

**RISQUES BIOLOGIQUES POUR LA SANTE
QUALITE DES LABORATOIRES**

EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE*

RAPPORT GLOBAL DEFINITIF

Biologie moléculaire

Examens de génétique

**Détection mutation EGFR dans le cadre
du cancer du poumon**

ENQUÊTE 2025/2

* AR 03/12/1999

* AR 05/12/2011

Sciensano/ Biologie moléculaire-Examens génétique- détection mutation EGFR/11/FR

Risques biologiques pour la santé
Qualité des laboratoires
Rue Juliette Wytsman 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.sciensano.be

COMITE D'EXPERTS

Sciensano					
Secrétariat		Tél:	02/642.55.21	Fax:	02/642.56.45
		E-mail	ql_secretariat@sciensano.be		
Joséphine Lantoine	Coordinateur	Tél:	02/642 53 94		
		E-mail:	Josephine.lantoine@sciensano.be		
Bernard China	Coordinateur remplaçant	Tél:	02/642 52 08		
		E-mail:	bernard.china@sciensano.be		
Vanessa Ghislain	Coordinateur remplaçant	Tél:	02/642 53 85		
		E-mail:	Vanessa.ghislain@sciensano.be		
Experts	Institution				
Ina Benoy	Rode Kruis				
Elke Boone	AZ Delta				
Barbara Depreter	AZ Delta				
Evelien Heylen	ZNA				
Marie Le Mercier	UZA				
Patrick Pauwels	UZA				
Freya Vaeyens	UZ Brussel				
Jacques Van Huysse	AZ Sint Jan Brugge				

Un draft de ce rapport a été transmise aux experts le 05/06/2025.

Les experts ont été invités à envoyer leurs remarques via e-mail.

Les résultats de ce rapport ont aussi été discuté lors de la réunion du Comité d'experts du 28/05/2025.

Responsabilités :

Le Comité d'experts a été consulté pour avis au sujet du contenu du rapport global, de l'interprétation des résultats, des critères d'évaluation et de l'organisation des prochaines évaluations. La responsabilité du choix des échantillons utilisés et de la conception finale de l'enquête EEQ est portée par le service Qualité des laboratoires de Sciensano.

Autorisation du rapport : par Joséphine Lantoine, coordinateur

Date de publication : 24/06/2025

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires/eeq-biologie-moleculaire-hemato-oncologie#rapports-r-cents>

TABLE DES MATIERES

1	ECHANTILLON	4
1.1	Etude de stabilité.....	4
2	PARTICIPATION	5
3	RÉSULTATS	5
3.1	Résultats par échantillon.....	5
3.2	Résultats par laboratoires	7
3.3	Commentaires.....	10
4	MÉTHODES UTILISÉES	11
5	CONCLUSIONS SUR LES PERFORMANCES DES LABORATOIRES	12
	INTERPRETATION DU RAPPORT INDIVIDUEL	13

1 Echantillon

Les échantillons sont des coupes FFPE de 4 µm d'épaisseur provenant d'un adénocarcinome. Ils proviennent de la biobanque Discovery Life Science (3509 Elgin St, Suite 300 Houston, TX 77004-USA).

Les échantillons sont accompagnés des données cliniques relatives à chaque patient : âge, sexe, race, site de la tumeur, type de tumeur, données pathologiques, indications sur le traitement reçu par le patient (si disponible) et le statut mutationnel EGFR.

La présence d'une mutation du gène EGFR (p.G601Efs*104) situé dans le chromosome 7 avec une fréquence allélique de 1.1% est confirmée par la firme qui a réalisé une analyse NGS (panel Qiagen multimodal).

Cette mutation ne doit pas être rapportée par les participants utilisant une méthode NGS car elle est hors du scope de la convention (https://www.inami.fgov.be/SiteCollectionDocuments/convention_next_generation_sequencing_annexe_0_1.pdf). Ceux-ci sont tenu de rapporter l'échantillon comme étant Wild type.

Pour les laboratoires utilisant une technique de type PCR, le variant pourrait être rapporté sans que cela ne soit considéré comme fautif. Néanmoins, sa faible fréquence allélique et son caractère VUS doivent être clairement indiqué sur le rapport.

La présence d'une mutation BRAF V660E « NM_004333.4(BRAF):c.1799T>A (p.Val600Glu) » est quant à elle confirmée par la firme avec une fréquence allélique de 8.2 %.

1.1 Etude de stabilité

Une étude de stabilité a été réalisée par un membre du comité d'expert évaluant les EEQs de biologie moléculaire art.33bis/33ter.

Afin de garantir la stabilité des coupes sur l'ensemble de la période de enquête et ce indépendamment de la température de stockage : température ambiante, 4 °C ou 30°C ; une étude a été réalisée.

Une série de lames (2 consécutives) a été envoyée à un laboratoire expert entre la réception des échantillons et le début de l'enquête.

3 autres séries de lames ont été envoyée à Sciensano en même que les échantillons des laboratoires et ont été gardées à diverse température pendant toute la durée de l'enquête:

- i) Une première série a été gardée à température ambiante et ce afin de garantir la stabilité pour un envoi effectué à température ambiante.
- ii) Une second série a été gardée à 4°C; température recommandée par la firme pour le stockage des coupes notamment dans le cadre d'analyses de type IHC.
- iii) Une dernière série de lames a été gardée à 30°C, et ce afin de garantir la stabilité même lorsque la température durant l'envoi devait dépasser les 25°C.

Les trois séries de lames seront été gardée à leur température respectives durant 1 mois et ont ensuite été analysées par le même laboratoire expert ayant effectué l'analyse pré-envoi et ce avec sa méthodologie NGS.

Les premiers résultats indiquent qu'il n'y a pas eu d'impact de la température de stockage sur l'analyse NGS effectuée par le laboratoire expert. Celui-ci a bien mentionné l'échantillon comme EGFR WT dans les 3 cas et a retrouvé la mutation BRAF « NM_004333.4(BRAF):c.1799T>A (p.Val600Glu) » dans chacun des cas.

Les résultats plus détaillés de cette étude ainsi que de celle effectuée dans le cadre d'analyse de type ISH pour l'analyse de l'amplification du gène HER2 feront l'objet d'une publication à part dans le courant de l'été 2025. Les laboratoires seront averti par email de la publication de cette étude sur notre site web.

2 Participation

17 laboratoires étaient inscrits à l'enquête ; 7 laboratoires de biologie clinique, 1 centre de génétique et 9 laboratoires d'anatomopathologie.

Tous les laboratoires inscrits ont participé à l'enquête.

3 Résultats

Les laboratoires participants ont reçu 4 lames FFPE de 4µm. Ceux-ci ont dû rechercher la présence de mutations du gène EGFR par des méthodes moléculaires. Il était également demandé aux laboratoires i) d'indiquer la date de l'extraction de l'ADN, la méthodologie utilisée ainsi que la quantité et la qualité de l'ADN extrait si déterminée et ii) d'indiquer la date du génotypage ainsi que la référence NM utilisée. La fréquence allélique lorsque déterminée ainsi que les classifications biologiques et cliniques étaient demandées. Pour ces dernières il était indiqué aux laboratoires de suivre les guidelines NGS actuelles du Compermed.

Les laboratoires étaient également tenus de rapporter les méthodes utilisées pour i) déterminer la quantité et la qualité de l'ADN et ii) le génotypage.

3.1 Résultats par échantillon

1.A Groupe NGS (11/17)

Echantillon	Résultats attendus (VAF)	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
F20008604	Aucune mutation EGFR Wild type	Aucune mutation EGFR Wild type	11 (100)

Dans un but éducatif, il a été demandé aux laboratoires de remplir la conclusion thérapeutique découlant de l'analyse effectuée.

Echantillon	Conclusions thérapeutiques éventuellement encodées	Nombre de laboratoires (/11)
F20008604	Absence de mutation pathogène ou probablement pathogénique dans le gène EGFR. Présence d'un variant BRAF V600E, classé comme pathogénique et de signification thérapeutique avérée → traitement avec Dabrafenib en Trametinib des (inhibiteurs de BRAF et MEK)	3
	Absence de mutation activatrice du gène EGFR. La patiente n'est pas susceptible de tirer un bénéfice d'un traitement de type TKI	7
	Pas de mutation EGFR ; pas d'indication pour une thérapie EGFR TKI dans le cadre de tumeurs du poumon → Nous recommandons une analyse pour détecter des gènes de fusion par RNA seq.	1

1.B Groupe PCR (6/17)

Echantillon	Résultats attendus (VAF)	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
F20008604	Aucune mutation EGFR Wild type	Aucune mutation EGFR Wild type	6 (100)

Dans un but éducatif, il a été demandées aux laboratoires de remplir la conclusion thérapeutique découlant de l'analyse effectuée.

Echantillon	Conclusions thérapeutiques éventuellement encodées	Nombre de laboratoires (/6)
F20008604	L'absence de mutation EGFR signifie de manière générale aucune réponse à une thérapie aux EGFR TKIs	3
	Il n'y a pas de mutations EGFR détectées couverte par une PCR Idylla EGFR. Cela ne veut pas dire qu'aucune mutation EGFR n'est présente → Nous recommandons de réaliser une analyse NGS.	1
	La présence d'un variant BRAF rend la patiente susceptible à une combinaison de thérapie ciblée (de type dabrafenib ou trametinib) ou d'immunothérapie avec ou sans chimiothérapie et est de pronostic défavorable.	1
	NA	1

3.2 Résultats par laboratoires

Lab	Méthode utilisée		Résultats encodés					Score
	Technique/Appareil	Kit	Mutations EGFR	AF	Class. biologique	Class. clinique	Conclusion thérapeutique	
1	PCR-Idylla - Biocartis	Idylla EGFR mutation test-Biocartis	EGFR WT	NA	NA	NA	Patiente susceptible à une combinaison de thérapie ciblée(dabrafenib ou tremetinib) ou d'immunothérapie avec ou sans chimiothérapie et est de pronostic défavorable	réussi
	Digital LightCycler System-Roche	LightMix Digital EGFR_Ex19de I-Roche						
	NGS-DNA seq-Miseq Dx-Illumina	Qiseq DNA custom panel-Qiagen						
2	PCR-Idylla - Biocartis	Idylla EGFR mutation test-Biocartis	Absence de mutation	/	/	/	/	réussi
3	NGS-DNAseq-Miseq-Illumina	Sophia STS panel-SOPHIA genetics	Pas de variants EGFR	/	/	/	1ere ligne combiné Dabrafenib/Tremetinib (FDA) ou Encorafenib/Binitinib (EMA) pour les cas avancés porteur de BRAF. 2eme ligne, la NCCN recommande le Vemurafenib pour les patients ne supportant pas le combiné	réussi
4	NGS-DNA seq-Ion Torrent S5 Gene studio-ThermoFischer	Ion AmpliSeq Custom targeted NGS panel-ThermoFischer	EGFR WT	NA	NA	NA	Absence de mutation détectée dans le gène EGFR. Une mutation BRAF V600E a été détecté. La FDA a approuvé l'utilisation de Dabrafenib et Tremetinib pour des patients avec un NSLC avec une mutation du gène BRAF	réussi

Lab	Méthode utilisée		Résultats encodés					Score
	Technique/Appareil	Kit	Mutations EGFR	AF	Class. biologique	Class. clinique	Conclusion thérapeutique	
5	NGS-DNA seq-Nextseq 550Dx-Illumina	Custom twist panel-Twist Bioscience	Aucune	NA	NA	NA	Absence de mutation pathogène ou probablement pathogénique dans le gène EGFR. Présence de cellules porteuses de variants BRAF V600E, classé comme pathogénique et signaification thérapeutique avérée. Les patients peuvent être traités avec des inhibiteurs de BRAF et MEK. (PMID: 32010589)	réussi
6	NGS-DNA seq-Ion Torrent S5 Gene studio-ThermoFischer	Ion AmpliSeq Custom targeted NGS panel-ThermoFischer	Absence de mutation	/	/	/	Absence de mutation activatrice du gène EGFR. La patiente n'est pas susceptible de tirer un bénéfice d'un traitement de type TKI	réussi
7	ddPCR-QX200-Biorad	Custom panel (G746_A750del, T790M, G719X, L858/L861Q)-Biorad	Pas de mutation	/	/	/	L'absence de mutation EGFR dans un NSCLC signifie aucune réponse à une thérapie EGFR TKI	réussi
8	PCR-Idylla - Biocartis	Idylla EGFR mutation test-Biocartis	Pas de mutation détectée	/	/	/	Aucune mutations EGFR détectées couvertes par Idylla (EGFR). Cela ne veut pas dire qu'aucune mutation EGFR n'est présente. Une analyse NGS est recommandée.	réussi

Lab	Méthode utilisée	Résultats encodés
-----	------------------	-------------------

	Technique/Appareil	Kit	Mutations EGFR	AF	Class. biologique	Class. clinique	Conclusion thérapeutique	Score
9	PCR-Idylla system-Biocardis	Idylla EGFR mutation test-Biocardis	WT	/	/	/	Patient non éligible pour un traitement aux EGFR TKIS suite à l'absence de mutations EGFR	réussi
10	PCR-Idylla-Biocardis	Idylla EGFR mutation test-Biocardis	Aucune mutation détectée	/	/	/	Pas de mutation EGFR détectée dans les codons 18,19,20 of 21. Ceci est associé à une absence de réponse aux TKIs	réussi
11	NGS-DNA seq-Miseq-Illumina	Qiseq DNA custom panel-Qiagen	Aucune mutation	Aucune mutation	Aucune mutation	Aucune mutation	Aucun variant EGFR probablement pathogène identifiés. Pas d'indication pour une thérapie aux EGFR TKIs.	réussi
12	NGS-DNA seq-Miseq-Illumina	Ampliseq Custom panel (EGFR exon 3,7,12,15,18-21)-Illumina	Aucune mutation	/	/	/	Les patients avec des tumeurs EGFR WT n'ont aucun bénéfice d'une thérapie aux EGFR TKIs.	réussi
13	NGS-DNA seq-Nextseq 550DX-Illumina	Custom Twist Panel-Twist Bioscience	EGFR mutatie négatif	/	/	/	Négatif pour les mutations EGFR. Pas d'indication pour un traitement aux EGFR TKIs. Analyse de fusions par RNA est recommandée.	réussi
14	NGS-DNA seq-Miseq-Illumina	Ampliseq focus panel-Illumina	Aucune mutation EGFR détectée	/	/	/	Aucune mutation EGFR détectée. Pas d'indication pour un traitement aux anti-EGFR TKI.	réussi

Lab	Méthode utilisée		Résultats encodés					Score
	Technique/Appareil	Kit	Mutations EGFR	AF	Class. biologique	Class. clinique	Conclusion thérapeutique	
15	NGS-DNA seq-Nextseq550 DX-Illumina	Qiaseq DNA custom panel-Qiagen	Aucune mutation détectée	/	/	/	Avec la méthode utilisée, aucune mutation n'a été trouvée dans les exons 2,18 => 24 du gène EGFR. Pour les cancers du poumon sans mutation EGFR, il y a une faible réponse à une thérapie EGFR TKIs.	réussi
16	NGS-DNA seq-Novaseq6000-Illumina	Custom SeqCap EZ hyperCap panel-Roche	Aucune mutation	Aucune mutation	NA	NA	Absence de mutation probablement pathogénique dans le gène EGFR (Tier I). Faible réponse aux EGFR TKIs (MCCM guidelines NSCLC V.8 2024)	réussi
17	NGS-RNAseq-Novaseq Xplus-Illumina	Archer CTL panel - Integrated DNA technologies	Aucune mutation	/	/	/	Aucune mutation prédictive pour une éligibilité à une thérapie ciblée aux inhibiteurs EGFR	réussi

3.3 Commentaires

- Aucun laboratoire n'a détecté de mutation EGFR.
- 3 laboratoires ayant utilisés une méthode de type NGS ont recommandé une thérapie aux inhibiteurs BRAF suite à la présence d'une mutation BRAF V600E.
- 1 laboratoire qui a utilisé une méthode de type PCR a recommandé d'effectuer une analyse NGS.
- 1 laboratoire qui a utilisé une méthode de type NGS a recommandé d'effectuer une analyse de type RNA-seq afin de détecter de potentielles fusions de gènes impliquées dans le cancer du poumon.

4 Méthodes utilisées

4.1 Groupe NGS

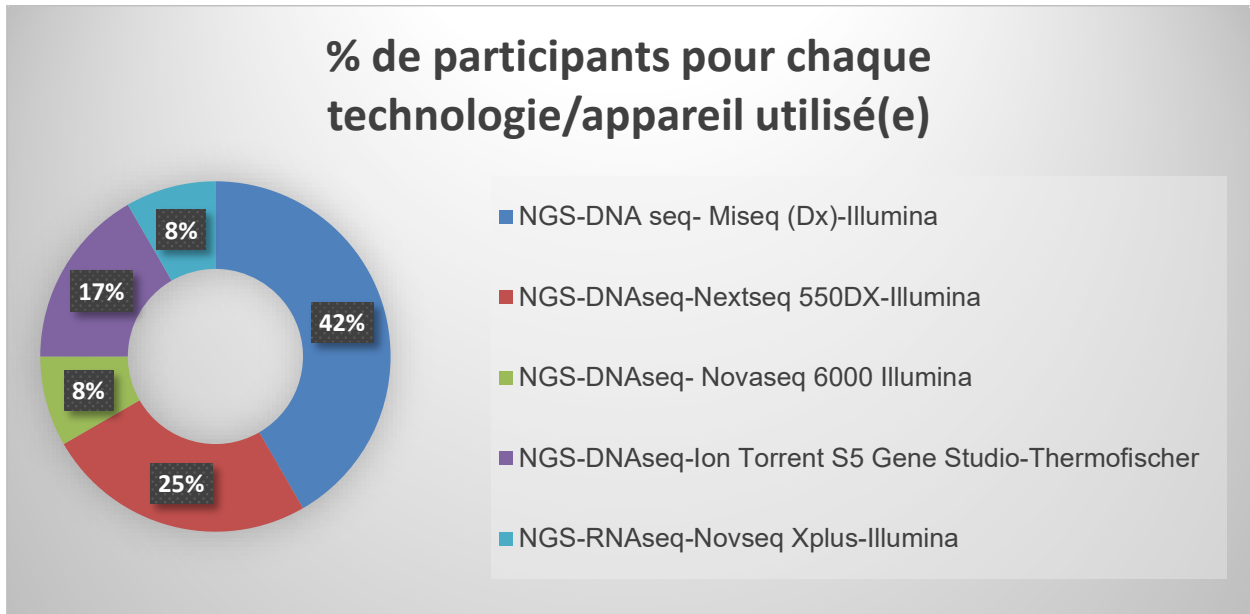


Figure 1: Distribution des laboratoires par technologie utilisée pour la détection de mutations EGFR avec une technique NGS.

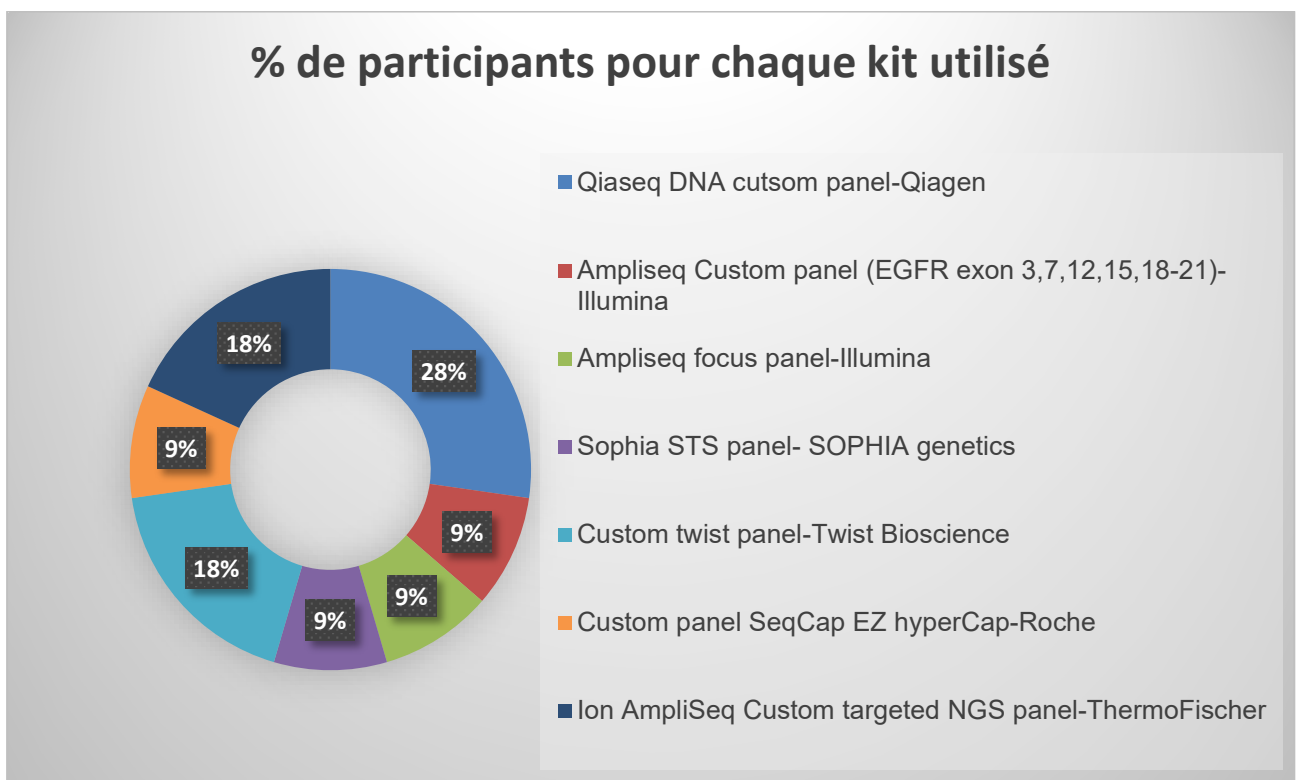


Figure 2: Distribution des laboratoires par kit utilisé pour la détection de mutations EGFR avec une technique NGS.

La méthode NGS-DNA sequencing qui est la plus utilisée avec le séquenceur Miseq de chez Illumina et le kit « Qiaseq DNA custom panel » de chez Qiagen.

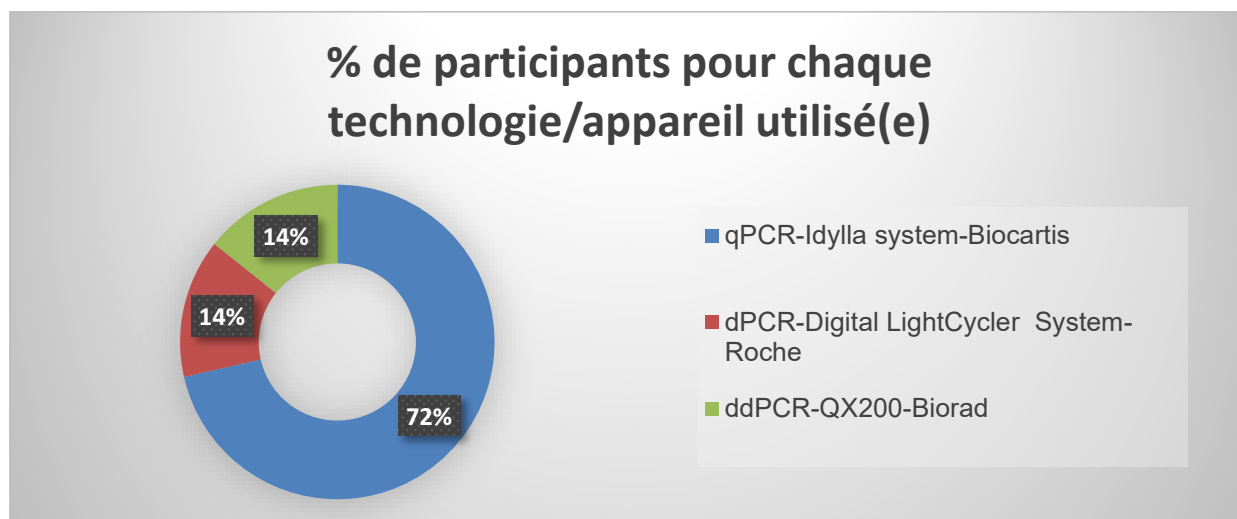


Figure 3: Distribution des laboratoires par technologie utilisée pour la détection de mutations EGFR avec une technique PCR.

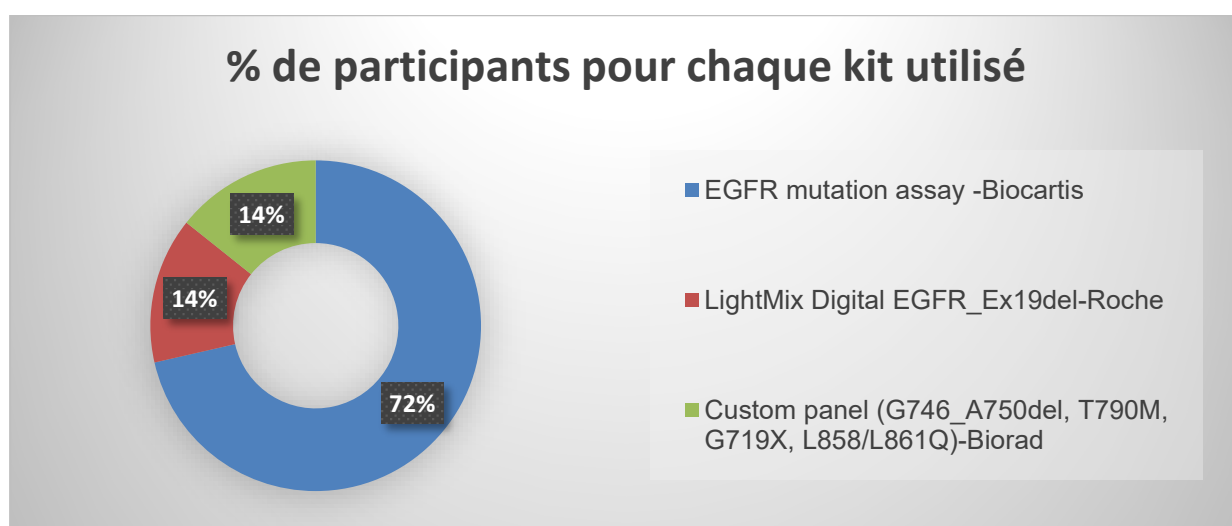


Figure 4: Distribution des laboratoires par kit utilisé pour la détection de mutations EGFR avec une technique PCR.

La méthodologie la plus utilisée par l'utilisateur d'une technique PCR est la qPCR avec un système Idylla de chez Biocartis. Le kit le plus utilisé est le kit « EGFR mutation assay » de Biocartis.

5 Conclusions sur les performances des laboratoires

Les performances des laboratoires de biologie clinique et d'anatomopathologie sont très satisfaisantes. L'ensemble des laboratoires a indiqué l'échantillon comme EGFR Wild type. Cela était attendu de part l'analyse NGS réalisée par la firme. Les laboratoires ont tous obtenu un score de réussite pour la partie génotypage. La partie interprétation et commentaire thérapeutique n'est quant à elle pas évaluée. Nous notons par ailleurs que plusieurs laboratoires ont rapporté comme commentaire thérapeutique une recommandation de thérapie aux inhibiteurs BRAF suite à la présence d'une mutation BRAFV600E. En effet, dans le cadre de carcinomes du poumon non squameux non à petites cellules une thérapie aux inhibiteurs BRAF de type Dabrafenib ou Tremetinib peut être indiquée lorsque la tumeur présente une mutation du gène BRAF.

Cela ne signifie pas que les autres laboratoires n'ont pas suivi les recommandations ; ils ont quant à eux répondu au but premier de l'enquête à savoir la détection de mutation EGFR et non pas tenu compte de la présence éventuelle d'autres mutations pour rendre les conclusions thérapeutiques. Cela ne signifie pas que ces laboratoires ne suivent pas les guidelines établies en routine.

INTERPRETATION DU RAPPORT INDIVIDUEL

En plus de ce rapport global, vous avez également accès à un rapport individuel qui vous a été envoyé par email.

Ci-dessous vous pouvez trouver les critères d'évaluations sur lesquels se basent l'évaluation que vous avez reçue dans votre rapport individuel :

Critères d'évaluation et détermination de la valeur assignée:

Le critère d'évaluation est la détection correcte de la présence ou de l'absence de mutation EGFR dans le scope de la convention NGS.

Les classification biologique et clinique sont toujours scorées pour les laboratoires utilisant une technique de type NGS et sont demandées à titre éducationnel pour les laboratoires utilisant une technique de type PCR. Pour ces laboratoires, ces classifications ne sont donc pas évaluées.

En effet, ces classifications sont déterminées par les guidelines NGS du Compermed (BELAC 2-405-NGS R4-2023). Dans le cadre de cette enquête, ces classifications n'ont pas été scorées suite à l'absence de mutation EGFR.

La présence ou l'absence de mutation est certifiée par une analyse NGS réalisée par la firme fournissant le bloc. Les participants utilisant une technique NGS sont évalués séparément des participants utilisant une technique PCR; le critère d'évaluation restant la détection correcte de la présence ou de l'absence de mutation dans l'échantillon.

En cas de discordance entre les résultats des participants et la certification de la firme, le comité d'experts analyse la situation et prends alors les décisions nécessaires quant à l'évaluation des participants.

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2025

Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de Sciensano. Les résultats individuels des laboratoires sont confidentiels. Ils ne sont transmis par Sciensano ni à des tiers, ni aux membres de la Commission, des Comités d'experts ou du groupe de travail EEQ.