

EXPERTISE, PRESTATIONS DE SERVICE ET RELATIONS CLIENTS

QUALITE DES LABORATOIRES

COMITE DES EXPERTS *AD HOC*

BENCHMARKING TRIAL

RAPPORT GLOBAL DEFINITIF
Next Generation Sequencing (NGS)
BRCA1/BRCA2
2018/1

Sciensano/NGS benchmarking trial/3-FR

Expertise, prestations de service et relations clients
Qualité des laboratoires
Rue J. Wytsman, 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.sciensano.be

COMITE DES EXPERTS AD HOC

Sciensano					
Carlier D.	Secrétariat	TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
Aline Antoniou	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.55.27		
		e-mail:	Aline.Antoniou@sciensano.be		
Vanessa Ghislain	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	Vanessa.Ghislain@sciensano.be		
Experts	Institution				
Dr. Philippe Aftimos	Institut Jules Bordet				
Dr. Valérie Capraro	CHU-ULG				
Dr. Kathleen Claes	UZ Gent				
Dr. Els Dequeker	UZ Leuven				
Dr. Nicky d'Haene	ULB-Erasme				
Dr. Helena Devos	AZ Sint-Jan				
Dr. Guy Froyen	Jessa Ziekenhuis				
Dr. Koen Jacobs	AZ Sint-Lucas				
Dr. Frédéric Lambert	CHU-ULG				
Dr. Suzan Lambin	UZA				
Dr. Els Lierman	UZ Leuven				
Dr. Brigitte Maes	Jessa Ziekenhuis				
Dr. Friedel Nollet	AZ Sint-Jan				
Dr. Patrick Pauwels	UZA				
Dr. Roberto Salgado	GZA Ziekenhuis				
Dr. Karl Vandepoele	UZ Gent				
Dr. Pascal Vannuffel	IPG				
Dr. Christine Weyn	UZA				
Aline Hébrant	Sciensano				

Els Van Valckenborgh	Sciensano
Marc Van den Bulcke	Sciensano
Philippe Van de Walle	Sciensano
Wim Coucke	Sciensano
Mohamed Rida Soumali	Sciensano
Thomas Delcourt	Sciensano

Une version provisoire de ce rapport a été transmise aux experts le : 03/10/2018.
Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts *ad hoc* le : 13/11/2018.

Responsabilités :

Lors de cette réunion, le comité d'experts *ad hoc* 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 est portée par le service Qualité des laboratoires de Sciensano.

Autorisation de diffusion de rapport:

Par Aline Antoniou, coordinateur d'enquête du Benchmarking trial NGS, le 10/12/2018

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:
https://www.wiv-isp.be/QML/activities/NGS/fr/rapports_annee.htm

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	5
1.1. Objectif du Benchmarking trial NGS pour les gènes BRCA1 et BRCA2	5
1.2. Activité sous-traitée	5
1.3. Matériel	5
1.4. Demande	5
1.5. Formulaire de réponse	6
1.6. Critères d'évaluation	6
2. RESULTATS	7
2.1. Participation au Benchmarking trial NGS	7
2.2. Aperçu des méthodes	7
2.3. Aperçu des résultats	10
2.4. Aperçu des interprétations cliniques/biologiques	11
3. DISCUSSION DES RESULTATS, COMMENTAIRES ET RECOMMANDATIONS.....	12
3.1. Identification des variants	12
3.3. Standardisation des rapports cliniques et de l'interprétation clinique/biologique	12
4. ANNEXE	13
4.1. Interprétations cliniques/biologiques	13
4.1.1. NGS-2018-001	13
4.1.2. NGS-2018-002	14
4.1.3. NGS-2018-003	15
4.2. Diagramme de points	16
4.3. Interprétation du rapport individuel	16

1. INTRODUCTION

En janvier 2016, le Centre du cancer a débuté la mise en œuvre du projet pilote national relatif à l'introduction de la technologie NGS dans notre système de soins de santé. Le projet, qui s'étale sur une période de 5 ans, vise à bien intégrer cette nouvelle technologie au sein de la pratique clinique à l'aide d'actions concrètes. En vue d'évaluer la qualité des résultats des tests, le Centre du cancer et le service Qualité des laboratoires de Sciensano ont organisé un benchmarking trial pour la détection des mutations dites « *actionables* » dans les gènes BRCA1 et BRCA2 par NGS ciblé.

Toutes les informations relatives à l'étude pilote NGS sont détaillées dans le NGS Roadbook : <http://www.e-cancer.be/publications/Documents/Roadbook%20PersMed%20NGS%20FR.pdf>

1.1. Objectif du Benchmarking trial NGS pour les gènes BRCA1 et BRCA2

L'objectif de l'organisation du *benchmarking trial* NGS est d'établir l'état des lieux de l'exécution des tests réalisés par les laboratoires participants. Cette étude se concentrera uniquement sur l'évaluation de la qualité des analyses permettant la détection des mutations somatiques dans les gènes BRCA1 et BRCA2 en oncologie.

1.2. Activité sous-traitée

Les échantillons d'ADN génomique ont été produits par la firme Horizon et sont distribués par la firme Amplitech (France).

1.3. Matériel

Le matériel transmis lors de cette étude comportait 3 tubes (NGS-2018-001, 002, et 003) contenant de l'ADN génomique issu de mélanges de lignées cellulaires bien caractérisées.

Les profils mutationnels de ces 3 échantillons ont été choisis "à façon" pour les caractéristiques suivantes, pour les gènes requis par la convention INAMI pour le NGS (approuvé le 19/03/2018 : https://www.riziv.fgov.be/SiteCollectionDocuments/convention_next_generation_sequencing.pdf):

- Types de variants : substitutions, insertions, délétions
- Fréquence allélique du variant
- Nombre de variants

L'homogénéité et la stabilité des échantillons sont garanties par Horizon (normes ISO9001 et ISO13485).

1.4. Demande

Il a été demandé de réaliser les analyses de NGS selon les procédures en vigueur au laboratoire. Il a été précisé que le traitement des échantillons devait être identique à celui des échantillons de patients.

Chaque échantillon devait être analysé trois fois par les laboratoires participants (*triplicates* de chaque échantillon). Les répétitions de chaque échantillon devaient être réalisées dans le même flux analytique. Cependant lors de la construction des librairies, ces répétitions devaient être considérées comme des échantillons distincts et donc identifiées par des barcodes différents et analysées de manière indépendante par les outils bio-informatiques.

Seuls les variants identifiés dans les gènes BRCA1 et BRCA2 devaient être rapportées par les laboratoires.

1.5. Formulaire de réponse

Nous avons demandé, pour les 9 analyses de séquençage réalisées (*triplicates* des 3 échantillons), de transmettre l'ensemble des données brutes (fichiers fastq, bam, bai et vcf). Les résultats ainsi que les informations techniques concernant la méthode et l'analyse bio-informatique utilisées ont été encodés par les laboratoires sur le site internet sécurisé suivant: <https://qml.wiv-isp.be/NGS/>. Nous avons également demandé de transmettre un rapport clinique pour chaque échantillon (3 au total).

1.6. Critères d'évaluation

Les critères d'évaluation sont basés sur le consensus des laboratoires avec un seuil fixé à 2/3 des participants.

De manière détaillée, les critères d'évaluation sont :

1/ L'identification de tous les variants rapportés par au moins 2/3 des participants, présents dans les 3 échantillons: **consensus des variants rapportés**. Les valeurs médianes des fréquences alléliques rapportées par les laboratoires pour ces variants ont été fournies à titre indicatif ainsi que les valeurs SD.

2/ L'absence de signalement des variants rapportés par moins de 1/3 des participants, présents dans les 3 échantillons: **consensus des variants non rapportés**.

Remarques : Les variants rapportés entre 1/3 et 2/3 des laboratoires sont également détaillés dans le rapport et sont transmis à titre indicatif : **pas de consensus**.

La totalité de ces variants a été validé par Horizon, par NGS sur les lignées pures, et par ddPCR sur les mélanges de lignées (cfr. point 2.3., tableau 15).

2. RESULTATS

2.1. Participation au Benchmarking trial NGS

12 laboratoires belges se sont inscrits au Benchmarking trial pour les gènes BRCA1 et BRCA2. La participation était ouverte aux laboratoires médicaux belges qui réalisaient la détection des mutations somatiques par la technique NGS, accrédités ISO 15189 pour cette technique ou en cours d'accréditation au moment de l'envoi des échantillons. Pour les laboratoires en cours d'accréditation, le dossier de validation ou le plan de validation était requis lors de l'inscription.

Tableaux 1a, 1b et 1c: Aperçu des participants

Région	N	Laboratoire	N
Région flamande	6	Anatomie pathologique	2
Région bruxelloise	3	Biologie Clinique	4
Région wallonne	3	Génétique humaine	6
Total	12	Total	12

Laboratoire	N
Accrédité	7
En cours d'accréditation au moment de l'inscription	5
Total	12

2.2. Aperçu des méthodes

Tableau 2: Génome de référence utilisé pour l'analyse

Génome de référence	N
GRCh37/hg19	12

Tableau 3: Plateformes utilisées pour l'analyse

Marque	N	Plateforme	N
Illumina	11	MiSeq	10
		NextSeq	1
Qiagen	1	GeneReader	1

Tableau 4: Références *flow cells* ou puces utilisées

Puce/ <i>flow cell</i>	N
MiSeq v3	5
MiSeq v2	3
MiSeq micro v2	1
MiSeq	1
NextSeq	1
Qiagen	1

Tableau 5: analyses *single/paired-end*

<i>Single/paired-end</i>	N
Single end	1
Paired-end	11

Tableau 6: Longueurs des *reads*

Longueur (pb)	N
150	3
200	2
250	3
300	1
350	1
123-230	2

Tableau 7: Références des panels de gènes utilisés

Panels de gènes utilisés	N
AmpliSeq for Illumina BRCA panel	2
BRCA MASTR Plus Dx (Multiplicom-Agilent)	8
NimbleGen SeqCap EZ Choice custom panel, Roche	1
GeneRead QIAact BRCA1 /2 panel, Qiagen	1

Tableau 8: Outils commerciaux et pipelines « *in-house* » utilisés

Outils commerciaux/pipelines « <i>in-houses</i> »	N
SeqNext (JSI)	7
Sophia DDM	2
Software Qiagen	1
DNA amplicon plugin (Illumina-basespace)	1
CLC Bio + in house scripts	1

Tableau 9: stratégies d'enrichissement utilisées

Stratégies d'enrichissement	N
Amplicon-based	11
Probe-based	1

Tableau 10: Catégories de variants somatiques détectées par les méthodes d'analyse sur les gènes BRCA1 et BRCA2

Catégories de variants somatiques	N
SNV	12
Indels	12
CNV	1
Translocations	1

Tableau 11: Limites de détection pour chaque catégorie de variant détecté

Limite de détection pour SNV : fréquence allélique (%)	Limite de détection pour SNV : profondeur de séquençage (X)	N
4	500	1
4	1000	1
5	200-500	1
5	300	4
5	1000	2
10	100	1
10	300	1
10	500	1
Limite de détection pour indels: fréquence allélique (%)	Limite de détection pour indels : profondeur de séquençage (X)	N
4	500	1
4	1000	1
5	200-500	1
5	300	4
5	1000	2
10	100	2
10	500	1
Limite de détection pour CNV: fréquence allélique (%)	Limite de détection pour CNV: profondeur de séquençage (X)	N
5	300	1
Limite de détection pour Translocations: fréquence allélique (%)	Limite de détection pour Translocations: profondeur de séquençage (X)	N
5	300	1

Tableau 12: Pour la recherche de variants somatiques pour les gènes BRCA1 et BRCA2, séquencez-vous un échantillon normal du même patient en parallèle de l'échantillon tumoral ?

Séquençage échantillon normal	N
Oui (Sang)	2
Non	10

Tableau 13: Types d'échantillons séquencés par les laboratoires pour la détection de variants somatiques dans les gènes BRCA1 et BRCA2

Type d'échantillon	N
Sang	2
Tissu congelé	1
Tissu paraffiné	11
Autres : cytologie	1

Tableau 14: Quantités minimales d'ADN génomique requises pour réaliser l'analyse NGS pour les gènes BRCA1 et BRCA2

Quantité minimale d'ADN génomique	N
≤10ng	2
11 - 50ng	2
51-100ng	3
550ng	1
Non précisé	4

2.3. Aperçu des résultats

Tableau 15: variants validés par Horizon

Echantillon	Gène	Référence ADNc	Référence protéique	Fréquence allélique attendue
NGS-2018-001	BRCA1	c.4327C>T NM_007294.3	p.(Arg1443*) NP_009225.1	10
	BRCA2	c.5351del NM_000059.3	p.(Asn1784Thrfs*7) NP_000050.2	10
		c.5073del NM_000059.3	p.(Lys1691Asnfs*15) NP_000050.2	10
		c.4258G>T NM_000059.3	p.(Asp1420Tyr) NP_000050.2	10
		c.7397T>C NM_000059.3	p.(Val2466Ala) NP_000050.2	20
NGS-2018-002	BRCA1	c.1303G>T NM_007294.3	p.(Asp435Tyr) NP_009225.1	20
		c.2458A>G NM_007294.3	p.(Lys820Glu) NP_009225.1	20
		c.2612C>T NM_007294.3	p.(Pro871Leu) NP_009225.1	40
		c.3548A>G NM_007294.3	p.(Lys1183Arg) NP_009225.1	20
		c.4837A>G NM_007294.3	p.(Ser1613Gly) NP_009225.1	20
	BRCA2	c.5351del NM_000059.3	p.(Asn1784Thrfs*7) NP_000050.2	20
		c.865A>C NM_000059.3	p.(Asn289His) NP_000050.2	20
		c.2971A>G NM_000059.3	p.(Asn991Asp) NP_000050.2	20
		c.7397T>C NM_000059.3	p.(Val2466Ala) NP_000050.2	20
		NGS-2018-003	BRCA1	c.1303G>T NM_007294.3
c.2458A>G NM_007294.3	p.(Lys820Glu) NP_009225.1			25
c.2612C>T NM_007294.3	p.(Pro871Leu) NP_009225.1			50
c.3548A>G NM_007294.3	p.(Lys1183Arg) NP_009225.1			25
c.4837A>G NM_007294.3	p.(Ser1613Gly) NP_009225.1			25
BRCA2	c.5351del NM_000059.3		p.(Asn1784Thrfs*7) NP_000050.2	25
	c.8021dup NM_000059.3		p.(Ile2675Aspfs*6) NP_000050.2	25
	c.865A>C NM_000059.3		p.(Asn289His) NP_000050.2	25
	c.2971A>G NM_000059.3		p.(Asn991Asp) NP_000050.2	25
	c.7397T>C NM_000059.3		p.(Val2466Ala) NP_000050.2	100

■ consensus des variants rapportés, □ consensus des variants non rapportés, ■ pas de consensus.

8 laboratoires utilisent le panel BRCA MASTR Plus Dx Multiplicom-Agilent. Notre analyse multivariée de la variance (= *Manova*, *Multivariate Anova*) montre que les valeurs des fréquences alléliques pour ce groupe de laboratoires sont trop distinctes des valeurs rapportées par les participants utilisant une autre méthode pour considérer l'ensemble des participants au benchmark comme un seul groupe. En effet, en considérant les 12 laboratoires comme un groupe unique, les différences observées entre les valeurs de fréquences alléliques auraient induit un risque d'erreur significatif dans les citations Z. Les fréquences alléliques médianes, les déviations standards et les citations Z reprises dans le tableau ci-dessous ont été calculées uniquement sur base des résultats obtenus pour les laboratoires utilisant le panel BRCA BRCA MASTR Plus Dx Multiplicom-Agilent. Ces données sont fournies à titre indicatif.

Tableau 16 : résultats des laboratoires

Echantillon	Gène	Référence ADNc	Référence protéique	Méthode	M_AF	SD	Nm	citZ	Ng
NGS-2018-001	BRCA1	c.4327C>T NM_007294.3	p.(Arg1443*) NP_009225.1	MASTR Plus	11	0.22	8/8	1/8	12/12
				AmpliSeq			2/2		
				NimbleGen SeqCap			1/1		
				GeneRead			1/1		
	BRCA2	c.5351del NM_000059.3	p.(Asn1784Thrfs*7) NP_000050.2	MASTR Plus	12	0.13	7/8	1/7	11/12
				AmpliSeq			2/2		
				NimbleGen SeqCap			1/1		
				GeneRead			1/1		
	BRCA2	c.5073del NM_000059.3	p.(Lys1691Asnfs*15) NP_000050.2	MASTR Plus	13	0.23	7/8	1/7	11/12
				AmpliSeq			2/2		
				NimbleGen SeqCap			1/1		
				GeneRead			1/1		
NGS-2018-002	BRCA1	c.1303G>T NM_007294.3	p.(Asp435Tyr) NP_009225.1	MASTR Plus			3/8		5/12
				AmpliSeq			1/2		
				NimbleGen SeqCap			0/1		
				GeneRead			1/1		
	BRCA2	c.5351del NM_000059.3	p.(Asn1784Thrfs*7) NP_000050.2	MASTR Plus	20.7	0.43	7/8	1/7	11/12
				AmpliSeq			2/2		
				NimbleGen SeqCap			1/1		
				GeneRead			1/1		
NGS-2018-003	BRCA1	c.1303G>T NM_007294.3	p.(Asp435Tyr) NP_009225.1	MASTR Plus			3/8		5/12
				AmpliSeq			1/2		
				NimbleGen SeqCap			0/1		
				GeneRead			1/1		
	BRCA2	c.5351del NM_000059.3	p.(Asn1784Thrfs*7) NP_000050.2	MASTR Plus	25.6	0.61	7/8	0/7	11/12
				AmpliSeq			2/2		
				NimbleGen SeqCap			1/1		
				GeneRead			1/1		
	BRCA2	c.8021dup NM_000059.3	p.(Ile2675Aspfs*6) NP_000050.2	MASTR Plus	24	0.68	7/8	1/7	11/12
				AmpliSeq			2/2		
				NimbleGen SeqCap			1/1		
				GeneRead			1/1		

■ consensus des variants rapportés, □ pas de consensus

Méthodes : MASTR Plus (BRCA MASTR Plus Dx Multiplicom-Agilent), AmpliSeq (AmpliSeq for Illumina BRCA panel), NimbleGen SeqCap (NimbleGen SeqCap EZ Choice custom panel, Roche), GeneRead (GeneRead QIAact BRCA1 /2 panel, Qiagen), M_AF: fréquence allélique médiane obtenue sur base des résultats des laboratoires utilisant la méthode BRCA MASTR Plus Dx Multiplicom-Agilent, SD: déviation standard, Nm: Proportion de laboratoires par méthode ayant rapporté la mutation, citZ : Proportion de citations Z, Ng: Proportion de laboratoires (toutes méthodes confondues) ayant rapporté le variant.

11 laboratoires sur 12 participants ont réussi à identifier les 6 variants du consensus des variants rapportés.

1 laboratoire a identifié un seul variant sur les 6 variants du consensus des variants rapportés.

Aucun laboratoire n'a rapporté aucun des 16 variants du consensus des variants non rapportés.

L'interprétation statistique est détaillée dans la partie interprétation du rapport individuel pages 16-17.

Tableau 17: Taux de réussite des participants basé sur le consensus des variants rapportés

Taux de réussite	N
6/6 (100%)	11
1/6 (17%)	1

Taux de réussite moyen : 93% (67/72)

2.4. Aperçu des interprétations cliniques/biologiques

Les interprétations cliniques/biologiques sont reprises en annexe de ce rapport (pages 13-15). Ces données ont été extraites à partir des réponses faites sur le site internet <https://gml.wiv-isp.be/NGS/20181/> pour la répétition 1 et peuvent être fragmentaires par rapport aux commentaires rapportés dans le rapport clinique. Afin de ne pas introduire d'erreurs de traduction, les interprétations cliniques/biologiques ont été conservées dans la langue utilisée par les laboratoires.

3. DISCUSSION DES RESULTATS, COMMENTAIRES ET RECOMMANDATIONS

3.1. Identification des variants

Un laboratoire n'a pas rapporté dans l'échantillon NGS-2018-001, les variants BRCA2 p.(Asn1784Thrfs*7) et BRCA2 p.(Lys1691Asnfs*15), dans l'échantillon NGS-2018-002, le variant BRCA2 p.(Asn1784Thrfs*7) et dans l'échantillon NGS-2018-003, les variants BRCA2 p.(Asn1784Thrfs*7) et BRCA2 p.(Ile2675Aspfs*6). Les fréquences alléliques médianes de la totalité des variants non rapportés sont supérieures au seuil de détection du laboratoire concerné. Nous avons pu mettre en évidence la présence de ces variants dans leurs données brutes. Il s'agit de l'ensemble des variants BRCA2 rapportés par au moins 2/3 des participants.

5 laboratoires sur les 12 participants ont rapporté le variant BRCA1 p.(Asp435Tyr) dans les échantillons NGS-2018-002 et NGS-2018-003. Nous avons pu mettre en évidence la présence de ce variant dans les données brutes de tous les participants et ce, pour les 2 échantillons concernés. Durant l'étape d'interprétation biologique et/ou clinique du variant, les laboratoires ont classé ce variant dans la catégorie VUS (*Variant of Unknown Significance*). Nous suspectons que les autres laboratoires ne rapportent pas cette catégorie de variants dans leurs rapports cliniques.

Aucun laboratoire n'a rapporté aucun des 16 variants du consensus des variants non rapportés. Il n'y a donc pas de résultat inattendu pour le consensus des variants non rapportés. La plupart des données brutes a été analysée et la présence de ces variants a été confirmée dans les données de ces participants. Ces variants sont exclus du rapport clinique par des filtres et des critères additionnels.

3.2. Répétabilité des résultats

1 laboratoire a montré des problèmes de répétabilité dans la détection de 2 variants dans l'échantillon NGS-2018-001.

Tableau 18: Problèmes de répétabilité pour 1 laboratoire

Laboratoire	Variants avec problème de répétabilité	Nombre de répétitions où le variant a pu être identifié
Laboratoire 1	p.(Asn1784Thrfs*7), échantillon NGS-2018-001 p.(Lys1691Asnfs*15), échantillon NGS-2018-001	2/3 2/3

3.3. Standardisation des rapports cliniques et de l'interprétation clinique/biologique

Depuis février 2018, le ComPerMed a mis sur pied un groupe de travail afin de standardiser l'interprétation des variants et le contenu des rapports cliniques NGS. Ce projet répond à la demande des experts suite à la diversité des réponses observées lors des premiers *benchmarking trials* réalisés en 2017.

Ce groupe d'experts travaille plus particulièrement sur la standardisation :

- 1) de l'annotation des variants
- 2) des références utilisées pour les régions testées
- 3) de la classification biologique des variants
- 4) de la classification clinique des variants
- 5) du rapport clinique

Les conclusions qui seront retenues seront publiées sous forme de recommandations.

Les règles de nomenclature utilisées dans ce rapport proviennent des recommandations HGVS. Publication : *HGVS recommendations for the description of sequence variants - 2016 update*, Den Dunnen et al. 2016, *Hum.Mutat.* 37:564-569.

Site internet : <http://varnomen.hgvs.org/>

4. ANNEXE

4.1. Interprétations cliniques/biologiques

4.1.1. NGS-2018-001

ID	BRCA1 p.(Arg1443*)	BRCA2 p.(Asn1784Thrfs*7)	BRCA2 p.(Lys1691Asnfs*15)
Lab1	Pathogeen	pathogeen	pathogeen
Lab2	Pathogenic	Pathogenic	Pathogenic
Lab3	Pathogeen. Er werd in exon 12 van het BRCA1 gen een mutatie met beschreven pathogeen potentieel gedetecteerd (c.4327C>T) voor borstkanker. Dit door vroegtijdige truncatie van het BRCA1 eiwit.	Pathogeen. De mutatie c.5351delA in exon 11 van het BRCA2 gen leidt tot een vroegtijdige truncatie van het BRCA2 eiwit. Deze mutatie is beschreven in ClinVar als pathogeen.	Pathogeen. De mutatie c.5073delA in exon 11 van het BRCA2 gen leidt tot een vroegtijdige truncatie van het BRCA2 eiwit. Deze mutatie is beschreven in ClinVar als pathogeen.
Lab4	class 5: pathogenic nonsense mutation	class 5: pathogenic frameshift mutation leading to a premature stop codon	Class 5: pathogenic frameshift mutation leading to a premature stop codon
Lab5	pathogeen, klasse 5	Non rapporté	Non rapporté
Lab6	pathogénique	pathogénique	pathogénique
Lab7	pathogénique	pathogénique	pathogénique
Lab8	PRESENCE d'au moins une mutation (classe V) dans le gène BRCA1. La présence d'une mutation BRCA1 ou BRCA2 est associée à une sensibilité aux inhibiteurs de PARP (augmentation de la Progression Free Survival) pour les cancers séreux de haut grade de l'ovaire, en rechute, sensibles aux platines (cfr entre autres Ledermann J et al, Lancet Oncol 2014 ; Tewari K S and Monk BJ, Clin Cancer Res 2015).	PRESENCE d'au moins une mutation (classe V) dans le gène BRCA2. La présence d'une mutation BRCA1 ou BRCA2 est associée à une sensibilité aux inhibiteurs de PARP (augmentation de la Progression Free Survival) pour les cancers séreux de haut grade de l'ovaire, en rechute, sensibles aux platines (cfr entre autres Ledermann J et al, Lancet Oncol 2014 ; Tewari K S and Monk BJ, Clin Cancer Res 2015).	PRESENCE d'au moins une mutation (classe V) dans le gène BRCA2. La présence d'une mutation BRCA1 ou BRCA2 est associée à une sensibilité aux inhibiteurs de PARP (augmentation de la Progression Free Survival) pour les cancers séreux de haut grade de l'ovaire, en rechute, sensibles aux platines (cfr entre autres Ledermann J et al, Lancet Oncol 2014 ; Tewari K S and Monk BJ, Clin Cancer Res 2015).
Lab9	pathogeen	pathogeen	pathogeen
Lab10	This variant is located in exon 12 of BRCA1 gene, at codon 1443. Substitution of cytosine with thymine at position 4327 of the coding sequence induces the appearance of a premature stop codon (CGA>TGA). This variant is reported in ClinVar (ID 17675) by multiple submitters and is widely described in the literature as a pathogenic (class 5) variant of the BRCA1 gene.	This variant is located in exon 11 of BRCA2 gene, at codon 1784. Deletion of adenine at position 5351 of the coding sequence induces a frameshift and the appearance of a premature stop codon at position 7 of the new reading frame. This variant is reported in ClinVar (ID 37961) by seven submitters and is considered as a pathogenic (class 5) variant of the BRCA2 gene.	This variant is located in exon 11 of BRCA2 gene, at codon 1691. Deletion of adenine at position 5073 of the coding sequence induces a frameshift and the appearance of a premature stop codon at position 15 of the new reading frame. This variant is reported in ClinVar (ID 51762) by five submitters and is considered as a pathogenic (class 5) variant of the BRCA2 gene.
Lab11	Pathogeen (cat 5)	Pathogeen (cat 5)	Pathogeen (cat 5)
Lab12	pathogénique	pathogénique	pathogénique

4.1.2. NGS-2018-002

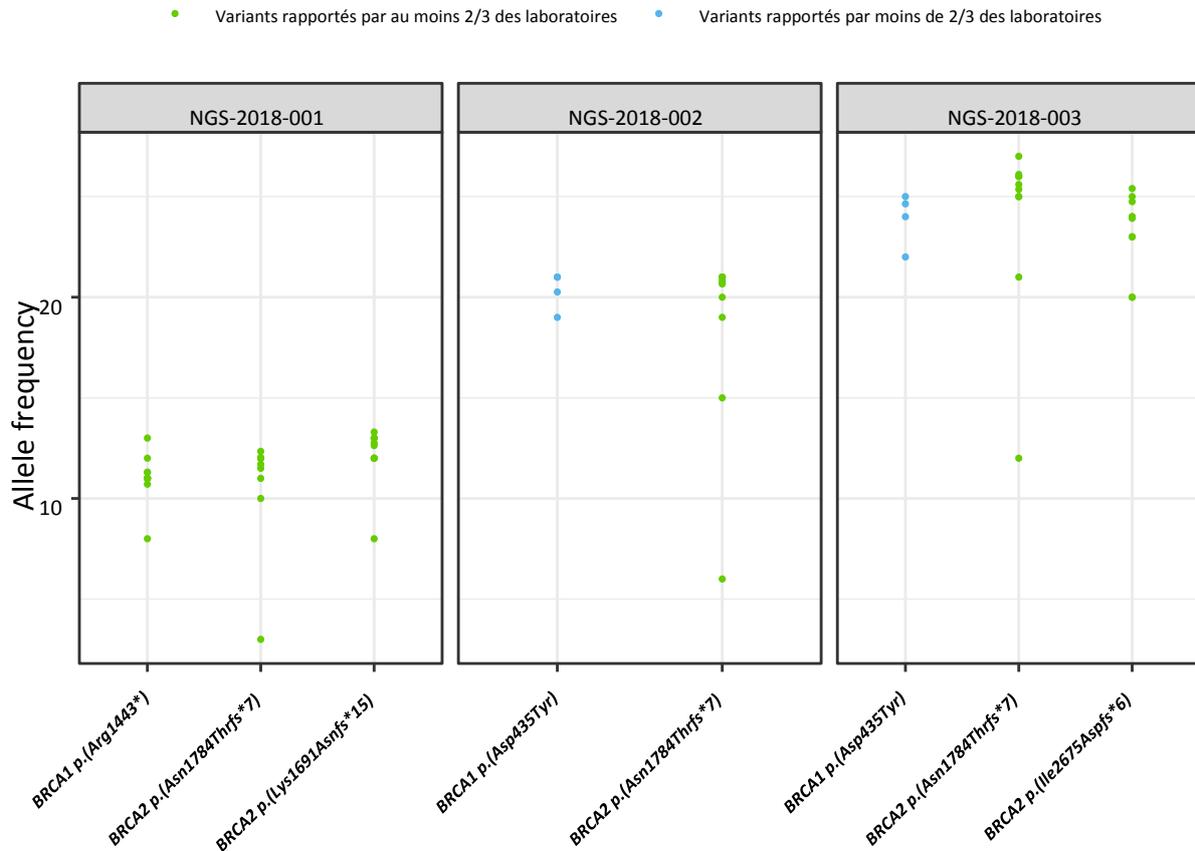
ID	BRCA1 p.(Asp435Tyr)	BRCA2 p.(Asn1784Thrfs*7)
Lab1	<i>Non rapporté</i>	pathogeen
Lab2	<i>Non rapporté</i>	Pathogénique
Lab3	VUS. In het BRCA1 gen werd een mutatie (c.1303G>T) gedetecteerd met nog onduidelijk potentieel (VUS).	Pathogeen. De mutatie c.5351delA in exon 11 van het BRCA2 gen leidt tot een vroegtijdige truncatie van het BRCA2 eiwit. Deze mutatie is beschreven in ClinVar als pathogeen.
Lab4	Class 3 : variant of unknown clinical significance This variant lies within the Rad50-binding region of the Brca1 protein (PMID: 22737296). It has been previously reported in the literature (e.g. PMID: 28857155), but its effect on BRCA1 protein function is currently unknown.	class 5: pathogenic frameshift mutation leading to a premature stop codon
Lab5	VUS, klasse 3	<i>Non rapporté</i>
Lab6	<i>Non rapporté</i>	pathogénique
Lab7	Variant de signification inconnue	pathogénique
Lab8	<i>Non rapporté</i>	PRESENCE d'au moins une mutation (classe V) dans le gène BRCA2. La présence d'une mutation BRCA1 ou BRCA2 est associée à une sensibilité aux inhibiteurs de PARP (augmentation de la Progression Free Survival) pour les cancers séreux de haut grade de l'ovaire, en rechute, sensibles aux platines (cfr entre autres Ledermann J et al, Lancet Oncol 2014 ; Tewari K S and Monk BJ, Clin Cancer Res 2015).
Lab9	<i>Non rapporté</i>	pathogeen
Lab10	This variant is located in exon 10 of BRCA1 gene, at codon 435. Substitution of guanine with thymine at position 1303 of the coding sequence induces the change of aspartic acid with tyrosine at codon 435. From a biochemical point of view this variant is a non-conservative change of a moderately conserved residue. This variant is not observed in population database (gnomAD: no frequency) and, to our knowledge, it has not been reported nor described in clinical database and in the literature. Based on current evidence, it is not clear whether BRCA1 p.(Asp435Tyr) is pathogenic or benign. We consider this variant as a variant of uncertain significance (class 3).	This variant is located in exon 11 of BRCA2 gene, at codon 1784. Deletion of adenine at position 5351 of the coding sequence induces a frameshift and the appearance of a premature stop codon at position 7 of the new reading frame. This variant is reported in ClinVar (ID 37961) by seven submitters and is considered as a pathogenic (class 5) variant of the BRCA2 gene.
Lab11	<i>Non rapporté</i>	Pathogeen (cat 5)
Lab12	<i>Non rapporté</i>	pathogénique

4.1.3. NGS-2018-003

ID	BRCA1 p.(Asp435Tyr)	BRCA2 p.(Asn1784Thrfs*7)	BRCA2 p.(Ile2675Aspfs*6)
Lab1	<i>Non rapporté</i>	pathogeen	pathogeen
Lab2	<i>Non rapporté</i>	Pathogenic	Pathogenic
Lab3	VUS. In het BRCA1 gen werd een mutatie (c.1303G>T) gedetecteerd met nog onduidelijk potentieel (VUS).	Pathogeen. De mutatie c.5351delA in exon 11 van het BRCA2 gen leidt tot een vroegtijdige truncatie van het BRCA2 eiwit. Deze mutatie is beschreven in ClinVar als pathogeen.	Pathogeen. Er werd een andere mutatie met pathogeen potentieel gedetecteerd in exon 18, i.e. c.8021dupA. Deze mutatie leidt tot een vroegtijdige truncatie van het BRCA2 eiwit. In ClinVar wordt deze mutatie als pathogeen beschreven.
Lab4	Class 3 : variant of unknown clinical significance This variant lies within the Rad50-binding region of the Brca1 protein (PMID: 22737296). It has been previously reported in the literature (e.g. PMID: 28857155), but its effect on BRCA1 protein function is currently unknown.	Class 5: pathogenic frameshift mutation	Class 5: pathogenic frameshift mutation
Lab5	VUS, klasse 3	<i>Non rapporté</i>	<i>Non rapporté</i>
Lab6	<i>Non rapporté</i>	pathogénique	pathogénique
Lab7	variant de signification inconnue	pathogénique	pathogénique
Lab8	<i>Non rapporté</i>	PRESENCE d'au moins une mutation (classe V) dans le gène BRCA2. La présence d'une mutation BRCA1 ou BRCA2 est associée à une sensibilité aux inhibiteurs de PARP (augmentation de la Progression Free Survival) pour les cancers séreux de haut grade de l'ovaire, en rechute, sensibles aux platines (cfr entre autres Ledermann J et al, Lancet Oncol 2014 ; Tewari K S and Monk BJ, Clin Cancer Res 2015).	PRESENCE d'au moins une mutation (classe V) dans le gène BRCA2. La présence d'une mutation BRCA1 ou BRCA2 est associée à une sensibilité aux inhibiteurs de PARP (augmentation de la Progression Free Survival) pour les cancers séreux de haut grade de l'ovaire, en rechute, sensibles aux platines (cfr entre autres Ledermann J et al, Lancet Oncol 2014 ; Tewari K S and Monk BJ, Clin Cancer Res 2015).
Lab9	<i>Non rapporté</i>	pathogeen	pathogeen
Lab10	This variant is located in exon 10 of BRCA1 gene, at codon 435. Substitution of guanine with thymine at position 1303 of the coding sequence induces the change of aspartic acid with tyrosine at codon 435. From a biochemical point of view this variant is a non-conservative change of a moderately conserved residue. This variant is not observed in population database (gnomAD: no frequency) and, to our knowledge, it has not been reported nor described in clinical database and in the literature. Based on current evidence, it is not clear whether BRCA1 p.(Asp435Tyr) is pathogenic or benign. We consider this variant as a variant of uncertain significance (class 3).	This variant is located in exon 11 of BRCA2 gene, at codon 1784. Deletion of adenine at position 5351 of the coding sequence induces a frameshift and the appearance of a premature stop codon at position 7 of the new reading frame. This variant is reported in ClinVar (ID 37961) by seven submitters and is considered as a pathogenic (class 5) variant of the BRCA2 gene.	This variant is located in exon 18 of BRCA2 gene, at codon 2675. Duplication of adenine at position 8021 of the coding sequence induces a frameshift and the appearance of a premature stop codon at position 6 of the new reading frame. This variant is reported in ClinVar (ID 267050) by four submitters and is considered as a pathogenic (class 5) variant of the BRCA2 gene.
Lab11	<i>Non rapporté</i>	Pathogeen (cat 5)	Pathogeen (cat 5)
Lab12	<i>Non rapporté</i>	pathogénique	pathogénique

4.2. Diagramme de points

Fréquences alléliques rapportées pour chaque variant.



4.3. Interprétation du rapport individuel

En plus de ce rapport global, vous avez également reçu un rapport individuel. Ci-dessous vous trouverez des informations qui peuvent aider à interpréter ce rapport. La position des résultats quantitatifs est donnée pour tous les participants. Pour les laboratoires utilisant la méthode BRCA MASTR Plus Dx Multiplicom-Agilent, la comparaison avec les résultats des participants utilisant cette méthode est également fournie.

Les informations suivantes sont reprises:

- Votre résultat (MRAF)

Uniquement pour les laboratoires utilisant la méthode BRCA MASTR Plus Dx Multiplicom-Agilent :

- La médiane (MAF):
la valeur centrale des résultats.
- L'écart-type global (SD):
mesure de la dispersion des résultats.
- Le score Z:
la différence entre votre résultat et la médiane (exprimée en unités d'écart type):
 $Z = (MRAF - MAF) / SD$
Votre résultat est cité si $|Z| > 3$.
Ces paramètres vous donnent une indication approximative de la position de votre résultat (MRAF) par rapport aux médianes (MAF).

Représentation graphique

À côté des tableaux de résultats, une représentation graphique en diagramme de points est ajoutée. Elle reprend la position de vos résultats quantitatifs pour tous les participants. Pour les laboratoires utilisant la méthode BRCA MASTR Plus Dx Multiplicom-Agilent la comparaison avec les résultats des participants utilisant cette méthode est également fournie.

Pour les laboratoires utilisant la méthode BRCA MASTR Plus Dx Multiplicom-Agilent :

- une ligne inférieure représente la plus petite valeur $x > P_{25} - 1.5 * (P_{75} - P_{25})$
- une ligne supérieure représente la plus grande valeur $x < P_{75} + 1.5 * (P_{75} - P_{25})$

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2018.

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.