

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

**COMITE DES EXPERTS *AD HOC***

**RAPPORT GLOBAL  
Next Generation Sequencing (NGS)**

**Tumeurs solides**

**2022/1**

**Sciensano/EEQ NGS/11-FR**

Risques biologiques pour la santé  
Qualité des laboratoires  
Rue J. Wytsman, 14  
1050 Bruxelles | Belgique

[www.sciensano.be](http://www.sciensano.be)

<b>COMITE DES EXPERTS AD HOC</b>
----------------------------------

<b>Sciensano</b>					
Secrétariat		TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
Aline Antoniou	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.55.27		
		e-mail:	<a href="mailto:Aline.Antoniou@sciensano.be">Aline.Antoniou@sciensano.be</a>		
Vanessa Ghislain	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	<a href="mailto:Vanessa.Ghislain@sciensano.be">Vanessa.Ghislain@sciensano.be</a>		
<b>Experts</b>	<b>Institution</b>				
Anne-France Dekairelle	UCL				
Koen Jacobs	AZ-St-Lucas Hospital Ghent				
Suzan Lambin	UZ Antwerp				
Brigitte Maes	Jessa Hospital Hasselt				
Freya Vaeyens	UZ Brussel				
Sara Vander Borght	UZ Leuven				
Suzanne Vanhauwaert	UZ Ghent				
Pascal Vannuffel	IPG				
Stefanie Vermeire	AZ Sint-Jan Brugge				
Thomas Delcourt	Sciensano				
Nicolas Loucheu	Sciensano				
Aline Hébrant	Sciensano				
Els Van Valckenborgh	Sciensano				
Mohamed Rida Soumali	Sciensano				
Marc Van Den Bulcke	Sciensano				

Les versions provisoires de ce rapport ont été transmises aux experts les: 23/05/2022, 08/06/2022, 10/06/2022.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts *ad hoc* le: 14/06/2022.

**Responsabilités :**

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 du rapport :** par Aline Antoniou, coordinateur d'enquête



**Date de publication : 18/07/2022**

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:  
[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/NGS/\\_fr/rapports\\_annee.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/NGS/_fr/rapports_annee.htm)

## TABLE DES MATIERES

<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>5</b>
1.1. Objectif de l'EEQ – tumeurs solides .....	5
1.2. Activité sous-traitée .....	5
1.3. Matériel.....	5
1.4. Demande.....	5
1.5. Critères d'évaluation.....	7
<b>2. RESULTATS.....</b>	<b>8</b>
2.1. Participation.....	8
2.2. Aperçu des méthodes.....	8
2.3. Aperçu des résultats.....	12
2.3.1. NGS-2022-1 .....	12
2.3.2. NGS-2022-2 .....	14
2.3.3. NGS-2022-3.....	17
2.3.4. Taux de réussite des participants.....	19
<b>3. ANNEXE .....</b>	<b>19</b>
3.1. Aperçu des conclusions cliniques.....	20
3.1.1. NGS-2022-1 .....	20
3.1.2. NGS-2022-2 .....	23
3.1.3. NGS-2022-3.....	27
3.2. Interprétation du rapport individuel .....	30

## **1. INTRODUCTION**

L'organisation des EEQ fait partie du projet pilote national relatif à l'introduction de la technologie NGS dans notre système de soins de santé qui a débuté en janvier 2016. Toutes les informations relatives à l'étude pilote NGS sont détaillées dans le NGS Roadbook :

<https://www.compermed.be/docs/Roadbook%20PersMed%20NGS%20FR.pdf>

### **1.1. Objectif de l'EEQ – tumeurs solides**

L'objectif de cette EEQ est d'établir l'état des lieux de la manière dont les variants somatiques dans les tumeurs solides sont détectés, sélectionnés et rapportés dans les protocoles cliniques.

### **1.2. Activité sous-traitée**

Les échantillons tumoraux ont été fournis par la firme Discovery Life Science.

### **1.3. Matériel**

Le matériel transmis lors de cette étude comprenait :

- 3 x 4 coupes FFPE coupées à 4µm provenant de 3 échantillons différents avec les références suivantes: NGS-2022-1, NGS-2022-2 et NGS-2022-3.

L'année de fixation et d'enrobage des échantillons est 2020. La préparation des coupes a été réalisée un mois avant l'envoi des lames FFPE aux participants. Des tests de stabilité ont été réalisés et garantissent la stabilité des lames pendant au moins 3 mois.

Les coupes ont été numérotées en série jusqu'à l'épuisement des blocs. Les lames n°1, 46 et 91 ont été utilisées pour réaliser une coloration HE afin d'évaluer l'homogénéité de la tumeur. L'homogénéité des échantillons a été contrôlée par l'institut Jules Bordet, Bruxelles. Ces coupes peuvent être consultées numériquement via notre site Web PathXL <https://eqaql.sciensano.be>. Connectez-vous avec « NGS2022 » comme identifiant et mot de passe et cliquez sur EQA NGS 2022/1. Des informations sur l'utilisation de PathXL peuvent être trouvées sur le même site internet.

Les lames envoyées aux participants sont comprises entre les lames 6 et 90.

### **1.4. Demande**

Les échantillons devaient être analysés selon les procédures en vigueur au laboratoire pour les pathologies suivantes :

NGS-2022-1: Carcinome colorectal métastatique

NGS-2022-2 : Carcinome du sein métastatique, ER positif et HER2 négatif

NGS-2022-3 : Cytologie néoplasie folliculaire, thyroïde

Pour chaque échantillon, il avait été demandé de répondre tous les variants à rapporter dans le rapport clinique du patient, selon les procédures en vigueur dans le laboratoire, mais uniquement pour les régions incluses dans la convention NGS et selon les workflows du ComPerMed (ne pas rapporter les autres variants éventuellement identifiés):

<https://www.inami.fgov.be/fr/professionnels/etablissements-services/laboratoires/Pages/oncologie-remboursement-biologie-moleculaire-ngs.aspx>  
<https://www.compermed.be/fr/workflows#/>

échantillon	Contexte clinique	gènes
NGS-2022-1	Carcinome colorectal métastatique	BRAF (exon 15 (codon 600)) KRAS (exon 2 (codons 12,13), exon 3 (codons 59, 61), exon 4 (codons 117, 146)) NRAS (exon 2 (codons 12,13), exon 3 (codons 59, 61), exon 4 (codons 117, 146))
NGS-2022-2	Carcinome du sein métastatique, ER positif et HER2 négatif	ESR1 (exon 4, exon 5, exon 8) PIK3CA (exon 2, exon 5, exon 8 exon 10, exon 14,exon 21)
NGS-2022-3	Cytologie néoplasie folliculaire, thyroïde	BRAF (exon 15 (codon 600)) KRAS (exon 2 (codons 12,13), exon 3 (codons 59, 61), exon 4 (codons 117, 146)) HRAS (exon 2, exon 3) NRAS (exon 2 (codons 12,13), exon 3 (codons 59, 61)) TERT promoteur (c.-124C>T (C228T), c.-146C>T (C250T)) TP53 (tous les exons codants)

Il avait été également demandé de se référer aux recommandations du ComPerMed et de MolecularDiagnostics.be sur l'interprétation des variants et le contenu des rapports cliniques NGS publiées sur le site de Belac :

<https://economie.fgov.be/sites/default/files/Files/Publications/files/Belac-FR/2-405NGS-FR.pdf>

Pour chaque échantillon, l'une des lames transmises devait être utilisée pour réaliser une coloration Hématoxyline-Eosine et pour estimer le contenu tumoral.

Sur le site internet de réponses : <https://qml.wiv-isp.be/EQA-NGS/>, pour l'enquête EEQ NGS tumeurs solides 2022/1, il avait été demandé aux participants:

- De répondre au questionnaire concernant votre méthode d'analyse.
- D'encoder les paramètres demandés pour chaque variant identifié et rapporté selon vos procédures dans le rapport clinique et selon les recommandations Belac:
  - Nom du gène et numéro NM associé (choix multiples)
  - La nomenclature de référence de la séquence ADN codante selon HGVSn : <http://varnomen.hgvs.org/>
  - La nomenclature de référence de la séquence protéique selon HGVSsp : <http://varnomen.hgvs.org/>
  - Fréquence allélique
  - Classification biologique (choix multiple)
  - Classification clinique (choix multiple)
  - Justificatif de la classification Tier (choix multiple)
- Pour chaque échantillon :
  - De transmettre le pourcentage de cellules néoplasiques de la zone analysée ainsi que les numéros des coupes reçues.
  - De rédiger une conclusion générale sous forme d'un texte libre, par informations-type proposées et applicables.

A l'aide du lien belnet envoyé aux participants, il avait été demandé de transmettre les données brutes (fichiers FASTQ, BAM, BAI et VCF) pour chaque échantillon, le(s) fichier(s) BED contenant les régions ciblées par le panel utilisé, les fichiers contenant les positions et les séquences des primers utilisés lors de la stratégie d'enrichissement (MANIFEST, BED,...).

## 1.5. Critères d'évaluation

Ce rapport contient les résultats des 18 laboratoires participants. Pour l'identification des variants, 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 à rapporter. Les valeurs médianes des fréquences alléliques rapportées par les laboratoires pour ces variants sont 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 à ne pas rapporter.

Remarques : Les variants rapportés entre 1/3 et 2/3 des laboratoires sont également détaillés dans les rapports et sont transmis à titre indicatif : pas de consensus. Un variant avec un consensus peut être non évalué si le groupe d'experts ne valide pas le consensus établi par les laboratoires pour ce variant.

Concernant les interprétations biologiques et cliniques, pour les variants du consensus des variants à rapporter, les réponses des laboratoires sont classées en "résultat attendu" (en vert), "acceptable" (en jaune), "non-recommandé mais acceptable" (en orange), "non-acceptable" (en rouge) ou "non-évalué" (en gris). Ces catégories sont définies par un groupe d'experts en comparant les résultats du consensus des laboratoires aux résultats obtenus à l'aide des guidelines belges. Les justificatifs de classification Tier des laboratoires sont présentés dans un tableau.

Le contenu des conclusions générales rapportées par les laboratoires est classé par informations types reprises par au moins 2 laboratoires. Ce rapport contient également le pourcentage tumoral rapporté par les participants.

## 2. RESULTATS

### 2.1. Participation

18 laboratoires belges se sont inscrits à l'étude et sont repris dans l'analyse des résultats.

#### Aperçu des participants

Région	N
Région flamande	11
Région bruxelloise	4
Région wallonne	3
Total	18

Laboratoire	N
Anatomie pathologique	9
Biologie Clinique	7
Génétique humaine	2
Total	18

### 2.2. Aperçu des méthodes

Sur les 18 participants, un laboratoire n'a pas répondu au questionnaire.

#### Q1. Quel génome de référence utilisez-vous pour l'analyse ?

Réponses	N
hg19/GRCh37	16
hg38/GRCh38	1

#### Q2. Quel séquenceur utilisez-vous pour les analyses NGS sur tumeurs solides (firme et plateforme)?

Réponses	N
Illumina --- MiSeq	10
Illumina --- NovaSeq 6000	4
Qiagen --- GeneReader	1
ThermoFisher/Ion Torrent --- Ion GeneStudio S5	1
ThermoFisher/Ion Torrent --- Ion S5	1

#### Q3. Quels panels de gènes sont utilisés pour les analyses NGS sur ADN pour les tumeurs solides (nom des kits commerciaux et/ou custom) ?

Réponses	N
Custom panel QIASeq, Qiagen	4
Custom panel, AmpliSeq, Illumina	3
Custom panel, SeqCap EZ HyperCap capture panel protocol, Roche; KAPA HyperPlus Library Preparation Kit, Kapa Biosystems; XGen lockdown probes (IDT)	3
Custom panel, SeqCap, Roche	3
Custom panel, KAPA HyperCap, Roche	2
Custom panel, Ion AmpliSeq, ThermoFisher	1
Focus Ampliseq panel, Illumina	2
AmpliSeq Cancer Hotspot Panel V2, Illumina	1
GeneRead QIAact AIT DNA UMI panel, Qiagen	1
Oncomine focus assay, ThermoFisher	1
SureMASTR Tumor Hotspot, Agilent	1

#### Q4. Quelle stratégie d'enrichissement est utilisée pour les analyses NGS sur ADN pour les tumeurs solides?

Réponses	N
Amplicon-based	12
Probe-based	5



**Q5. Votre(vos) méthode(s) de séquençage est-elle single ou paired-end ?**

Réponses	N
Paired-end	14
Single-end	3

**Q6. Quel est la longueur des reads générés par votre méthode ?**

Réponses	N
100	1
120	1
150	12
151	1
251	1
360	1

**Q7. Est-ce que votre méthode d'analyse utilise des UMI afin d'exclure les reads dupliqués?**

Réponses	N
Non	12
Oui	5

**Q8. Quels outils bio-informatiques sont utilisés pour l'analyse des données secondaires ? (alignement et variant calling)**

Réponses	N
Open source/in house development	6
CLC Genomics Workbench, Qiagen	3
Local Run Manager, Illumina	3
Ion Reporter Software, ThermoFisher/Ion Torrent	2
MASTR Reporter, Multiplicom	1
Qiagen Clinical Insight Analyze, Qiagen	1
SeqNext, JSI medical systems	1
Sophia DDM, Sophia Genetics	1

Remarques : Les outils bio-informatiques ont été utilisés en *open source* selon les combinaisons suivantes: 1/ BWA, GATK , Unified Genotype, MuTect, 2/ bcbio, VarDict, 3/ BWA, VarDict, 4/ BWA, GATK, Mutect2

**Q9. Quels outils bio-informatiques sont utilisés pour l'analyse des données tertiaires ? (annotation des variants, filtres additionnels,...)**

Réponses	N
Open source/in house development	5
CLC Genomics Workbench, Qiagen	3
Variant Studio Software, Illumina	3
Alamut Visual, Sophia Genetics	2
Autre	2
Ion Reporter Software, ThermoFisher/Ion Torrent	2
MASTR Reporter, Multiplicom	1
QCI Interpret-Somatic Cancer, Qiagen	1
SeqNext, JSI medical systems	1
Sophia DDM, Sophia Genetics	1

Remarques : Les outils bio-informatiques ont été utilisés en *open source* selon les combinaisons suivantes: 1/ Annovar, 2/ VEP, dbNSFP, dbSCSNV, 3/ TransVar

Deux laboratoires réalisent l'analyse tertiaire manuellement en consultant différentes bases de données publiques.

**Q10. Pour les SNV et les indels, quelle est la limite de détection validée pour la fréquence allélique du variant (VAF %) pour les tumeurs solides?**

	3%	4%	5%
<b>SNV (Single nucleotide variants)</b>	1	2	14
<b>Indels</b>	2	2	13

**Q11. Pour les SNV et les indels, quel est le nombre minimal de reads mutés à une position donnée accepté par votre méthode d'analyse (minimum variant coverage)?**

	10	15	25	30	100	150	300	350	500	1000
<b>SNV (Single nucleotide variants)</b>	2	1	1	2	2	0	4	3	1	1
<b>Indels</b>	2	1	1	2	2	1	3	3	1	1

Remarques : Pour certains laboratoires, ces valeurs peuvent varier en fonction de la fréquence allélique et des régions ciblées. Les valeurs de reads élevées pour certains laboratoires semblent indiquer qu'ils n'aient pas correctement compris la question et aient répondu leur « total coverage » à la place de leur « minimum variant coverage ». La question a été reformulée pour plus de clarté.

**Q12. Pour les SNV et les indels, quel est le nombre de reads minimal accepté à une position donnée pour exclure la présence d'un variant?**

	100	150	250	300	350	500	1000	N/A
<b>SNV (Single nucleotide variants)</b>	2	0	1	6	3	2	1	2
<b>Indels</b>	2	1	1	5	3	2	1	2

Remarques : Pour certains laboratoires, ces valeurs peuvent varier en fonction de la fréquence allélique et des régions ciblées.

**Q13. Quelles autres catégories de variants somatiques que les SNV et les indels sont détectées par votre méthode d'analyse NGS pour les tumeurs solides sur ADN? CNV, indels longs,... + lister les gènes concernés par catégorie de variants**

Réponses	N
Indels longs	6
CNV (Copy number variants)	5

**Q14. Quels types d'échantillons sont séquencés par votre laboratoire pour la détection de variants somatiques?**

Réponses	N
Tissu paraffiné	17
Liquide cytologique	5
ADN tumoral circulant	2
Tissu frais	2
Frottis	1

**Q15. Pour la recherche de variants somatiques sur les tumeurs solides réalisée en routine sur ADN, séquencez-vous un échantillon normal du même patient en parallèle de l'échantillon tumoral?**

Réponses	N
Non	16
Oui	1

**Q16. Pour les tissus paraffinés, avant de procéder à l'analyse NGS, un pathologiste évalue-t-il le contenu tumoral du prélèvement sur une lame Hématoxyline-Eosine (HE)?**

Réponses	N
Oui	17

**Q17. Votre laboratoire enrichit-il la population de cellules tumorales avant l'analyse NGS ?**

Réponses	N
Oui, dissection manuelle à l'aide d'une lame HE préalablement marquée par un pathologiste	13
Dans certains cas, quand l'infiltration tumorale est insuffisante, dissection manuelle à l'aide d'une lame HE préalablement marquée par un pathologiste	3
Non, utilisation de l'entièreté du tissu pour l'analyse	1

**Q18. Quel est le pourcentage de cellules néoplasiques minimal accepté dans le prélèvement pour pouvoir procéder à l'analyse NGS sur tumeurs solides ?**

Réponses	N
>5%	2
>10%	14
>20%	1

Remarques : Certains laboratoires lancent également l'analyse NGS sous le seuil de cellules néoplasiques indiqué. En cas de résultat négatif, le résultat est rapporté sous réserve.

**Q19. Quelle est la quantité minimum d'ADN génomique requise par votre laboratoire pour réaliser l'analyse NGS sur tumeurs solides?**

Réponses	N
0-10ng	5
11-50ng	4
51-100ng	8

**Q20. Quelle est la concentration minimale d'ADN génomique requise par votre laboratoire pour réaliser l'analyse NGS sur tumeurs solides? (ng/µl)**

Réponses	N
0 ng/µl	3
0.06 ng/µl	1
1 ng/µl	3
1.5 ng/µl	3
1.7 ng/µl	1
2 ng/µl	1
2.5 ng/µl	3
4 ng/µl	1
6 ng/µl	1

Remarques : Pour certains laboratoires, cette valeur peut dépendre de la qualité.

**Q21. Quelle est la méthode utilisée pour la quantification de l'ADN ?**

Réponses	N
Qubit	15
Quantus	2
NanoDrop	1

**Q22. Quelles sont les guidelines utilisées pour l'interprétation des variants somatiques?**

Réponses	N
BELAC 2-405-NGS Rev 3-2021	17
Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists, Li et al., JMD, 2017, 19(1), (PMID: 27993330)	12
ACMG-AMP: Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology, Richard et al., Genet Med, 2015, 17(5), (PMID: 25741868)	8
Standardization of Somatic Variant Classifications in Solid and Haematological Tumours by a Two-Level Approach of Biological and Clinical Classes: An Initiative of the Belgian ComPerMed Expert Panel. Froyen et al. Cancers, 2019 (PMID: 31888289)	2

## 2.3. Aperçu des résultats

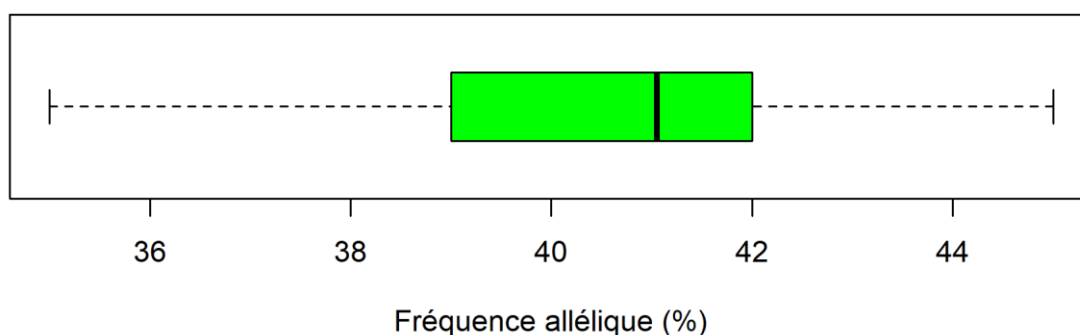
### 2.3.1. NGS-2022-1

Genre	F
Site anatomique de l'échantillon	Rectum
Conditionnement de l'échantillon	Coupes FFPE
Type de la tumeur primaire, histologie et informations cliniques	Adénocarcinome colorectal métastatique
Âge du patient	65

#### Consensus des variants à rapporter

NRAS NM\_002524.4; c.35G>A; p.(Gly12Asp)

#### NRAS NM\_002524.4; c.35G>A; p.(Gly12Asp)



Min	P25	Median	P75	Max	SD
35	39.17	41.05	42	45	2.1

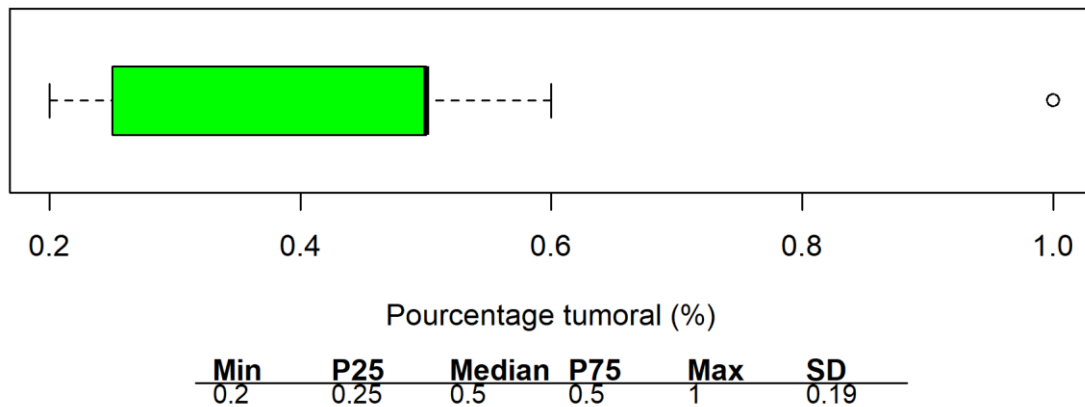
NRAS NM_002524.4 c.35G>A p.(Gly12Asp) (Fréquence allélique médiane: 41.05 %)	
Identification du variant	N
Oui	18
Non	0
Classification biologique	N
Pathogénique	18
Total	18
Classification clinique	N
Tier I	18
Total	18

**Commentaires:** Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification du variant NRAS NM\_002524.4; c.35G>A; p.(Gly12Asp). La nomenclature p.Gly12Asp, rapportée par un laboratoire, n'est pas recommandée selon les guidelines HGVS. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique. Concernant les classifications cliniques, le résultat attendu pour ce variant est la classification Tier I.

Justificatif de la classification Tier	N
Therapeutic - Level A1: Biomarkers that predict response or resistance to FDA-approved therapies for a specific type of tumor	17
Prognosis - Level A: Biomarkers included in professional guidelines as prognostic for a specific type of tumor	1
Therapeutic - Level A2: Biomarkers included in professional guidelines that predict response or resistance to therapies for a specific type of tumor	1

Informations types	Informations spécifiques reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Variants NRAS de mauvais pronostic dans les cancers colorectaux	3
Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Présence d'un variant NRAS associée à la résistance aux thérapies anti-EGFR	17
Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	études cliniques en cours (ex: NCT05187858, NCT04853017)	3

### Pourcentage tumoral:



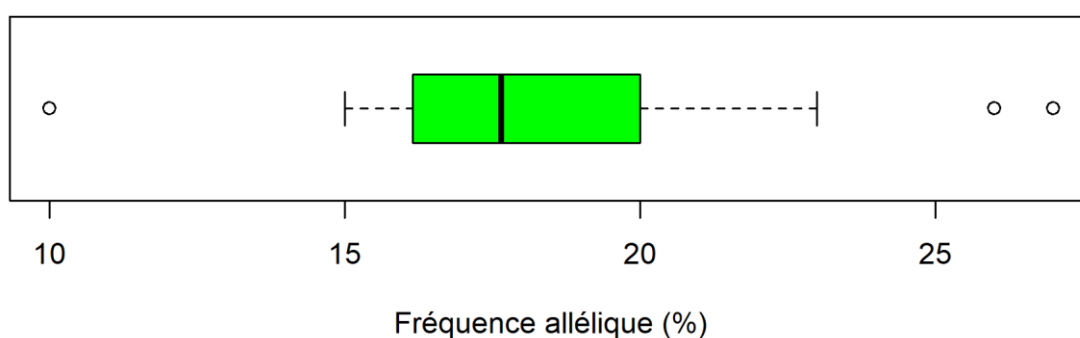
### 2.3.2. NGS-2022-2

Genre	F
Site anatomique de l'échantillon	Sein
Conditionnement de l'échantillon	Coupes FFPE
Type de la tumeur primaire, histologie et informations cliniques	Cancer du sein métastatique, ER positif et HER2 négatif
Âge du patient	35

#### Consensus des variants à rapporter

PIK3CA NM\_006218.3; c.1035T>A; p.(Asn345Lys)

#### PIK3CA NM\_006218.3; c.1035T>A; p.(Asn345Lys)



Min	P25	Median	P75	Max	SD
10	16.23	17.65	20	27	2.8

PIK3CA NM_006218.3 c.1035T>A p.(Asn345Lys) (Fréquence allélique médiane: 17.65 %)	
Identification du variant	N
Oui	16
Non	2
Classification biologique	N
Pathogénique	16
Total	16
Classification clinique	N
Tier I	12
Tier II	4
Total	16

**Commentaires:** Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification du variant PIK3CA NM\_006218.3; c.1035T>A; p.(Asn345Lys). Deux laboratoires n'ont pas rapporté ce variant en raison de l'absence de cette position de leur panel d'analyse. Ce variant est localisé dans l'exon 5 du gène PIK3CA, inclus dans les régions requises de la convention NGS depuis janvier 2022, et doit être couvert par la méthode d'analyse des laboratoires. L'absence d'identification de ce variant est évaluée comme acceptable mais non recommandée (orange). En effet, l'analyse de l'exon 5 du gène PIK3CA était requise par la convention seulement depuis 2 mois lors du commencement de l'étude, ce qui est un délai trop court pour exiger la mise à jour du panel utilisé par le laboratoire. La nomenclature p.Asn345Lys, rapportée par un laboratoire, n'est pas recommandée selon les guidelines HGVS. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique. Les classifications Tier I et Tier II sont considérées comme acceptables. L'indication au traitement combiné Alpelisib-Fulvestrant est uniquement approuvée par la FDA et l'EMA pour les femmes postménopausées et est en cours d'essai clinique pour les femmes préménopausées. Le statut préménopausé ou postménopausé de la patiente n'avait pas

été communiquée dans le descriptif de cas. Cependant, l'âge de la patiente suggère un statut préménopausé qui doit être confirmé par le bilan clinique.

Justificatif de la classification Tier	N
Therapeutic - Level A1: Biomarkers that predict response or resistance to FDA-approved therapies for a specific type of tumor	8
Therapeutic - Level A2: Biomarkers included in professional guidelines that predict response or resistance to therapies for a specific type of tumor	4
Therapeutic - Level C1: Biomarkers that predict response or resistance to therapies approved by the FDA or professional societies for a different type of tumor	2
Therapeutic - Level C2: Biomarkers that serve as inclusion criteria for clinical trials	1
Therapeutic - Level D: Biomarkers that show plausible therapeutic significance based on preclinical studies	1

### Consensus des variants à ne pas rapporter : Variants non évalués

PIK3CA NM\_006218.3; c.1090G>A; p.(Gly364Arg)

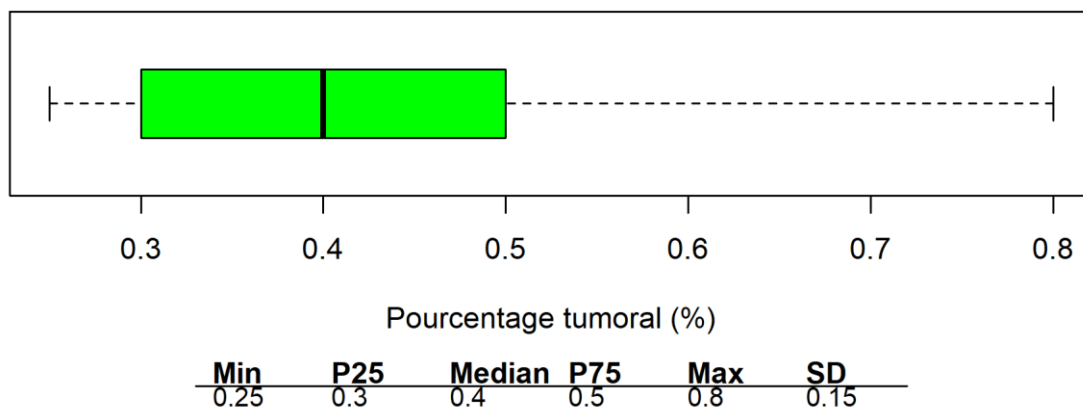
PIK3CA NM_006218.3 c.1090G>A p.(Gly364Arg) (Fréquence allélique médiane: 4.5 %)	
Identification du variant	N
Oui	2
Non	16
Classification biologique	N
Probablement pathogénique	1
VUS	1
Total	2
Classification clinique	N
Tier I	1
Tier III	1
Total	2

**Commentaires:** Le variant PIK3CA NM\_006218.3; c.1090G>A; p.(Gly364Arg), rapporté par 2 laboratoires, n'est pas évalué. Ce variant est localisé dans l'exon 6 du gène PIK3CA et n'est actuellement pas inclus dans les régions requises de la convention NGS.

Justificatif de la classification Tier	N
Not observed at a significant allele frequency in the general or specific subpopulation databases, or pan-cancer or tumor-specific variant databases; No convincing published evidence of cancer association	1
Therapeutic - Level A2: Biomarkers included in professional guidelines that predict response or resistance to therapies for a specific type of tumor	1

Informations types	Informations spécifiques reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie; Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Présence d'une variant PIK3CA associée à une réponse (possible) au traitement par un inhibiteur alpha-selective PI3-kinase en combinaison avec le Fulvestrant (antagoniste des récepteurs oestrogéniques (ER)) dans les carcinomes mammaires avancés ER+, HER2-	15
	L'inhibiteur anti-PI3K Alpelisib n'est pas encore remboursé en Belgique	2
Informations sur les gènes, variants identifiés présentant un intérêt clinique	Qualité de l'échantillon sousoptimale	2

### Pourcentage tumoral:





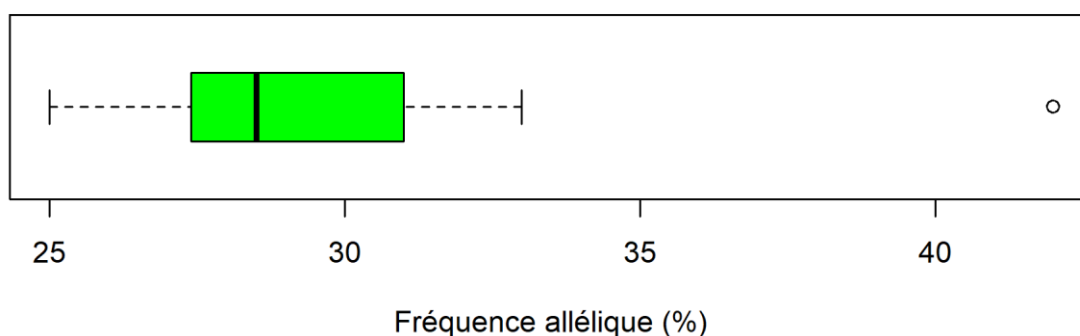
### 2.3.3. NGS-2022-3

Genre	F
Site anatomique de l'échantillon	Thyroïde
Conditionnement de l'échantillon	Coupes FFPE
Type de la tumeur primaire, histologie et informations cliniques	Cytologie néoplasie folliculaire
Âge du patient	35

#### Consensus des variants à rapporter

BRAF NM\_004333.5; c.1799T>A; p.(Val600Glu)

#### BRAF NM\_004333.5; c.1799T>A; p.(Val600Glu)



Min	P25	Median	P75	Max	SD
25	27.55	28.5	31	42	2.56

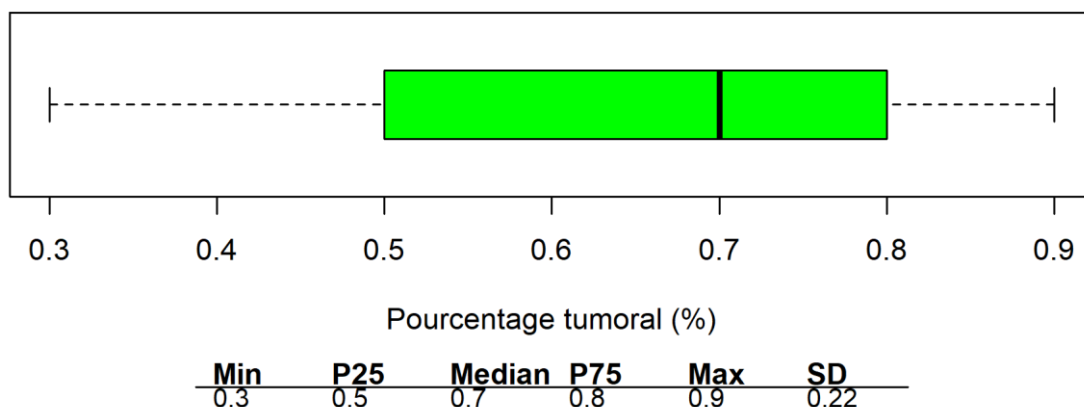
BRAF NM_004333.5 c.1799T>A p.(Val600Glu) (Fréquence allélique médiane: 28.5 %)	
Identification du variant	N
Oui	18
Non	0
Classification biologique	N
Pathogénique	18
Total	18
Classification clinique	N
Tier I	16
Tier II	2
Total	18

**Commentaires:** Pour cet échantillon, le consensus établi est l'identification du variant BRAF NM\_004333.5; c.1799T>A; p.(Val600Glu). La nomenclature p.Val600Glu, rapportée par un laboratoire, n'est pas recommandée selon les guidelines HGVS. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique. Concernant les classifications cliniques, le résultat attendu pour ce variant est la classification Tier I. La classification Tier II est considérée comme acceptable mais non recommandée étant donné la haute valeur diagnostic de ce variant.

Justificatif de la classification Tier	N
Diagnosis - Level A: Biomarkers included in professional guidelines as diagnostic for a specific type of tumor	14
Prognosis - Level A: Biomarkers included in professional guidelines as prognostic for a specific type of tumor	5
Prognosis - Level B: Biomarkers of prognostic significance for a specific type of tumor based on well-powered studies with consensus from experts in the field	5
Therapeutic - Level A1: Biomarkers that predict response or resistance to FDA-approved therapies for a specific type of tumor	4
Diagnosis - Level B: Biomarkers of diagnostic significance for a specific type of tumor based on well-powered studies with consensus from experts in the field	2
Therapeutic - Level A2: Biomarkers included in professional guidelines that predict response or resistance to therapies for a specific type of tumor	2
Therapeutic - Level C1: Biomarkers that predict response or resistance to therapies approved by the FDA or professional societies for a different type of tumor	2
Therapeutic - Level B: Biomarkers that predict response or resistance to therapies for a specific type of tumor based on well-powered studies with consensus from experts in the field	1

Informations types	Informations spécifiques reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
Conclusion diagnostic	Variants BRAF récurrents dans les tumeurs papillaires de la thyroïde, suggérant une nature maligne de la lésion	13
	Variant BRAF à corrélérer aux données cliniques	4
Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Evolution plus agressive, risque plus élevé de récurrence et risque plus élevé de métastases ganglionnaires et de métastases à distance	11
Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Présence du variant BRAF associée à une réponse (possible) au traitement aux inhibiteurs de BRAF et/ou MEK	8
	Thyroidectomie totale suggérée en raison de la présence du variant BRAF	2
Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Etudes cliniques en cours (ex:NCT04619316, NCT03765333)	3

### Pourcentage tumoral:



#### 2.3.4. Taux de réussite des participants

##### Consensus des variants à rapporter

<b>Taux de réussite basé sur le consensus des variants à rapporter*</b>	<b>N</b>
3/3 ou 2/2 (100%)	18
<b>Taux de réussite total: 100%</b>	

\*Les résultats « non recommandés mais acceptables » sont considérés comme réussis.

##### Consensus des variants à ne pas rapporter

Dans l'échantillon NGS-2022-2, deux laboratoires ont rapporté le variant PIK3CA NM\_006218.3; c.1090G>A; p.(Gly364Arg) et a été classé dans la catégorie des variants à ne pas rapporter/ non évalué. Ce variant est localisé dans l'exon 6 du gène PIK3CA et n'est actuellement pas inclus dans les régions requises de la convention NGS.

##### Classifications biologiques et cliniques

<b>Taux de réussite des participants pour les classifications pour le consensus des variants à rapporter</b>	<b>N</b>
<b>Classifications biologiques</b>	
3/3 ou 2/2 (100%)	18
<b>Taux de réussite total - classifications biologiques : 100%</b>	
<b>Classifications cliniques *</b>	
3/3 ou 2/2 (100%)	18
<b>Taux de réussite total - classifications cliniques : 100%</b>	

\*Les résultats « non recommandés mais acceptables » sont considérés comme réussis.

### 3. ANNEXE

#### 3.1. Aperçu des conclusions cliniques

Ces données ont été extraites à partir des réponses faites sur le site internet <https://qml.wiv-isp.be/EQA-NGS/>. Afin de ne pas introduire d'erreurs de traduction, les conclusions ont été conservées dans la langue utilisée par les laboratoires. Un laboratoire n'a pas répondu les conclusions générales demandées pour chaque échantillon.

##### 3.1.1. NGS-2022-1

Lab 1	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	De aanwezigheid van deze mutatie in mCRC betekent in het algemeen resistentie aan anti-EGFR antistoffen.
Lab 2	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	De aanwezigheid van de klinisch relevante mutatie NM_002524.5:c.35G>A, p.(Gly12Asp) in NRAS is geassocieerd met resistentie aan anti-EGFR therapieën.
Lab 3	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	De aanwezigheid van de klinisch relevante mutatie NM_002524.5:c.35G>A, p.(Gly12Asp) in NRAS is geassocieerd met resistentie aan anti-EGFR therapieën. Er worden geen varianten gedetecteerd in de overige onderzochte genen (met voldoende sequencingdata). De methode is enkel geoptimaliseerd om SNV's (basepaarsubstituties) en kleine inserties en deleties (indels) te detecteren.
Lab 4	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Conclusie: De aanwezigheid van de klinisch relevante mutatie c.35G>A (p.(Gly12Asp)) in NRAS is geassocieerd met resistentie aan anti-EGFR therapieën. Er worden geen varianten gedetecteerd in de overige onderzochte genen (met voldoende sequencingdata). De methode is enkel geoptimaliseerd om SNV's (basepaarsubstituties) en kleine inserties en deleties (indels) te detecteren.
Lab 5	Conclusion diagnostic	Absence de mutation détectée dans les gènes KRAS et BRAF. Présence d'une mutation pathogénique dans les gènes NRAS et PIK3CA. Présence d'une mutation ponctuelle présumée pathogénique dans le gène suppresseur de tumeur APC. Aucune autre mutation n'a été détectée, en accord avec les recommandations du ComPerMed.
Lab 6	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Présence de cellules porteuses du variant p.(Gly12Asp) (p.(G12D)) dans le gène NRAS. Ce variant est classé biologiquement comme pathogénique et est de signification clinique avérée dans cette pathologie (Level IA thérapeutique selon le ComPerMed : résistance au Cetuximab, Panitumumab). Ref : <a href="https://www.oncokb.org/gene/NRAS/G12D">https://www.oncokb.org/gene/NRAS/G12D</a>
Lab 7	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Les mutations dans les exons 2, 3 et 4 du gène NRAS sont associées à une résistance aux anti-EGFR. Douillard JY et al., N Engl J Med 2013, 369 :1023-34
Lab 7	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	Les mutations dans les exons 2, 3 et 4 du gène NRAS sont associées à une résistance aux anti-EGFR. Douillard JY et al., N Engl J Med 2013, 369 :1023-34
Lab 8	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	De aanwezigheid van een activerende variant in NRAS wordt in het algemeen geassocieerd met een slechte respons op anti-EGFR monoklonale antilichaam behandeling in gemetastaseerde colorectale tumoren (Douillard et al. NEJM 2013).
Lab 9	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	NRAS varianten zijn belangrijk in het carcinogenese proces en geven in het algemeen een significant slechtere prognose dan NRAS wildtype en KRAS varianten (PMID: 28074351, 28446505 en 24806288).

Lab 9	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werd een NRAS (NM_002524.4(NRAS):c.35G>A (p.(Gly12Asp)) pathogene missense variant geïdentificeerd in exon 2.. De aanwezigheid van deze variant in gemetastaseerd colon adenocarcinoom heeft significant belang (tier I) en geeft in het algemeen een resistentie tegen EGFR monoclonale antilichamen (NCCN guidelines colon cancer v2.2020 en PMID: 26438111).
Lab 9	Effet combiné de variants ou de biomarqueurs	Er werden geen andere (vermoedelijk) pathogene varianten geïdentificeerd in de genen BRAF (exon 15), KRAS (exon 2,3 en 4) en NRAS (exon 2,3 en 4).
Lab 10	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	De pathogene variant c.35G>A p.(Gly12Asp) werd gevonden in het NRAS gen exon 2 dat wordt geassocieerd met een resistentie voor EGFR antilichamen (PMID: 24024839; PMID: 25110411; PMID: 20619739; PMID: 24024844).
Lab 10	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Clinical trial: NCT05187858 (LNP3794 (BI3011441))
Lab 11	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	De aanwezigheid van een NRAS c.35G>A p.(Gly12Asp) mutatie in colorectaal carcinoom resulteert in resistentie tegen behandeling met anti-EGFR monoklonale antilichamen. Referentie: National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: rectal cancer, version 1.2022.
Lab 11	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	De geïdentificeerde NRAS c.35G>A p.(Gly12Asp) variant is een recurrenente pathogene missense mutatie in colorectaal carcinoom, die tot een constitutief actief NRAS eiwit leidt.
Lab 12	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	In het onderzochte staal werd een activerende NRAS variant teruggevonden in exon 2. Verschillende studies hebben aangetoond dat patiënten met tumoren met activerende varianten in exonen 2, 3 en 4 van KRAS of NRAS geen baat zullen hebben bij anti-EGFR therapie (Douillard et al., 2013).
Lab 13	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	De aanwezigheid van deze mutatie betekent in het algemeen een resistentie aan anti-EGFR antistoffen.
Lab 14	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Ras mutatie positief. Geen indicatie voor anti-EGFR behandeling bij darmtumoren (Douillard JY et al. 2013 NEJM & Berlin J. et al. 2013 NEJM & Bokemeyer C et al. JCO 2010).
Lab 15	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	La présence d'une mutation (N)RAS indique une résistance (ou une réponse réduite) au traitement avec des anti-EGFR.
Lab 16	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Les mutations dans le gène NRAS n'ont pas été fortement associés à un value pronostique en tant que prédicteurs de survie globale comparé à des patients NRAS-Wild type. Toutefois, les cohortes étudiées jusqu'à cette date ne sont pas très importantes (El agy et al.2021, Plos One). Une étude sur une cohorte plus importante, de 47 cas, montre une corrélation entre l'état mutationnel du gène NRAS et une survie globale raccourcie (Schirripa et al., 2015, Int J Cancer). Une deuxième étude (Wang et al. 2013, Cancer Discov) sur une analyse rétrospective pointe sur cette dernière direction également. Les mutations dans le gène NRAS ont un effet prédictif par contre, sur l'absence de réponse aux inhibiteurs du récepteur à l'EGF (EGFR), chez les patients atteints de cancer colorectal (CCR) (Sorich et al., Ann Oncol 2015 ; Schirripa et al., 2015, Int J Cancer)
Lab 16	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	La présence de mutations acquises de l'oncogène NRAS a été corrélée avec l'absence de réponse aux inhibiteurs du récepteur à l'EGF (EGFR), chez les patients atteints de cancer colorectal (CCR) métastatique (Sorich et al., Ann Oncol 26(1):13-21, 2015)
Lab 16	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Une étude clinique en phase 1 est actuellement en cours de recrutement NCT04853017 pour l'étude d'un traitement en immunothérapie chez des patients atteints d'un cancer colorectal, entre autres.

Lab 16	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	Le gène NRAS est muté dans 4.7% des cancers colorectaux et la mutation NRAS G12D représente 1% des mutations chez ces patients.
Lab 17	Conclusion diagnostic	Dans ce prélèvement de carcinome colorectal métastatique, infiltré par 100% de cellules tumorales, présence d'un variant pathogénique d'impact clinique avéré (Tier 1A) NRAS c.35G>A p.(Gly12Asp) de fréquence allélique 40%. Ce variant est prédictif de résistance aux traitements par anti-EGFR et de sensibilité à la chimiothérapie (combinaison avec dérivés 5-FU) dans les cancers colorectaux de stade avancé. Présence de deux variants pathogéniques PIK3CA d'impact clinique potentiel (Tier 2C) respectivement c.1633G>A p.(Glu545Lys) de fréquence allélique 13% et c.3140A>G p.(His1047Arg) de fréquence allélique 6,6%. Les variants PIK3CA sont prédictifs de sensibilité aux anti-MTOR dans d'autres pathologies tels que les cancers du sein hormonodépendants et peuvent être proposés à usage compassionnel. Par ailleurs, absence de variant pathogénique ou probablement pathogénique dans l'exon 15 du gène BRAF et dans les exons 2, 3, 4 du gène KRAS. Une recherche d'instabilité des microsatellites est recommandée.
Lab 17	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Variant NRAS: Marqueur de mauvais pronostic dans les cancers colorectaux (ESMO guidelines Van Cutsem E. et al 2016). et dans les mélanomes.
Lab 17	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	- variant NRAS prédictif de résistance aux traitements par anti-EGFR et de sensibilité à la chimiothérapie (combinaison avec dérivés 5-FU) dans les cancers colorectaux de stade avancé. - 2 variants PIK3CA prédictifs de sensibilité aux anti-MTOR dans d'a
Lab 17	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	- Variants PIK3CA: études cliniques en cours faisant l'usage d'anti-MTOR (tumeur agnostique) (ex NCT04589845) - Variant NRAS: étude clinique en cours (accès étendu) pour anti-MEK (ex: NCT04566393)
Lab 17	Effet combiné de variants ou de biomarqueurs	Effet pronostique favorable des variants PIK3CA dans les cancers colorectaux RAS non mutés est annulé par le variant NRAS dans le cas présent.
Lab 18	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werd een NRAS mutatie type c.35G>A;p.(Gly12Asp) (G12D) (LRG_92t1) gedetecteerd. Dit resultaat is voor colorectale carcinomen predictief voor een gebrek aan respons op anti-EGFR therapie.

### 3.1.2. NGS-2022-2

Lab 1	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werd een activerende mutatie aangetoond in PIK3CA. Er is aangetoond dat HR+,HER2- gevorderde (postmenopausale) borstkankerpatiënten met aanwezigheid van een PIK3CA activerende mutatie die reeds behandeld zijn met meer dan drie lijnen van systeemtherapie baat kunnen hebben bij een combinatie van fulvestrant met een PI3K inhibitor. Momenteel is er echter geen geregistreerd geneesmiddel voor deze patiënten in België.
Lab 1	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	De kwaliteit van het staal is suboptimaal (slechte fixatie?). Als dit een routinestaal was, zou het als niet-informatief zijn gerapporteerd.
Lab 2	Conclusion diagnostic	Er werden geen mutaties aangetroffen in exon 7 en exon 9. Er werd wel een pathogene (hotspot) mutatie aangetroffen NM_006218.4:c.1035T>A, p.(Asn345Lys) in het exon5 van het PIK3CA gen. Mutaties in het PIK3CA gen zijn recurrent bij borstcarcinomen en komen voor in ongeveer 40% van de patiënten met hormoonreceptor (HR)positieve, HER2 negatieve tumoren. De biologische en klinische betekenis van de PIK3CA gen variant NM_006218.4:c.1090G>A, p.(Gly364Arg) gelegen in exon 6 is tot op heden onvoldoende gekend (Variant of unknown significance).
Lab 2	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Indien klinisch geïndiceerd, kunnen patiënten met HR positieve, HER2 negatieve gevorderde borsttumoren en de hotspotmutaties in het PIK3CA gen in aanmerking komen voor behandeling met alpha-specifieke PI3K inhibitoren zoals alpelisib (Andre et al. Alpelisib for PIK3CA-mutated, hormone receptor positive advanced breast cancer. NEngl J Med 2019; Andre et al., Ann Oncol 2021).
Lab 2	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Zie supra (Andre et al. Alpelisib for PIK3CA-mutated, hormone receptor positive advanced breast cancer. NEngl J Med 2019; Andre et al., Ann Oncol 2021)
Lab 3	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werden geen mutaties aangetroffen in exon 7 en exon 9 van het PIK3CA gen. Er werd wel een pathogene mutatie aangetroffen NM_006218.4:c.1035T>A, p.(Asn345Lys) in het exon 5 van het PIK3CA gen. Mutaties in het PIK3CA gen zijn recurrent bij borstcarcinomen en komen voor in ongeveer 40% van de patiënten met hormoon receptor (HR) positieve, HER2 negatieve tumoren. Indien klinisch geïndiceerd, kunnen patiënten met HR positieve, HER2 negatieve gevorderde borsttumoren en de hotspotmutaties in het PIK3CA gen in aanmerking komen voor behandeling met alpha-specifieke PI3K inhibitoren zoals alpelisib (André et al. Alpelisib for PIK3CA-Mutated, hormone Receptor-Positive Advanced Breast Cancer. N Engl J Med 2019; Andre et al, Ann Oncol 2021). De biologische en klinische betekenis van de variant NM_006218.4:c.2119G>A, p.(Glu707Lys) in het PIK3CA gen is tot op heden onvoldoende gekend (Variant of Unknown Significance). Er werden zeer talrijke uitvalsregio's waargenomen in het PIK3CA gen, door onvoldoende DNA kwaliteit. Mogelijk zijn hierdoor niet alle relevante mutaties opgespoord. Indien mogelijk is een nieuw staal wenselijk. Er worden geen varianten gedetecteerd in de overige onderzochte genen (met voldoende sequencingdata). De methode is enkel geoptimaliseerd om SNV's (basepaarsubstituties) en kleine inserties en deleties (indels) te detecteren. Voor volgende regio's werden onvoldoende sequencingdata verzameld: CCNE1 exon 7, ERBB4 exon 7,10,19,22, PTEN exon 2,3,4,6, PALB exon 8,11, BRCA1 exon 2,4,8,16,18, BRCA2 exon 4,5,6,8,10,11,12,13,14,16,20,23, RB1 exon 2,3,4,5,6,8,10,11,12,13,14,16,17,18,21,23, 24,26, PIK3CA exon 2,3,4,5,6,7,8,10,12, 13,16,17,19,20,21,NF1 exon 2,3,5,6,7,8,11,13,15,16,20,23,24,29,32,35,37,45,49
Lab 4	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	Conclusie: De predictieve/prognostische betekenis van de hotspotmutatie c.1035T>A (p.(Asn345Lys)) in exon 4 van het PIK3CA gen en specifiek het effect op de respons op PI3K-inhibitoren is tot op heden onvoldoende gekend maar wordt uitvoerig bestudeerd (Dogruluk et al. Identification of variant-specific functions of PIK3CA by rapid phenotyping of rare mutations. Cancer Res 2015;75(24):5341-54).. Door de mindere kwaliteit van het DNA is de coverage voor veel van de genen onvoldoende (<350x) en wordt de detectielimiet niet gehaald. Een vals negatief resultaat voor de overige regio's is dus niet uitgesloten (cfr. regio drop outs). De methode is enkel geoptimaliseerd om SNV's (basepaarsubstituties) en kleine inserties en deleties (indels) te detecteren.
Lab 5	Conclusion diagnostic	Absence de mutation détectée dans le gène ESR1. Présence d'une mutation pathogénique dans le gène PIK3CA. Aucune autre mutation n'a été détectée, en accord avec les recommandations du ComPerMed.
Lab 6	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Présence de cellules porteuses du variant p.(Asn345Lys) (p.(N345K)) dans le gène PIK3CA. Ce variant est classé biologiquement comme pathogénique et est de signification clinique avérée (Level IIA d'un point de vue thérapeutique selon le ComPerMed : sensibilité potentielle au Alpelisib + Fulvestrant) dans cette pathologie. Ref : <a href="https://www.oncokb.org/gene/PIK3CA/N345K">https://www.oncokb.org/gene/PIK3CA/N345K</a>

Lab 7	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Les mutations du gène PIK3CA sont fréquentes dans les cancers du sein (25 à 35 %). La FDA a approuvé l'utilisation de l'alpelisib (inhibiteur alpha-selective PI3-kinase) en combinaison avec le fulvestrant (Estrogen Receptor (ER)-antagonist) pour le traitement des patients avec un cancer du sein PIK3CA-mutant ER+/HER2-. <a href="https://www.mycancergenome.org/">https://www.mycancergenome.org/</a> <a href="http://www.cbioportal.org">www.cbioportal.org</a>
Lab 7	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	La mutation p.(Asn345Lys) du gène PIK3CA est décrite comme oncogénique. <a href="https://www.mycancergenome.org/">https://www.mycancergenome.org/</a> <a href="http://www.cbioportal.org">www.cbioportal.org</a>
Lab 8	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	De aanwezigheid van een PIK3CA variant wordt in het algemeen geassocieerd met een mogelijke respons op de combinatie van de alfa-selectieve PI3K inhibitor alpelisib in combinatie met fulvestrant in HR-positieve geavanceerde borstcarcinomen (André et al. NEJM 2019).
Lab 9	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werd een PIK3CA (NM_006218.3(PIK3CA):c.1035T>A (p.(Asn345Lys)) pathogene missense variant geïdentificeerd in exon 5. De aanwezigheid van deze variant in gemetastaseerd borstcarcinooma heeft significant klinisch belang (tier I) en geeft in borstkanker in het algemeen een verhoogde respons op alpelisib met fulvestrant in geval van HR positieve metastatische borst kanker (EMA approved; <a href="http://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/piqray">www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/piqray</a> ).
Lab 9	Effet combiné de variants ou de biomarqueurs	Er werden geen andere varianten geïdentificeerd in ESR1 (exon 4, 5, 8 en 9), noch in PIK3CA (exon 2, 5, 7, 8, 9, 10, 14, 20, 21).
Lab 10	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	De pathogene variant c.1035T>A p.(Asn345Lys) werd gevonden in het gen PIK3CA gen exon 5, deze variant wordt geassocieerd met een respons op Fulvestrant - Alpelisib combinatietherapie. (PMID: 30543347; PMID: 31091374; PMID: 25877889)
Lab 10	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Clinical trials: NCT05038735
Lab 11	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Bij postmenopauzale vrouwen met hormoonreceptor-positief, HER2-negatief recurrent/stadium IV borstcarcinoom vormt, na ziekteprogressie volgend op een eerstelijnsbehandeling, de aanwezigheid van een activerende PIK3CA mutatie in de tumor een indicatie voor het opstarten van een behandeling met de PI3K inhibitor alpelisib in combinatie met fulvestrant [1, 2]. Voor premenopauzale patiënten met hormoonreceptor-positief, HER2-negatief, PIK3CA-mutant gevorderd/gemetastaseerd borstcarcinoom, zoals deze 35-jarige patiënte, zijn de data over het klinisch nut van PI3K inhibitoren daarentegen zeer beperkt. Een recente kleinschalige fase Ib studie in deze patiëntenpopulatie geeft aan dat alpelisib in combinatie met hormonale therapie een veilige en mogelijk effectieve behandeling zou kunnen zijn [3]. Ook wordt momenteel de klinische waarde van alpelisib in combinatie met fulvestrant als onderhoudsbehandeling onderzocht in een multicentrische fase II klinische studie bij hormoonreceptor-positief, HER2-negatief, PIK3CA-mutant gemetastaseerd borstcarcinoom, onder andere bij premenopauzale patiënten met additionele toediening van LHRH analogen (de SAFIR-PI3K studie) [4]. Bij ontbreken of uitputting van andere behandelingsopties zou bij deze 35-jarige patiënte eventueel het opstarten van een PI3K inhibitor in combinatie met hormonale therapie via een klinische studie of een "compassionate use" programma overwogen kunnen worden. Referenties: 1. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: breast cancer, version 2.2022. 2. PMID 31091374. 3. PMID 32718997. 4. <a href="https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03386162">https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03386162</a> Additional explanation for Sciansano / the ad hoc expert committee: Please note that the clinical classification of this variant is determined by the clinical context (i.e., the demographic patient profile). If this was a case of postmenopausal breast cancer, we would have classified the variant as a Tier I variant. Given the age of 35 years, however, the variant should be classified as a Tier II variant (cf. (1) the fact that premenopausal breast cancer is not approved by the FDA or the EMA as an indication for PI3K inhibitor treatment and (2) the lack of phase III (and even phase II) clinical trials with PI3K inhibitors in premenopausal breast cancer). Additional explanation with regard to the way of completing the online submission form: Please note that section 3 ("(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere pathologie") and section 4 ("Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere pathologie") are overlapping categories in cases where a standard treatment for a certain tumor type can be administered to patients with another tumor type on the basis of well-conducted or ongoing clinical trials. This is why we have provided the same block of information in section 3 and section 4. Treatment with the PI3K inhibitor alpelisib in combination with fulvestrant is a second-line standard treatment for patients with "another pathology" (postmenopausal hormone receptor positive, HER2 negative recurrent/stage IV breast cancer with a PIK3CA mutation), but could be considered – on the basis of the clinical trials that are mentioned in our text – as a possible treatment option in this case of premenopausal breast cancer when no good standard treatments are available anymore. As a consequence, this information could/should be mentioned both in section 3 and section 4.



Lab 11	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Bij postmenopauzale vrouwen met hormoonreceptor-positief, HER2-negatief recurrent/stadium IV borstcarcinoom vormt, na ziekteprogressie volgend op een eerstelijnsbehandeling, de aanwezigheid van een activerende PIK3CA mutatie in de tumor een indicatie voor het opstarten van een behandeling met de PI3K inhibitor alpelisib in combinatie met fulvestrant [1, 2]. Voor premenopauzale patiënten met hormoonreceptor-positief, HER2-negatief, PIK3CA-mutant gevorderd/gemetastaseerd borstcarcinoom, zoals deze 35-jarige patiënte, zijn de data over het klinisch nut van PI3K inhibitoren daarentegen zeer beperkt. Een recente kleinschalige fase Ib studie in deze patiëntenpopulatie geeft aan dat alpelisib in combinatie met hormonale therapie een veilige en mogelijk effectieve behandeling zou kunnen zijn [3]. Ook wordt momenteel de klinische waarde van alpelisib in combinatie met fulvestrant als onderhoudsbehandeling onderzocht in een multicentrische fase II klinische studie bij hormoonreceptor-positief, HER2-negatief, PIK3CA-mutant gemetastaseerd borstcarcinoom, onder andere bij premenopauzale patiënten met additionele toediening van LHRH analogen (de SAFIR-PI3K studie) [4]. Bij ontbreken of uitputting van andere behandelingsopties zou bij deze 35-jarige patiënte eventueel het opstarten van een PI3K inhibitor in combinatie met hormonale therapie via een klinische studie of een "compassionate use" programma overwogen kunnen worden. Referenties: 1. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: breast cancer, version 2.2022. 2. PMID 31091374. 3. PMID 32718997. 4. <a href="https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03386162">https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03386162</a> Additional explanation for Sciensano / the ad hoc expert committee: Please note that the clinical classification of this variant is determined by the clinical context (i.e., the demographic patient profile). If this was a case of postmenopausal breast cancer, we would have classified the variant as a Tier I variant. Given the age of 35 years, however, the variant should be classified as a Tier II variant (cf. (1) the fact that premenopausal breast cancer is not approved by the FDA or the EMA as an indication for PI3K inhibitor treatment and (2) the lack of phase III (and even phase II) clinical trials with PI3K inhibitors in premenopausal breast cancer). Additional explanation with regard to the way of completing the online submission form: Please note that section 3 ("Geen" indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere pathologie") and section 4 ("Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere pathologie") are overlapping categories in cases where a standard treatment for a certain tumor type can be administered to patients with another tumor type on the basis of well-conducted or ongoing clinical trials. This is why we have provided the same block of information in section 3 and section 4. Treatment with the PI3K inhibitor alpelisib in combination with fulvestrant is a second-line standard treatment for patients with "another pathology" (postmenopausal hormone receptor positive, HER2 negative recurrent/stage IV breast cancer with a PIK3CA mutation), but could be considered – on the basis of the clinical trials that are mentioned in our text – as a possible treatment option in this case of premenopausal breast cancer when no good standard treatments are available anymore. As a consequence, this information could/should be mentioned both in section 3 and section 4.
Lab 11	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	De geïdentificeerde PIK3CA c.1035T>A p.(Asn345Lys) variant is een recurrenthe pathogene missense mutatie in borstcarcinoom, die tot een constitutief actief PIK3CA eiwit leidt.
Lab 12	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werd een activerende variant teruggevonden in exon 5 van het PIK3CA gen. Het betreft de N345K variant. In de context van gemetastaseerd hormoonreceptor positief, HER2 negatief borstcarcinooma komen patiënten met deze variant in aanmerking voor behandeling met Alpelisib+Fulvestrant in geval van recidief of gemetastaseerde ziekte (mycancergenome.org).
Lab 13	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Patiënten met deze mutatie hebben een bewezen doeltreffendheid bij therapie met alpelisib (proteïnekinaseremmer) en fulvestrant.
Lab 13	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	PIK3CA is gealtereerd in 36,07% van patiënten met borstcarcinoom. PIK3CA N345K is aanwezig in 2,23% van alle borstkankerpatiënten.
Lab 14	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	PIK3CA mutatie positief. PIK3CA mutatie indicatief voor behandeling met alpelisib-fulvestrant wegens verbeterde PFS in HER2-negatieve, HR-positieve, gemetastaseerde borstkanker met progressie op voorgaande endocriene therapie (SOLAR-1 studie). (Fabrice Andrénet al. NEJM 2019).
Lab 15	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Absence de mutation driver. Pas d'information à caractère pronostique.
Lab 16	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	Aucune mutation n'a été détectée. Le panel utilise ne couvre pas l'entière des cibles requises par la convention NGS. Les exons 7 et 8 d'ESR1 sont couverts, ainsi que les exons 8, 10 et 21 de PIK3CA. Les exons 4 et 5 d'ESR1, 2,5 et 14 de PIK3CA n'ont pas été séquencés.

Lab 17	Conclusion diagnostic	Dans ce prélèvement carcinome du sein métastatique, ER positif et HER2 négatif, infiltré par 80% de cellules tumorales, présence d'un variant pathogénique PIK3CA d'impact clinique avéré (Tier 1A) c.1035T>A p.(Asn345Lys) de fréquence allélique 26%. Absence de variant pathogénique ou probablement pathogénique (et de variants de résistance aux anti-oestrogènes) dans les exons 8 et 9 du gène ESR1. Les variants PIK3CA sont prédictifs de sensibilité aux anti-MTOR dans les cancers du sein avancés et hormonodépendants en fin de ligne et peuvent être associés aux anti-oestrogènes en cas d'absence de mutations ESR1.
Lab 17	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Les variants PIK3CA sont prédictifs de sensibilité aux anti-MTOR dans les cancers du sein avancés et hormonodépendants en fin de ligne et peuvent être associés aux anti-oestrogènes en cas d'absence de mutations ESR1.
Lab 17	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	#NAME?
Lab 17	Effet combiné de variants ou de biomarqueurs	L'absence de variant pathogénique ou probablement pathogénique dans le gène ESR1 associé à la présence du variant PIK3CA permet l'utilisations de l'association anti-oestrogènes et anti-PIK3CA.
Lab 18	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werden twee PIK3CA mutaties type c.1035T>A;p.(Asn345Lys) (N345K) en c.1090G>A;p.(Gly364Arg) (G364R)(NM_006218) gedetecteerd. PIK3CA mutaties komen voor in +/- 25 % van de borstcarcinomen. Het voorkomen van deze PIK3CA mutaties is in ER+/HER2- borstcarcinoom predictief voor een goede respons op PI3K-inhibitie therapie (alpelisib) + fulvestrant (NCCN guideline).
Lab 18	Effet combiné de variants ou de biomarqueurs	Alpelisib is in België (nog) niet beschikbaar. Voor patiënten met dubbele PIK3CA mutatie is behandeling met een andere PI3K-inhibitor (inavolisib) mogelijks wel toegankelijk via deelname aan de TAPISTRY klinische studie (ClinicalTrials.gov: NCT04589845).

### 3.1.3. NGS-2022-3

Lab 1	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werd een pathogene mutatie gedetecteerd thv BRAF. BRAF mutaties komen frequent voor in de klassieke varianten van papillaire schildklier carcinoomen..
Lab 2	Conclusion diagnostic	De (hotspot) mutatie NM_004333.6: c.1799T>A, p(Val600Glu) gelegen in exon 15 van het BRAF gen is recurrent in papillaire schildklier carcinoomen.
Lab 2	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Deze BRAF mutatie wordt geassocieerd met een agressiever verloop, waaronder uitbreiding buiten de schildklier, hoger risico op recidief en hoger risico op lymfkliermetastasering en metastasering op afstand ( Kim et al. Cancer 2012,1189:1764-1773).
Lab 2	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Dientengevolge lijkt ons eerder een totale thyroidectomie aangewezen bij deze patiënt dan een lobectomie gezien de aanwezigheid van deze BRAFV600E mutatie.
Lab 3	Conclusion diagnostic	De mutatie c.1799T>A (p.(Val600Glu)) in BRAF is recurrent in papillaire schildklier carcinoomen. Deze BRAF mutatie wordt geassocieerd met een agressief verloop, zoals uitbreiding buiten de schildklier, hoger risico op recidief en hoger risico op lymfkliermetastasering en metastasering op afstand (Kim et al. Cancer 2012, 118:1764-1773). Bij aanwezigheid van een BRAF V600E mutatie is een totale thyroidectomie, eerder dan een lobectomie aangewezen. Er worden geen varianten gedetecteerd in de overige onderzochte genen (met voldoende sequencingdata). De methode is enkel geoptimaliseerd om SNV's (basepaarsubstituties) en kleine inserties en deleties (indels) te detecteren.
Lab 3	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	De mutatie c.1799T>A (p.(Val600Glu)) in BRAF is recurrent in papillaire schildklier carcinoomen. Deze BRAF mutatie wordt geassocieerd met een agressief verloop, zoals uitbreiding buiten de schildklier, hoger risico op recidief en hoger risico op lymfkliermetastasering en metastasering op afstand (Kim et al. Cancer 2012, 118:1764-1773). Bij aanwezigheid van een BRAF V600E mutatie is een totale thyroidectomie, eerder dan een lobectomie aangewezen. Er worden geen varianten gedetecteerd in de overige onderzochte genen (met voldoende sequencingdata). De methode is enkel geoptimaliseerd om SNV's (basepaarsubstituties) en kleine inserties en deleties (indels) te detecteren.
Lab 4	Conclusion diagnostic	Conclusie: De mutatie c.1799T>A (p.(Val600Glu)) in BRAF is recurrent in hoofdzakelijk papillaire schildklier carcinoomen. Te correleren met histologie. Deze BRAF mutatie wordt geassocieerd met een agressief verloop, zoals uitbreiding buiten de schildklier, hoger risico op recidief en hoger risico op lymfkliermetastasering en metastasering op afstand (Kim et al. Cancer 2012, 118:1764-1773). We verwijzen naar het pathologieverslag voor definitieve interpretatie van deze gegevens in het licht van morfologische/immunologische gegevens. Er worden geen varianten gedetecteerd in de overige onderzochte genen (met voldoende sequencingdata). De methode is enkel geoptimaliseerd om SNV's (basepaarsubstituties) en kleine inserties en deleties (indels) te detecteren.
Lab 4	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Conclusie: De mutatie c.1799T>A (p.(Val600Glu)) in BRAF is recurrent in hoofdzakelijk papillaire schildklier carcinoomen. Te correleren met histologie. Deze BRAF mutatie wordt geassocieerd met een agressief verloop, zoals uitbreiding buiten de schildklier, hoger risico op recidief en hoger risico op lymfkliermetastasering en metastasering op afstand (Kim et al. Cancer 2012, 118:1764-1773). We verwijzen naar het pathologieverslag voor definitieve interpretatie van deze gegevens in het licht van morfologische/immunologische gegevens. Er worden geen varianten gedetecteerd in de overige onderzochte genen (met voldoende sequencingdata). De methode is enkel geoptimaliseerd om SNV's (basepaarsubstituties) en kleine inserties en deleties (indels) te detecteren.
Lab 5	Conclusion diagnostic	Absence de mutation détectée dans les gènes KRAS, HRAS et NRAS. Présence d'une mutation pathogénique dans le gène BRAF Aucune autre mutation n'a été détectée, en accord avec les recommandations du ComPerMed.
Lab 6	Conclusion diagnostic	Présence de cellules porteuses du variant p.(Val600Glu) (p.(V600E)) dans le gène BRAF. Ce variant est classé biologiquement comme pathogénique et est de signification clinique avérée (Level IIA d'un point de vue diagnostique selon le ComPerMed et de niveau "Level1" selon OncoKB d'un point de vue thérapeutique : sensibilité au Dabrafenib + Trametinib dans le cancer de la thyroïde anaplastique) dans cette pathologie. Ref : <a href="https://www.oncokb.org/gene/BRAF/V600E">https://www.oncokb.org/gene/BRAF/V600E</a>
Lab 6	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Présence de cellules porteuses du variant p.(Val600Glu) (p.(V600E)) dans le gène BRAF. Ce variant est classé biologiquement comme pathogénique et est de signification clinique avérée (Level IIA d'un point de vue diagnostique selon le ComPerMed et de niveau "Level1" selon OncoKB d'un point de vue thérapeutique : sensibilité au Dabrafenib + Trametinib dans le cancer de la thyroïde anaplastique) dans cette pathologie. Ref : <a href="https://www.oncokb.org/gene/BRAF/V600E">https://www.oncokb.org/gene/BRAF/V600E</a>

Lab 7	Conclusion diagnostic	La mutation V600E du gène BRAF est décrite dans environ 40 % des carcinomes papillaires de la thyroïde. Sa présence est associée avec un moins bon pronostic. Elisei R et al., J Clin Endocrinol Metab 2008, 93 :3943-49 Lupi C et al., J Clin Endocrinol Metab 2007, 92:4085-90
Lab 7	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	La mutation V600E du gène BRAF est décrite dans environ 40 % des carcinomes papillaires de la thyroïde. Sa présence est associée avec un moins bon pronostic. Elisei R et al., J Clin Endocrinol Metab 2008, 93 :3943-49 Lupi C et al., J Clin Endocrinol Metab 2007, 92:4085-90
Lab 7	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	La mutation V600E du gène BRAF est décrite dans environ 40 % des carcinomes papillaires de la thyroïde. Sa présence est associée avec un moins bon pronostic. Elisei R et al., J Clin Endocrinol Metab 2008, 93 :3943-49 Lupi C et al., J Clin Endocrinol Metab 2007, 92:4085-90
Lab 8	Conclusion diagnostic	BRAF V600E varianten worden gedetecteerd in 26-69% van de papillaire schildkliertumoren en in 10-35% van de anaplastische schildkliertumoren (Brat et al. Cell 2014, Kondo et al. Nat Rev Cancer 2006, Smallridge et al. Endocr. Relat. Cancer 2009, Bible & Ryder Nat Rev Clin Oncol 2016).
Lab 8	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	BRAF V600E varianten worden geassocieerd met een aggressiever clinicopathologisch gedrag in papillaire schildkliertumoren (Filetti et al. Annals of Oncology 2019).
Lab 8	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	De aanwezigheid van een BRAF V600E variant wordt in het algemeen geassocieerd met een mogelijke respons op de combinatie BRAF inhibitor en MEK inhibitor in anaplastische en papillaire schildkliertumoren (Subbiah et al. J Clin Oncol 2018, White et al. Thyroid 2017). De combinatie van de BRAF inhibitor dabrafenib met de MEK inhibitor trametinib werd in 2018 goedgekeurd door de FDA in lokaal geavanceerde of metastatische anaplastische schildkliertumoren (Filetti et al. Annals of Oncology 2019).
Lab 9	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Daarnaast geeft deze variant mogelijks aanleiding tot een verhoogde mortaliteit in associatie met stijgende leeftijd (PMID:23571588, 29240540, 31897179).
Lab 9	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werd een BRAF (NM_004333.4(BRAF):c.1799T>A (p.(Val600Glu)) pathogene missense variant geïdentificeerd in exon 15. De aanwezigheid van deze specifieke variant in schildklierkanker heeft klinisch belang (tier I) en geeft mogelijks een verhoogde gevoeligheid aan BRAF en MEK inhibitie (PMID: 29072975, NCCN guidelines).
Lab 9	Effet combiné de variants ou de biomarqueurs	Er werden geen andere (vermoedelijk) pathogene varianten geïdentificeerd in de genen KRAS (exon 2, 3 en 4), NRAS (exon 2 en3), HRAS (exon 2 en3), BRAF (exon 15), TERT promter en TP53.
Lab 10	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	De pathogene variant c.1799T>A p.(Val600Glu) werd gevonden in het gen BRAF exon 15 en is geassocieerd met een mogelijke respons op BRAF-inhibitoren (PMID: 27460442, NCT01723202).
Lab 10	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Clinical trials: NCT04619316, NCT03765333
Lab 11	Conclusion diagnostic	De aanwezigheid van een BRAF p.(Val600Glu) mutatie is suggestief voor een maligne karakter van het schildklierletsel en wijst zeer vermoedelijk op een papillair schildkliercarcinoom. Een benigne adenoom, een folliculair schildkliercarcinoom en een NIFTP tumor ("noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features"), die ook aan de basis kunnen liggen van een folliculaire neoplasie bij cytologisch onderzoek van een schildklieraspiraats (FNA), zijn erg onwaarschijnlijk in geval van een BRAF p.(Val600Glu) mutatie. De diagnose van (papillair) schildkliercarcinoom mag echter niet alleen berusten op de detectie van een BRAF p.(Val600Glu) mutatie: deze moleculaire vondst dient gecorreleerd te worden met de klinische, radiologische en cytologische bevindingen. Referentie: National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: thyroid carcinoma, version 3.2021.
Lab 11	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	In geval van papillair schildkliercarcinoom zou er volgens sommige studies een associatie tussen aanwezigheid van een BRAF p.(Val600Glu) mutatie en een slechtere prognose zijn, maar dit wordt niet in alle studies geobserveerd. De associatie met een slechte prognose lijkt er vooral te zijn wanneer er simultaan een TERT promotor mutatie aanwezig is: in dit opzicht is het relevant om op te merken dat in deze casus geen TERT promotor mutatie aangetroffen werd. Referentie: National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: thyroid carcinoma, version 3.2021.
Lab 11	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	De aanwezigheid van een BRAF p.(Val600Glu) mutatie in schildkliercarcinoom is geassocieerd met gevoeligheid voor behandeling met BRAF inhibitoren. Dit kan eventueel als een behandelingsoptie overwogen worden in geval van niet-reseceerbare of refractaire of progressieve ziekte. Referentie: National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: thyroid carcinoma, version 3.2021.
Lab 11	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	De geïdentificeerde BRAF c.1799T>A p.(Val600Glu) variant is een recurrenente pathogene missense mutatie in o.a. papillair schildkliercarcinoom, die tot een constitutief actief BRAF eiwit leidt.

Lab 12	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	Coverage van het staal voldoet aan de vooropgestelde criteria, met uitzondering van de onderzochte regio's van het TERT gen. Resultaat hiervoor niet interpreteerbaar wegens te lage coverage.
Lab 13	Conclusion diagnostic	BRAF-mutaties komen frequent voor in schildklier carcinoomen vooral papillair subtype.
Lab 14	Conclusion diagnostic	BRAF V600E mutaties komen voor in 45% van de papillaire schildkliertumoren (Nikiforov., Arch Pathol Lab Med 2011).
Lab 14	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Data van klinische studies zijn indicatief voor gebruik van BRAF pathway inhibitoren (dabrafenib, vemurafenib, trametinib) bij recurrent, gevorderd, of gemetastaseerd (gedifferentieerd) schildklier carcinoom (NCCN.org) (Port A & Wong Perspectives on the Treatment of Advanced Thyroid Cancer: Approved Therapies, Resistance Mechanisms, and Future Directions. Front Oncol 2021)
Lab 15	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	La présence de la mutation BRAF V600E indique la possibilité d'une sensibilité aux inhibiteurs de BRAF et/ou MEK (Vemurafenib, Dabrafenib, ...- liste non exhaustive).
Lab 16	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	La mutation Val600Glu est détectée dans 23% des cancers thyroïdiens avancés. La mutation Val600Glu est associée à un mauvais pronostic chez les patients atteints d'un cancer thyroïdien de type papillaire (Xing et al. JAMA 2013).
Lab 16	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Une étude sur 128 patients, montre une diminution de l'efficacité du traitement à base d'iode-131 chez les patients atteints d'une V600E dans cette pathologie et suggère d'augmenter la dose de cet élément radioactif (Junshang et al. J Cancer 2020). Le vemurafenib et dabrafenib sont approuvés par la FDA pour le traitement des cancers thyroïdiens V600E positifs. Des études cliniques montrent une PFS accrue de 18 mois et la stabilisation de la pathologie après 6 mois pour 35% des patients après traitement avec vemurafenib (Brose et al. Lancet Oncol. 2016 ). Concernant le dabrafenib, une PFS de 11 mois et l'arrêt de la progression de la maladie dans 50% des cas lors de la durée de l'étude, ont été observés dans une autre étude clinique (Falchook et al. Thyroid. 2015). D'autres études cliniques sont résumés dans Crispo et al. Cancers 2019).
Lab 16	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Une étude préclinique récente suggère l'utilisation combinée de l'inhibiteur spécifique de BRAF V600E, PLX4720, et des anticorps anti-PD-L1/PD-1 (Diprajan et al. Front endocrinol.2020)
Lab 16	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	Notre panel actuel ne couvre pas les gènes TERT et TP53 dont l'analyse est recommandée par le ComPermed depuis le 1er Janvier de ses guidelines dans cette indication.
Lab 17	Conclusion diagnostic	Dans ce prélèvement cytologique intitulé de néoplasie folliculaire de la thyroïde, présence d'un variant pathogénique d'impact clinique avéré (Tier 1A) BRAF c.1799T>A p.(Val600Glu) de fréquence allélique 28%. Les variants BRAF V600E sont retrouvés dans 60% des altérations moléculaires causales pour les cancers papillaires de la thyroïde. Une relecture des lames d'anatomopathologie est nécessaire. Une étude des gènes TERT et TP53 (non analysés dans ce panel) doit être réalisée en complément. Le variant BRAF V600E est prédictif de sensibilité aux anti-BRAF et anti-MEK et décrit comme étant de pronostic défavorable dans les cancers papillaires thyroïdiens. Par ailleurs, pas de variant pathogénique ou probablement pathogénique observés dans les exons 2, 3 et 4 du gène KRAS, 2 et 3 du gène HRAS et exons 2 et 3 du gène NRAS.
Lab 17	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	#NAME?
Lab 17	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	- Utilisation d'anti-BRAF et anti-MEK dans les cancers thyroïdiens papillaires
Lab 17	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	- Accès étendu pour un anti-MEK (NCT04566393) et phase 4 pour une combinaison anti-MEK/Anti-BRAF (NCT03340506)
Lab 17	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	sous réserve des résultats du séquençage des gènes TERT et TP53 non réalisés dans ce panel
Lab 18	Conclusion diagnostic	Met NGS werd een BRAF V600E mutatie gedetecteerd wat past bij de diagnose van een papillair schildklier carcinoom (PTC), welke in +/- 50 % van de gevallen deze mutatie vertoont.
Lab 18	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Het voorkomen van deze mutatie in dit tumortype zou geassocieerd zijn met een ongunstig klinisch verloop met hoger risico op klinisch recidief.
Lab 18	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Het voorkomen van de BRAF V600E mutatie is predictief voor een goede respons op BRAF +/- MEK inhibitoren in andere tumortypes (zoals maligne melanoom).

### 3.2. 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 de vos résultats quantitatifs est donnée en comparaison avec tous les résultats de tous les participants et toutes méthodes confondues.

Les informations suivantes sont reprises:

2. Votre résultat (R)
3. La médiane (MAF):  
la valeur centrale des résultats fournis par tous les laboratoires, toutes méthodes confondues.
4. L'écart-type global (SD):  
mesure de la dispersion des résultats fournis par tous les laboratoires et toutes méthodes confondues.
- 1) Le score Z:  
la différence entre votre résultat et la médiane (exprimée en unités d'écart type):  
 **$Z = (R - MAF) / SD$**   
Votre résultat est cité si **IZI > 3**.
- 2) L'interprétation graphique de la position de votre résultat (R) en comparaison avec tous les résultats de tous les participants, basée sur la méthode de Tukey, pour chaque paramètre et pour chaque échantillon analysé.

Ces paramètres vous donnent une indication approximative de la position de votre résultat (R) par rapport aux médianes (MAF).

Vous pouvez trouver plus de détails dans les brochures qui sont disponibles sur notre site web à l'adresse suivante:

[https://www.wiv-isp.be/QML/index\\_fr.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/index_fr.htm)

→ choisir dans le menu proposé :

BROCHURE D'INFORMATION GENERALE EEQ

→ choisir dans le menu proposé "Brochures":

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external\\_quality/brochures/fr/brochures.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/brochures/fr/brochures.htm)

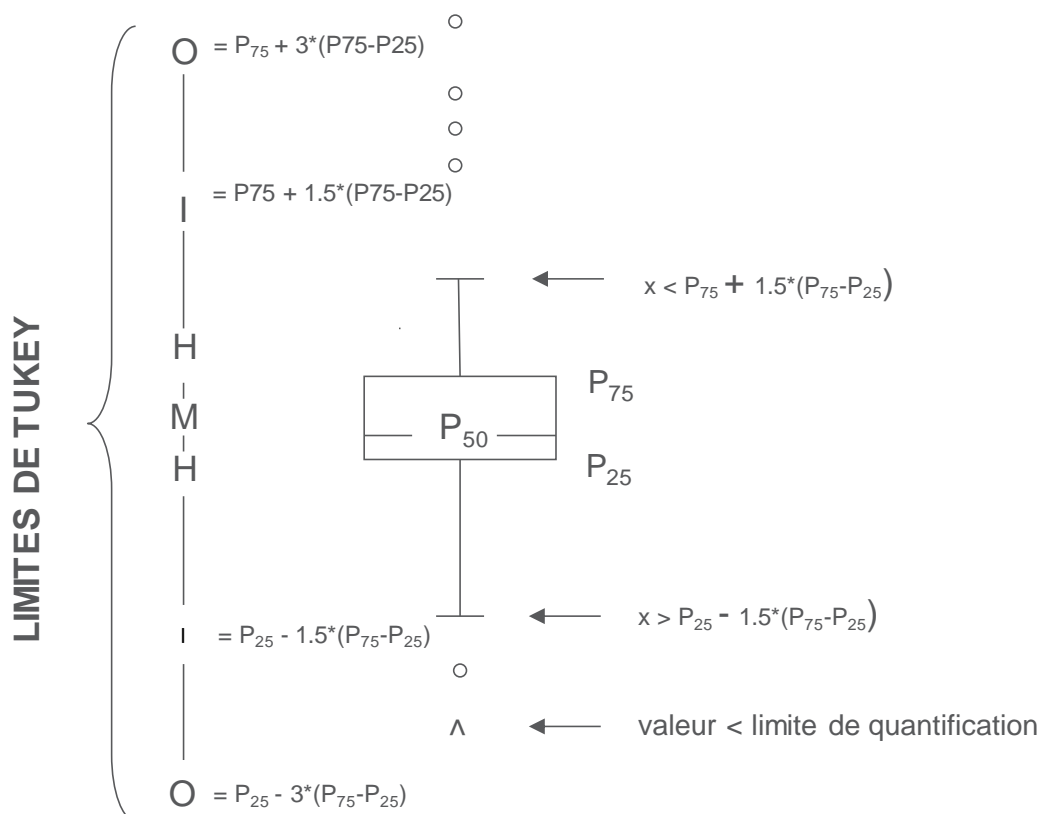
- Méthodes statistiques appliquées à l'EEQ
- Traitement des valeurs censurées

## Représentation graphique

A côté des tableaux de résultats, une représentation graphique en "boîte à moustaches" est parfois ajoutée.

Elle reprend les éléments suivants:

- un rectangle qui va du percentile 25 ( $P_{25}$ ) au percentile 75 ( $P_{75}$ )
- une ligne centrale représente la médiane des résultats ( $P_{50}$ )
- une ligne inférieure qui représente la plus petite valeur  $x > P_{25} - 1.5 * (P_{75} - P_{25})$
- une ligne supérieure qui représente la plus grande valeur  $x < P_{75} + 1.5 * (P_{75} - P_{25})$
- tous les points en dehors de cet intervalle sont représentés par un rond.



### Limites correspondantes en cas de distribution normale

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2022.

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.