Pretreatment plasma samples were available from 1001 patients (median plasma volume, 1.71 mL per patient [range, 0.2- 3.5 mL]), of whom 809 patients (72.4% of those randomized) were evaluable for bTMB; 194 did not have valid bTMB results owing to low	Yes		Unclear risk	The same test was used for participants with sample, timing is unclear, representativeness of participants unclear	Yes	"Investigation of the relationship between biomarkers, including TMB, and clinical outcomes was a prespecified exploratory objective."

Reference and subgroup	Timing of molecular analysis before starting treatment	Random or representative inclusion of participants	Same molecular test for all participants	Risk of bias in subgroup analysis	Pre-registration of subgroup analysis			
		cell-free DNA input, low tumor DNA shedding, or other quality control failures." --> 17 / 1118 randomized are not mentioned here						
Gandara 2018; OAK bTMB	Yes	Yes	Supplementary table 4 shows characteristics of the OAK ITT vs. the biomarker evaluable population, with minor differences in smoking status.	Yes	Low risk EGFR- and ALK mutant participants (N = 59) were excluded from analysis	No Not prespecified in trial registration.		
Gandara 2021; OAK bTMB	Unclear	Nothing reported on when samples were collected, probably before treatment as part of enrollment (this is the case for EGFR and ALK), but later used these samples for bTMB and other genetic alterations.	Unclear	Unclear if the 640 participants in the bTMB analysis, had the same characteristics as the 850 participants in the ITT analysis.	Yes	Unclear risk Information on timing of the molecular test and selection of participants is too limited to judge risk of bias.	No Not prespecified in trial registration.	
Gandara 2018; POPLAR bTMB	Yes	Yes	Supplementary table 3 shows characteristics of the POPLAR ITT vs. the biomarker evaluable population, without any large differences between the groups	Yes	Low risk	No Not prespecified in trial registration.		
Chen 2019; OAK & POPLAR bTMB	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018	Yes	Low risk	No Not prespecified in trial registration.		
Carbone 2017; Checkmate 026 tTMB	Yes	Yes	Patients included in subgroup are similar to total study population	Yes	Low risk	No Although it should be mentioned that the reason for performing the subgroup analysis was a baseline imbalance on TMB, the authors clearly state that this subgroup analysis is exploratory and that the trial is not powered for it.		
Herbst 2021;	Yes	For PD-L1 testing, samples were taken before treatment. It can	Yes	Only 25% of randomized participants are included in subgroup	Yes	Similar WES pipeline was used for all participants. Low risk	Timing of samples is accurate, patients are representative and the	No This is an exploratory analysis that was not prespecified. However, a

Reference and subgroup	Timing of molecular analysis before starting treatment	Random or representative inclusion of participants	Same molecular test for all participants	Risk of bias in subgroup analysis	Pre-registration of subgroup analysis
Keynote 010 tTMB	be assumed that the same samples are used for WES.	analysis, but characteristics of included participants are similar to those of excluded participants.		same molecular test was used for participants.	statistical analysis plan was prepared.
Rizvi 2020; MYSTIC tTMB	Unclear No information on timing of molecular testing	Unclear Pretreatment tissue samples were available from 735 patients, of whom 460 (41.1% of those randomized) were evaluable for tTMB; 275 samples did not produce a useable tTMB result owing to a variety of reasons, including insufficient tissue and/or tumor cells, insufficient DNA extracted, or a poor-quality next-generation sequencing library.	Yes	Unclear risk The same test was used for participants with sample, timing is unclear, representativeness of participants unclear	Yes "Investigation of the relationship between biomarkers, including TMB, and clinical outcomes was a prespecified exploratory objective."
Gandara 2021; OAK KEAP1	Unclear Nothing reported on when samples were collected, probably before treatment as part of enrollment (this is the case for EGFR and ALK), but later used these samples for bTMB and other genetic alterations.	Unclear Unclear if the 404 participants in the mutation analysis, had the same characteristics as the 850 participants in the ITT analysis.	Yes	Unclear risk Information on timing of the molecular test and selection of participants is too limited to judge risk of bias.	No Not prespecified in trial registration.
Zhu 2021; OAK KEAP1/ NEF2L2	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018 Yes	Low risk	No Not prespecified in trial registration.
Zhu 2021; OAK & POPLAR KEAP1/ NEF2L2	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018 Yes	Low risk	No Not prespecified in trial registration.
Zhu 2021; POPLAR KEAP1/ NEF2L2	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018 Yes	Low risk	No Not prespecified in trial registration.

Reference and subgroup	Timing of molecular analysis before starting treatment	Random or representative inclusion of participants	Same molecular test for all participants	Risk of bias in subgroup analysis	Pre-registration of subgroup analysis				
Borghaei 2015; Checkmate 057 KRAS	Unclear	No information on testing, mutation status was retrieved from case-report form	Unclear	Unclear	Unclear risk	Yes	No protocol is published, but it is explicitly stated that subgroup analyses were prespecified.		
Rittmeyer 2017; OAK KRAS	Unclear	No information on testing, mutation status was retrieved from case-report form	No	Only 30% of participants were included in subgroup analyses and there is no comparison between characteristics of included and excluded participants.	Unclear	High risk	Information about assessment of KRAS mutation status is very limited. Likely this was determined as part of routine care. Furthermore, the majority of participants did not have information on KRAS mutation status and it is very likely that this was a selective subset.	No	Not prespecified in trial registration.
Gandara 2021; OAK MDM2	Unclear	Nothing reported on when samples were collected, probably before treatment as part of enrollment (this is the case for EGFR and ALK), but later used these samples for bTMB and other genetic alterations.	Unclear	Unclear if the 451 participants in the mutation analysis, had the same characteristics as the 850 participants in the ITT analysis.	Yes	Unclear risk	Information on timing of the molecular test and selection of participants is too limited to judge risk of bias.	No	Not prespecified in trial registration.
Gandara 2021; OAK STK11	Unclear	Nothing reported on when samples were collected, probably before treatment as part of enrollment (this is the case for EGFR and ALK), but later used these samples for bTMB and other genetic alterations.	Unclear	Unclear if the 400 participants in the mutation analysis, had the same characteristics as the 850 participants in the ITT analysis.	Yes	Unclear risk	Information on timing of the molecular test and selection of participants is too limited to judge risk of bias.	No	Not prespecified in trial registration.
Chen 2019; OAK & POPLAR TP53/ATM	Yes		Yes	Similar population to Gandara 2018	Yes	Low risk		No	Not prespecified in trial registration.
Wang 2020; OAK LAF-bTMB	Yes		Yes	Similar population to Gandara 2018	Yes	Low risk		No	Not prespecified in trial registration.

Reference and subgroup	Timing of molecular analysis before starting treatment	Random or representative inclusion of participants	Same molecular test for all participants	Risk of bias in subgroup analysis	Pre-registration of subgroup analysis					
Wang 2020; POPLAR	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018	Yes	Low risk	No	Not prespecified in trial registration.			
LAF-bTMB										
Wang 2020; OAK & POPLAR	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018	Yes	Low risk	No	Not prespecified in trial registration.			
LAF-bTMB										
Yu 2020; OAK & POPLAR	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018	Yes	Low risk	No	Not prespecified in trial registration.			
bTMB-MSAF										
Lin 2021; OAK	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018	Yes	Low risk	No	Not prespecified in trial registration.			
5-genomic mutation signature										
Lin 2021; POPLAR	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018	Yes	Low risk	No	Not prespecified in trial registration.			
5-genomic mutation signature										
PFS										
Herbst 2020; Impower 110	Unclear	Not reported. Only reported: "Blood samples will be collected at screening and/or baseline, during therapy, and at first evidence of radiographic disease progression or loss of clinical benefit in order to better understand the changes in blood-based biomarker profiles and potential mechanisms of resistance upon progression." (protocol)	No	Of 554 randomized, only 389 included in subgroup analysis. While no clear reason is provided for missing test results, Table S6 in supplementary shows that the characteristics of 389 patients and the larger 554 patients are very similar	Yes	Although not explicitly reported, no other test is mentioned other than the one from Foundation Medicine	Unclear risk	Mostly due to unclear timing of the molecular test; risk of bias due to selective inclusion may be minimal as the subgroup is quite similar to the whole study group	Yes	"We performed prespecified subgroup analyses to assess the consistency of the treatment effect using unstratified hazard ratios"
Herbst 2020;	Unclear	Not reported. Only reported: "Blood samples will be collected	No	Of 554 randomized, only 389 included in subgroup analysis.	Yes	Although not explicitly reported, no other test is mentioned other than the	Unclear risk	Mostly due to unclear timing of the molecular test; risk of bias due to	Yes	"We performed prespecified subgroup analyses to assess the

Reference and subgroup	Timing of molecular analysis before starting treatment	Random or representative inclusion of participants	Same molecular test for all participants	Risk of bias in subgroup analysis	Pre-registration of subgroup analysis						
Impower 110 bTMB (cut-off 16)	at screening and/or baseline, during therapy, and at first evidence of radiographic disease progression or loss of clinical benefit in order to better understand the changes in blood-based biomarker profiles and potential mechanisms of resistance upon progression." (protocol)	While no clear reason is provided for missing test results, Table S6 in supplementary shows that the characteristics of 389 patients and the larger 554 patients are very similar	one from Foundation Medicine	selective inclusion may be minimal as the subgroup is quite similar to the whole study group	consistency of the treatment effect using unstratified hazard ratios"						
Rizvi 2020; MYSTIC bTMB	Unclear	No information on timing of molecular testing	Unclear	"Pretreatment plasma samples were available from 1001 patients (median plasma volume, 1.71 mL per patient [range, 0.2- 3.5 mL]), of whom 809 patients (72.4% of those randomized) were evaluable for bTMB; 194 did not have valid bTMB results owing to low cell-free DNA input, low tumor DNA shedding, or other quality control failures." --> 17 / 1118 randomized are not mentioned here	Yes	Unclear risk	The same test was used for participants with sample, timing is unclear, representativeness of participants unclear	Yes	"Investigation of the relationship between biomarkers, including TMB, and clinical outcomes was a prespecified exploratory objective."		
Gandara 2018; OAK bTMB	Yes	Yes	Yes	Supplementary table 4 shows characteristics of the OAK ITT vs. the biomarker evaluable population, with minor differences in smoking status.	Yes	Low risk	EGFR- and ALK mutant participants (N = 59) were excluded from analysis	No	Not prespecified in trial registration.		
Gandara 2018; POPLAR bTMB	Yes	Yes	Yes	Supplementary table 3 shows characteristics of the POPLAR ITT vs. the biomarker evaluable population, without any large differences between the groups	Yes	Low risk		No	Not prespecified in trial registration.		
Hellmann 2018; Checkmate 227	Yes	"Fresh or archival tumor-biopsy specimens obtained within 6 months before	Yes	Patients included in the subgroup analyses were compared to the total set of patients and there	Yes	Low risk	Similar NGS was used for all participants.	Low risk	Timing of samples is accurate, patients are representative and the	Yes	"On the basis of previous findings, a prespecified cutoff for tumor mutational burden of at

Reference and subgroup	Timing of molecular analysis before starting treatment	Random or representative inclusion of participants	Same molecular test for all participants	Risk of bias in subgroup analysis	Pre-registration of subgroup analysis					
tTMB	enrollment (and without the patient receiving any intervening systemic anti-cancer therapy) were tested for programmed death ligand 1 (PD-L1) by a centralized laboratory with the use of the anti-PD-L1 antibody (28-8 antibody)."	were no important differences.		same molecular test was used for participants.	least 10 mutations per megabase was selected for preplanned analysis of the coprimary end point. "					
Carbone 2017; Checkmate 026 tTMB	Yes	Yes	Patients included in subgroup are similar to total study population	Yes	Low risk	No	Although it should be mentioned that the reason for performing the subgroup analysis was a baseline imbalance on TMB, the authors clearly state that this subgroup analysis is exploratory and that the trial is not powered for it.			
Herbst 2021; Keynote 010 tTMB	Yes	For PD-L1 testing, samples were taken before treatment. It can be assumed that the same samples are used for WES.	Yes	Only 25% of randomized participants are included in subgroup analysis, but characteristics of included participants are similar to those of excluded participants.	Yes	Similar WES pipeline was used for all participants.	Low risk	Timing of samples is accurate, patients are representative and the same molecular test was used for participants.	No	This is an exploratory analysis that was not prespecified. However, a statistical analysis plan was prepared.
Borghaei 2015; Checkmate 057 KRAS	Unclear	No information on testing, mutation status was retrieved from case-report form	Unclear	Unclear	Unclear risk	Yes	No protocol is published, but it is explicitly stated that subgroup analyses were prespecified.			
Chen 2019; OAK & POPLAR TP53/ATM	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018	Yes	Low risk	No	Not prespecified in trial registration.			
Wang 2020; OAK LAF-bTMB	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018	Yes	Low risk	No	Not prespecified in trial registration.			
Wang 2020; OAK & POPLAR	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018	Yes	Low risk	No	Not prespecified in trial registration.			

Reference and subgroup	Timing of molecular analysis before starting treatment	Random or representative inclusion of participants	Same molecular test for all participants	Risk of bias in subgroup analysis	Pre-registration of subgroup analysis				
LAF-bTMB									
Wang 2020; POPLAR	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018	Yes	Low risk	No	Not prespecified in trial registration.		
LAF-bTMB									
Yu 2020; OAK & POPLAR	Yes	Yes	Similar population to Gandara 2018	Yes	Low risk	No	Not prespecified in trial registration.		
bTMB-MSAF									
ORR									
Rizvi 2020; MYSTIC	Unclear	No information on timing of molecular testing	Unclear	"Pretreatment plasma samples were available from 1001 patients (median plasma volume, 1.71 mL per patient [range, 0.2- 3.5 mL]), of whom 809 patients (72.4% of those randomized) were evaluable for bTMB; 194 did not have valid bTMB results owing to low cell-free DNA input, low tumor DNA shedding, or other quality control failures." --> 17 / 1118 randomized are not mentioned here	Yes	Unclear risk	The same test was used for participants with sample, timing is unclear, representativeness of participants unclear	Yes	"Investigation of the relationship between biomarkers, including TMB, and clinical outcomes was a prespecified exploratory objective."
bTMB									
Gandara 2018; OAK	Yes	Yes	Supplementary table 4 shows characteristics of the OAK ITT vs. the biomarker evaluable population, with minor differences in smoking status.	Yes	Low risk	EGFR- and ALK mutant participants (N = 59) were excluded from analysis	No	Not prespecified in trial registration.	
bTMB									
Carbone 2017; Checkmate 026	Yes	Yes	Patients included in subgroup are similar to total study population	Yes	Low risk		No	Although it should be mentioned that the reason for performing the subgroup analysis was a baseline imbalance on TMB, the authors clearly state that this subgroup analysis is exploratory and	
tTMB									

Reference and subgroup	Timing of molecular analysis before starting treatment	Random or representative inclusion of participants	Same molecular test for all participants	Risk of bias in subgroup analysis	Pre-registration of subgroup analysis
Herbst 2021; Keynote 010 tTMB	Yes For PD-L1 testing, samples were taken before treatment. It can be assumed that the same samples are used for WES.	Yes Only 25% of randomized participants are included in subgroup analysis, but characteristics of included participants are similar to those of excluded participants.	Yes Similar WES pipeline was used for all participants.	Low risk Timing of samples is accurate, patients are representative and the same molecular test was used for participants.	No This is an exploratory analysis that was not prespecified. However, a statistical analysis plan was prepared. that the trial is not powered for it.

Bijlage 6. GRADE summary of findings tabellen

6A: PICO 1 en 2

Certainty assessment							No of patients		Effect		Certainty	Importance
No of studies	Study design	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations	broad test	narrow test	Relative (95% CI)	Absolute (95% CI)		
Overall survival												
1	non-randomised study (before-after study)	very serious ^a	not serious	serious ^b	serious ^c	none	258 participants	774 participants	HR 0.82 (0.69 to 0.97) [Overall survival]	-	⊕○○○ Very Low	CRITICAL
							-	-		-		
Quality of life - not reported												
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	CRITICAL
Concordance												
8	concordance studies	serious ^d	serious ^e	serious ^f	not evaluable ^g	none	1247		[Narrative synthesis] point estimates for concordance between broad and narrow testing were high (>90%) in most analyses. In analyses that combined multiple target genes, lower concordance was observed.		⊕○○○ Very Low	CRITICAL
Progression free survival - not reported												
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IMPORTANT
Objective response rate - not reported												

Certainty assessment							No of patients		Effect		Certainty	Importance
No of studies	Study design	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations	broad test	narrow test	Relative (95% CI)	Absolute (95% CI)		
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IMPORTANT

CI: confidence interval; HR: hazard ratio

Explanations

For overall survival, we rated the certainty that the true hazard ratio is smaller than 1.

For concordance, we rated the certainty that the true concordance lies between the limits of the 95% confidence intervals

- a. Very serious risk of bias due to uncontrolled confounding and because intervention groups were not well defined.
- b. There was insufficient information available to assess indirectness in terms of patient population, index tests and outcome.
- c. Upper range of confidence interval is 0.97 which is indistinguishable from 1.
- d. 5 of 8 studies were rated as being at high risk of bias in one or more domains.
- e. 6 of 8 studies were rated as having high concerns regarding applicability in one or more domains.
- f. Substantial unexplained heterogeneity in concordance estimates.
- g. Imprecision was not rated because our target of certainty rating equals the limits of the 95% confidence intervals.

6B: PICO 3

PICO 3: Blood-based tumor mutational burden (bTMB) as a predictor of effect of immunotherapy

Certainty assessment							No of patients		Subgroup effect	Certainty	Importance
No of studies	Study design	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations	Subgroup: high bTMB (thresholds varied)	Subgroup: low bTMB (thresholds varied)	Narrative synthesis		
Difference in effects of immunotherapy on <u>overall survival</u>											
4*	Comparison within RCT	not serious ^a	not serious	not serious	serious ^b	no concerns ^c	387	1378	Generally, the effects of immunotherapy in the high-bTMB groups were larger than those of the low-bTMB groups	⊕⊕⊕○ Moderate	CRITICAL
Difference in effects of immunotherapy on <u>quality of life</u> - not reported											
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	CRITICAL
Difference in effects of immunotherapy on <u>progression-free survival</u>											
3**	Comparison within RCT	serious ^d	not serious	not serious	serious ^b	no concerns ^c	379	1116	In 2 of 3 studies, the effects of immunotherapy in the high-tTMB groups were larger than those of the low-tTMB groups	⊕⊕○○ Low	IMPORTANT
Difference in effects of immunotherapy on <u>objective response rate</u>											

Certainty assessment							No of patients		Subgroup effect	Certainty	Importance
No of studies	Study design	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations	Subgroup: high bTMB (thresholds varied)	Subgroup: low bTMB (thresholds varied)	Narrative synthesis		
2***	Comparison within RCT	serious ^e	not serious	not serious	serious ^f	no concerns ^c	292	814	In 1 of 2 studies, the effect of immunotherapy in the high-TMB group was larger than in the low-TMB group	⊕⊕○○ Low	IMPORTANT

Explanations

We rated the certainty that the true difference in treatment effect within trials is non-null. RCT = randomized controlled trial.

*Trials: Impower 110, MYSTIC, OAK, and POPLAR

**Trials: Impower 110, MYSTIC, and OAK

***Trials: MYSTIC and OAK

a. No trials had high risk of bias regarding treatment effect as lack of blinding was not considered to be important for this outcome. Unclear risk of bias in the subgroup analysis in 2 of 4 trials (Impower 110 and MYSTIC).

b. Confidence intervals of the subgroup estimates overlapped in all but one analysis (MYSTIC)

c. The risk of selective reporting bias was considered, however we decided not to downgrade as there seem no systematic differences between studies that did and did not preregister their subgroup analyses.

d. 2 of 3 trials (Impower 110 and OAK) had high risk of bias regarding treatment effect due to lack of blinding of outcome assessors. Unclear risk of bias in the subgroup analysis in 1 of 3 trials (MYSTIC).

e. 1 of 2 trials (OAK) had high risk of bias regarding treatment effect due to lack of blinding of outcome assessors. Unclear risk of bias in the subgroup analysis of 1 of 2 trials (MYSTIC).

f. Confidence intervals of the subgroup estimates overlapped in 1 of 2 trials (OAK)

PICO 3: Tissue-based tumor mutational burden (tTMB) as a predictor of effect of immunotherapy

Certainty assessment							No of patients		Subgroup effect	Certainty	Importance
No of studies	Study design	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations	Subgroup: high tTMB (thresholds varied)	Subgroup: low tTMB (thresholds varied)	Narrative synthesis		
Difference in effects of immunotherapy on <u>overall survival</u>											
3*	Comparison within RCT	not serious ^a	not evaluable ^b	not serious	serious ^c	no concerns ^d	366	514	In 2 of 3 studies, the effects of immunotherapy in the high-TMB groups were larger than those of the low-TMB groups	⊕⊕⊕○ Moderate	CRITICAL
Difference in effects of immunotherapy on <u>quality of life</u> - not reported											
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	CRITICAL
Difference in effects of immunotherapy on <u>progression-free survival</u>											
3**	Comparison within RCT	serious ^e	not serious	not serious	serious ^f	no concerns ^d	451	706	The effects of immunotherapy in the high-TMB groups were larger than those of the low-TMB groups	⊕⊕○○ Low	IMPORTANT
Difference in effects of immunotherapy on <u>objective response rate</u>											
2***	Comparison within RCT	serious ^g	not serious	not serious	serious ^c	no concerns ^d	239	326	The effects of immunotherapy in the high-TMB groups were larger than those of the low-TMB groups	⊕⊕○○ Low	IMPORTANT

Explanations

We rated the certainty that the true difference in treatment effect within trials is non-null. RCT = randomized controlled trial.

*Trials: MYSTIC, Keynote010, and Checkmate026

**Trials: Checkmate227, Checkmate026, and Keynote010

***Trials: Checkmate026 and Keynote010

- a. High risk of bias in treatment effect in 1 of 3 trials due to missing data (Keynote 010) however, absolute numbers are low and therefore has not influenced our trust in results. Unclear risk of bias in the subgroup analysis in 1 of 3 trials (MYSTIC).
- b. We did not compute study-specific estimates and confidence intervals for the estimate of the difference in treatment effect.
- c. Confidence intervals of the subgroup estimates overlapped in all analyses.
- d. The risk of selective reporting bias was considered, however we decided not to downgrade as there seem no systematic differences between studies that did and did not preregister their subgroup analyses.
- e. 2 of 3 trials (Checkmate227, Keynote010) had high risk of bias regarding treatment effect due to lack of blinding of outcome assessors.
- f. Confidence intervals of the subgroup estimates overlapped in 2 of 3 trials (Checkmate227 and Keynote010)
- g. 1 of 2 trials (Keynote010) had high risk of bias regarding treatment effect due to lack of blinding of outcome assessors.

PICO 3: Other tests or markers as predictors of effect of immunotherapy

Test	Certainty assessment					No of patients, studies (trial names)	Subgroup effect (narrative synthesis)	Certainty	Importance
	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations				
Difference in effects of immunotherapy on overall survival									
LAF-bTMB	not serious ^a	not serious	not serious	serious ^b	no concerns ^c	853, 2 RCT (OAK, POPLAR)	The effects of immunotherapy in the high-LAF-bTMB groups were larger than those of the low-LAF-bTMB groups	⊕⊕⊕○ Moderate	CRITICAL
bTMB-MSAF	not serious ^a	not evaluable (combined result)	not serious	serious ^b	no concerns ^c	735, 2 RCT (OAK, POPLAR)	The effect of immunotherapy in the low-bTMB-MSAF group was larger than that of the high-bTMB-MSAF group	⊕⊕⊕○ Moderate	CRITICAL
KEAP 1	not serious ^a	not evaluable (1 study)	not serious	very serious ^d	no concerns ^c	473, 1 RCT (OAK)	The effect of immunotherapy in the KEAP1 mutant group was larger than that of the KEAP1 wildtype group, but the confidence intervals overlap completely	⊕⊕○○ Low	CRITICAL
KEAP1/NEF2L2	not serious ^a	not serious	not serious	very serious ^d	no concerns ^c	853, 2 RCT (OAK, POPLAR)	The effects of immunotherapy in the KEAP1/NEF2L2 wildtype groups were larger than those of the KEAP1/NEF2L2 mutant groups, but the confidence intervals overlap completely	⊕⊕○○ Low	CRITICAL
KRAS	not serious ^a	not serious	not serious	serious ^b	no concerns ^c	447, 2 RCT (OAK, Checkmate057)	The effects of immunotherapy in the KRAS mutant groups were larger than those of the KRAS wildtype groups, but the confidence intervals overlap almost completely	⊕⊕⊕○ Moderate	CRITICAL
MDM2	not serious ^a	not evaluable (1 study)	not serious	very serious ^d	no concerns ^c	473, 1 RCT (OAK)	The effects of immunotherapy in the MDM2 wildtype group was larger than that of the MDM2 mutant group, but the confidence intervals overlap completely	⊕⊕○○ Low	CRITICAL
STK11	not serious ^a	not evaluable (1 study)	not serious	very serious ^d	no concerns ^c	470, 1 RCT (OAK)	The effect of immunotherapy in the STK11 mutant group was larger than that of the STK11 wildtype group, but the confidence intervals overlap completely	⊕⊕○○ Low	CRITICAL

Test	Certainty assessment					No of patients, studies (trial names)	Subgroup effect (narrative synthesis)	Certainty	Importance
	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations				
Mutation signature	not serious ^a	not serious	not serious	very serious ^d	no concerns ^c	850, 2 RCT (OAK, POPLAR)	In one study, the effect of immunotherapy in the low risk mutation signature group was larger than that of the high risk mutation signature group, but the confidence intervals overlap completely. In the other study, the effects were similar across subgroups and confidence intervals overlap completely.	⊕⊕○○ Low	CRITICAL
Difference in effects of immunotherapy on <u>progression-free survival</u>									
LAF-bTMB	serious ^e	not serious	not serious	not serious	no concerns ^c	853, 2 RCTs (OAK, POPLAR)	The effects of immunotherapy in the high-LAF-bTMB groups were larger than those of the low-LAF-bTMB groups	⊕⊕⊕○ Moderate	IMPORTANT
bTMB-MSAF	serious ^e	not evaluable (combined result)	not serious	not serious	no concerns ^c	735, 2 RCTs (OAK, POPLAR)	The effect of immunotherapy in the low-bTMB-MSAF group was larger than that of the high-bTMB-MSAF group.	⊕⊕⊕○ Moderate	IMPORTANT
KRAS	serious ^f	not evaluable (1 study)	not serious	very serious ^g	No concerns	185, 1 RCT (Checkmate 057)	The effect of immunotherapy in the KRAS mutant group was larger than that of the KRAS wildtype group.	⊕○○○ Very low	IMPORTANT

Explanations

We rated the certainty that the true difference in treatment effect within trials is non-null. RCT = randomized controlled trial.

Outcomes 'Difference in effects of immunotherapy on quality of life' and 'Difference in effects of immunotherapy on objective response rate' were not reported.

a. Lack of blinding of outcome assessors was not considered to be important for this outcome.

b. Confidence intervals of the subgroup estimates overlapped in some or all analyses.

c. The risk of selective reporting bias was considered, however we decided not to downgrade as there seem no systematic differences between studies that did and did not preregister their subgroup analyses.

d. Confidence intervals of the subgroup estimates overlap completely or almost completely.

e. High risk of bias regarding treatment effect due to lack of blinding of outcome assessors.

f. Unclear risk of bias regarding treatment effect and unclear risk of bias in subgroup analysis across many domains.

g. Very small sample size.

Bijlage 7. Aanvullen de resultaten en groepsgroottes van subgroepenanalyses

Tabel. Overlevingspercentages en groepsgroottes subgroepenanalyses betreffende mutaties met een negatief voorspellende waarde voor de effectiviteit van immunotherapie voor de uitkomsten algehele overleving en progressievrije overleving

Reference; study	Subgroup	N	Median survival* - Chemotherapy	N	Median survival* - Immunotherapy	N	Subgroup	N	Median survival* - Chemotherapy	N	Median survival* - Immunotherapy	N
OS												
Herbst 2020; Impower 110	bTMB <20 mut/1.1 Mb	333	15.3 months	NR	13.3 months	NR	bTMB ≥20 mut/1.1 Mb	56	10.5 months	NR	17.2 months	NR
Rizvi 2020; MYSTIC	bTMB <20 mut/Mb	389	11.6 months (95% CI 9.6-13.1)	185	8.5 months (95% CI 6.7-9.8)	204	bTMB ≥20 mut/Mb	134	10.0 months (95% CI 8.1-11.7)	70	21.9 months (95% CI 11.4-32.8)	64
Herbst 2020; Impower 110	bTMB <16 mut/1.1 Mb	302	15.3 months	NR	12.9 months	NR	bTMB ≥16 mut/1.1 Mb	87	8.5 months	NR	13.9 months	NR
Gandara 2018; OAK	bTMB <16 mut/Mb	425	NR	209	NR	216	bTMB ≥16 mut/Mb	158	Median 6.8 months	81	13.5 months	77
Gandara 2021; OAK	bTMB <16 mut/Mb	481	NR	236	NR	245	bTMB ≥16 mut/Mb	159	NR	81	NR	78
Gandara 2018; POPLAR	bTMB <16 mut/Mb	NR	NR	NR	NR	NR	bTMB ≥16 mut/Mb	63	7.4 months	38	13.0 months	25
Chen 2019; OAK & POPLAR	bTMB <13 mut/Mb	687	9.5 months (95% CI 8.7-11.0)	332	10.4 months (95% CI 9.2-13.2)	355	bTMB ≥13 mut/Mb	166	7.4 months (95% CI 6.2-9.3)	92	17.0 months (95% CI 15.5-22.2)	74
Carbone 2017; Checkmate026	tTMB <242 mut/ex	205	13.2 months (95% CI 9.5-15.2)	94	12.7 months (95% CI 9.9-16.1)	111	tTMB ≥242 mut/ex	107	18.8 months (95% CI 11.3-NR)	60	18.3 months (95% CI 11.4 - NR)	47
Herbst 2021; Keynote 010	tTMB <175 mut/ex	121	7.2 months (95% CI 4.5-14.3)	38	9.3 months (95% CI 8.2-12.5)	83	tTMB ≥175 mut/ex	132	7.6 months (95% CI 5.0-10.7)	51	14.1 months (95% CI 10.0-19.2)	81
Rizvi 2020; MYSTIC	tTMB <10 mut/Mb	188	13.8 months (95% CI 10.1-16.3)	84	8.4 months (95% CI 5.3-10.3)	104	tTMB ≥10 mut/Mb	127	11.9 months (95% CI 9.1-16.0)	67	16.6 months (95% CI 9.7-27.3)	60
Wang 2020; OAK	LAF-bTMB <12	509	9.3 months	252	10.3 months	257	LAF-bTMB ≥12	133	6.9 months	66	17.3 months	67
Wang 2020; POPLAR	LAF-bTMB <12	163	9.7 months	75	10.9 months	88	LAF-bTMB ≥12	48	7.0 months	31	15.5 months	17
Wang 2020; OAK & POPLAR	LAF-bTMB <12	672	9.5 months	327	10.3 months	345	LAF-bTMB ≥12	181	6.9 months	97	17.1 months	84

Reference; study	Subgroup	N	Median survival* - Chemotherapy	N	Median survival* - Immunotherapy	N	Subgroup	N	Median survival* - Chemotherapy	N	Median survival* - Immunotherapy	N
Yu 2020; OAK & POPLAR	bTMB-MSAF <20	508	2-year survival rate 14.6%	249	2-year survival rate 32.3%	259	bTMB-MSAF ≥20	227	NR	115	NR	112
Gandara 2021; OAK	KEAP1 positive	69	NR	31	NR	38	KEAP1 wildtype	404	NR	NR	NR	NR
Zhu 2021; OAK	KEAP1/NEF2L 2 mutant	122	NR	59	NR	63	KEAP1/NEF2L 2 wildtype	520	NR	259	NR	261
Zhu 2021; OAK & POPLAR	KEAP1/NEF2L 2 mutant	171	NR	84	NR	87	KEAP1/NEF2L 2 wildtype	682	NR	340	NR	342
Zhu 2021; POPLAR	KEAP1/NEF2L 2 mutant	49	NR	25	NR	24	KEAP1/NEF2L 2 wildtype	162	NR	81	NR	81
Borghaei 2015; Checkmate 057	KRAS mutant	62	NR	34	NR	28	KRAS wildtype	123	NR	63	NR	60
Rittmeyer 2017; OAK	KRAS mutant	59	10.5 months	33	17.2 months	26	KRAS wildtype	203	11.3 months	104	13.8 months	99
Gandara 2021; OAK	MDM2 positive	22	NR	12	NR	10	MDM2 wildtype	451	NR	NR	NR	NR
Gandara 2021; OAK	STK11 positive	70	NR	32	NR	38	STK11 wildtype	400	NR	NR	NR	NR
Chen 2019; OAK & POPLAR	TP53/ATM mutant	38	NR	21	NR	17	TP53/ATM wildtype	815	NR	403	NR	412
Lin 2021; OAK	High risk mutation signature	110	5.355 months	58	6.308 months	52	Low risk mutation signature	529	9.758 months	260	15.343 months	269
Lin 2021; POPLAR	High risk mutation signature	45	6.242 months	22	6.078 months	23	Low risk mutation signature	166	10.053 months	84	14.817 months	82
PFS												
Herbst 2020; Impower 110	bTMB <20 mut/1.1 Mb	333	5.4 months	NR	4.9 months	NR	bTMB ≥20 mut/1.1 Mb	56	5.2 months	NR	6.8 months	NR
Rizvi 2020; MYSTIC	bTMB <20 mut/Mb	389	5.0 months (95% CI 4.2-5.5)	185	2.0 months (95% CI 1.7-2.8)	204	bTMB ≥20 mut/Mb	134	4.4 months (95% CI 4.1-5.4)	70	4.2 months (95% CI 2.8-NR)	64
Herbst 2020; Impower 110	bTMB <16 mut/1.1 Mb	302	5.5 months	NR	4.5 months	NR	bTMB ≥16 mut/1.1 Mb	87	4.4 months	NR	6.8 months	NR
Gandara 2018; OAK	bTMB <16 mut/Mb	425	NR	209	NR	216	bTMB ≥16 mut/Mb	158	NR	81	NR	77

Reference; study	Subgroup	N	Median survival* - Chemotherapy	N	Median survival* - Immunotherapy	N	Subgroup	N	Median survival* - Chemotherapy	N	Median survival* - Immunotherapy	N
Gandara 2018; POPLAR	bTMB <16 mut/Mb	NR	NR	NR	NR	NR	bTMB ≥16 mut/Mb	63	2.9 months	38	4.2 months	25
Hellmann 2018; Checkmate 227	tTMB <20 mut/Mb	380	1-year survival 17%	189	1-year survival 25%	191	tTMB ≥10 mut/Mb	213	1-year survival 16%	112	1-year survival 42%	101
Carbone 2017; Checkmate026	tTMB <242 mut/ex	205	6.9 months (95% CI 5.5-8.6)	94	4.1 months (95% CI 2.8-5.4)	111	tTMB ≥242 mut/ex	106	5.8 months (95% CI 4.2-8.5)	60	9.7 months (95% CI 5.1-NR)	47
Herbst 2021; Keynote 010	tTMB <175 mut/ex	121	3.4 months (95% CI 2.1-7.5)	38	3.6 months (95% CI 2.1-4.5)	83	tTMB ≥175 mut/ex	132	2.4 months (95% CI 2.1-6.0)	51	4.2 months (95% CI 2.2-10.0)	81
Wang 2020; OAK	LAF-bTMB <12	509	4.1 months	252	2.4 months	257	LAF-bTMB ≥12	133	2.9 months	66	5.5 months	67
Wang 2020; OAK & POPLAR	LAF-bTMB <12	672	4.0 months	327	2.4 months	345	LAF-bTMB ≥12	181	2.9 months	97	5.9 months	84
Wang 2020; POPLAR	LAF-bTMB <12	163	3.9 months	75	2.4 months	88	LAF-bTMB ≥12	48	2.9 months	31	8.3 months	17
Yu 2020; OAK & POPLAR	bTMB-MSAF <20	508	2-year survival rate 1.8%	249	2-year survival rate 12.5%	259	bTMB-MSAF ≥20	227	NR	115	NR	112
Borghaei 2015; Checkmate 057	KRAS mutant	62	NR	34	NR	28	KRAS wildtype	123		3		2
Chen 2019; OAK & POPLAR	TP53/ATM mutant	38	NR	21	NR	17	TP53/ATM wildtype	815	NR	403	NR	412

Moleculaire Diagnostiek in de oncologie: plaatsbepaling aan de hand van het klinisch nut

Rapportage indicatiegebied
Pancreascarcinoom

Februari 2023

Bada Yang
Johanna Damen
Linde Huis in 't Veld
Demy Idema
René Spijker
Sjoerd Elias
Lotty Hooft



Samenstelling projectteam:

Onderzoekers

- Dr. B. Yang
- Dr. J.A.A. Damen
- Drs. L.F. Huis in 't Veld
- Drs. D.L. Idema
- Drs. R. Spijker
- Dr. S.G. Elias
- Prof. dr. L Hooft

Informatiespecialist

- Drs. R. Spijker, Cochrane Netherlands en Julius Centrum, UMC Utrecht

Contactgegevens

Prof. dr. Lotty Hooft
Cochrane Netherlands / Julius Centrum
Universitair Medisch Centrum Utrecht
Huispostnummer Str. 6.131
Postbus 85500
3508 GA Utrecht
T: 088 755 9301
E: cochrane@umcutrecht.nl
W: www.cochrane.nl

Disclaimer: The views and opinions expressed in this document are those of the authors and do not necessarily reflect those of The Cochrane Collaboration.

Lijst met gebruikte afkortingen

BI	Betrouwbaarheidsinterval
ddPCR	<i>Droplet Digital Polymerase chain reaction</i>
FFPE	<i>Formalin-Fixed Paraffin-Embedded</i>
FISH	Fluorescence in situ hybridization
NGS	Next generation sequencing
ORR	Objectief responspercentage [<i>objective response rate</i>]
OS	Algehele overleving [<i>overall survival</i>]
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PFS	Ziektevrije overleving [<i>progression free survival</i>]
PICO	Populatie, interventie, controle, uitkomst [<i>outcome</i>]
RCT	Randomized Controlled Trial
RT-PCR	Reverse transcriptase-polymerase chain reaction
SR	Systematische review
WES	Whole exome sequencing
WGS	Whole genome sequencing

Inhoudsopgave

1. Inleiding	160
2. Vraagstelling	160
3. Logic model	160
4. Formuleren PICO's indicatiegebied pancreascarcinoom.....	162
5. Methode	164
5.1 Identificatie en selectie van relevante onderzoeken	164
5.2 Data-extractie en analyses	165
6. Resultaten	166
6.1 Selectie van onderzoeken	166
6.2. Beschrijving van geïncludeerde onderzoeken	166
6.3. Bevindingen	166
7. Conclusie en discussiepunten	167
Referenties.....	169
Bijlagen.....	170
Bijlage 1. Zoekstrategieën	171
Bijlage 2. Study flow diagram	174
Bijlage 3. Uitgesloten onderzoeken	175
Bijlage 4. Ingesloten onderzoeken	180

1. Inleiding

In september 2020 heeft de Minister voor Medische Zorg en Sport het Zorginstituut verzocht om advies te geven over de effectiviteit, plaatsbepaling en de toegankelijkheid en implementatie van moleculaire diagnostiek in de Nederlandse zorgpraktijk. De scope binnen deze adviesaanvraag is de predictieve diagnostiek van oncologische ziekten. In het bijzonder betreft het de vraag hoe de huidige innovatieve ontwikkelingen in de moleculaire tumordiagnostiek, waaronder de ontwikkeling van bredere DNA/RNA-testen welke zich focussen op meerdere biomarkers, zich verhouden tot de doorontwikkeling van bestaande testen. Onder de bredere DNA/RNA-testen wordt Whole Genome Sequencing (WGS) en Whole Exome Sequencing (WES) geschaard, alsmede brede next generation sequencing (NGS) (eventueel gecombineerd met Archer fusie analyse). Smalle testen zijn alle testen die één of enkele genen omvatten en smalle NGS panels.

Binnen de oncologie speelt moleculaire diagnostiek, een verzamelnaam voor voorspellende testen die de genetische eigenschappen van tumoren bepalen, met name een rol bij het selecteren van patiënten die in aanmerking komen voor doelgerichte geneesmiddelen (met andere woorden: het voorspellen van respons op behandeling). Nieuwe, vaak dure, doelgerichte geneesmiddelen komen in rap tempo op de markt, terwijl de effectiviteit en plaatsbepaling van de moleculaire diagnostische testen voor de selectie van patiënten niet altijd duidelijk is. Daarnaast is vaak onvoldoende duidelijk in welke gevallen een brede moleculaire test ingezet dient te worden, en wanneer een gerichte smalle test, of sequentieel meerdere testen, volstaat. Een brede moleculaire test is duurder en vraagt specifieke kennis en expertise. Echter, wanneer meerdere gerichte testen ingezet moeten worden, is het soms efficiënter om direct een brede test in te zetten. Het optimum waarbij het beter is om met een brede test te beginnen wordt het *Tipping Point* genoemd. De vraag is wanneer sequentieel testen en/of gericht smal testen, beter vervangen kan worden door een brede testmethode.

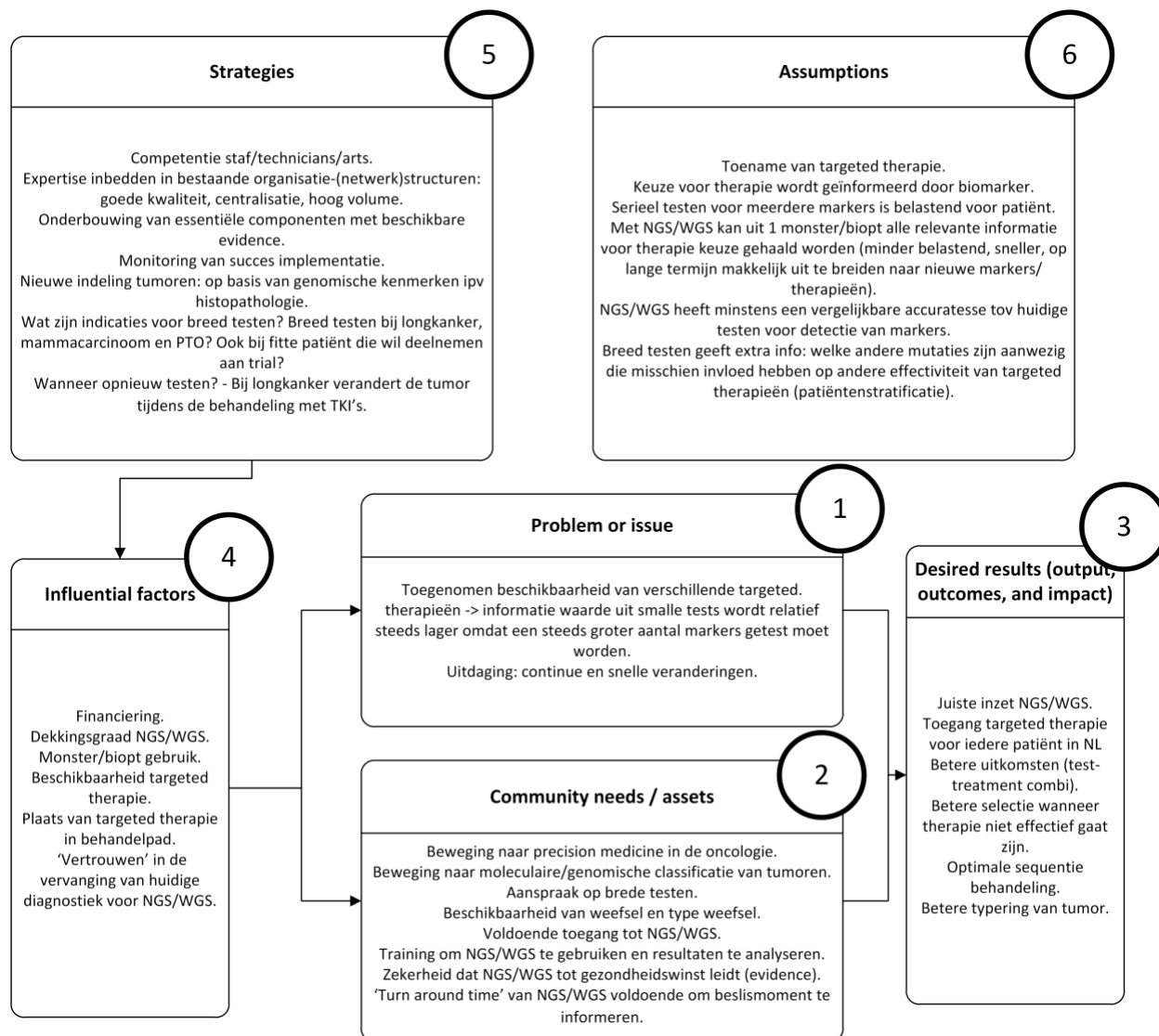
2. Vraagstelling

Het Zorginstituut heeft de volgende vraagstelling geformuleerd: “Wat is het klinisch nut van brede moleculaire diagnostiek in vergelijking met smalle moleculaire diagnostiek binnen de behandeling van kanker?” Hierbij gaat het Zorginstituut uit van meerdere indicatiegebieden, waarvoor Cochrane Netherlands de effectiviteit van verschillende predictieve biomarkers in afzonderlijke uitgangsvragen (PICO’s) zal onderzoeken. In het eerste rapport heeft Cochrane Netherlands het indicatiegebied niet-kleincellig longcarcinoom onderzocht. In dit tweede rapport ligt de focus op het indicatiegebied pancreascarcinoom. Hiervoor is gekozen omdat er sprake is van *high medical need* maar, in tegenstelling tot niet-kleincellig longcarcinoom, er weinig doelgerichte therapieën bestaan voor deze indicatie. Hierdoor zal de weging voor opname in het pakket anders zijn dan bij niet-kleincellig longcarcinoom.

3. Logic model

Cochrane Netherlands heeft voorgesteld om eerst de complexiteit van de plaatsbepaling van moleculaire diagnostiek in de oncologie binnen de Nederlandse zorgpraktijk goed in kaart te brengen, met behulp van een *logic model* (CICI framework¹). Het doel van het *logic model* is om een goed beeld te

verkrijgen van de plaats van het onderhavige project, inclusief de inbedding en disseminatie van de uitkomsten, en hoe de verschillende onderdelen met elkaar in verhouding staan. Het model, dat in een eerder stadium van dit project is ontwikkeld, is weergegeven in Figuur 1.



Figuur 1: Logic model voor plaatsbepaling moleculaire diagnostiek bij kanker in de Nederlandse zorgpraktijk

Er zijn een aantal knelpunten en uitdagingen waar tijdens de uitvoer van het project en de interpretatie van de resultaten aandacht aan besteed zal worden.

Ten eerste is bij moleculaire diagnostiek geen duidelijke referentiestandaard beschikbaar, dat wil zeggen er is geen best mogelijke manier om de aan- of afwezigheid van de betreffende mutaties vast te stellen. Het is daarom niet mogelijk om de diagnostische accuratesse van brede en smalle testen te bepalen en met elkaar te vergelijken. Daardoor worden vervolgstappen een uitdaging en is het niet mogelijk om op de gebruikelijke manier het vergelijkend analyseraam in te vullen.

Ten tweede zal het uitdagend worden om voor de uitgangsvragen (PICO's) over klinisch nut studies te vinden die gebruik maken van de ideale studieopzet (vergelijkende gerandomiseerde studies) om te bewijzen of veronderstelde effecten als gevolg van het gebruik van de brede testen causaal zijn. Experts geven aan dat dergelijke vergelijkende gerandomiseerde studies niet of nauwelijks (kunnen) worden uitgevoerd. Daarnaast zijn (peer-reviewed) gegevens over lange-termijn uitkomsten (5 jaar of langer) niet beschikbaar, omdat de meeste doelgerichte behandelingen pas kortgeleden ontwikkeld zijn.

Ten derde is het onderscheid tussen een brede test en een smalle test niet altijd te maken, omdat er geen algemene definitie is. NGS kan een laag aantal genen omvatten of een hoog aantal genen, en waar de grens ligt is niet eerder beschreven. Duidelijk is wel dat testen zoals WGS en WES vallen onder de brede testen. Daarnaast richten veel smalle testen, waaronder FISH en PCR, zich op één of enkele genen. NGS kan zowel breed of smal zijn en hiertoe dienen op voorhand afspraken gemaakt te worden over wat wordt geclassificeerd als een brede test en wat als een smalle test.

4. Formuleren PICO's indicatiegebied pancreascarcinoom

Het Zorginstituut heeft pancreascarcinoom geselecteerd als tweede indicatiegebied. Hiervoor zijn uitgangsvragen (PICO's) geformuleerd waarvoor Cochrane Netherlands de evidence zal verzamelen en uitwerken. Bij het opstellen van de PICO's werden de huidige richtlijnen gevolgd. Echter, aangezien de richtlijnen van het pancreascarcinoom niet up-to-date zijn (bijvoorbeeld is olaparib, gebruikt bij BRCA-gemuteerde tumoren en vergoed vanuit de basisverzekering, nog niet in de richtlijnen opgenomen), werden ook de aan het Zorginstituut gebonden experts geraadpleegd bij het opstellen van de PICO's.

De PICO's hebben betrekking op de inzet van brede testen. Hierbij wordt onderscheid gemaakt tussen het klinisch nut van het inzetten van een brede test in vergelijking tot het niet uitvoeren van moleculaire diagnostiek of het inzetten van één of meerdere smalle testen, en de concordantie van de uitslag van een brede test in vergelijking met een smalle test.

Het Zorginstituut heeft idealiter bewijs in de vorm van klinisch nut studies nodig om een uitspraak te doen over de effectiviteit van breed testen. Wanneer deze er niet zijn, of van onvoldoende methodologische kwaliteit, zullen ook concordantiestudies meegenomen worden. De verwachting van de expertgroep is dat er weinig tot geen klinisch nut studies beschikbaar zijn en er dus gekeken zal worden naar concordantie.

Omdat een referentiestandaard waarmee de resultaten van de moleculaire testen vergeleken worden niet bestaat in dit vakgebied, is er gekozen voor de uitkomst concordantie, in plaats van diagnostische accuratesse (sensitiviteit, specificiteit en voorspellende waarden). Indien een brede test meer mutaties detecteert dan een smalle test, dan kan niet worden vastgesteld of dit een fout-positief resultaat is, of dat de brede test gevoeliger is en daarom meer mutaties oppikt. In overleg met het Zorginstituut is gekozen voor concordantie als uitkomstmaat, omdat bij hoge concordantie aangenomen kan worden dat de accuratesse van beide testen vergelijkbaar is, en de nieuwe, brede test dus vergelijkbaar is met de huidige smalle testen.

Zoals in hoofdstuk 3 beschreven, is de grens tussen een brede en smalle moleculaire test niet eenduidig. Een dergelijke grens kan verschillen per indicatiegebied, gezien het totaal aantal relevante mutaties tumorafhankelijk is. Voor pancreascarcinoom is in overleg met het Zorginstituut en de aan het

Zorginstituut verbonden experts afgesproken dat de definitie van een brede test niet alleen bepaald kan worden op basis van het aantal genen, maar dat er ook gekeken dient te worden welke genen gedekt worden met de test. Een test met bijvoorbeeld 50 genen zal meestal beschouwd worden als een smalle test omdat het BRCA gen (relevant voor pancreascarcinoom), vaak niet gedekt wordt door dit soort testen. Besloten is dat alle testen met minstens 50 genen en 1 megabases voorgelegd zullen worden aan de experts en de experts zullen vervolgens aangeven of de test breed of smal is.

Daarnaast heeft een gesprek met niet-UMC experts inzichtelijk gemaakt dat niet alle brede testen gelijkwaardig zijn. Een WES of WGS is vaak duurder en vereist, door het gebruik van vriesmateriaal, een andere infrastructuur dan bij testen op basis van FFPE materiaal. De meerwaarde van deze testen boven die van brede NGS panels dient daarom te worden onderzocht. In overleg met het Zorginstituut is besloten om een aparte PICO op te nemen waarbij de vergelijking tussen WES en WGS enerzijds en brede NGS panels anderzijds centraal staat.

Voor het vaststellen van de relevante mutaties voor pancreascarcinoom werden we geïnformeerd door de lijst van klinisch minimaal noodzakelijke targets (KMNT) die is opgesteld door de expertgroep. Relevante mutaties voor pancreascarcinoom zijn onder andere mutaties in BRCA1/2, dMMR/MSI-H, NTRK fusies, KRAS, HER2 amplificaties en NRG1 fusies.

Het Zorginstituut heeft uiteindelijk de volgende twee uitgangsvragen vastgesteld:

PICO 1

P: Patienten met gemetastaseerde (stadium IV) of niet-resectabele ('locally advanced' stadium III) pancreascarcinoom met mogelijk een moleculaire aberratie

I: Brede moleculaire test (testen met minstens 50 genen en 1 megabase dekking en alle relevante kankergenen gedekt, e.g., brede NGS, WES, WGS, TSO-500)

C: Smalle moleculaire test (testen met minder dan 50 genen en 1 megabase dekking, of niet alle relevante kankergenen gedekt e.g., gerichte NGS, PCR, FISH, Idylla), die eventueel sequentieel kan worden ingezet*. Voor klinische nut-studies werd ook gezocht naar een controlegroep waarbij moleculaire diagnostiek niet wordt uitgevoerd; in een dergelijke groep zullen patiënten waarschijnlijk standaard systemische behandeling of best support care krijgen volgens de vigerende richtlijnen.

O: Kwaliteit van leven (QoL; cruciaal); Overall survival (OS; cruciaal); Concordantie (cruciaal); Progression free survival (PFS; belangrijk); Objective response rate (ORR; belangrijk); Percentage failed tests (belangrijk)

Studieopzet: Gerandomiseerd of niet-gerandomiseerd vergelijkende studie (uitkomsten: QoL, OS, PFS, ORR); Cross-sectioneel gepaarde studie (uitkomsten: concordantie, percentage failed tests)

* *Met sequentieel testen wordt bedoeld dat gestart wordt met een (of meerdere) single gene test (bv. Idylla, ddPCR, FISH, etc) die bij een negatieve uitslag gevolgd wordt door een smal panel NGS.*

PICO 2

P: Patiënten met gemetastaseerde (stadium IV) of niet-resectabele ('locally advanced' stadium III) pancreascarcinoom met mogelijk een moleculaire aberratie

I: WGS of WES

C: Brede NGS

O: Kwaliteit van leven (QoL; cruciaal); Overall survival (OS; cruciaal); Concordantie (cruciaal); Progression free survival (PFS; belangrijk); Objective response rate (ORR; belangrijk); Percentage failed tests (belangrijk)

Studieopzet: Gerandomiseerd of niet-gerandomiseerd vergelijkende studie (uitkomsten: QoL, OS, PFS, ORR); Cross-sectioneel gepaarde studie (uitkomsten: concordantie, percentage failed tests)

Het Zorginstituut kijkt naar de netto balans (clinical benefit) tussen positieve en negatieve effecten op de uitkomsten. Indien geen gegevens worden gevonden voor harde eindpunten (cruciaal), dan worden relevante intermediaire eindpunten (belangrijk) tevens meegenomen.

5. Methode

5.1 Identificatie en selectie van relevante onderzoeken

Aan de hand van de aldus geformuleerde onderzoeksvragen werd gezocht naar relevante onderzoeken voor PICO 1 en 2. Zoekstrategieën werden ontwikkeld en criteria geformuleerd voor in- en exclusie van studies die de verschillende uitgangsvragen zouden kunnen beantwoorden. Er werd gezocht in de elektronische databases MEDLINE en Embase.

Voor PICO 1 en 2 werden klinisch nut studies (gerandomiseerd of niet-gerandomiseerd) ingesloten die een vergelijking maakten tussen moleculaire diagnostiek met een brede test gevolgd door doelgerichte therapie in vergelijking met gebruikelijke zorg volgens de vigerende richtlijn. Daarnaast werden vergelijkende cross-sectionele studies geïnccludeerd die zowel een brede test als een smalle test, of twee verschillende brede testen uitvoerden op materiaal van dezelfde patiënt en waarin vervolgens een vergelijking gemaakt kon worden tussen de mutaties gevonden met de beide testen, of waarin het percentage gefaalde testen beschreven werd. Brede testen werden gedefinieerd als WGS, WES of NGS met minstens 50 genen en een dekking van meer dan 1 megabases, en dekking van alle kankerrelevante genen (beoordeeld door een klinisch expert). Smalle testen zijn alle testen die één of enkele genen omvatten, zoals FISH, RT-PCR en ddPCR, en NGS panels die niet aan de eerder beschreven criteria voldoen.

Voor deze PICO's werden studies naar patiënten met exocriene pancreascarcinomen ingesloten. Patiënten met neuroendocriene tumoren van de pancreas uitgesloten, evenals cholangiocarcinomen en carcinomen ter hoogte van Ampulla van Vater. Hoewel bij cholangiocarcinomen ook BRCA1/2 mutaties voorkomen, werd er in overleg met het Zorginstituut besloten deze tumoren uit te sluiten omdat extrapolatie van de resultaten van pancreascarcinoom mogelijk kan zijn.

Ook werden studies uitgesloten die patiënten met verschillende soorten kanker samen includeerden, zonder resultaten van gestratificeerde analyses voor pancreascarcinoom te presenteren. Hoewel in alle

PICO's de populatie bestond uit patiënten met stadium III (locally advanced)/IV pancreascarcinoom werden ook studies ingesloten die tevens patiënten met lagere stadia includeerden (*mixed populations*). Studies die alleen lage stadia includeerden (bijvoorbeeld alleen stadium I/II) werden niet meegenomen. Tenslotte excludeerden wij studies met minder dan 10 patiënten.

De selectie van onderzoeken werd uitgevoerd door twee onderzoekers onafhankelijk van elkaar. Verschillen tussen twee beoordelaars werden bediscussieerd om tot een overeenstemming te komen.

5.2 Data-extractie en analyses

Van iedere publicatie werden beschrijvende gegevens (kenmerken van de patiënten, indextests, interventie, controlebehandeling), klinische uitkomsten en de resultaten (concordantie, percentage gefaalde testen en klinische uitkomsten zoals overleving en ORR) verzameld en de methodologische kwaliteit bepaald. Er zijn geen checklists beschikbaar om de methodologische kwaliteit te beoordelen voor concordantiestudies. Daarom werd door Cochrane Netherlands een checklist voor concordantiestudies ontwikkeld gebaseerd op QUADAS-2⁴ en QUADAS-C.⁵

Extractie van de resultaten en beoordeling van de methodologische kwaliteit werd uitgevoerd door één onderzoeker en gecontroleerd door een tweede onderzoeker. Verschillen tussen twee beoordelaars werden bediscussieerd. In geval geen overeenstemming bereikt kon worden, werd een derde onderzoeker ingeschakeld, wiens/wier oordeel leidend was.

Een meta-analyse werd niet uitgevoerd vanwege het gebrek aan voldoende studies. Studiekarakteristieken en resultaten werden daarom beschrijvend gepresenteerd. Concordanties tussen testen, samen met 95% betrouwbaarheidsintervallen (BI) volgens de methode van Wilson,⁶ werden berekend op basis van absolute aantallen.

Aansluitend werden door twee onderzoekers onafhankelijk van elkaar aan de hand van de GRADE-methodiek *certainty of evidence* beoordeeld voor ieder van de uitkomsten.⁷

De GRADE *levels of certainty* hebben de volgende betekenis:

High: er is veel vertrouwen dat het werkelijk effect aan 1 kant van een gespecificeerde afkapwaarde ligt (of tussen 2 afkapwaardes in).

Moderate: er is redelijk vertrouwen dat het werkelijk effect aan 1 kant van een gespecificeerde afkapwaarde ligt (of tussen 2 afkapwaardes in), maar er is een mogelijkheid dat het hiervan afwijkt.

Low: er is beperkt vertrouwen dat het werkelijke effect aan 1 kant van een gespecificeerde afkapwaarde ligt (of tussen 2 afkapwaardes in): het werkelijke effect kan hier substantieel van afwijken.

Very low: er is weinig vertrouwen dat het werkelijke effect aan 1 kant van een gespecificeerde afkapwaarde ligt (of tussen 2 afkapwaardes in): het werkelijke effect wijkt hier mogelijk substantieel van af.

6. Resultaten

6.1 Selectie van onderzoeken

De zoekactie (Bijlage 1) werd uitgevoerd op 24 oktober 2022. Deze zoekactie resulteerde in 1489 resultaten (Bijlage 2). Na ontdubbelen bleven 1075 artikelen over, waarvan er 1022 op basis van titel en/of abstract niet relevant bleken. Van de overgebleven 53 werd het volledige artikel bekeken waarvan er 52 werden uitgesloten, meestal vanwege een verkeerd studietype (n=18), bijvoorbeeld omdat studies geen vergelijking bevatten tussen twee testen. Een overzicht van de uitgesloten onderzoeken is te vinden in Bijlage 3. Uiteindelijk werd 1 onderzoek (Ishizawa 2020⁸) geïnccludeerd waarin de concordantie tussen breed en smal testen werd onderzocht (PICO 1). We vonden geen studies naar het klinisch nut van breed testen ten opzichte van niet breed testen. Daarnaast vonden we ook geen studies die WGS/WES met brede NGS vergeleken (PICO 2).

6.2. Beschrijving van geïnccludeerde onderzoeken

Ishizawa 2020 onderzocht de concordantie tussen een breed 409-gen NGS panel (Ion AmpliSeq Comprehensive Cancer Panel [Thermo Fisher Scientific]) en PCR (middels de Scorpion amplified refractory mutation system [ARMS] of reverse sequence specific oligonucleotide [rSSO] methode) voor de detectie van KRAS mutaties in monsters van 26 patiënten met pancreascarcinoom die een fine-needle aspiration op basis van endoscopische echografie (EUS-FNA) hadden gekregen (Bijlage 4). Deze studie was uitgevoerd op basis van routinematig verzamelde data tussen 2011 en 2017 in Japan. De gemiddelde leeftijd van de patiënten was 66 (range 43-81), 50% was vrouw, en 84.6% had tumorstadium III of IV.

Het risico op vertekening bij deze studie was hoog, omdat de patiënten geselecteerd waren op basis van de beschikbaarheid van samples en de uitslagen van KRAS mutatie analyses (Tabel 1). Het risico op vertekening door de uitvoering van de tests was onduidelijk, omdat de studie niet rapporteerde of de uitslagen van de brede en smalle tests geblindeerd van elkaar werden geïnterpreteerd, en de PCR was uitgevoerd op overgebleven materiaal na NGS. We hadden geen applicability concerns over de populatie of de onderzochte testen.

Tabel 1. Risico op vertekening en applicability concerns in Ishizawa 2020.

Study ID	Risk of bias			Applicability concerns	
	Patient Selection	Index Tests	Flow and Timing	Patient Selection	Index Tests
Ishizawa 2020 ⁸	High	Unclear	Low	Low	Low

6.3. Bevindingen

In 21 van de 26 patiënten in het onderzoek van Ishizawa 2020 waren de bevindingen voor het NGS panel concordant met de PCR (80.8%, 95% BI 62.1-91.5%). In alle 21 patiënten werd met beide testen een KRAS mutatie gevonden. Er waren geen patiënten waarbij beide testen negatief waren. Van de 5

patiënten met discordante resultaten waren er 2 NGS negatief maar PCR positief, en 3 NGS positief maar PCR negatief. De twee patiënten die NGS negatief maar PCR positief waren bleken bij nader onderzoek van de ruwe NGS-data toch positief. Een derde, onafhankelijke test werd niet gebruikt om vast te stellen of de discordante patiënten wel of geen KRAS mutaties hadden. Daarnaast rapporteerden de auteurs ook de concordantie afzonderlijk voor 5 specifieke mutaties binnen de KRAS gen, te weten G12V, G12D, G12R, G12C en Q61H. De concordantiepercentages voor deze mutaties varieerden tussen 92.3% (BI 75.9-97.9%) en 100% (BI 87.1-100%). Een overzicht van de resultaten is te zien in Tabel 2.

Tabel 2. Resultaten van Ishizawa 2020⁸, concordantie tussen een 409-gen NGS panel en PCR voor de detectie van KRAS mutaties in patiënten met pancreascarcinoom.

Mutation	NGS+/ PCR+	NGS-/ PCR+	NGS+/ PCR-	NGS-/ PCR-	Concordance rate [95% CI]
Any KRAS mutation*	21	2	3	0	21/26 (80.8% [62.1-91.5%])
KRAS G12V	10	1	0	15	25/26 (96.2% [81.1-99.3%])
KRAS G12D	5	0	2	19	24/26 (92.3% [75.9-97.9%])
KRAS G12R	4	1	1	20	24/26 (92.3% [75.9-97.9%])
KRAS G12C	1	0	0	25	26/26 (100% [87.1-100%])
KRAS Q61H	1	0	0	25	26/26 (100% [87.1-100%])

Afkortingen: CI: confidence interval; NGS: next-generation sequencing; PCR: polymerase chain reaction. *Elke positieve KRAS mutatie gold als een positief testresultaat.

7. Conclusie en discussiepunten

Wegens het gebrek aan data en hoge risico op bias is het trekken van een sterke conclusie over de concordantie tussen brede en smalle moleculaire tests bij patiënten met pancreascarcinoom niet mogelijk. Op basis van 1 studie met 26 deelnemers varieert de concordantie voor KRAS mutaties tussen het 409-gen NGS panel en PCR tussen 92.3% (BI 75.9-97.9%) en 100% (BI 87.1-100%) afhankelijk van de specifieke KRAS mutatie. Vanwege zeer ernstige imprecisie en het ernstige risico op bias is de zekerheid van bewijs (GRADE) zeer laag (Tabel 3). Meer studies zijn nodig naar andere typen mutaties, naar andere typen tests (zoals WGS of WES) in een grotere patiëntengroep. In dit literatuuronderzoek werden geen studies naar het klinische nut van de inzet van brede moleculaire diagnostiek geïdentificeerd, evenals studies naar het percentage gefaalde testen. Ook werden er geen studies gevonden die de concordantie tussen verschillende brede testen beschreven.

Table 3. GRADE summary of findings table.

Certainty assessment							No of patients		Effect		Certainty	Importance
No of studies	Study design	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations	broad test	narrow test	Relative (95% CI)	Absolute (95% CI)		
Concordance (PICO 1)												
1	concordance studies	serious ^a	not evaluable	not serious	very serious ^b	none	26		[Narrative synthesis] Based on one study, estimates for concordance between broad and narrow testing for specific KRAS mutations ranged from 92.3% (CI 75.9-97.9%) to 100% (BI 87.1-100%)	⊕○○○ Very Low	CRITICAL	

No evidence was found for the following outcomes: overall survival (critical); quality of life (critical); progression free survival (important); objective response rate (important); percentage failed tests (important). CI: confidence interval.

a. Serious risk of bias due to selective inclusion of participants.

b. Estimates with wide confidence intervals, from one study with 26 participants.

Referenties

1. Pfadenhauer LM, Gerhardus A, Mozygemba K, et al. Making sense of complexity in context and implementation: the Context and Implementation of Complex Interventions (CICI) framework. *Implementation science* 2017;12(1):1-17.
2. Higgins JPT, Altman DG, Gøtzsche PC, et al. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ* 2011;343:d5928. doi: 10.1136/bmj.d5928
3. Sterne JAC, Hernán MA, Reeves BC, et al. ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomised studies of interventions. *BMJ* 2016;355:i4919. doi: 10.1136/bmj.i4919
4. Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, et al. QUADAS-2: A Revised Tool for the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies. *Annals of Internal Medicine* 2011;155(8):529-36. doi: 10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00009
5. Yang B, Mallett S, Takwoingi Y, et al. QUADAS-C: A Tool for Assessing Risk of Bias in Comparative Diagnostic Accuracy Studies. *Ann Intern Med* 2021;174(11):1592-99. doi: 10.7326/m21-2234 [published Online First: 2021/10/27]
6. Wilson EB. Probable inference, the law of succession, and statistical inference. *Journal of the American Statistical Association* 1927;22(158):209-12.
7. Guyatt G, Oxman AD, Akl EA, et al. GRADE guidelines: 1. Introduction-GRADE evidence profiles and summary of findings tables. *J Clin Epidemiol* 2011;64(4):383-94. doi: 10.1016/j.jclinepi.2010.04.026 [published Online First: 2011/01/05]
8. Ishizawa T, Makino N, Matsuda A, Kakizaki Y, Kobayashi T, Ikeda C, et al. Usefulness of rapid on-site evaluation specimens from endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for cancer gene panel testing: A retrospective study. *PLoS ONE [Electronic Resource]*. 2020;15(1):e0228565.

Bijlagen

Bijlage 1. Zoekstrategieën

Bijlage 2. Study flow diagram

Bijlage 3. Uitgesloten onderzoeken

Bijlage 4. Ingesloten onderzoeken

Bijlage 1. Zoekstrategieën

MEDLINE (Ovid)

Datum zoekactie: 21 oktober 2022

Ovid MEDLINE(R) ALL <1946 to October 21, 2022>		
#	Searches	Results
1	exp Pancreatic Neoplasms/	87992
2	((pancrea* adj3 (tumo?r* or metas* or sarcoma or cancer or adenocarcinoma or carcinoma or neoplasia or neoplasm*)) or (exocrine adj2 cancer)).ti,ot,ab,kf.	89325
3	1 or 2	114944
4	exp High-Throughput Nucleotide Sequencing/ or exp Whole Genome Sequencing/ or exp Multiplex Polymerase Chain Reaction/ or (Trusight or TSO500 or next-gen* or illumina or (whole adj2 (genome or exome)) or NGS or WGS or WES or ((DNA or RNA or genomic or molecular or comprehensive) adj2 profiling) or multi-gene or gene-panel or deep-sequenc* or Archer-fusion or nano-pore or pacific-bioscience or (multiplex adj2 PCR)).ti,ab,kf.	246278
5	exp "Predictive Value of Tests"/ or exp "Sensitivity and Specificity"/ or sensitivity.ti,ab,kf. or specificity.ti,ab,kf. or concordan*.ti,ab,kf. or discordan*.ti,ab,kf. or (accurate or accurac*).ti,ab,kf. or predictive-value.ti,ab,kw. or (false-negative or false-positive).ti,ab,kf. or (yield* or utility).ti,ab,kf. or (clinical adj benefit).ti,ab,kf.	3238689
6	((randomized controlled trial or controlled clinical trial).pt. or (randomized or randomised or randomly or trial or groups).ab.) not (exp animals/ not humans/)	2986094
7	((controlled clinical trial or multicenter study or pragmatic clinical trial).pt. or non-randomized controlled trials as topic/ or interrupted time series analysis/ or controlled before-after studies/ or (trial or multicenter or multi center or multicentre or multi centre).ti. or (intervention? or effect? or impact? or controlled or control group? or (before adj5 after) or (pre adj5 post) or ((pretest or pre test) and (posttest or post test)) or quasiexperiment* or quasi experiment* or pseudo experiment* or pseudoexperiment* or evaluat* or time series or time point? or repeated measur* or (stepped-wedge or (cluster adj2 random*))).ti,ab.) not ((exp Animals/ not Humans/) or review.pt. or meta analysis.pt. or news.pt. or comment.pt. or editorial.pt. or cochrane database of systematic reviews.jn. or comment on.cm. or (systematic review or literature review).ti.)	8127495
8	5 or 6 or 7	11230160
9	3 and 4 and 8	720

Embase (embase.com)

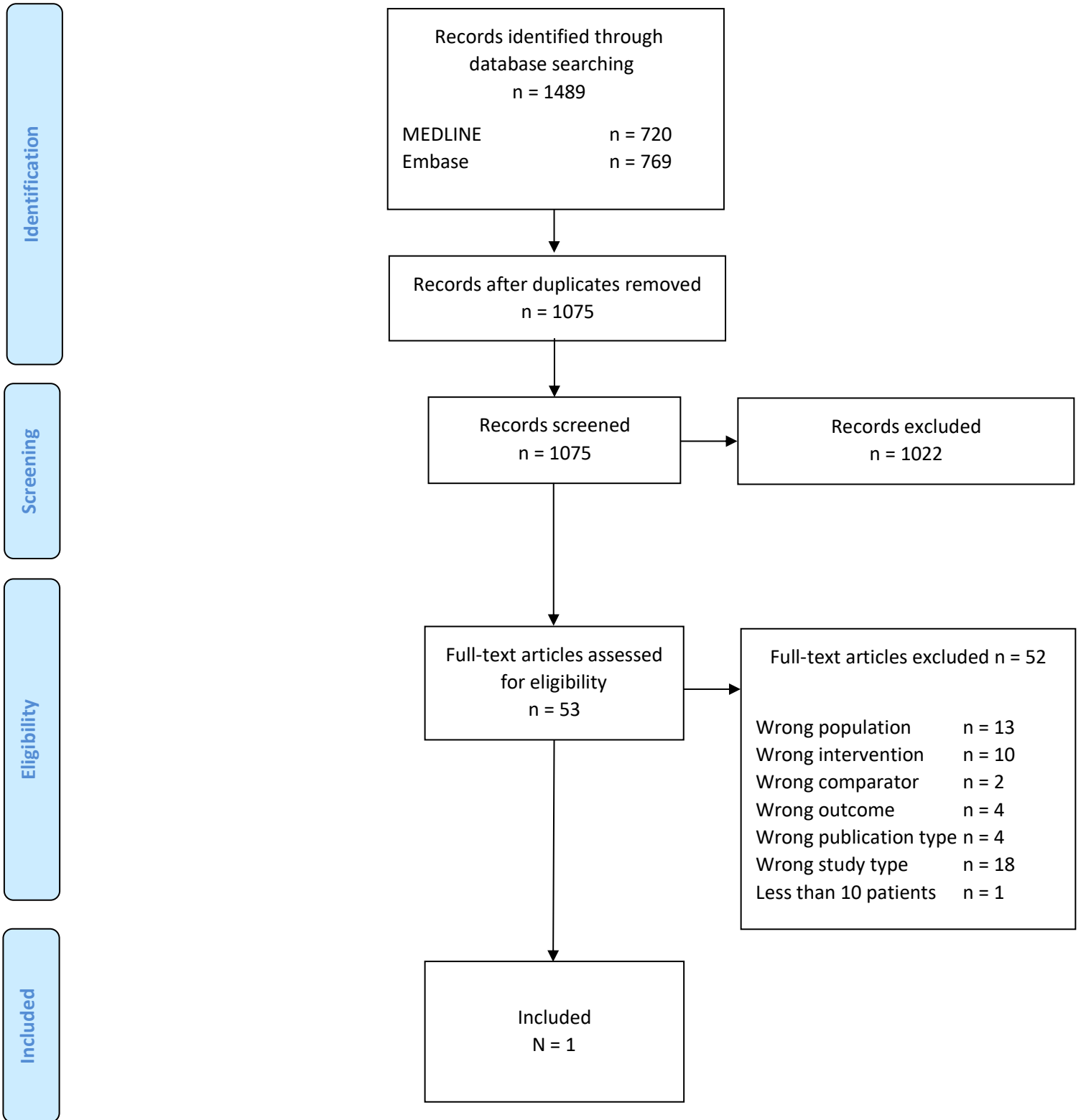
Datum zoekactie: 21 oktober 2022

No.	Query	Results
#11	#9 AND [embase]/lim NOT 'conference abstract'/it	769
#10	#9 AND [embase]/lim	1947
#9	#3 AND #4 AND #8	1994
#8	#5 OR #6 OR #7	12592116
#7	('randomized controlled trial'/de OR 'controlled clinical trial'/de OR random*:ti,ab,tt OR 'randomization'/de OR 'intermethod comparison'/de OR placebo:ti,ab,tt OR compare:ti,tt OR compared:ti,tt OR comparison:ti,tt OR ((evaluated:ab OR evaluate:ab OR evaluating:ab OR assessed:ab OR assess:ab) AND (compare:ab OR compared:ab OR comparing:ab OR comparison:ab)) OR ((open NEXT/1 label):ti,ab,tt) OR (((double OR single OR doubly OR singly) NEXT/1 (blind OR blinded OR blindly)):ti,ab,tt) OR 'double blind procedure'/de OR ((parallel NEXT/1 group*):ti,ab,tt) OR crossover:ti,ab,tt OR 'cross over':ti,ab,tt OR (((assign* OR match OR matched OR allocation) NEAR/6 (alternate OR group OR groups OR intervention OR interventions OR patient OR patients OR subject OR subjects OR participant OR participants)):ti,ab,tt) OR assigned:ti,ab,tt OR allocated:ti,ab,tt OR ((controlled NEAR/8 (study OR design OR trial)):ti,ab,tt) OR volunteer:ti,ab,tt OR volunteers:ti,ab,tt OR 'human experiment'/de OR trial:ti,tt) NOT (((random* NEXT/1 sampl* NEAR/8 ('cross section*' OR questionnaire* OR survey OR surveys OR database OR databases)):ti,ab,tt) NOT ('comparative study'/de OR 'controlled study'/de OR 'randomised controlled':ti,ab,tt OR 'randomized controlled':ti,ab,tt OR 'randomly assigned':ti,ab,tt) OR ('cross-sectional study' NOT ('randomized controlled trial'/de OR 'controlled clinical study'/de OR 'controlled study'/de OR 'randomised controlled':ti,ab,tt OR 'randomized controlled':ti,ab,tt OR 'control group':ti,ab,tt OR 'control groups':ti,ab,tt)) OR ('case control*':ti,ab,tt AND random*:ti,ab,tt NOT ('randomised controlled':ti,ab,tt OR 'randomized controlled':ti,ab,tt)) OR ('systematic review':ti,tt NOT (trial:ti,tt OR study:ti,tt)) OR (nonrandom*:ti,ab,tt NOT random*:ti,ab,tt) OR 'random field*':ti,ab,tt OR (('random cluster' NEAR/4 sampl*):ti,ab,tt) OR (review:ab AND review:it NOT trial:ti,tt) OR ('we searched':ab AND (review:ti,tt OR review:it)) OR 'update review':ab OR ((databases NEAR/5 searched):ab) OR ((rat:ti,tt OR rats:ti,tt OR mouse:ti,tt OR mice:ti,tt OR swine:ti,tt OR porcine:ti,tt OR murine:ti,tt OR sheep:ti,tt OR lambs:ti,tt OR pigs:ti,tt OR piglets:ti,tt OR rabbit:ti,tt OR rabbits:ti,tt OR cat:ti,tt OR cats:ti,tt OR dog:ti,tt OR dogs:ti,tt OR cattle:ti,tt OR bovine:ti,tt OR monkey:ti,tt OR monkeys:ti,tt OR trout:ti,tt OR marmoset*:ti,tt) AND 'animal experiment'/de) OR ('animal experiment'/de NOT ('human experiment'/de OR 'human'/de)))	5304222
#6	'multicenter study'/exp OR 'pragmatic trial'/exp OR 'controlled clinical trial'/exp OR 'controlled clinical trial (topic)'/exp OR (((trial:ti OR multicenter:ti OR multi:ti) AND center:ti OR multicentre:ti OR multi:ti) AND centre:ti) OR ((intervention:ti,ab OR interventions:ti,ab OR effect:ti,ab OR effects:ti,ab OR impact*:ti,ab OR controlled:ti,ab OR 'control group*':ti,ab OR ((before NEAR/5 after):ti,ab) OR ((pre NEAR/5 post):ti,ab) OR ((pretest:ti,ab OR 'pre test':ti,ab) AND (posttest:ti,ab OR 'post test':ti,ab)) OR quasiexperiment*:ti,ab OR quasi:ti,ab) AND experiment*:ti,ab) OR 'pseudo experiment*':ti,ab OR pseudoexperiment*:ti,ab OR evaluat*:ti,ab OR 'time series':ti,ab OR 'time point*':ti,ab OR 'repeated measur*':ti,ab OR 'stepped wedge':ti,ab OR (cluster:ti,ab AND adj2:ti,ab AND random*:ti,ab)	7901388
#5	'sensitivity and specificity'/exp/mj OR 'concordance' OR 'predictive value'/exp/mj OR 'diagnostic value'/exp/mj OR sensitivity:ti,ab,kw OR specificity:ti,ab,kw OR	3878705

	'predictive value':ti,ab,kw OR 'false negative':ti,ab,kw OR 'false positive':ti,ab,kw OR concordan*:ti,ab,kw OR discordan*:ti,ab,kw OR accura*:ti,ab,kw OR yield*:ti,ab,kw OR utility:ti,ab,kw OR ((clinical NEAR/1 benefit):ti,ab,kw)	
#4	'high throughput sequencing'/exp/mj OR 'whole genome sequencing'/exp/mj OR 'whole exome sequencing'/exp/mj OR 'multiplex polymerase chain reaction'/exp/mj OR 'deep sequencing' OR trusight:ti,ab,kw OR tso500:ti,ab,kw OR 'next gen*':ti,ab,kw OR illumina:ti,ab,kw OR ((whole NEAR/2 (genome OR exome)):ti,ab,kw) OR ngs:ti,ab,kw OR wgs:ti,ab,kw OR wes:ti,ab,kw OR (((dna OR rna OR genomic OR molecular OR comprehensive) NEAR/2 profiling):ti,ab,kw) OR 'multi gene':ti,ab,kw OR 'gene panel':ti,ab,kw OR 'deep sequenc*':ti,ab,kw OR 'archer fusion':ti,ab,kw OR 'nano pore':ti,ab,kw OR 'pacific bioscience':ti,ab,kw OR (multiplex:ti,ab,kw AND near2:ti,ab,kw AND pcr:ti,ab,kw)	314947
#3	#1 OR #2	175514
#2	((pancrea* NEAR/3 (tumor* OR tumour* OR metas* OR sarcoma OR cancer OR adenocarcinoma OR carcinoma OR neoplasia OR neoplasm*)):ti,tt,ab,kw) OR ((exocrine NEAR/2 cancer):ti,tt,ab,kw)	139664
#1	'pancreas cancer'/exp	130356

Bijlage 2. Study flow diagram

Figuur. Study flow diagram van de selectie van primaire onderzoeken over het klinisch nut en de concordantie tussen breed testen en smal testen bij patiënten met stadium III (locally advanced)/IV pancreascarcinoom



Bijlage 3. Uitgesloten onderzoeken

Uitgesloten studies betreffende het klinisch nut en de concordantie van breed testen en smal testen bij patiënten met stadium III (locally advanced)/IV pancreascarcinoom

Reference	Reason for exclusion
Allen (2021) ¹	Wrong population (patients with a negative NGS result were excluded)
Aguirre (2018) ²	Wrong study type
Ambrosini-Spaltro (2022) ³	Wrong population
Asting (2016) ⁴	Wrong study type
Aung (2018) ⁵	Wrong study type
Balendran-Braun (2021) ⁶	Wrong intervention
Beltran (2017) ⁷	Wrong publication type
Bertucci (2021) ⁸	Wrong population
Caba (2014) ⁹	Wrong population
Cao (2021) ¹⁰	Wrong outcome
Caputo (2022) ¹¹	Wrong outcome
Carrara (2021) ¹²	Wrong comparator
Chang (2013) ¹³	Wrong intervention
Court (2016) ¹⁴	Wrong study type
De Biase (2020) ¹⁵	Wrong intervention
Driescher (2020) ¹⁶	Wrong intervention
Dudley (2016) ¹⁷	Wrong population
Gan (2022) ¹⁸	Wrong study type
Gleeson (2016) ¹⁹	Wrong study type
Habib (2021) ²⁰	Wrong study type
Hirotsu (2020) ²¹	Less than 10 pancreatic cancer patients
Hong (2021) ²²	Wrong study type
Huang (2015) ²³	Wrong population
Johns (2017) ²⁴	Wrong study type
Jordan (2018) ²⁵	Wrong study type
Kameta (2016) ²⁶	Wrong intervention
Krepline (2020) ²⁷	Wrong population
Luchini (2019) ²⁸	Wrong publication type
Ma (2019) ²⁹	Wrong study type
Macgregor-Das (2020) ³⁰	Wrong intervention
Metzenmacher (2020) ³¹	Wrong study type
Ohyama (2022) ³²	Wrong population
Ozdogan (2021) ³³	Wrong population
Paasinen-Sohns (2017) ³⁴	Wrong population
Paniccia (2022) ³⁵	Wrong population
Pietrasz (2017) ³⁶	Wrong intervention
Pishvaian (2017) ³⁷	Wrong comparator
Ramarao-Milne (2022) ³⁸	Wrong outcome
Saha (2020) ³⁹	Wrong study type
Salem (2018) ⁴⁰	Wrong study type

Reference	Reason for exclusion
Sausen (2015) ⁴¹	Wrong study type
Seeber (2020) ⁴²	Wrong study type
Shimozaki (2021) ⁴³	Wrong population
Solomon (2020) ⁴⁴	Wrong intervention
Takada (2020) ⁴⁵	Wrong publication type
Takai (2015) ⁴⁶	Wrong intervention
Takano (2017) ⁴⁷	Wrong study type
Takano (2021) ⁴⁸	Wrong intervention
Wang (2018) ⁴⁹	Wrong outcome
Weedon (2021) ⁵⁰	Wrong population
Wiermann (2018) ⁵¹	Wrong publication type
Wong (2015) ⁵²	Wrong study type

Referenties

- Allen MJ, Zhang A, Bavi P, Kim JC, Jang GH, Kelly D, et al. Molecular characterisation of pancreatic ductal adenocarcinoma with NTRK fusions and review of the literature. *Journal of Clinical Pathology*. 2021;28:28.
- Aguirre AJ, Nowak JA, Camarda ND, Moffitt RA, Ghazani AA, Hazar-Rethinam M, et al. Real-time Genomic Characterization of Advanced Pancreatic Cancer to Enable Precision Medicine. *Cancer Discovery*. 2018;8(9):1096-111.
- Ambrosini-Spaltro A, Farnedi A, Calistri D, Rengucci C, Prisinzano G, Chiadini E, et al. The role of next-generation sequencing in detecting gene fusions with known and unknown partners: a single-center experience with methodologies' integration. *Human Pathology*. 2022;123:20-30.
- Asting AG, Ljungman D, Caren H, Dambrauskas Z, Iresjo BM, Hyltander A, et al. Alterations in Tumor DNA Are Related to Short Postoperative Survival in Patients Resected for Pancreatic Carcinoma Aimed at Cure. *Pancreas*. 2016;45(6):900-7.
- Aung KL, Fischer SE, Denroche RE, Jang GH, Dodd A, Creighton S, et al. Genomics-Driven Precision Medicine for Advanced Pancreatic Cancer: Early Results from the COMPASS Trial. *Clinical Cancer Research*. 2018;24(6):1344-54.
- Balendran-Braun S, Kieler M, Liebmann-Reindl S, Unseld M, Bianconi D, G WP, et al. Bead-Based Isolation of Circulating Tumor DNA from Pancreatic Cancer Patients Enables High Fidelity Next Generation Sequencing. *Cancer management and research*. 2021;13:6249-61.
- Beltran H. The clone wars. *Science Translational Medicine*. 2017;9(377).
- Bertucci F, Gonçalves A, Guille A, Adelaïde J, Garnier S, Carbuccia N, et al. Prospective high-throughput genome profiling of advanced cancers: results of the PERMED-01 clinical trial. *Genome Medicine*. 2021;13(1).
- Caba O, Prados J, Ortiz R, Jimenez-Luna C, Melguizo C, Alvarez PJ, et al. Transcriptional profiling of peripheral blood in pancreatic adenocarcinoma patients identifies diagnostic biomarkers. *Digestive Diseases & Sciences*. 2014;59(11):2714-20.
- Cao L, Huang C, Cui Z, Hu Y, Lih TM, Savage SR, et al. Proteogenomic characterization of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cell*. 2021;184(19):5031-52.e26.
- Caputo V, De Falco V, Ventriglia A, Famiglietti V, Martinelli E, Morgillo F, et al. Comprehensive genome profiling by next generation sequencing of circulating tumor DNA in solid tumors: a single academic institution experience. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. 2022;14.
- Carrara S, Solda G, Di Leo M, Rahal D, Peano C, Giunta M, et al. Side-by-side comparison of next-generation sequencing, cytology, and histology in diagnosing locally advanced pancreatic adenocarcinoma. *Gastrointestinal Endoscopy*. 2021;93(3):597-604.e5.

13. Chang KCN, Galuska S, Weiner R, Marton MJ. Development and Validation of a Clinical Trial Patient Stratification Assay That Interrogates 27 Mutation Sites in MAPK Pathway Genes. *PLoS ONE*. 2013;8(8).
14. Court CM, Ankeny JS, Sho S, Hou S, Li Q, Hsieh C, et al. Reality of Single Circulating Tumor Cell Sequencing for Molecular Diagnostics in Pancreatic Cancer. *Journal of Molecular Diagnostics*. 2016;18(5):688-96.
15. De Biase D, Acquaviva G, Visani M, Sanza V, Argento CM, De Leo A, et al. Molecular diagnostic of solid tumor using a next generation sequencing custom-designed multi-gene panel. *Diagnostics*. 2020;10(4).
16. Driescher C, Fuchs K, Haeberle L, Goering W, Frohn L, Opitz FV, et al. Bile-Based Cell-Free DNA Analysis Is a Reliable Diagnostic Tool in Pancreatobiliary Cancer. *Cancers*. 2020;13(1):25.
17. Dudley JC, Zheng Z, McDonald T, Le LP, Dias-Santagata D, Borger D, et al. Next-Generation Sequencing and Fluorescence in Situ Hybridization Have Comparable Performance Characteristics in the Analysis of Pancreatobiliary Brushings for Malignancy. *Journal of Molecular Diagnostics*. 2016;18(1):124-30.
18. Gan Q, Roy-Chowdhuri S, Duose DY, Stewart JM, Coronel E, Bhutani MS, et al. Adequacy evaluation and use of pancreatic adenocarcinoma specimens for next-generation sequencing acquired by endoscopic ultrasound-guided FNA and FNB. *Cancer Cytopathology*. 2022;130(4):275-83.
19. Gleeson FC, Kerr SE, Kipp BR, Voss JS, Minot DM, Tu ZJ, et al. Targeted next generation sequencing of endoscopic ultrasound acquired cytology from ampullary and pancreatic adenocarcinoma has the potential to aid patient stratification for optimal therapy selection. *Oncotarget*. 2016;7(34):54526-36.
20. Habib JR, Zhu Y, Yin L, Javed AA, Ding D, Tenior J, et al. Reliable Detection of Somatic Mutations for Pancreatic Cancer in Endoscopic Ultrasonography-Guided Fine Needle Aspirates with Next-Generation Sequencing: Implications from a Prospective Cohort Study. *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2021;25(12):3149-59.
21. Hirotsu Y, Nagakubo Y, Amemiya K, Oyama T, Mochizuki H, Omata M. Microsatellite instability status is determined by targeted sequencing with MSICall in 25 cancer types. *Clinica Chimica Acta*. 2020;502:207-13.
22. Hong JY, Cho HJ, Kim ST, Park YS, Shin SH, Han IW, et al. Comprehensive molecular profiling to predict clinical outcomes in pancreatic cancer. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. 2021;13.
23. Huang J, Lohr JM, Nilsson M, Segersvard R, Matsson H, Verbeke C, et al. Variant Profiling of Candidate Genes in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Clinical Chemistry*. 2015;61(11):1408-16.
24. Johns AL, McKay SH, Humphris JL, Pinese M, Chantrill LA, Mead RS, et al. Lost in translation: returning germline genetic results in genome-scale cancer research. *Genome Medicine*. 2017;9(1):41.
25. Jordan EJ, Lowery MA, Basturk O, Allen PJ, Yu KH, Tabar V, et al. Brain Metastases in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Assessment of Molecular Genotype-Phenotype Features-An Entity With an Increasing Incidence? *Clinical Colorectal Cancer*. 2018;17(2):e315-e21.
26. Kameta E, Sugimori K, Kaneko T, Ishii T, Miwa H, Sato T, et al. Diagnosis of pancreatic lesions collected by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration using next-generation sequencing. *Oncology Letters*. 2016;12(5):3875-81.
27. Krepline AN, Bliss L, Geurts J, Akinola I, Christians KK, George B, et al. Role of Molecular Profiling of Pancreatic Cancer After Neoadjuvant Therapy: Does it Change Practice? *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2020;24(2):235-42.
28. Luchini C, Veronese N, Nottegar A, Cappelletti V, Daidone MG, Smith L, et al. Liquid Biopsy as Surrogate for Tissue for Molecular Profiling in Pancreatic Cancer: A Meta-Analysis Towards Precision Medicine. *Cancers*. 2019;11(8):10.
29. Ma W, Li T, Wu S, Li J, Wang X, Li H. LOX and ACSL5 as potential relapse markers for pancreatic cancer patients. *Cancer Biology & Therapy*. 2019;20(6):787-98.

30. Macgregor-Das A, Yu J, Tamura K, Abe T, Suenaga M, Shindo K, et al. Detection of Circulating Tumor DNA in Patients with Pancreatic Cancer Using Digital Next-Generation Sequencing. *Journal of Molecular Diagnostics*. 2020;22(6):748-56.
31. Metzenmacher M, Varaljai R, Hegedus B, Cima I, Forster J, Schramm A, et al. Plasma Next Generation Sequencing and Droplet Digital-qPCR-Based Quantification of Circulating Cell-Free RNA for Noninvasive Early Detection of Cancer. *Cancers*. 2020;12(2):04.
32. Ohyama H, Mikata R, Hirotsu Y, Amemiya K, Miura Y, Hirose S, et al. Genomic profiling amplifies the utility of endoscopic ultrasound-guided fine needle biopsy by identifying clinically applicable druggable mutations in pancreatic cancer. *Annals of Diagnostic Pathology*. 2022;60:152016.
33. Ozdogan M, Papadopoulou E, Tsoulos N, Tsantikidi A, Mariatou VM, Tsaousis G, et al. Comprehensive tumor molecular profile analysis in clinical practice. *BMC Medical Genomics [Electronic Resource]*. 2021;14(1):105.
34. Paasinen-Sohns A, Koelzer VH, Frank A, Schafroth J, Gisler A, Sachs M, et al. Single-Center Experience with a Targeted Next Generation Sequencing Assay for Assessment of Relevant Somatic Alterations in Solid Tumors. *Neoplasia (United States)*. 2017;19(3):196-206.
35. Paniccia A, Polanco PM, Boone BA, Wald AI, McGrath K, Brand RE, et al. Prospective, Multi-Institutional, Real-Time Next-Generation Sequencing of Pancreatic Cyst Fluid Reveals Diverse Genomic Alterations that Improve the Clinical Management of Pancreatic Cysts. *Gastroenterology*. 2022;06:06.
36. Pietrasz D, Pecuchet N, Garlan F, Didelot A, Dubreuil O, Doat S, et al. Plasma Circulating Tumor DNA in Pancreatic Cancer Patients Is a Prognostic Marker. *Clinical Cancer Research*. 2017;23(1):116-23.
37. Pishvaian MJ, Bender RJ, Matrisian LM, Rahib L, Hendifar A, Hoos WA, et al. A pilot study evaluating concordance between blood-based and patient-matched tumor molecular testing within pancreatic cancer patients participating in the Know Your Tumor (KYT) initiative. *Oncotarget*. 2017;8(48):83446-56.
38. Ramarao-Milne P, Kondrashova O, Patch AM, Nones K, Koufariotis LT, Newell F, et al. Comparison of actionable events detected in cancer genomes by whole-genome sequencing, in silico whole-exome and mutation panels. *ESMO Open*. 2022;7(4).
39. Saha G, Singh R, Mandal A, Das S, Chattopadhyay E, Panja P, et al. A novel hotspot and rare somatic mutation p.A138V, at TP53 is associated with poor survival of pancreatic ductal and periampullary adenocarcinoma patients. *Molecular Medicine*. 2020;26(1):59.
40. Salem ME, Puccini A, Grothey A, Raghavan D, Goldberg RM, Xiu J, et al. Landscape of Tumor Mutation Load, Mismatch Repair Deficiency, and PD-L1 Expression in a Large Patient Cohort of Gastrointestinal Cancers. *Molecular Cancer Research: MCR*. 2018;16(5):805-12.
41. Sausen M, Phallen J, Adleff V, Jones S, Leary RJ, Barrett MT, et al. Clinical implications of genomic alterations in the tumour and circulation of pancreatic cancer patients. *Nature communications*. 2015;6:7686.
42. Seeber A, Zimmer K, Kocher F, Puccini A, Xiu J, Nabhan C, et al. Molecular characteristics of BRCA1/2 and PALB2 mutations in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Esmo Open*. 2020;5(6):e000942.
43. Shimozaki K, Hayashi H, Tanishima S, Horie S, Chida A, Tsugaru K, et al. Concordance analysis of microsatellite instability status between polymerase chain reaction based testing and next generation sequencing for solid tumors. *Scientific Reports*. 2021;11(1):20003.
44. Solomon JP, Linkov I, Rosado A, Mullaney K, Rosen EY, Frosina D, et al. NTRK fusion detection across multiple assays and 33,997 cases: diagnostic implications and pitfalls. *Modern Pathology*. 2020;33(1):38-46.
45. Takada R, Ohkawa K, Kukita Y, Ikezawa K, Fukutake N, Abe Y, et al. Clinical Utility of Pancreatic Cancer Circulating Tumor DNA in Predicting Disease Progression, Prognosis, and Response to Chemotherapy. *Pancreas*. 2020;49(9):e93-e5.
46. Takai E, Totoki Y, Nakamura H, Morizane C, Nara S, Hama N, et al. Clinical utility of circulating tumor DNA for molecular assessment in pancreatic cancer. *Scientific Reports*. 2015;5:18425.

47. Takano S, Fukasawa M, Kadokura M, Shindo H, Takahashi E, Hirose S, et al. Next-Generation Sequencing Revealed TP53 Mutations to Be Malignant Marker for Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms That Could Be Detected Using Pancreatic Juice. *Pancreas*. 2017;46(10):1281-7.
48. Takano S, Fukasawa M, Shindo H, Takahashi E, Fukasawa Y, Kawakami S, et al. Digital next-generation sequencing of cell-free DNA for pancreatic cancer. *Jgh Open*. 2021;5(4):508-16.
49. Wang L, Basturk O, Wang J, Benayed R, Middha S, Zehir A, et al. A FISH assay efficiently screens for BRAF gene rearrangements in pancreatic acinar-type neoplasms. *Modern Pathology*. 2018;31(1):132-40.
50. Weedon MN, Jackson L, Harrison JW, Ruth KS, Tyrrell J, Hattersley AT, et al. Use of SNP chips to detect rare pathogenic variants: retrospective, population based diagnostic evaluation. *The BMJ*. 2021;372.
51. Wiermann AL, Boni V, de Miguel MJ, López-Ríos F, Calvo E. Sequencing of cancer panels through “next generation sequencing” (NGS) in the clinical practice of a phase 1 trial unit. *Annals of Oncology*. 2018;29:iii25.
52. Wong SQ, Fellowes A, Doig K, Ellul J, Bosma TJ, Irwin D, et al. Assessing the clinical value of targeted massively parallel sequencing in a longitudinal, prospective population-based study of cancer patients. *British Journal of Cancer*. 2015;112(8):1411-20.

Bijlage 4. Ingesloten onderzoeken

Ingesloten studies betreffende de concordantie van breed testen en smal testen bij patiënten met stadium III (locally advanced)/IV pancreascarcinoom

Ishizawa 2020

Study characteristics		
Study info	Study design	Cross-sectional study (concordance study)
	Country	Japan
	Study dates	January 2011 to December 2017
	Data collection	Routinely collected data
	Sample size	26
	Potential conflict of interest	Funding from Japan Society for the Promotion of Science (no further role in study)
Patients	Eligibility criteria	Patients diagnosed histologically or clinically with pancreatic cancer who underwent EUS-FNA and underwent KRAS mutation analysis
	Median age (range)	66 (43-81)
	& Female sex	50%
	Cancer type	Not reported
	Cancer stage	Stage 3/4: 84.6%
	Sample type	Fine needle aspiration from tumor
Intervention and control tests	Intervention test & number of genes	NGS (Ion AmpliSeq Comprehensive Cancer Panel [Thermo Fisher Scientific], 409 genes)
	Detailed description of intervention test	"Amplified libraries were subjected to emulsion PCR using a commercial Ion AmpliSeq Comprehensive Cancer Panel™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), which targets the all-exon coverage of 409 cancer and cancer-related genes, and sequencing was performed with PI chip v3 using the Ion Proton next-generation sequencer (Thermo Fisher Scientific)."
	Control test & number of genes	PCR (Scorpion-ARMS or PCR-rSSO, 1 gene)
	Detailed description of control test	"Residual materials were frozen and sent to a clinical testing company, and after DNA extraction, KRAS mutation analysis was performed using the Scorpion amplified refractory mutation system (scorpion-ARMS) method (BML, Inc.) or the polymerase chain reaction–reverse sequence specific oligonucleotide (PCR-rSSO) method (SRL, Inc.)."
	Out-come	Target mutation(s)
	Resolver test	Not used
QUADAS - Patient Selection domain		
Risk of bias	Was a consecutive or random sample of patients enrolled?	No
	Did the study avoid inappropriate selection criteria?	Unclear
	Could the selection of patients have introduced bias?	High
	Support for judgement	Patients selected based on availability of ROSE slides and KRAS mutation analysis
Applicability	Are there concerns that the included patients and setting do not match the review question?	Low

	Support for judgement	15% of patients has stage I/II clinical disease
QUADAS - Index Tests domain		
Risk of Bias	Were the index test results interpreted without knowledge of the results of the other index test(s)?	Unclear
	If a threshold was used to define positivity, was it prespecified for all tests?	Yes
	Is undergoing one index test unlikely to affect the performance of the other index test(s)?	No
	Could the conduct or interpretation of any of the index tests have introduced bias?	Unclear
	Support for judgement	It is not clear if test results were interpreted without knowledge of the other test. PCR was conducted on residual samples after NGS.
Applicability	Are there concerns that the index tests do not match the review question?	Low
	Support for judgement	The broad molecular panel contains 409 genes
QUADAS - Flow and Timing domain		
Risk of bias	Was there an appropriate interval between index tests?	Yes
	Were all patients included in the analysis?	Yes
	Could the patient flow have introduced bias?	Low
	Support for judgement	All patients were included in the analysis and the tests were performed on the same sample