

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

COMITE DES EXPERTS *AD HOC*

EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE

RAPPORT GLOBAL

Next Generation Sequencing (NGS)

Tumeurs solides - ADN

2023-1

Sciensano/EEQ NGS/14-FR

COMITE DES EXPERTS AD HOC

Sciensano					
Secrétariat		TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
		e-mail:	QL_secretariat@sciensano.be		
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				
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: 24/04/2023, 22/05/2023 .

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts *ad hoc* le: 22/05/2023.

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 : 26/06/2023

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:
<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires>

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	5
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
2. RESULTATS	8
2.1. Aperçu des participants	8
2.2. Aperçu des méthodes.....	8
2.3. Aperçu des résultats.....	12
2.3.1. NGS-2023-1	12
2.3.2. NGS-2023-2	17
2.3.3. NGS-2023-3	20
2.3.4. Taux de réussite des participants.....	22
2.3.5. Analyse des régions de la convention NGS non couvertes par les panels.....	23
3. ANNEXE	24
3.1. Régions de la convention NGS analysées	24
3.2. Aperçu des conclusions cliniques.....	25
3.2.1. NGS-2023-1	25
3.2.2. NGS-2023-2	30
3.2.3. NGS-2023-3.....	34
3.3. Interprétation du rapport individuel	39

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 tubes contenant 1 ou 2 coupes FFPE coupées à 10µm provenant de 3 échantillons différents avec les références suivantes: NGS-2023-1, NGS-2023-2 et NGS-2023-3.

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 réparties en série dans les tubes des participants. La première coupe et la dernière coupe du bloc ont été utilisées pour réaliser une coloration HE afin d'évaluer le pourcentage tumoral ainsi que l'homogénéité de la tumeur par la firme Discovery Life Science.

Pourcentage tumoral en début et fin des échantillons :

NGS-2023-1 : 95%

NGS-2023-2 : 75%

NGS-2023-3 : 60%

1.4. Demande

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

NGS-2023-1: Carcinome de la thyroïde

NGS-2023-2 : Carcinome de l'endomètre

NGS-2023-3 : Adénocarcinome pulmonaire

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-2023-1	Carcinome de la thyroïde, T2N1b, thyroïde, coupes FFPE, F/42	<i>BRAF</i> (exon 15 (codon 600)) <i>KRAS</i> (exon 2 (codons 12,13), exon 3 (codons 59, 61), exon 4 (codons 117, 146)) <i>HRAS</i> (exon 2, exon 3) <i>NRAS</i> (exon 2 (codons 12,13), exon 3 (codons 59, 61)) <i>TERT</i> promoteur (c.-124C>T (C228T), c.-146C>T (C250T)) <i>TP53</i> (tous les exons codants)
NGS-2023-2	Carcinome de l'endomètre, endomètre, coupes FFPE, F/67	<i>POLE</i> (exon 9 (codons 286, 297), exon 13 (codons 411, 424) et exon 14 (codons 456, 459, 465)) <i>TP53</i> (tous les exons codants)
NGS-2023-3	Adénocarcinome pulmonaire, biopsie pulmonaire, coupes FFPE, H/72, fumeur	<i>BRAF</i> (exon 15 (codon 600)) <i>EGFR</i> (exon 18, exon 19, exon 20, exon 21) <i>KRAS</i> (exon 2 (codons 12,13), exon 3 (codons 59, 61), exon 4 (codons 117, 146)) <i>MET</i> exon 14 skipping <i>HER2</i> (exon 20)

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>

Sur le site internet de réponses : <https://eqatoolkit.sciensano.be/NGS/>, pour l'enquête EEQ NGS tumeurs solides 2023/1, il avait été demandé aux participants:

- De répondre au questionnaire concernant la méthode d'analyse.
- D'encoder les paramètres demandés pour chaque variant identifié et rapporté selon les 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 HGVS_p : <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 rédiger les conclusions sous forme de texte libre, selon les informations-type proposées (diagnostic, pronostic, thérapeutique,...), et si applicables à l'échantillon évalué.
- 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. Une analyse des régions de la convention NGS non couvertes par les panels a été réalisée et est documentée dans le rapport global et les rapports individuels des laboratoires concernés.

2. RESULTATS

2.1. Aperçu des participants

18 laboratoires belges sont repris dans l'analyse des résultats. 3 participants sont dans un modèle participatif et sous-traitent leur séquençage à un laboratoire responsable. Ces laboratoires réalisent les étapes pré-analytiques et le post-analytiques uniquement.

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

Laboratoire	N
Anatomie pathologique	10
Biologie Clinique	7
Génétique humaine	1
Total	18

2.2. Aperçu des méthodes

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

Réponses	N
hg19/GRCh37	15
hg38/GRCh38	3

Remarques : Certains laboratoires utilisent des références génomiques différentes en fonction de l'indication.

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

Réponses	N
Illumina --- MiSeq	6
Illumina --- NovaSeq 6000	6
Illumina --- NextSeq 550Dx	3
Illumina --- MiSeq of NextSeq	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, SeqCap EZ HyperCap, Roche	4
Custom panel, SeqCap, Roche	4
Custom panel, Ion AmpliSeq, ThermoFisher	2
Custom panel, KAPA HyperCap, Roche	2
Custom panel, TWIST, Biosciences	2
Custom panel, AmpliSeq, Illumina	1
AmpliSeq Cancer Hotspot Panel V2, Illumina	1
Focus Ampliseq panel, Illumina	1
Oncomine focus assay, ThermoFisher	1
SOPHiA Solid Tumor Solutions, SOPHiA GENETICS	1
Trusight Oncology 500, Illumina	1

Remarques : Certains laboratoires utilisent des panels différents en fonction de l'indication.

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

Réponses	N
Amplicon-based	9
Probe-based	9

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

Réponses	N
Paired-end	15
Single-end	3

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

Réponses	N
75	1
100	1
101	1
120	1
150	10
151	2
250	1
300	1
Variable	1

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

Réponses	N
Non	13
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	4
Ion Reporter Software, ThermoFisher/Ion Torrent	2
Local Run Manager Illumina	2
SeqNext, JSI medical systems	2
Sophia DDM, Sophia Genetics	2
TSO500 Local app, Illumina	1

Remarques : Les outils bio-informatiques ont été utilisés en *open source* selon les combinaisons suivantes: 1/ BWA, GATK , Unified Genotyper, MuTect, 2/ BWA, samtools, GATK, MuTect2, 3/ BWA, VarDict

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

Réponses	N
Analyse manuelle à partir de bases de données publiques	8
Alamut Visual, Sophia Genetics	4
CLC Genomics Workbench, Qiagen	3
Open source/in house development	3
Variant Studio Software, Illumina	3
Ion Reporter Software, ThermoFisher/Ion Torrent	2
QCI Interpret-Somatic Cancer, Qiagen	1
SeqNext, JSI medical systems	1
Sophia DDM, Sophia Genetics	1
Variant Explorer	1

Remarques : Les outils bio-informatiques ont été utilisés en *open source* selon les combinaisons suivantes: 1/ Annotar, 2/ TransVar

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%	8.5%
SNV (Single nucleotide variants)	1	2	14	1
Indels	2	2	13	1

Remarques : Pour certains laboratoires, la limite de détection peut varier en fonction de l'indication.

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)?

	3	8	10	13	15	25	30	100	150	300	350	500
SNV (Single nucleotide variants)	1	1	3	2	2	4	1	1	0	1	1	1
Indels	1	1	3	2	2	4	1	1	1	0	1	1

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

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?

	8	50	100	150	250	300	350	500	N/A
SNV (Single nucleotide variants)	1	1	1	1	3	3	4	3	1
Indels	1	1	1	2	3	2	4	3	1

Remarques : Pour certains laboratoires, ces valeurs peuvent varier en fonction de l'indication, 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
MSI	1
TMB	1

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

Réponses	N
Tissu paraffiné	18
Liquide cytologique	6
Tissu frais	2
ADN tumoral circulant	1
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	17
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	18

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	16
Dans certains cas, quand l'infiltration tumorale est insuffisante, dissection manuelle à l'aide d'une lame HE préalablement marquée par un pathologiste	2

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%	15
>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	6
11-50ng	4
51-100ng	7
101-200ng	1

Q20. Quelle est la méthode utilisée pour la quantification de l'ADN ?

Réponses	N
Qubit	16
NanoDrop	2
Quantus	2

Q21. Quelles sont les guidelines utilisées pour l'interprétation des variants somatiques?

Réponses	N
BELAC 2-405-NGS Rev 3-2021	18
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)	14
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)	10
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

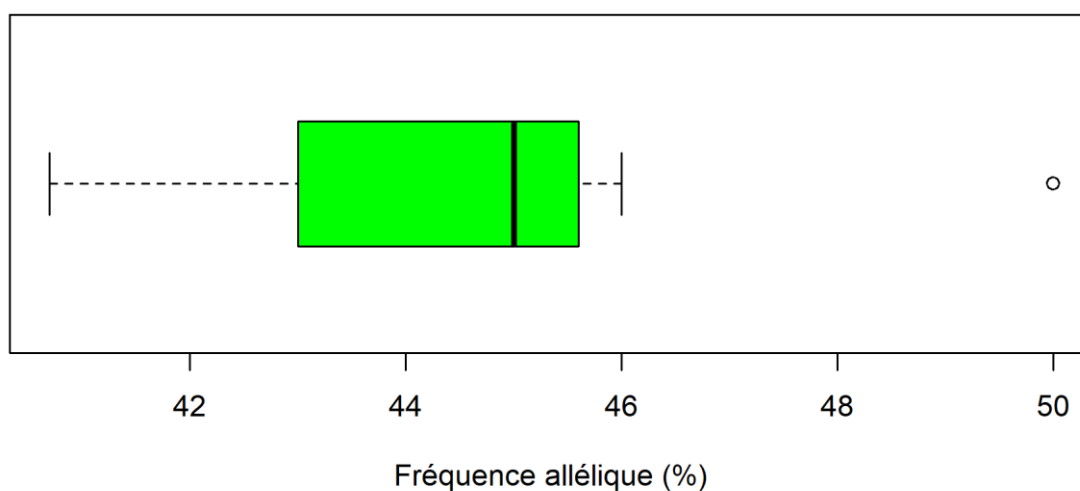
2.3.1. NGS-2023-1

Genre	F
Site anatomique de l'échantillon	Thyroïde
Conditionnement de l'échantillon	Coupes FFPE
Type de la tumeur primaire, histologie et informations cliniques	Carcinome de la thyroïde, T2N1b
Âge du patient	42

Consensus des variants à rapporter

HRAS NM_005343.3; c.182A>G; p.(Gln61Arg)

HRAS NM_005343.3; c.182A>G; p.(Gln61Arg)



Min	P25	Median	P75	Max	SD
40.7	43	45	45.4	50	1.78

<i>HRAS</i> NM_005343.3; c.182A>G; p.(Gln61Arg) (Fréquence allélique médiane: 45 %)	
Identification du variant	N
Oui	16
Non	2
Classification biologique	N
Pathogénique	16
Total	16
Classification clinique	N
Tier I	9
Tier II	6
Tier III	1
Total	16

Commentaires: Le variant *HRAS* NM_005343.3; c.182A>G; p.(Gln61Arg) a été rapporté par 16 laboratoires. 2 laboratoires n'ont pas rapporté ce variant. Un des 2 laboratoires n'a pas réalisé l'analyse pour cet échantillon en raison d'un problème technique et n'a donc pas identifié le variant. Le second laboratoire a rapporté le variant *NRAS* NM_002524.4; c.182A>G; p.(Gln61Arg) à la place du variant *HRAS*. Seul le variant *HRAS* est présent dans les données brutes du laboratoire ayant répondu *NRAS*. Il s'agit probablement d'une erreur humaine qui est également présente dans les conclusions rédigées par ce laboratoire. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique. Les classifications cliniques,

n'ont pas été évaluées par les experts en raison de l'absence de consensus des laboratoires pour ce variant.

Classification clinique	Justificatif de la classification Tier	N
Tier I	Diagnosis - Level A: Biomarkers included in professional guidelines as diagnostic for a specific type of tumor	6
	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
	Prognosis - Level A: Biomarkers included in professional guidelines as prognostic for a specific type of tumor	1
Tier II	Diagnosis - Level C: Biomarkers of diagnostic significance based on the results of multiple small studies	4
	Therapeutic - Level C2: Biomarkers that serve as inclusion criteria for clinical trials	2
	Diagnosis - Level D: Biomarkers that may assist disease diagnosis themselves or along with other biomarkers based on small studies or a few case reports	1
	Therapeutic - Level C1: Biomarkers that predict response or resistance to therapies approved by the FDA or professional societies for a different type of tumor	1
Tier III	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

Consensus des variants à ne pas rapporter

NRAS NM_002524.4; c.182A>G; p.(Gln61Arg)

<i>NRAS</i> NM_002524.4; c.182A>G; p.(Gln61Arg) (Fréquence allélique médiane: 43 %)	
Identification du variant	N
Oui	1
Non	17
Classification biologique	N
Pathogénique	1
Total	1
Classification clinique	N
Tier II	1
Total	1

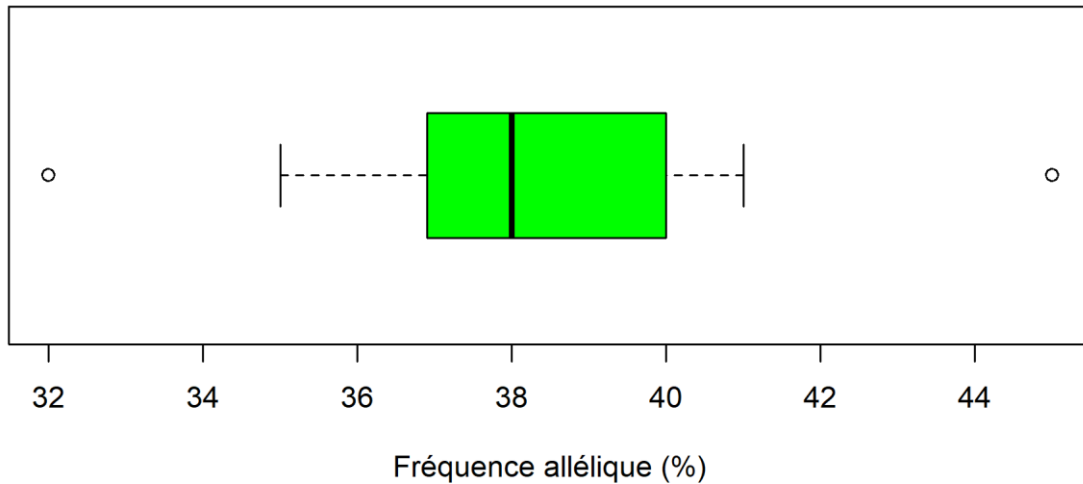
Commentaires: Un laboratoire a rapporté le variant *NRAS* NM_002524.4; c.182A>G; p.(Gln61Arg) à la place du variant *HRAS*. Seul le variant *HRAS* est présent dans les données brutes du laboratoire concerné. Il s'agit probablement d'une erreur humaine qui est également présente dans les conclusions rédigées par ce laboratoire.

Classification clinique	Justificatif de la classification Tier	N
Tier II	Therapeutic - Level C1: Biomarkers that predict response or resistance to therapies approved by the FDA or professional societies for a different type of tumor	1

Variants non évalués

TP53 NM_000546.5; c.783-1G>A; p.?

TP53 NM_000546.5; c.783-1G>A; p.?



Min	P25	Median	P75	Max	SD
32	36.9	38	40	45	2.3

TP53 NM_000546.5; c.783-1G>A; p.? (Fréquence allélique médiane: 38 %)	
Identification du variant	
Oui	N
Non	13
Classification biologique	
Probablement pathogénique	N
Pathogénique	12
Total	1
Total	13
Classification clinique	
Tier III	N
Tier II	10
Tier I	2
Total	1
Total	13

Commentaires: Le variant TP53 NM_000546.5; c.783-1G>A; p.? a été rapporté par 13 laboratoires. Ce variant est localisé dans la région intronique en position -1 de la région 5' de l'exon 8 du gène TP53 qui n'est pas incluse dans les régions requises de la convention NGS pour les tumeurs solides (tous les exons codants uniquement). Pour cette raison, le variant n'est pas évalué. Cependant, les experts recommandent de rapporter ce variant s'il est identifié dans la pratique clinique (zone de splicing potentielle ; cfr. BELAC 2-405-NGS R3-2021, Exceptions to the workflow v2, p29, point 4). Les classifications biologiques et cliniques pour ce variant sont transmises à titre informatif.

Classification clinique	Justificatif de la classification Tier	N
Tier III	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	10
Tier II	Prognosis - Level C: Biomarkers of prognostic significance based on the results of multiple small studies	2
	Diagnosis - Level C: Biomarkers of diagnostic significance based on the results of multiple small studies	1
Tier I	Diagnosis - Level A: Biomarkers included in professional guidelines as diagnostic for a specific type of tumor	1

Présence ou absence du variant *TP53* NM_000546.5; c.783-1G>A dans les données des participants (hg19: 7577156 ; hg38: 7673838)

Lab	in bed	in bam	in vcf	reported
1	no	cov=39	no	no
2	yes	cov=1722, af=39%	cov=1688, af=40%	af=40%
3	yes	cov=1215, af=40%	cov=1196, af=39%	af=39%
4	yes	cov=1796, af=39%	cov=1758, af=39%	af=39%
5	yes	cov=544, af=35%	cov=278, af=35%	no
6	yes	cov=2544, af=41%	cov=2544, af=41%	af=45%
7	no	cov=33	no	no
8	yes	cov=2136, af=36%	cov=1146, af=37%	af=37%
9	yes	cov=2007, af=40%	cov=442, af=38%	af=38%
10	yes	cov=753, af=40%	cov=418, af=17%	af=40%
11	no	cov=371, af=37%	cov=190, af=36%	af=36%
12	yes	cov=1077, af=38%	cov=585, af=22%	af=37%
13	yes	cov=876, af=37%	cov=876, af=37%	af=37%
14	no	cov=2504, af=43%	no	no
15	yes	cov=2659, af=44%	cov=2659, af=41%	af=41%
16	no bed	no bam	no vcf	no report
17	yes	cov=2448, af=30%	cov=431, af=32%	af=32%
18	yes	cov=1021, af=35%	cov=1007, af=35%	af=35%

Informations types	Informations spécifiques reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires pour le variant <i>HRAS</i> uniquement	Laboratoires
Conclusion diagnostic	Les variants <i>HRAS</i> sont récurrents dans les tumeurs thyroïdiennes bénignes et malignes	12
	Le variant <i>HRAS</i> est associé à un risque élevé de malignité	2
	Le variant <i>HRAS</i> est un variant driver	4
	À mettre en corrélation avec la pathologie	3
Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	La signification pronostique du variant <i>HRAS</i> est inconnue	5
Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	La signification thérapeutique du variant <i>HRAS</i> est inconnue	3
Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Le variant <i>HRAS</i> fait l'objet d'études cliniques portant sur l'inhibition de la farnésyl transférase (FTI ; tipifarnib) dans les tumeurs solides	4

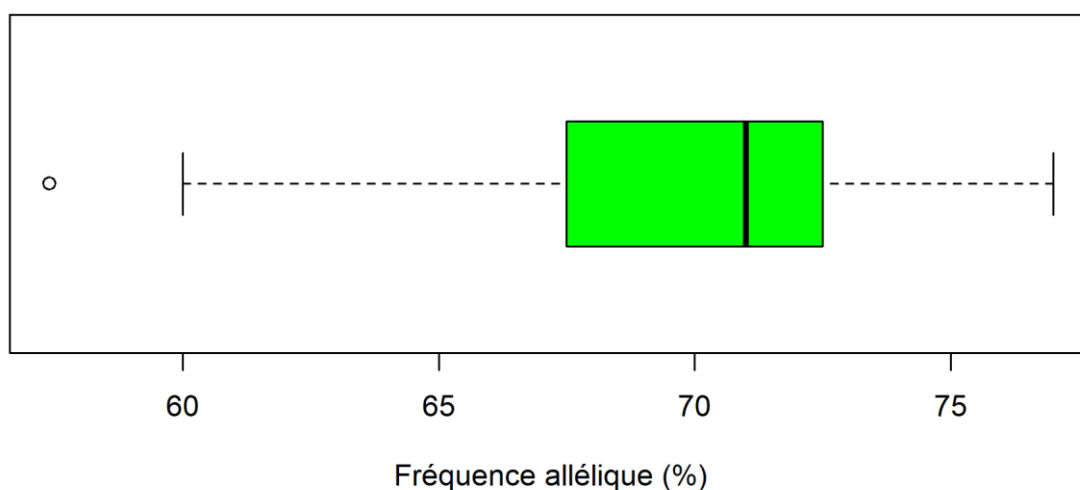
2.3.2. NGS-2023-2

Genre	F
Site anatomique de l'échantillon	Endomètre
Conditionnement de l'échantillon	Coupes FFPE
Type de la tumeur primaire, histologie et informations cliniques	Carcinome de l'endomètre
Âge du patient	67

Consensus des variants à rapporter

TP53 NM_000546.5; c.574C>T; p.(Gln192*)

TP53 NM_000546.5; c.574C>T; p.(Gln192*)



Min	P25	Median	P75	Max	SD
57.4	67.5	71	72.5	77	3.71

<i>TP53</i> NM_000546.5; c.574C>T; p.(Gln192*) (Fréquence allélique médiane: 71 %)	
Identification du variant	N
Oui	15
Non	3
Classification biologique	N
Probablement pathogénique	10
Pathogénique	5
Total	15
Classification clinique	N
Tier II	8
Tier I	6
Tier III	1
Total	15

Commentaires: Le variant *TP53* NM_000546.5; c.574C>T; p.(Gln192*) a été rapporté par 15 laboratoires. 3 laboratoires n'ont pas rapporté ce variant. Pour ces 3 laboratoires, le variant est présent dans leurs données brutes: pour 2 laboratoires, dans les fichiers VCF et BAM; pour 1 laboratoire, dans les fichiers BAM uniquement. La fréquence allélique médiane de ce variant est de 71%. La fréquence allélique de la mutation se trouve au-dessus du seuil de détection des laboratoires. Dans leurs conclusions, les 3 laboratoires indiquent que leur analyse est non contributive en raison d'une qualité de séquençage insuffisante. Le nombre de reads séquencés par ces laboratoires à la position du variant (71, 209 et 110 respectivement) est inférieur à leur

nombre de reads minimum pour exclure un variant (500, 350 et 300 respectivement). La couverture médiane à cette position est de 584 reads pour l'ensemble des laboratoires. 5 laboratoires ayant rapporté le variant indiquent dans leurs conclusions une qualité de l'échantillon suboptimale. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification probablement pathogénique. La classification pathogénique est considérée comme non recommandée selon les guidelines belges mais acceptable puisque sans impact pour le suivi du patient. Dans les guidelines belges: une perte de fonction (LoF) de type frameshift dans un gène Tumeur Suppresseur (TS) est classée probablement pathogénique. Seuls les variants « Somatic missense or in-frame indels » sont pris en compte dans les « Exceptions to the workflow v2 » des guidelines belges (p29, point 1). Les classifications cliniques, n'ont pas été évaluées par les experts en raison de l'absence de consensus des laboratoires pour ce variant.

Classification clinique	Justificatif de la classification Tier	N
Tier II	Prognosis - Level C: Biomarkers of prognostic significance based on the results of multiple small studies	6
	Prognosis - Level D: Biomarkers that may assist disease prognosis themselves or along with other biomarkers based on small studies or a few case reports	2
	Diagnosis - Level C: Biomarkers of diagnostic significance based on the results of multiple small studies	1
	Therapeutic - Level D: Biomarkers that show plausible therapeutic significance based on preclinical studies	1
Tier I	Prognosis - Level A: Biomarkers included in professional guidelines as prognostic for a specific type of tumor	5
	Diagnosis - Level A: Biomarkers included in professional guidelines as diagnostic for a specific type of tumor	4
	Therapeutic - Level A2: Biomarkers included in professional guidelines that predict response or resistance to therapies for a specific type of tumor	1
Tier III	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

Présence ou absence du variant *TP53* NM_000546.5; c.574C>T; p.(Gln192*) dans les données des participants (hg19: 7578275 ; hg38: 7674957)

Lab	in bed	in bam	in vcf	reported
1	yes	cov=2371, af=67%	cov=2357, af=66%	af=73%
2	yes	cov=351, af=72%	cov=351, af=72%	af=72%
3	yes	cov=209, af=69%	no	no
4	yes	cov=309, af=68%	cov=309, af=68%	af=68%
5	yes	cov=71, af=77%	cov=42, af=77%	no
6	yes	cov=1427, af=57%	cov=1428, af=57%	af=58%
7	yes	cov=704, af=63%	cov=586, af=71%	af=71%
8	yes	cov=206, af=59%	cov=99, af=60%	af=60%
9	yes	cov=2196, af=75%	cov=180, af=72%	af=72%
10	yes	cov=1295, af=75%	cov=658, af=49%	af=75%
11	yes	cov=202, af=77%	cov=104, af=77%	af=77%
12	yes	cov=1443, af=71%	cov=742, af=53%	af=72%
13	yes	cov=584, af=64%	cov=580, af=64%	af=64%
14	yes	cov=773, af=70%	cov=734, af=69%	af=69%
15	yes	cov=110, af=20%	cov=109, af=20%	no
16	yes	no bam	cov=1122, af=73%	af=73%
17	yes	cov=1548, af=65%	cov=125, af=70%	af=70%
18	yes	cov=541, af=67%	cov=535, af=67%	af=67%

Informations types	Informations spécifiques reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
Conclusion diagnostic	La présence d'un variant <i>TP53</i> est indicatif d'un carcinome de l'endomètre de type séreux	4
	Classification moléculaire des carcinomes de l'endomètre: carcinome de l'endomètre <i>TP53</i> mutant	3
	À corrélér avec l'histologie-immunohistochimie	5
Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Le variant <i>TP53</i> est associé à un pronostic défavorable	10
Autre	Qualité de l'échantillon suboptimale	8

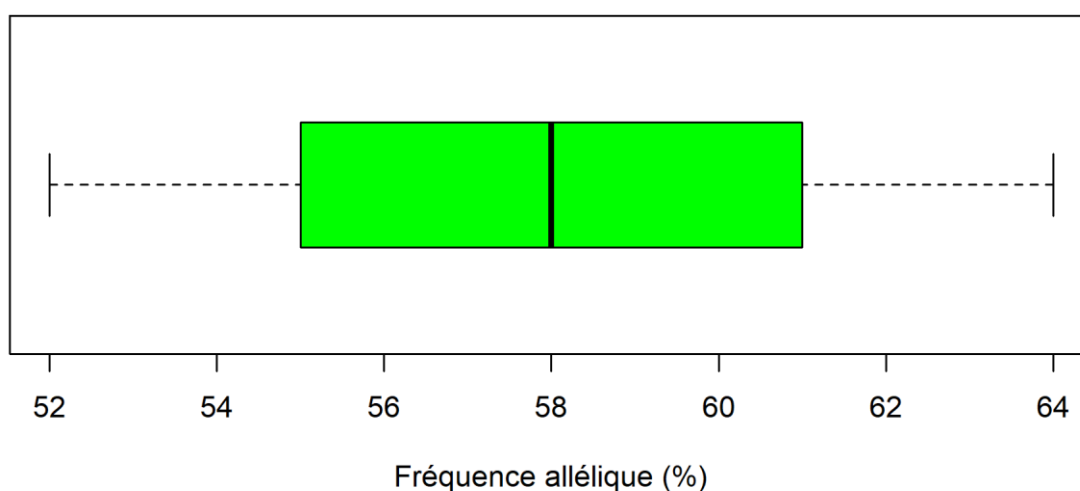
2.3.3. NGS-2023-3

Genre	H
Site anatomique de l'échantillon	Biopsie pulmonaire
Conditionnement de l'échantillon	Coupes FFPE
Type de la tumeur primaire, histologie et informations cliniques	Adénocarcinome pulmonaire
Âge du patient	72

Consensus des variants à rapporter

KRAS NM_004985.4; c.437C>T; p.(Ala146Val)

KRAS NM_004985.4; c.437C>T; p.(Ala146Val)



Min	P25	Median	P75	Max	SD
52	55	58	61	64	4.45

<i>KRAS</i> NM_004985.4; c.437C>T; p.(Ala146Val) (Fréquence allélique médiane: 58 %)	
Identification du variant	N
Oui	17
Non	1
Classification biologique	N
Pathogénique	11
Probablement pathogénique	6
Total	17
Classification clinique	N
Tier II	12
Tier I	4
Tier III	1
Total	17

Commentaires: Le variant *KRAS* NM_004985.4; c.437C>T; p.(Ala146Val) a été rapporté par 17 laboratoires. Un laboratoire n'a pas réalisé l'analyse pour cet échantillon en raison d'un problème technique et n'a donc pas identifié le variant. Concernant les classifications biologiques, le résultat attendu pour ce variant est la classification probablement pathogénique. La classification pathogénique est considérée comme non recommandée selon les guidelines belges mais acceptable puisque sans impact pour le suivi du patient. Dans les guidelines belges, ce variant n'est pas présent dans le tableau "Annex 1 Consensus Pathogenic Variants (CPV) in the Convention genes of solid and hematological tumors v2" (variant A146T/Ala146Thr uniquement)

et la classification doit suivre la table de scoring. Concernant les classifications cliniques, le résultat attendu pour ce variant est la classification Tier II en raison du consensus des laboratoires. La classification de niveau I est considérée comme acceptable car la distinction entre les classifications Tier I et Tier II n'est pas clairement définie lorsque le variant n'a pas d'implication thérapeutique. La classification Tier III est considérée comme non acceptable étant donné l'utilité pronostique de ce variant.

Classification clinique	Justificatif de la classification Tier	N
Tier II	Therapeutic - Level C1: Biomarkers that predict response or resistance to therapies approved by the FDA or professional societies for a different type of tumor	6
	Therapeutic - Level C2: Biomarkers that serve as inclusion criteria for clinical trials	5
	Prognosis - Level C: Biomarkers of prognostic significance based on the results of multiple small studies	2
	Therapeutic - Level D: Biomarkers that show plausible therapeutic significance based on preclinical studies	2
	Prognosis - Level D: Biomarkers that may assist disease prognosis themselves or along with other biomarkers based on small studies or a few case reports	1
Tier I	Prognosis - Level A: Biomarkers included in professional guidelines as prognostic for a specific type of tumor	2
	Therapeutic - Level A1: Biomarkers that predict response or resistance to FDA-approved therapies for a specific type of tumor	2
	Therapeutic - Level A2: Biomarkers included in professional guidelines that predict response or resistance to therapies for a specific type of tumor	1
Tier III	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

Informations types	Informations spécifiques reprises dans la conclusion générale par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
Conclusion diagnostic	Les variants <i>KRAS</i> sont récurrents dans les NSCLC	5
Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	La signification pronostique du variant <i>KRAS</i> est inconnue dans les NSCLC	7
	Le variant <i>KRAS</i> est associé à un pronostic défavorable dans les tumeurs colorectales métastatiques	4
	Le variant <i>KRAS</i> est un variant driver	3
Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Une mutation prédictive de la sensibilité à un traitement ciblé tel que les inhibiteurs de l'EGFR ou de BRAF-MEK ne peut être démontrée	13
	Dans les cancers colorectaux, les variants <i>KRAS</i> sont associées à une résistance aux anti-EGFR	6
Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Essais cliniques pour les patients avec NSCLC avec variant <i>KRAS</i>	6
Informations sur les gènes	Les variants <i>KRAS</i> sont mutuellement exclusifs avec les variants <i>EGFR</i> et les translocations du gène <i>ALK</i> et du gène <i>ROS1</i>	2
Autre	Qualité de l'échantillon sous-optimale	2

2.3.4. Taux de réussite des participants

Consensus des variants à rapporter

Taux de réussite basé sur le consensus des variants à rapporter*	N
3/3 (100%)	13
2/3 (66,67%)	4
1/3 (33,33%)	1
Taux de réussite total: 88,89% (48/54)	

Dans l'échantillon NGS-2023-1, 15 laboratoires ont rapporté le variant *TP53*, NM_000546.5; c.783-1G>A; p. ? et a été classé dans la catégorie des variants non évalué malgré le consensus des laboratoires. Ce variant est localisé dans la région intronique en position -1 de la région 5' de l'exon 8 et n'est actuellement pas inclus dans les régions requises de la convention NGS.

Consensus des variants à ne pas rapporter

Dans l'échantillon NGS-2023-1, un laboratoire a rapporté le variant *NRAS* NM_002524.4; c.182A>G; p.(Gln61Arg) à la place du variant *HRAS*. Ce variant est considéré comme un faux-positif étant donné que l'erreur est également présente dans les conclusions rapportées par le laboratoire.

Classifications biologiques et cliniques

Taux de réussite des participants pour les classifications pour le consensus des variants à rapporter	N
Classifications biologiques *	
1/1, 2/2 of 3/3 (100%)	18
Taux de réussite total - classifications biologiques : 100%	
Classifications cliniques *	
1/1 (100%)	16
0/1 (0%)	1
Taux de réussite total - classifications cliniques : 94,11%	

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

En l'absence de consensus des laboratoires, les classifications cliniques des échantillons NGS-2023-1 et NGS-2023-2 n'ont pas été évaluées.

2.3.5. Analyse des régions de la convention NGS non couvertes par les panels

Echantillon	Nombre de laboratoires couvrant toutes les régions de la convention
NGS-2023-1 (thyroïde)	14
NGS-2023-2 (endomètre)	14
NGS-2023-3 (poumon)	13

L'analyse a été réalisée sur les BAM files transmis par les laboratoires, uniquement pour les régions requises par la convention NGS depuis le 1er janvier 2022 pour chaque indication évaluée lors de l'EEQ (voir Annexe 3.1. "Régions de la convention analysées"). Un seuil de 50 reads a été utilisé pour déterminer si la position était couverte ou non par le panel. Pour un laboratoire, l'analyse a été réalisée sur les FASTQ files en l'absence de BAM files transmis par ce laboratoire.

5 laboratoires utilisent des panels ne couvrant pas la totalité des régions exigées dans la convention NGS. Nous invitons les laboratoires à mettre à jour leurs panels d'analyse selon les exigences de la convention INAMI après chaque révision. Les régions non couvertes par les laboratoires ne sont pas évaluées.

Le laboratoire 5 n'a pas réalisé les analyses pour les échantillons NGS-2023-1 et NGS-2023-3 et n'a pas transmis les BED files pour ces indications. Pour ce laboratoire, nous avons considéré que la totalité des régions requises pour ces indications n'était pas couverte.

Laboratoire	Echantillon	Longueur en pb non couverte par le panel du laboratoire
1	NGS-2023-1 (thyroïde)	301
	NGS-2023-2 (endomètre)	31
	NGS-2023-3 (poumon)	171
2	NGS-2023-2 (endomètre)	17
	NGS-2023-3 (poumon)	261
3	NGS-2023-1 (thyroïde)	300
	NGS-2023-2 (endomètre)	1
	NGS-2023-3 (poumon)	247
4	NGS-2023-1 (thyroïde)	98
	NGS-2023-3 (poumon)	104
5	NGS-2023-1 (thyroïde)	1509
	NGS-2023-2 (endomètre)	21
	NGS-2023-3 (poumon)	772

3. ANNEXE

3.1. Régions de la convention NGS analysées (Référence GRCh37)

Gene	Exon	Codon	Chr	Start	End	Conditions
<i>BRAF</i>	15	600	7	140453135	140453137	Lung carcinoma,Thyroid carcinoma
<i>KRAS</i>	2	12	12	25398283	25398285	Lung carcinoma,Thyroid carcinoma
<i>KRAS</i>	2	13	12	25398280	25398282	Lung carcinoma,Thyroid carcinoma
<i>KRAS</i>	3	59	12	25380281	25380283	Lung carcinoma,Thyroid carcinoma
<i>KRAS</i>	3	61	12	25380275	25380277	Lung carcinoma,Thyroid carcinoma
<i>KRAS</i>	4	117	12	25378647	25378649	Lung carcinoma,Thyroid carcinoma
<i>KRAS</i>	4	146	12	25378560	25378562	Lung carcinoma,Thyroid carcinoma
<i>NRAS</i>	2	12	1	115258746	115258748	Thyroid carcinoma
<i>NRAS</i>	2	13	1	115258743	115258745	Thyroid carcinoma
<i>NRAS</i>	3	59	1	115256534	115256536	Thyroid carcinoma
<i>NRAS</i>	3	61	1	115256528	115256530	Thyroid carcinoma
<i>EGFR</i>	18	all	7	55241614	55241736	Lung carcinoma
<i>EGFR</i>	19	all	7	55242415	55242513	Lung carcinoma
<i>EGFR</i>	20	all	7	55248986	55249171	Lung carcinoma
<i>EGFR</i>	21	all	7	55259412	55259567	Lung carcinoma
<i>HER2</i>	20	all	17	37880979	37881165	Lung carcinoma
<i>HRAS</i>	2	all	11	534212	534322	Thyroid carcinoma
<i>HRAS</i>	3	all	11	533766	533944	Thyroid carcinoma
<i>TP53</i>	2	all	17	7579839	7579913	Thyroid carcinoma,Endometrial carcinoma
<i>TP53</i>	3	all	17	7579700	7579721	Thyroid carcinoma,Endometrial carcinoma
<i>TP53</i>	4	all	17	7579312	7579590	Thyroid carcinoma,Endometrial carcinoma
<i>TP53</i>	5	all	17	7578371	7578554	Thyroid carcinoma,Endometrial carcinoma
<i>TP53</i>	6	all	17	7578177	7578289	Thyroid carcinoma,Endometrial carcinoma
<i>TP53</i>	7	all	17	7577499	7577608	Thyroid carcinoma,Endometrial carcinoma
<i>TP53</i>	8	all	17	7577019	7577155	Thyroid carcinoma,Endometrial carcinoma
<i>TP53</i>	9	all	17	7576853	7576926	Thyroid carcinoma,Endometrial carcinoma
<i>TP53</i>	10	all	17	7573927	7574033	Thyroid carcinoma,Endometrial carcinoma
<i>TP53</i>	11	all	17	7572926	7573008	Thyroid carcinoma,Endometrial carcinoma
<i>POLE</i>	9	286	12	133253183	133253185	Endometrial carcinoma
<i>POLE</i>	9	297	12	133253140	133253142	Endometrial carcinoma
<i>POLE</i>	13	411	12	133250287	133250289	Endometrial carcinoma
<i>POLE</i>	13	424	12	133250248	133250250	Endometrial carcinoma
<i>POLE</i>	14	456	12	133249855	133249857	Endometrial carcinoma
<i>POLE</i>	14	459	12	133249846	133249848	Endometrial carcinoma
<i>POLE</i>	14	465	12	133249828	133249830	Endometrial carcinoma
<i>TERT</i>	0	0	5	1295228	1295228	Thyroid carcinoma
<i>TERT</i>	0	0	5	1295250	1295250	Thyroid carcinoma

3.2. Aperçu des conclusions cliniques

Ces données ont été extraites à partir des réponses faites sur le site internet <https://eqatoolkit.sciensano.be/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.

3.2.1. NGS-2023-1

Lab 1	Conclusion diagnostic	Er werd een pathogene mutatie gedetecteerd in HRAS. HRAS mutaties komen frequent voor bij folliculaire varianten van een papillair schildkliercarcinoom.
Lab 2	Conclusion diagnostic	Varianten in het NRAS/KRAS gen zijn recurrent in zowel benigne als maligne schildkliertumoren met een folliculair groeipatroon. De hotspotmutatie in het HRAS gen, c.182A>G (p.(Gln61Arg), p.(Q61R)) is een driver mutatie.
Lab 2	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	De predictieve/prognostisch betekenis van de hotspotmutatie in KRAS/NRAS is tot op heden onvoldoende gekend maar wordt uitvoerig onderzocht. Varianten in het TP53 gen zijn recurrent in schildkliertumoren en meer specifiek in weinig gedifferentieerd en anaplastisch schildkliercarcinomen. De predictieve/prognostische betekenis van de variant in het TP53 gen, C.783G>A (p.?) is tot op heden onvoldoende gekend.
Lab 2	Autre	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	Conclusion diagnostic	Varianten in het HRAS gen zijn recurrent in zowel benigne als maligne schildkliertumoren met een folliculair groeipatroon, weinig gedifferentieerde en anaplastische carcinomen en sommige vormen van medullair schildkliercarcinoom.
Lab 3	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Varianten in het TP53 gen zijn recurrent in schildkliertumoren en meer specifiek in weinig gedifferentieerde en anaplastische schildkliercarcinomen.
Lab 3	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	De predictieve/prognostisch betekenis van de hotspotmutatie in HRAS is tot op heden onvoldoende gekend, maar maakt het onderwerp uit van meerdere studies. (Untch et al, Cancer Res, 2018)

Lab 4	Conclusion diagnostic	<p>Concluse: Aanwezigheid van een pathogene mutatie in het HRAS gen, recurrent in schildkliertumoren. De RAS mutaties zijn early driver mutaties in schildkliertumoren. Bijkomend aanwezigheid van een vermoedelijk pathogene variant in het TP53 gen, recurrent in onder andere weinig gedifferentieerd en/of anaplastisch schildkliercarcinomen (Nikitski AV et al. Endocr Relat Cancer 2021. PMID 34264855; Volante M et al. Endocr Pathol 2021. PMID 33543394). Te correleren met histologie. De predictieve betekenis van de hotspotmutatie c.182A>G (p.(Gln61Arg), p.(Q61R)) in HRAS en van de variant c.783-1G>A (p.?) in TP53 is tot op heden onvoldoende gekend. Er worden geen varianten gedetecteerd in de overige onderzochte genen (met voldoende sequencingdata). We verwijzen naar het pathologieverslag voor een definitieve interpretatie van deze gegevens in het licht van morfologische/immunologische gegevens. De methode is enkel geoptimaliseerd om SNV's (basepaarsubstituties) en kleine inserties en deleties (indels) te detecteren.</p>
Lab 5	Conclusion diagnostic	<p>Les mutations des gènes RAS sont décrites dans les carcinomes thyroïdiens (environ 10% des carcinomes papillaires, dans 40 à 50% dans carcinomes folliculaires et dans 50% des carcinomes anaplasiques). Cependant, les mutations des gènes RAS sont aussi décrites dans les adénomes folliculaires bénins (20 à 40%). L'impact clinique des mutations des gènes RAS dans les adénomes folliculaires est encore indéterminé ; cependant certains auteurs suggèrent que ces adénomes pourraient correspondre à des lésions précurseurs de carcinomes folliculaires. Nikiforov YE and Nikiforova MN, Nat Rev Endocrinol 2011,7:569-80 Arora N et al., World J Surg 2008, 32:1237-46</p>
Lab 5	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	<p>Il existe des essais cliniques pour les patients avec une tumeur solide avancée présentant une mutation du gène HRAS. www.mycancergenome.org www.clinicaltrials.gov</p>
Lab 5	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	<p>Les mutations des gènes RAS sont décrites dans les carcinomes thyroïdiens (environ 10% des carcinomes papillaires, dans 40 à 50% dans carcinomes folliculaires et dans 50% des carcinomes anaplasiques). Cependant, les mutations des gènes RAS sont aussi décrites dans les adénomes folliculaires bénins (20 à 40%). L'impact clinique des mutations des gènes RAS dans les adénomes folliculaires est encore indéterminé ; cependant certains auteurs suggèrent que ces adénomes pourraient correspondre à des lésions précurseurs de carcinomes folliculaires. Nikiforov YE and Nikiforova MN, Nat Rev Endocrinol 2011,7:569-80 Arora N et al., World J Surg 2008, 32:1237-46</p>
Lab 6	Conclusion diagnostic	<p>- Présence de cellules porteuses du variant p.(Gln61Arg) (p.(Q61R)) dans le gène HRAS. Ce variant est classé biologiquement comme pathogène et est de signification clinique diagnostique avérée dans cette pathologie. Ref : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2935335/ https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20526288/ https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16434896/ - Présence également de cellules porteuses du variant c.783-1G>A (site d'épissage lié à l'exon 8 altéré) dans le gène TP53. Ce variant est classé biologiquement comme pathogène et est de signification clinique diagnostique avérée dans cette pathologie. Ref : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34264855/ https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5486146/ https://www.karger.com/Article/Fulltext/456576</p>

Lab 7	Conclusion diagnostic	Les mutations des gènes RAS sont décrites dans les carcinomes thyroïdiens (environ 10% des carcinomes papillaires, dans 40 à 50% dans carcinomes folliculaires et dans 50% des carcinomes anaplasiques). Cependant, les mutations des gènes RAS sont aussi décrites dans les adénomes folliculaires bénins (20 à 40%). L'impact clinique des mutations des gènes RAS dans les adénomes folliculaires est encore indéterminé ; cependant certains auteurs suggèrent que ces adénomes pourraient correspondre à des lésions précurseurs de carcinomes folliculaires. Nikiforov YE and Nikiforova MN, Nat Rev Endocrinol 2011,7:569-80 Arora N et al., World J Surg 2008, 32:1237-46
Lab 7	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Il existe des essais cliniques pour les patients avec une tumeur solide avancée présentant une mutation du gène HRAS. www.mycancergenome.org www.clinicaltrials.gov
Lab 7	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	Les mutations des gènes RAS sont décrites dans les carcinomes thyroïdiens (environ 10% des carcinomes papillaires, dans 40 à 50% dans carcinomes folliculaires et dans 50% des carcinomes anaplasiques). Cependant, les mutations des gènes RAS sont aussi décrites dans les adénomes folliculaires bénins (20 à 40%). L'impact clinique des mutations des gènes RAS dans les adénomes folliculaires est encore indéterminé ; cependant certains auteurs suggèrent que ces adénomes pourraient correspondre à des lésions précurseurs de carcinomes folliculaires. Nikiforov YE and Nikiforova MN, Nat Rev Endocrinol 2011,7:569-80 Arora N et al., World J Surg 2008, 32:1237-46
Lab 8	Conclusion diagnostic	Er werd een HRAS (NM_005343.3(HRAS):c.182A>G (p.(Gln61Arg)) pathogene missense variant geïdentificeerd in exon 3. De aanwezigheid van deze specifieke variant is van mogelijks klinisch belang (tier II) vermits deze frequent wordt teruggevonden in papillair schildkliercarcinoom (PMID: 23625203, 20526288, 12866375, 22650231).
Lab 8	Autre	Er werd een TP53 (NM_000546.5(TP53):c.783-1G>A (p.(?)) vermoedelijk pathogene splice site variant geïdentificeerd in intron 7. De aanwezigheid van deze variant in schildklier kanker heeft ongekende klinische betekenis (tier III). Er werden geen andere (vermoedelijk) pathogene varianten geïdentificeerd in de genen BRAF, KRAS, HRAS, NRAS, TERT en TP53.
Lab 9	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	De pathogene variant c.182A>G p.(Gln61Arg) werd gevonden in het gen HRAS exon 3. De therapeutische impact is niet gekend. In blaas, hoofd- en hals carcinomen wordt deze pathogene variant geassocieerd met een respons op Tipifarnib. (PMID: 32636318, NCT03719690, NCT04284774)
Lab 9	Autre	De vermoedelijk pathogene variant c.783-1G>A werd gevonden in het TP53 gen intron 7. De therapeutische impact is niet gekend.
Lab 10	Conclusion diagnostic	Mutaties in HRAS en TP53 zijn recurrent in schildkliercarcinoom. De aanwezigheid van deze mutaties ondersteunt de diagnose van een maligne schildklierletsel [1]. Activerende mutaties in de RAS/MAPK signaalweg, zoals HRAS c.182A>G p.(Gln61Arg), worden beschouwd als "driver" mutaties in de pathogenese van schildkliercarcinoom [1, 2].
Lab 10	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Voor TP53 mutaties is er beperkte evidentie voor een associatie met dedifferentiatie en een meer agressief verloop van schildkliercarcinoom, al is deze associatie niet absoluut en worden TP53 mutaties ook met lage prevalentie aangetroffen in de gunstiger types van schildklierkanker [2-4].

Lab 10	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	Er werd een pathogene variant in HRAS met significant klinisch belang (Tier I) en een vermoedelijk pathogene splice site variant in TP53 met mogelijk klinisch belang (Tier II) geïdentificeerd: resp. HRAS c.182A>G p.(Gln61Arg) en TP53 c.783-1G>A p.?.
Lab 10	Autre	Referenties: [1] PMID 31549998 [2] PMID 31672298 [3] PMID 28231576 [4] PMID 28635633
Lab 11	Conclusion diagnostic	The finding of a HRAS variant does not help in differentiating benign from malignant thyroid lesions, nor in differentiating between a follicular versus papillary type of thyroid carcinoma. Although TP53 variants can be found in benign thyroid lesions, its presence is usually seen in malignant thyroid lesions.
Lab 11	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	The presence of a TP53 variant in malignant thyroid lesions is usually associated with aggressive tumor behavior.
Lab 11	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	While there is promising clinical data in patients with head and neck squamous cell carcinoma and urothelial carcinoma harboring oncogenic HRAS mutations treated with the farnesyl transferase inhibitor (FTI) tipifarnib, its clinical utility in patients with HRAS Q61R mutant thyroid cancer is unknown.
Lab 12	Conclusion diagnostic	Er werd een pathogene mutatie in het HRAS geïdentificeerd: HRAS c.182A>G p.(Gln61Arg). Deze mutatie heeft een significant klinisch belang (Tier I) en is geassocieerd met een hoog risico op maligniteit, te correleren met de pathologie. [1-3] Daarnaast werd een vermoedelijk pathogene variant in het TP53 gen geïdentificeerd: TP53 c.783-1G>A p.?. Varianten in TP53 zijn recurrent in schildklier carcinoom, de klinische relevantie is in schildklier carcinoom tot op heden onvoldoende gekend. [2, 3] [1] NCCN guidelines Thyroid Carcinoma version 3.2022 [2] PMID: 31549998 [3] Compermed guidelines
Lab 13	Conclusion diagnostic	HRAS hotspot mutatie als merker voor schildklierneoplasmie. Histologisch te correleren. HRAS mutaties zijn mutueel exclusief met BRAF mutaties (Kimura et al., Cancer Res 2003). Verder geen eenduidige klinische implicaties. (Gilani SM et al. RAS mutation and associated risk of malignancy in the thyroid gland: An FNA study with cytology-histology correlation. Cancer Cytopathol 2022)
Lab 13	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	HRAS mutatie is onderwerp van diverse klinische studies ikv farnesyl transferase inhibitie (FTI; tipifarnib) bij vaste tumoren.
Lab 14	Conclusion diagnostic	HRAS mutations are frequently found in thyroid carcinoma.
Lab 15	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Les mutations de TP53 sont plus fréquemment rencontrées dans les carcinomes de la thyroïde peu différenciés et les carcinomes anaplastiques (Revu par Prete et al., Front Endocrinol 2020; ATA Guidelines, Haugen et al., Thyroid 2016). Elles sont cependant rencontrées dans jusque 10% des carcinomes différenciés, de meilleur pronostic. Les mutations de TP53 ne peuvent donc être utilisées comme facteur pronostic. Les mutations de HRAS sont également rencontrées à des fréquences variables dans les différents histotypes de cancer thyroïdien, ne permettant pas de préciser un pronostic (Revu par Pret et al., Front Endocrinol 2020; ATA Guidelines, Haugen et al., Thyroid 2016).
Lab 16	Conclusion diagnostic	Résultats suivront (problème de fournisseur panels NGS (Qiagen)
Lab 16	Autre	Résultats suivront (problème de fournisseur panels NGS (Qiagen)

Lab 17	Conclusion diagnostic	Met NGS werd een NRAS mutatie gedetecteerd. NRAS mutaties worden gezien in alle epitheliale thyroid tumoren (6 %). Ze komen prevalent voor in folliculair carcinoom, folliculair variant papillair carcinoom en weinig gedifferentieerde vormen. NRAS-mutaties zijn mutueel exclusief met BRAF-mutaties en met RET/PTC en NTRK translocaties in papillair thyroid carcinomen. In folliculair thyroid carcinoom zijn NRAS mutaties mutueel exclusief met PAX8-PPARG translocaties.
Lab 17	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	NRAS-gemuteerde thyroid carcinomen metastaseren vaker naar long en bot. Er werd ook een TP53 mutatie gedetecteerd. Over het algemeen hebben TP53 mutaties een negatieve impact op de prognose in solide tumoren.
Lab 17	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	NRAS mutaties zijn in colorectaal carcinoom predictief voor resistentie aan anti-EGFR moAbs.
Lab 17	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	NRAS mutaties zouden predictief kunnen zijn voor respons op MEK-inhibitoren (cfr. klinische studies).
Lab 18	Conclusion diagnostic	Varianten in het HRAS gen zijn recurrent in zowel benigne als maligne schildkliertumoren met een folliculair groeipatroon. De RAS mutaties zijn driver mutaties. De predictieve/prognostisch betekenis van de hotspotmutatie c.182A>G (p.(Gln61Arg)) in HRAS is tot op heden onvoldoende gekend. Varianten in het TP53 gen zijn recurrent in schildkliertumoren en meer specifiek in weinig gedifferentieerd en anaplastisch schildkliercarcinomen.
Lab 18	Autre	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.

3.2.2. NGS-2023-2

Lab 1	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Vermoedelijk pathogene mutatie in TP53 gevonden. Het moleculair resultaat wijst op een P53-mutant endometriumcarcinoom. De TP53 mutatie is geassocieerd met een slechtere prognose.
Lab 2	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	De predictieve/prognostische betekenis van de variant c.574C>T (p.(Glu192*)) in TP53 is tot op heden onvoldoende gekend. Deze variant (vermoedelijk pathogeen) wordt in de literatuur in verband gebracht met verlies van tumor-suppressor activiteit en bijkomend verworven functies (Muller et al. Cancer Cell 2014;25(3):304-317). Quid aberrante IHC p53 expressie? Te correleren met histologie/immunohistochemie.
Lab 2	Autre	Door de mindere kwaliteit van het DNA is de coverage voor veel van de genen onvoldoende (<350x) en wordt de detectielimiet niet gehaald (waaronder POLE exon 13 & 14). Een vals negatief resultaat voor de overige genen is dus niet uitgesloten. Desondanks werd een vermoedelijk pathogeen variant in TP53 aangetoond. De mindere kwaliteit van het DNA kan te wijten zijn aan een te oud staal, necrose... indien mogelijk, gelieve een nieuw staal op te sturen voor heranalyse teneinde en betrouwbaarder resultaat te kunnen bekomen.
Lab 3	Autre	Er is onvoldoende intact DNA voorhanden voor een betrouwbare mutatie-analyse. Dit kan te wijten zijn aan een suboptimale fixatie en/of ouderdom van het staal. Gelieve indien mogelijk een nieuw staal te nemen.
Lab 4	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Conclusie: Er worden GEEN varianten in het POLE gen teruggevonden (met voldoende sequencingdata). Aanwezigheid van een vermoedelijk pathogene variant in het TP53 gen, namelijk c.574C>T (p.(Gln192*)). De aanwezigheid van een TP53 mutatie is suggestief voor een sereus-type endometriumcarcinoom. Quid aberrante p53 expressie? Te correleren met histologie/immunohistochemie. 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	Analyse non contributive due à la mauvaise qualité du séquençage. Il pourrait être intéressant de tester un autre échantillon.
Lab 6	Conclusion diagnostic	- Présence de cellules porteuses du variant p.(Gln192*) (p.(Q192*)) dans le gène TP53. Ce variant est classé biologiquement comme pathogène et est de signification clinique pronostique, diagnostique et thérapeutique avérée dans cette pathologie. Ref : https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2022.805613/full https://link.springer.com/article/10.1007/s13193-022-01523-9 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6862296/
Lab 6	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	- Présence de cellules porteuses du variant p.(Gln192*) (p.(Q192*)) dans le gène TP53. Ce variant est classé biologiquement comme pathogène et est de signification clinique pronostique, diagnostique et thérapeutique avérée dans cette pathologie. Ref : https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2022.805613/full https://link.springer.com/article/10.1007/s13193-022-01523-9 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6862296/

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.(Gln192*) (p.(Q192*)) dans le gène TP53. Ce variant est classé biologiquement comme pathogène et est de signification clinique pronostique, diagnostique et thérapeutique avérée dans cette pathologie. Ref : https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2022.805613/full https://link.springer.com/article/10.1007/s13193-022-01523-9 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6862296/
Lab 7	Conclusion diagnostic	Dans les carcinomes endométrioïdes de l'endomètre, les mutations du gène TP53 caractérisent le sous type moléculaire de carcinome endométrioïde TP53 mutant et est associé à un mauvais pronostic. Les mutations de TP53 sont fréquentes dans le carcinomes séreux de l'endomètre. Ces données sont donc à corrélér à l'ensemble des données pathologiques. WHO blue book classification of tumours.
Lab 7	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Dans les carcinomes endométrioïdes de l'endomètre, les mutations du gène TP53 caractérisent le sous type moléculaire de carcinome endométrioïde TP53 mutant et est associé à un mauvais pronostic. Les mutations de TP53 sont fréquentes dans le carcinomes séreux de l'endomètre. Ces données sont donc à corrélér à l'ensemble des données pathologiques. WHO blue book classification of tumours.
Lab 7	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	Dans les carcinomes endométrioïdes de l'endomètre, les mutations du gène TP53 caractérisent le sous type moléculaire de carcinome endométrioïde TP53 mutant et est associé à un mauvais pronostic. Les mutations de TP53 sont fréquentes dans les carcinomes séreux de l'endomètre. Ces données sont donc à corrélér à l'ensemble des données pathologiques. WHO blue book classification of tumours.
Lab 7	Autre	Données à corrélér aux données pathologiques : quel type de carcinome de l'endomètre?
Lab 8	Conclusion diagnostic	Er werd een TP53 (NM_000546.5(TP53):c.574C>T (p.(Gln192*)) vermoedelijk pathogene stop gain variant geïdentificeerd in exon 6. De aanwezigheid van dit type variant in endometrium carcinoma heeft mogelijk klinisch belang (tier II). TP53 varianten komen voor in 15% van de endometrioïd en in 85% van de sereuze endometriumcarcinoma (PMID: 26556035).
Lab 8	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Bovendien zijn TP53 varianten in endometrium kanker geassocieerd met een ongunstige prognose (PMID: 28061006).
Lab 8	Autre	Resultaat is onder voorbehoud gezien de genen POLE en TP53 onvoldoende gecoverd zijn wegens onvoldoende kwantiteit/kwaliteit van het DNA. Er wordt een nieuw staal voor analyse aangeraden (indien mogelijk).
Lab 9	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	De pathogene variant c.574C>T p.(Gln192*) werd waargenomen in het TP53 gen exon 6. Endometrium carcinomen met een TP53 mutatie hebben een slechtere prognose. (PMID: 33046573). Binnen de grenzen van de methode is er geen POLE variant gedetecteerd.
Lab 9	Autre	Meerdere van de target regio's tonen een lage coverage (expected coverage van het staal 58.21%, kwaliteit eerder suboptimaal) . Aldus reserve wat betreft de volledigheid van het mutatieprofiel. Er wordt aangeraden om het staal in duplo te analyseren en/of de analyse te herhalen op een nieuw biopt. Targetregio's <50 UMI reads: APC-E07-SVE-2 ESR1-E01-SVE-2 PTEN-E02-SVE-2 PTEN-E03-SVE-2 PTEN-E04-SVE-2 ROS1-E02-SVE-2 ROS1-E03-SVE-2 ROS1-E04-SVE-2 ROS1-E08-SVE-2 ROS1-E10-SVE-2 ROS1-E11-SVE-2 ROS1-E15-SVE-2 ROS1-E30-SVE-2 ROS1-E33-SVE-2 ROS1-E34-SVE-2 ROS1-E35-SVE-2 ROS1-E37-SVE-2 ROS1-E40-SVE-2 ROS1-E41-SVE-2 ROS1-E42-SVE-2 TERT-E01-SVE-2
Lab 10	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	TP53 varianten zijn geassocieerd met een ongunstige prognose als het een single classifieer betreft [1,2].

Lab 10	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	Er werden geen varianten in het POLE gen teruggevonden. Er werd echter wel een vermoedelijk pathogene TP53 c.574C>T p.(Gln192*) variant geïdentificeerd. Te correleren met histologie/immunohistochemie. TP53 mutaties hebben een significant klinisch belang in endometriumcarcinoom (Tier I).
Lab 10	Autre	De analyse werd uitgevoerd met een suboptimale DNA input. Resultaat onder voorbehoud. referenties: [1] NCCN guidelines Uterine Neoplasms V1.2023 [2] PMID: 31829447
Lab 11	Conclusion diagnostic	Molecular classification endometriumcarcinoma: TP53-mutant endometriumadenocarcinoma
Lab 11	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	TP53-mutant endometriumadenocarcinoma is associated with poor prognosis.
Lab 12	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werden geen varianten geïdentificeerd in het POLE gen. Er werd wel een vermoedelijk pathogene variant in het TP53 gen geïdentificeerd met mogelijk klinisch belang (Tier II): TP53 c.574C>T p.(Gln192*). Varianten in het TP53 gen zijn geassocieerd met een minder gunstige prognose. [1] [1] NCCN Guidelines Uterine Neoplasms Version 1.2023. De analyse werd uitgevoerd met een suboptimale DNA input. Resultaat onder voorbehoud.
Lab 12	Effet combiné de variants ou de biomarqueurs	Er werden geen varianten geïdentificeerd in het POLE gen. Er werd wel een vermoedelijk pathogene variant in het TP53 gen geïdentificeerd met mogelijk klinisch belang (Tier II): TP53 c.574C>T p.(Gln192*). Varianten in het TP53 gen zijn geassocieerd met een minder gunstige prognose. [1] [1] NCCN Guidelines Uterine Neoplasms Version 1.2023. De analyse werd uitgevoerd met een suboptimale DNA input. Resultaat onder voorbehoud.
Lab 13	Conclusion diagnostic	TP53 pathogene variant gedetecteerd. Verder microsatelliet stabiel en geen (vermoedelijk) pathogene POLE variant gedetecteerd. TP53 mutatie indicatief voor 'Copy-number high' (ook 'p53abnormal' genoemd). (Lopez-Reig R et al. Prognostic classification of endometrial cancer using a molecular approach based on a twelve-gene NGS panel. Scientific Reports 2019) (Talhouk A et al. Molecular Subtype Not Immune Response Drives Outcomes in Endometrial Carcinoma. Clin Cancer Res 2018).
Lab 14	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Mutation TP53 associée à un haut risque clinique
Lab 15	Autre	Echec technique: Malgré plusieurs tentatives, l'ADN extrait n'a pas pu être amplifié correctement. Aucune donnée interprétable n'a pu être obtenue. L'analyse demandé est en cours sur un nouveau prélèvement.
Lab 16	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Pronostic défavorable pour tous stades de cancers endométriaux
Lab 16	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Prédicatif de tumeur agressive nécessitant un traitement par radiochimiothérapie quel que soit le statut POLE ou MDR. (Gène POLE non présent dans notre panel)
Lab 16	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	PORTEC-3 (2020)
Lab 16	Autre	Gène POLE bientôt disponible dans notre panel.
Lab 17	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werd geen POLE mutatie gedetecteerd. Er werd wel een TP53 mutatie gedetecteerd: prognostisch ongunstig in endometriumcarcinoom.

Lab 17	Conclusion diagnostic	Varianten in het TP53 gen zijn recurrent in gynaecologische tumoren waaronder endometriumcarcinomen. De aanwezigheid van een TP53 mutatie is indicatief voor een sereus type endometriumcarcinoom. Te correleren met histologie/immunohistochemie!
Lab 18	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	TP53 varianten worden als prognostisch ongunstig beschouwd bij POLE-WT en MSI-L endometriumcarcinoma.
Lab 18	Autre	Er worden geen varianten gedetecteerd in de overige onderzochte genen (met voldoende sequencingdata). We verwijzen naar het pathologieverslag voor definitieve interpretatie van deze gegevens in het licht van morfologische/immunologische gegevens. De methode is enkel geoptimaliseerd om SNV's (basepaarsubstituties) en kleine inserties en deleties (indels) te detecteren.

3.2.3. NGS-2023-3

Lab 1	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Pathogene mutatie in KRAS gevonden. Geen pathogene mutatie aangetoond in EGFR. Momenteel is er geen geregistreerde doelgerichte therapie beschikbaar voor NSCLC patiënten met deze KRAS mutatie. De afwezigheid van een EGFR mutatie biedt geen optie voor doelgerichte therapie met een EGFR tyrosine kinase inhibitor.
Lab 2	Conclusion diagnostic	Een mutatie predictief voor gevoeligheid aan doelgerichte behandeling zoals EGFR of BRAF/MEK inhibitoren kan niet worden aangetoond.
Lab 2	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Mutaties in het KRAS gen zijn recurrent in NSCLC. De predictieve/prognostische betekenis van de mutatie c.437C>T (p.(Ala146Val)) in KRAS is tot op heden onvoldoende gekend, maar is een gekende mutagene driver in gemetastaseerde colorectale tumoren met geassocieerde ongunstigere prognose (KRAS A146 Mutations Are Associated With Distinct Clinical Behavior in Patients With Colorectal Liver Metastases, I van 't Erve et al. JCO Precis Oncol. 2021 nov 17;5:PO.21.00223.). Quid correlatie met histologie?
Lab 2	Autre	Er werd geen hotspotmutatie aangetoond en de coverage was suboptimaal, indien klinisch geïndiceerd kan een heranalyse op een ander tumorstaal worden uitgevoerd. Door de mindere kwaliteit van het DNA is de coverage voor veel van de genen onvoldoende (<350x) en wordt de detectielimiet niet gehaald. De coverage voor de gevraagde genen BRAF, EGFR, MET en HER2 zijn wel toerijkend. Alleen voor Kras exon 4 is een eveneens een suboptimale coverage waardoor een vals negatief resultaat voor dit gen op exon4 (en sommige niet gevraagde genen) dus niet is uitgesloten.
Lab 3	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Een mutatie predictief voor gevoeligheid aan doelgerichte behandeling zoals EGFR of BRAF/MEK inhibitoren kan niet worden aangetoond. De predictieve/prognostische betekenis van de variant c.437C>T, p.(Ala146Val) is tot op heden onvoldoende gekend. Preliminaire klinische data tonen een mogelijk gunstig effect van MEK of ERK inhibitoren (Froesch et al, Lung Cancer 2021). Aangezien er een driver mutatie werd aangetoond in dit staal, wordt GEEN bijkomend onderzoek met RNA sequencing uitgevoerd.
Lab 3	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	Varianten in het KRAS gen zijn recurrent in NSCLC.
Lab 4	Autre	Conclusie: Een mutatie predictief voor gevoeligheid aan doelgerichte behandeling zoals EGFR of BRAF/MEK inhibitoren kan niet worden aangetoond. Varianten in het KRAS gen zijn recurrent in NSCLC. De predictieve/prognostische betekenis van de hotspotmutatie c.437C>T (p.(Ala146Val), p.(A146V)) in KRAS is tot op heden onvoldoende gekend. 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	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Dans les adénocarcinomes pulmonaires, l'impact de la présence de'une mutation du gène KRAS sur la sensibilité ou la résistance aux inhibiteurs de la voie EGFR est indéterminé à ce jour. Il est à noter que les mutations du gène KRAS sont mutuellement exclusives avec les mutations du gène EGFR et les translocations du gène ALK et du gène ROS1. Dans les cancers colorectaux, les mutations dans les exons 2, 3 et 4 du gène KRAS sont associées à une résistance aux anti-EGFR. Vincent MD et al., Curr Oncol 2013, 19 :s33-s44 www.oncokb.org
Lab 5	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Il existe des essais cliniques pour les patients avec un carcinome pulmonaire non à petites cellules présentant une mutation du gène KRAS. www.clinicaltrials.gov
Lab 5	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	L'impact de la présence de mutation du gène KRAS sur la sensibilité ou la résistance aux inhibiteurs de la voie EGFR est indéterminé à ce jour. Il est à noter que les mutations du gène KRAS sont mutuellement exclusives avec les mutations du gène EGFR et les translocations du gène ALK et du gène ROS1. Vincent MD et al., Curr Oncol 2013, 19 :s33-s44
Lab 6	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Présence de cellules porteuses du variant p.(Ala146Val) (p.(A146V)) dans le gène KRAS. Ce variant est classé biologiquement comme probablement pathogène et est de signification pronostique avérée dans cette pathologie. Ref : https://www.mdpi.com/2072-6694/14/21/5430 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1556086415316506 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S246829422030037X
Lab 7	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Dans les adénocarcinomes pulmonaires, l'impact de la présence de'une mutation du gène KRAS sur la sensibilité ou la résistance aux inhibiteurs de la voie EGFR est indéterminé à ce jour. Il est à noter que les mutations du gène KRAS sont mutuellement exclusives avec les mutations du gène EGFR et les translocations du gène ALK et du gène ROS1. Dans les cancers colorectaux, les mutations dans les exons 2, 3 et 4 du gène KRAS sont associées à une résistance aux anti-EGFR. Vincent MD et al., Curr Oncol 2013, 19 :s33-s44 www.oncokb.org
Lab 7	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Il existe des essais cliniques pour les patients avec un carcinome pulmonaire non à petites cellules présentant une mutation du gène KRAS. www.clinicaltrials.gov
Lab 7	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	L'impact de la présence de mutation du gène KRAS sur la sensibilité ou la résistance aux inhibiteurs de la voie EGFR est indéterminé à ce jour. Il est à noter que les mutations du gène KRAS sont mutuellement exclusives avec les mutations du gène EGFR et les translocations du gène ALK et du gène ROS1. Vincent MD et al., Curr Oncol 2013, 19 :s33-s44
Lab 8	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werd een KRAS (NM_004985.4(KRAS):c.437C>T (p.(Ala146Val)) pathogene missense variant geïdentificeerd in exon 4. De aanwezigheid van deze specifieke variant heeft significant klinisch belang (tier I) aangezien deze in het algemeen een verhoogde resistentie tegen EGFR monoclonale antilichamen geeft (NCCN guidelines NSCLC v2,2023).
Lab 8	Autre	Er werden geen andere (vermoedelijk) pathogene varianten geïdentificeerd in BRAF, EGFR, KRAS, MET en HER2.

Lab 9	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Binnen de grenzen van de methode, is er geen mutatie gevonden in exon 2, 18 tem 24 van het EGFR gen. Voor longcarcinomen zonder EGFR mutatie is er een slechte respons voor EGFR TKI therapie. Er is geen mutatie gedetecteerd in het EGFR gen codon 790. De vermoedelijk pathogene variant c.437C>T p.(Ala146Val) werd gevonden in het KRAS gen exon 4. In colorectale carcinomen wordt deze pathogene variant geassocieerd met een resistentie EGFR-TKI's en anti-EGFR antibodies. (PMID: 24024839; PMID: 21228335; ASCO2020; NCCN 2.2021) Clinical trial: NCT04111458 (BI1701963 as Monotherapy and in Combination With Trametinib), NCT05585320 (A Phase 1/2a Study of IMM-1-104 in Participants With Previously Treated, RAS-Mutant, Advanced or Metastatic Solid Tumors)
Lab 9	Autre	Meerdere van de target regio's tonen een lage coverage (expected coverage van het staal 88.77%, kwaliteit eerder suboptimaal) . Aldus reserve wat betreft de volledigheid van het mutatieprofiel. Er wordt aangeraden om het staal in duplo te analyseren en/of de analyse te herhalen op een nieuw biopt. Targetregio's <50 UMI reads: APC-E07-SVE-2 APC-E11-SVE-2 ROS1-E10-SVE-2 ROS1-E34-SVE-2
Lab 10	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	De hotspot mutatie KRAS Ala146Val wordt echter niet uitgebreid omschreven in long adenocarcinoom (Tier II): er is beperkte evidentie dat ook deze variant gelinkt kan zijn aan een ongunstige prognose en een verminderde gevoeligheid aan EGFR TKI therapie. [1]
Lab 10	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Een mutatie predictief voor gevoeligheid aan doelgerichte behandeling, zoals EGFR- of BRAF/MEK-inhibitoren, kan niet worden aangetoond. De hotspot mutatie KRAS Ala146Val wordt echter niet uitgebreid omschreven in long adenocarcinoom (Tier II): er is beperkte evidentie dat ook deze variant gelinkt kan zijn aan een ongunstige prognose en een verminderde gevoeligheid aan EGFR TKI therapie. [1]
Lab 10	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	Er werd echter een vermoedelijk pathogene KRAS variant geïdentificeerd: KRAS c.437C>T p.(Ala146Val). Mutaties in het KRAS gen zijn recurrent in long adenocarcinoom [1].
Lab 10	Autre	referenties: [1] NCCN guidelines Non-Small Cell Lung Cancer v2.2023
Lab 11	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Unknown prognostic/predictive value
Lab 12	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werd geen (vermoedelijk) pathogene mutatie geïdentificeerd in het EGFR gen. In het algemeen betekent de afwezigheid van klinisch relevante mutaties in het EGFR gen in non-small cell lung cancer geen respons op EGFR tyrosine kinase inhibitoren. [1] Er werd echter een vermoedelijk pathogene variant in het KRAS gen geïdentificeerd met significant klinisch belang (Tier I): KRAS c.437C>T p.(Ala146Val). Mutaties in het KRAS gen zijn in het algemeen geassocieerd met een ongunstige prognose. [1] [1] NCCN Guidelines Non-Small Cell Lung Cancer Version 2.2023
Lab 12	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werd geen (vermoedelijk) pathogene mutatie geïdentificeerd in het EGFR gen. In het algemeen betekent de afwezigheid van klinisch relevante mutaties in het EGFR gen in non-small cell lung cancer geen respons op EGFR tyrosine kinase inhibitoren. [1] Er werd echter een vermoedelijk pathogene variant in het KRAS gen geïdentificeerd met significant klinisch belang (Tier I): KRAS c.437C>T p.(Ala146Val). Mutaties in het KRAS gen zijn in het algemeen geassocieerd met een ongunstige prognose. [1] [1] NCCN Guidelines Non-Small Cell Lung Cancer Version 2.2023

Lab 12	Informations sur les gènes / variants identifiés présentant un intérêt clinique	Er werd geen (vermoedelijk) pathogene mutatie geïdentificeerd in het EGFR gen. In het algemeen betekent de afwezigheid van klinisch relevante mutaties in het EGFR gen in non-small cell lung cancer geen respons op EGFR tyrosine kinase inhibitoren. [1] Er werd echter een vermoedelijk pathogene variant in het KRAS gen geïdentificeerd met significant klinisch belang (Tier I): KRAS c.437C>T p.(Ala146Val). Mutaties in het KRAS gen zijn in het algemeen geassocieerd met een ongunstige prognose. [1] [1] NCCN Guidelines Non-Small Cell Lung Cancer Version 2.2023
Lab 13	Conclusion diagnostic	KRAS A146V mutatie positief in long tumoren. Geen gevalideerde klinische implicaties
Lab 13	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	EGFR mutatie negatief. Geen indicatie voor anti-EGFR TKI behandeling bij longtumoren (Rosell R et al. 2012 Lancet Oncology).
Lab 13	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Afwijking Medicatie Gevoelig / Resistent OncoKB Level KRAS p.(Ala146Val) Trametinib Gevoelig 4 KRAS p.(Ala146Val) Cobimetinib Gevoelig 4 KRAS p.(Ala146Val) Binimetinib Gevoelig 4
Lab 14	Conclusion diagnostic	KRAS is the most frequent oncogene in non-small cell lung cancer (NSCLC)
Lab 14	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	(KRAS) mutations are associated with poor prognosis, likely due to poor responses to most systemic therapies and lack of targeted drugs.
Lab 14	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Absence of EGFR activating mutation in this pulmonary adenocarcinoma do not prompt for na EGFR-directed TKI therapy.
Lab 15	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Le rôle des mutations de KRAS comme facteur pronostic ou prédictif dans les cancers pulmonaires est actuellement inconnu (revu par Aredo et Padda, Curr Treat Options in Oncol 2018).
Lab 15	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Les mutations de KRAS ont été associées à une résistance aux inhibiteurs d'EGFR (Linardou et al., Lancet Oncol 2008).
Lab 15	Effet combiné de variants ou de biomarqueurs	Les adénocarcinomes du poumon mutés pour KRAS représentent une maladie hétérogène, dont les réponses à des traitements à base d'immunothérapie dépendent des co-mutations accompagnant la mutation de KRAS (revu par Xie et al., Front. Oncol 2021).
Lab 16	Conclusion diagnostic	Résultats suivront (problème de fournisseur panels NGS (Qiagen)
Lab 16	Autre	Résultats suivront (problème de fournisseur panels NGS (Qiagen)
Lab 17	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er werd GEEN activerende EGFR mutatie gedetecteerd. Dit resultaat is voor longcarcinomen predictief voor een gebrek aan respons op anti-EGFR TKI. Er werd GEEN ALK-gen en GEEN ROS1-gen translocatie gedetecteerd. Dit resultaat is voor longcarcinomen predictief voor een gebrek aan respons op anti-ALK/ROS1 medicatie. Evenmin werden er translocaties gedetecteerd in RET, NTRK1/2/3 en alle andere genen aanwezig in het RNA-panel (zie extra info). Het voorkomen van een KRAS mutatie is predictief voor resistentie aan anti-EGFR moAbs in een ander tumor type, nl colorectal carcinoom.
Lab 17	Études cliniques bien étayées ou en cours pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	Er zijn momenteel RAS-pathway inhibitoren in klinische ontwikkeling.
Lab 18	Conclusion diagnostic	Varianten in het KRAS gen zijn recurrent in NSCLC.

Lab 18	Informations pronostiques pour cette pathologie ou pour une autre pathologie	De predictieve/prognostische betekenis van de variant c.437C>T (p.(Ala146Val)) is tot op heden onvoldoende gekend, maar over het algemeen worden KRAS varianten in deze context als prognostisch ongunstig beschouwd.
Lab 18	Indication ou absence d'indication pour le traitement standard de cette pathologie ou pour une autre pathologie	Een mutatie predictief voor gevoeligheid aan doelgerichte behandeling zoals EGFR of BRAF/MEK inhibitoren kan niet worden aangetoond.
Lab 18	Autre	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.

3.3. 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 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.sciensano.be/fr/evaluation-externe-de-la-qualite/sante-clinique-eeq-biologie-clinique>

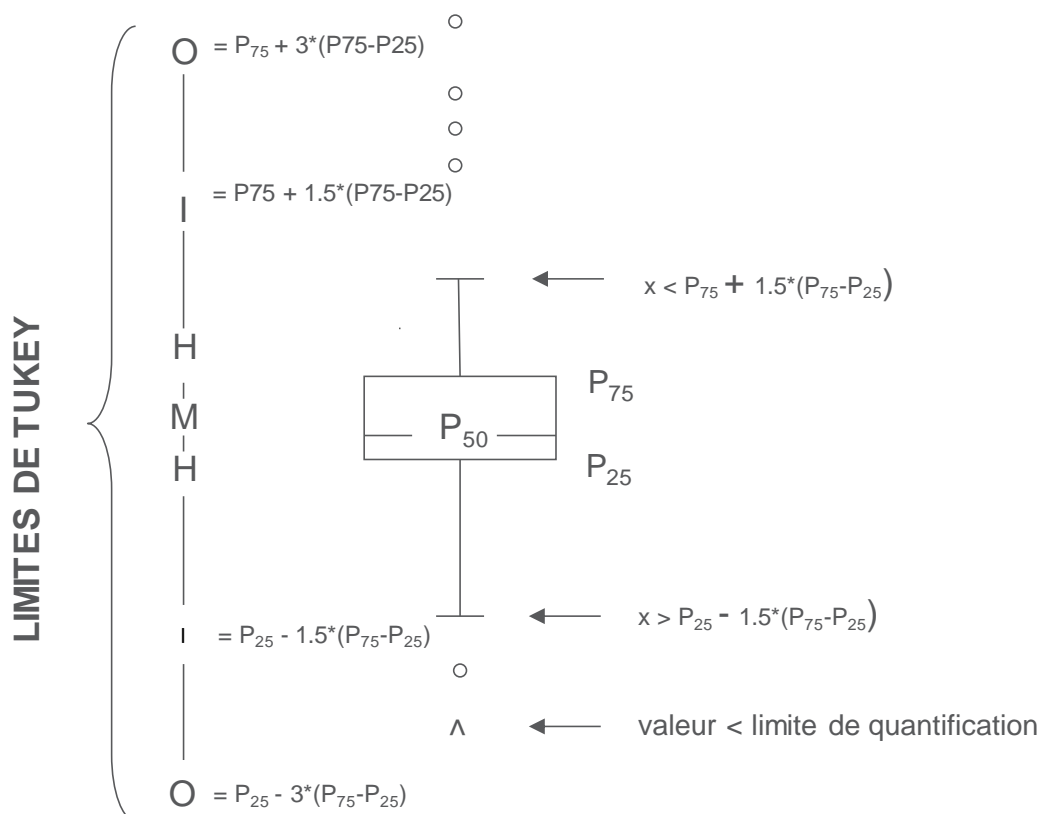
- Brochure d'information générale EEQ
- Méthodes statistiques appliquées à l'EEQ
- Traitement des valeurs censurées

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 2023.

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.