**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S**
**KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE***

# DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT

## Moleculaire biologie

## Genetische onderzoeken

## Detectie van EGFR mutaties in longkanker

**Enquête 2025/2**

* KB 03/12/1999
* KB 05/12/2011

**Sciensano/Moleculaire biologie-Genetische onderzoeken-detectie van EGFR mutaties/11/NL**

Biologische gezondheidsrisico's
Kwaliteit van laboratoria
Juliette Wytsmanstraat 14
1050 Brussel | België

www.sciensano.be

ISSN: 2294-3382

## COMITE VAN EXPERTEN

| **Sciensano** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Secretariaat | | Tel: | 02/642.55.22 | Fax: | 02/642.56.45 |
| | | E-mail | ql_secretariat@sciensano.be | | |
| Joséphine Lantoine | Coördinator | Tel: | 02/642 53 94 | | |
| | | E-mail: | Josephine.lantoine@sciensano.be | | |
| Bernard China | Vervanger coördinator | Tel: | 02/642 52 08 | | |
| | | E-mail: | bernard.china@sciensano.be | | |
| Vanessa Ghislain | Vervanger coördinator | Tel: | 02/642 53 85 | | |
| | | E-mail: | Vanessa.ghislain@sciensano.be | | |
| **Experten** | **Instelling** | | | | |
| Ina Benoy | Rode Kruis | | | | |
| Elke Boone | AZ Delta | | | | |
| Barbara Depreter | AZ Delta | | | | |
| Evelien Heylen | ZNA | | | | |
| Marie LeMercier | UZA | | | | |
| Patrick Pauwels | UZA | | | | |
| Freya Vaeyens | UZ Brussel | | | | |
| Jacques Van Huysse | AZ Sint Jan Brugge | | | | |

Een draft versie van dit rapport werd voorgelegd aan de experten op 5/06/2025.

De experten werden uitgenodigd om hun opmerkingen per e-mail te versturen.

De resultaten van dit rapport werden ook besproken in de vergadering van het Comité van experten van 28/05/2025.

**Verantwoordelijkheden:**
Het Comité van experten werd voor advies geraadpleegd over de inhoud van het globaal rapport, de interpretatie van de resultaten, de evaluatiecriteria en de organisatie van de volgende evaluaties. De verantwoordelijkheid voor de selectie van de gebruikte stalen en het definitieve ontwerp van de EKE-enquête wordt door de dienst Kwaliteit van laboratoria van Sciensano genomen.

**Autorisatie van het rapport :** door Joséphine Lantoine, coördinator

**Publicatiedatum : 24/06/2025**

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:
https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria/eke-moleculaire-biologie-hemato-oncologie#recente-rapporten

# INHOUDSTAFEL

## TABLE DES MATIERES


1 STALEN ..... 4
1.1 Stabiliteitstudie ..... 4
2 DEELNEMERS ..... 5
3 RESULTATEN ..... 5
3.1 Resultaten per staal ..... 5
3.2 Resultaten per Laboratorium ..... 7
3.3 Commentaren ..... 10
4 GEBRUIKTE METHODES ..... 11
5 CONCLUSIES OVER DE RESULTATEN VAN DE LABORATORIA ..... 12
INTERPRETATIE VAN HET INDIVIDUELE RAPPORT ..... 13

# 1 Stalen

De stalen zijn 4 µm FFPE-coupes van longcarcinoom biopsieën. Het zijn patiënten stalen van de biobank Discovery Life Science (3509 Elgin St, Suite 300 Houston, TX 77004-USA).

De stalen waren vergezeld van klinische gegevens van de patiënten: leeftijd, geslacht, ras, lokalisatie van de tumor, type tumor, pathologische data, gegevens over welke behandeling de patiënt vooraf heeft gekregen (indien beschikbaar) en de EGFR mutatie status.

Het aanwezigheid van een EGFR mutatie (p.G601Efs*104) in het chromosoom 7 met een allelfrequentie van 1.1% is bevestigd door de firma die een NGS analyse heeft uitgevoerd (panel Qiagen multimodal).

Deze mutatie moet niet gerapporteerd worden door de deelnemers die een NGS techniek gebruikt hebben aangezien het buiten de scope van de NGS conventie ligt (https://www.inami.fgov.be/SiteCollectionDocuments/convention_next_generation_sequencing_annexe_01.pdf). Deze deelnemers moeten het staal rapporteren als Wild type.

De mutatie kan door de PCR gebruikers wel gerapporteerd worden zonder dat dit als fout beschouwd wordt maar deze deelnemers moeten de lage allelfrequentie en het VUS karakter duidelijk rapporteren op het rapport.

De aanwezigheid van een BRAF V660E « NM_004333.4(BRAF):c.1799T>A (p.Val600Glu) » mutatie werd bevestigd door de firma met een allelfrequentie van 8.2 %.

## *1.1 Stabiliteitstudie*

Een stabiliteitsstudie werd uitgevoerd door een lid van expertencomité die de EKE moleculaire biologie art.33bis/33ter evalueert.
Om de stabiliteit van de coupes te garanderen over de periode van de enquête en dit onafhankelijk van de bewaard temperatuur : kamertemperatuur, 4°C of 30°C; hebben we een stabiliteitsstudie uitgevoerd.

Twee consecutieve coupes werden gestuurd naar de expert voor het begin van de enquêtes (na de ontvangst van de coupes van de firma). Dan werden 3 series van twee consecutieve coupes naar Sciensano verstuurd, samen met de stalen die in de enquête nar de labo's gestuurd werden om deze te bewaren aan verschillende temperaturen voor de hele duur van de enquête.

i) Een eerste serie werd bewaard aan kamer temperatuur om de stabiliteit aan deze temperatuur tijdens een zending te garanderen.

ii) Een tweede serie werd bewaard aan 4°C; aangeraden temperatuur door de firma voor de bewaring van coupes met name in het kader van IHC analyses.

iii) Een laatste serie werd bewaard aan 30°C om de stabiliteit de garanderen even wanneer de temperatuur tijdens de zending hoger dan 25°C zou zijn.

De drie series van coupes werden bewaard aan deze verschillende temperatuur gedurende 1 maand en werden naar onze expert verstuurd (aan wie de eerste coupes werden gestuurd) en geanalyseerd meet zijn eigen NGS methode.

De eerste resultaten tonen aan dat er geen impact van de bewaringstemperatuur was op de NGS analyse uitgevoerd door het expert laboratorium. Dit laboratorium heeft het staal als EGFR WT vastgesteld voor de 3 casussen en het heeft de BRAF mutatie « NM_004333.4(BRAF):c.1799T>A (p.Val600Glu) » in elke casus wel degelijk teruggevonden.

Meer details van deze studie en van de studie dat werd uitgevoerd van de ISH analyse in het kader van de amplificatie van het HER2 gen zullen gegeven worden in een aparte publicatie tijdens de zomer van 2025 op onze website. We zullen de laboratoria op de hoogte brengen van de publicatie per email.

## 2 Deelnemers

17 laboratoria waren voor deze enquête ingeschreven; 7 laboratoria voor klinische biologie, 1 centrum voor menselijke erfelijkheid en 9 voor anatomische pathologie.
Alle ingeschreven laboratoria hebben geantwoord.

## 3 Resultaten

De laboratoria hebben 4 FFPE-coupes van 4 µm per klinische casus ontvangen. We hebben aan de laboratoria gevraagd om de aanwezigheid van EGFR-mutaties met moleculaire methodes op te sporen. Er werd eveneens aan de laboratoria gevraagd om i) de datum van de DNA extractie aan te geven, evenals de gebruikte methode en de kwantiteit en kwaliteit van het geëxtraheerde DNA indien bepaald ii) de datum van de genotypering aan te geven evenals de gebruikte NM referentie . We hebben ook de biologische en klinische interpretaties, de allelfrequentie indien deze bepaald werd gevraagd. Voor deze laatste werd aan de laboratorai aangegeven de huidige NGS richtlijnen van de Compermed te volgen.
De laboratoria werden ook gevraagd om hun gebruikte methode te rapporteren.

### *3.1 Resultaten per staal*

1.A Groep NGS (11/17)

| Staal | Verwachte resultaten (VAF) | Vastgestelde resultaten | Aantal laboratoria (%) |
|---|---|---|---|
| F20008604 | Geen mutatie<br>EGFR Wild type | Geen mutatie<br>EGFR Wild type | 11 (100) |

Met een educatief doel, hebben we gevraagd aan de laboratoria om hun therapeutische conclusies getrokken uit van de analyse in te vullen.

| Staal | Eventueel vastgestelde therapeutische conclusies | Aantal laboratoria (/5) |
|---|---|---|
| F20008604 | Afwezigheid van een pathogene of mogelijke pathogenische mutatie in het EGFR gen. aanwezigheid van een variant BRAF V600E, die als pathjogenisch geklasseerd is met aangewezen therapeutisch belang ➔ behandeling met Dabrafenib en Trametinib (BRAF en MEK inhibitoren) | 4 |
| | Er werden geen vermoedelijk pathogen varianten in EGFR geïdentificeerd. Geen indicatie voor EGFR TKI therapie | 7 |
| | EGFR mutatie negatief geen indicatie voor anti-EGFR TKI behandeling bij longtumoren ➔ Er wordt aangeraden om een RNA fusie analyse uit te voeren. | 1 |

1.B Groep PCR (6/17)

| Staal | Verwachte resultaten | Vastgestelde resultaten | Aantal laboratoria (%) |
|---|---|---|---|
| F20008604 | Geen mutatie<br>EGFR Wild type | Geen mutatie<br>EGFR Wild type | 6 (100) |

Met een educatief doel, hebben we gevraagd aan de laboratoria om hun therapeutische conclusies getrokken uit van de analyse in te vullen.

| Staal | Eventueel vastgestelde therapeutische conclusies | Aantal laboratoria (/5) |
|---|---|---|
| F20008604 | De afwezigheid van een EGFR mutatie in NSCLC betekent over het algemeen geen respons op EGFR TKI therapie | 3 |
| | Er zijn geen EGFR mutaties gedetecteerd die gecovered zijn door de Idylla EGFR. Dit sluit niet uit dat een potentiele mutatie aanwezig is ➔ Er wordt aangeraden om een NGS analyse bijkomend te laten uitvoeren. | 1 |
| | De aanwezigheid van een BRAF mutatie betekent dat de patiënt in aanmerking komt voor een doelgerichte therapie ( dabrafenib ou trametinib) of immunotherapie met of zonder chemotherapie en is van slechte prognose. | 1 |
| | NVT | 1 |

### *3.2 Resultaten per Laboratorium*

| Lab . | Gebruikte methode | | Vastgestelde resultaten | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Techniek/toestel | EGFR mutaties | EGFR mutaties | AF | EGFR mutaties | Klinische klass. | Therapeutisch besluit | Score |
| 1 | PCR-Idylla - Biocartis | Idylla EGFR mutation test-Biocartis | EGFR WT | NVT | NVT | NVT | Patiënt komt in aanmerking voor doelgerichte therapie (dabrafenib of trametinib) of immunotherapie met of zonder chemotherapie met slechte prognose | geslaagd |
| | Digital LightCycler System-Roche | LightMix Digital EGFR_Ex19 del-Roche | | | | | | |
| | NGS-DNA seq-Miseq Dx-Illumina | Qiseq DNA custom panel-Qiagen | | | | | | |
| 2 | PCR-Idylla - Biocartis | Idylla EGFR mutation test-Biocartis | Afwezigheid van mutaties | / | / | / | / | geslaagd |
| 3 | NGS-DNAseq-Miseq-Illumina | Sophia STS panel-SOPHIA genetics | Geen EGFR varianten | / | / | / | 1st lijn met combinatie Dabrafenib/Trametinib (FDA) of Encorafenib/Binimetinib (EMA) voor casus met BRAF mutaties. 2de lijn: de NCCN raadt Vemurafenib aan voor patiënten die de combinatie niet verdragen | geslaagd |
| 4 | NGS-DNA seq-Ion Torrent S5 Gene studio-ThermoFischer | Ion AmpliSeq Custom targeted NGS panel-ThermoFischer | EGFR WT | NVT | NVT | NVT | Afwezigheid van EGFR mutaties. Mutatie BRAF gedetecteerd. De FDA heeft gebruik van Dabrafenib en Trametinib (FDA) goedgekeurd voor patiënten met NSLC met een BRAF mutatie | geslaagd |

| Lab . | Gebruikte methode | | Vastgestelde resultaten | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Techniek/toestel | EGFR mutaties | EGFR mutaties | AF | EGFR mutaties | Klinische klass. | Therapeutisch besluit | Score |
| 5 | NGS-DNA seq-Nextseq 550Dx-Illumina | Custom twist panel-Twist Bioscience | Geen | NVT | NVT | NVT | Afwezigheid van een pathogene of mogelijke pathogenische mutatie in het EGFR gen. aanwezigheid van een variant BRAF V600E, die als pathogenisch geklasseerd is met aangewezen therapeutisch belang. Therapie met BRAF en MEK inhibitoren (PMID: 32010589) | geslaagd |
| 6 | NGS-DNA seq-Ion Torrent S5 Gene studio-ThermoFischer | Ion AmpliSeq Custom targeted NGS panel-ThermoFischer | Geen mutatie | / | / | / | Afwezigheid van EGFR mutatie. Geen baat van een TKI therapie. | geslaagd |
| 7 | ddPCR-QX200-Biorad | Custom panel (G746_A750 del, T790M, G719X, L858/L861Q) -Biorad | geen mutatie | / | / | / | De afwezigheid van een EGFR mutatie in NSCLC betekent over het algemeen geen respons op EGFR TKI therapie | geslaagd |
| 8 | PCR-Idylla - Biocartis | Idylla EGFR mutation test-Biocartis | geen mutatie gedetecteerd | / | / | / | Er zijn geen EGFR mutaties gedetecteerd die gecoverde zijn door de Idylla EGFR. Dit sluit niet uit dat een potentiële mutatie aanwezig is. Er wordt aangeraden om een NGS analyse bijkomend te laten uitvoeren. | geslaagd |

| Lab . | Gebruikte methode | | Vastgestelde resultaten | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Techniek/toestel | EGFR mutaties | EGFR mutaties | AF | EGFR mutaties | Klinische klass. | Therapeutisch besluit | Score |
| 9 | PCR-Idylla system-Biocartis | Idylla EGFR mutation test-Biocartis | WT | / | / | / | Door afwezigheid van een EGFR mutatie zal de patiënt niet in aanmerking komen voor behandeling met EGFR TKI | geslaagd |
| 10 | PCR-Idylla-Biocartis | Idylla EGFR mutation test-Biocartis | Geen mutatie gedetecteerd | / | / | / | geen mutatie gedetecteerd in EGFR codons 18,19,20 of 21. Dit is geassocieerd met gebrek aan respons op TKI | geslaagd |
| 11 | NGS-DNA seq-Miseq-Illumina | Qiseq DNA custom panel-Qiagen | Geen mutatie | geen mutatie | geen mutatie | geen mutatie | Er werden geen vermoedelijk pathogene varianten in EGFR geïdentificeerd. Geen indicatie voor EGFR TKI therapie | geslaagd |
| 12 | NGS-DNA seq-Miseq-Illumina | Ampliseq Custom panel (EGFR exon 3,7,12,15,18-21)-Illumina | Geen mutatie | / | / | / | patiënten met WT EGFR tumoren zullen geen baat hebben bij EGFR/TKI therapie | geslaagd |
| 13 | NGS-DNA seq-Nextseq 550DX-Illumina | Custom Twist Panel-Twist Bioscience | EGFR mutatie negatief | / | / | / | EGFR mutatie negatief geen indicatie voor anti-EGFR TKI behandeling bij longtumoren. RNA fusie analyse aangewezen | geslaagd |
| 14 | NGS-DNA seq-Miseq-Illumina | Ampliseq focus panel-Illumina | Geen EGFR mutatie gedetecteerd | / | / | / | Er werd geen EGFR mutatie gedetecteerd, geen indicatie voor anti-EGFR TKI | geslaagd |

| Lab . | Gebruikte methode | | Vastgestelde resultaten | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Techniek/toestel | EGFR mutaties | EGFR mutaties | AF | EGFR mutaties | Klinische klass. | Therapeutisch besluit | Score |
| 15 | NGS-DNA seq-Nextseq550 DX-Illumina | Qiaseq DNA custom panel-Qiagen | Geen mutatie gedetecteerd | / | / | / | 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 mutaties is er een slechte respons voor EGFR TKI therapie | geslaagd |
| 16 | NGS-DNA seq-Novaseq6000-Illumina | Custom SeqCap EZ hyperCap panel-Roche | Geen mutatie | geen mutatie | NVT | NVT | afwezigheid van vermoedelijk pathogene varianten in het EGFR gen (Tier I). Geen goede respons op EGFR TKI (MCCM guidelines NSCLC V.8 2024) | geslaagd |
| 17 | NGS-RNAseq-Novseq Xplus-Illumina | Archer CTL panel-Integrated DNA technologies | Geen mutatie | / | / | / | geen mutatie predictief voor gevoeligheid aan doel gerichte behandeling met EGFR inhibitoren kan niet worden aangetoond | geslaagd |

### *3.3 Commentaren*

- Geen enkel laboratrium heeft een EGFR mutatie gedetecteerd
- 3 laboratoria die een NGS-methode gebruikt hebben, hebben aangeraden een therapie mat BRAF inhibitoren door de aanwezigheid van een BRAF mutatie.
- Een laboratorium dat een PCR-methode gebruik heeft, heeft aangeraden om een NGS analyse uit te voeren.
- Een laboratorium dat een NGS-methode gebruik heeft, heeft aangeraden om een RNA analyse uit te voeren teneinde mogelijke fusiegenen te detecteren die betrokken zijn bij longkanker.

## 4 Gebruikte methodes

1.A Groep NGS (11/17)

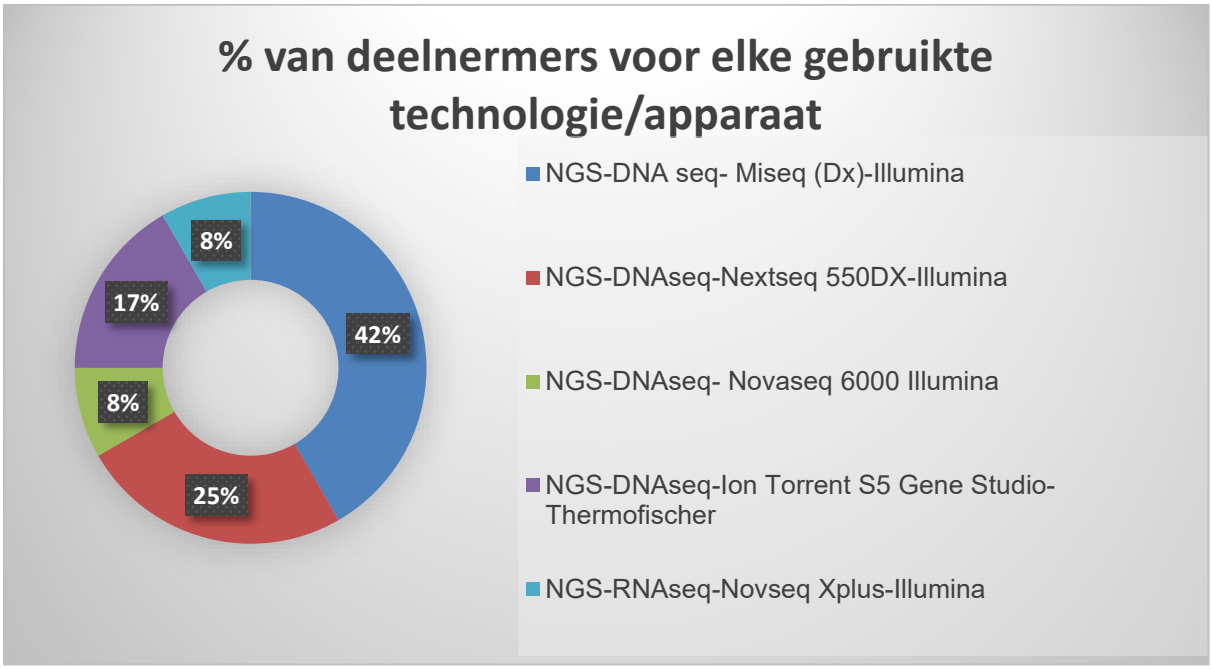


**Chart 1 : Verdeling van laboratoria per gebruikte technologie voor de detectie van EGFR mutaties met een NGS techniek.**

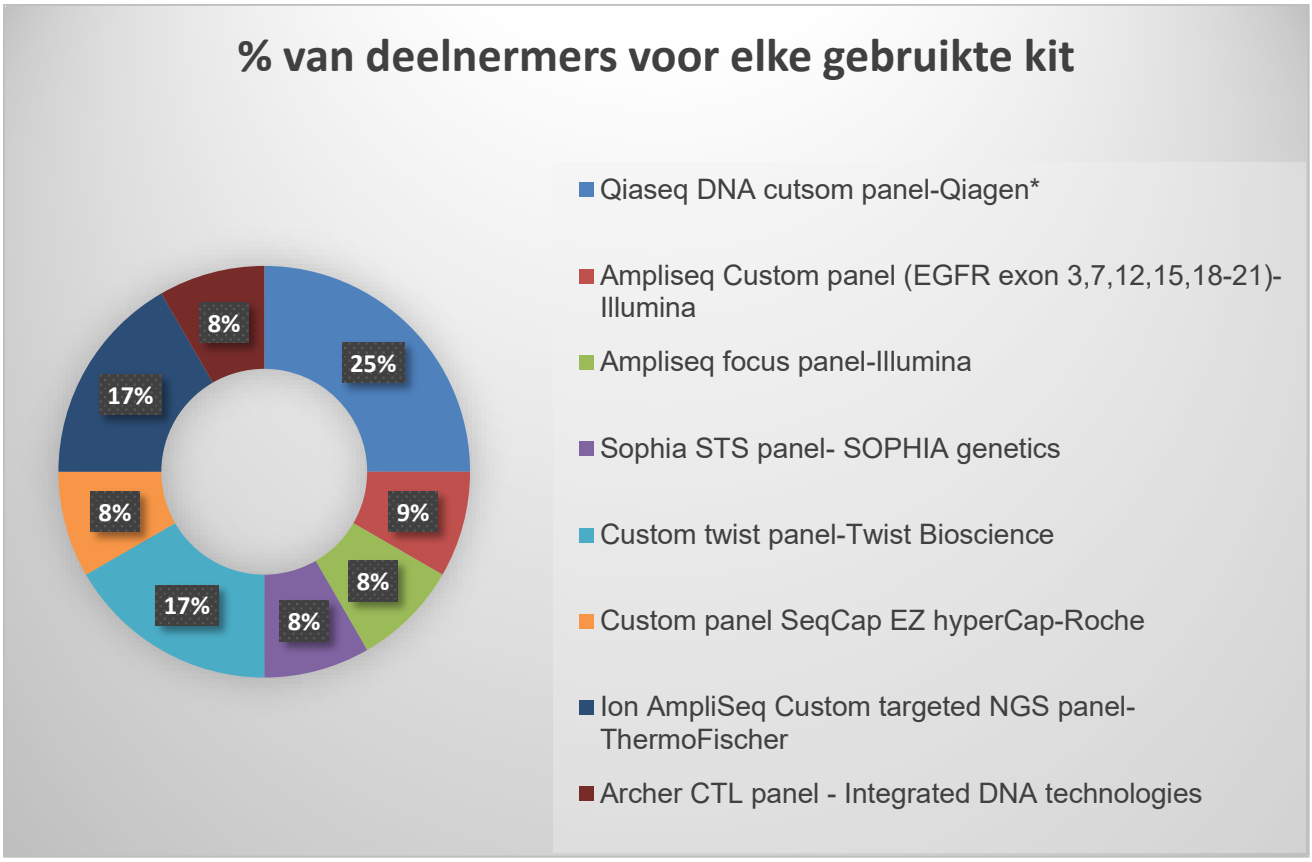


**Chart 2: Verdeling van laboratoria per gebruikte kit voor de detectie van EGFR mutaties met een NGS techniek.**

De meest gebruikte methodologie door de NGS gebruikers is de DNA sequencing met de Miseq sequenceur van Illumina. Het meest gebruikte kit is de “Qiaseq DNA custom panel” van Qiagen.

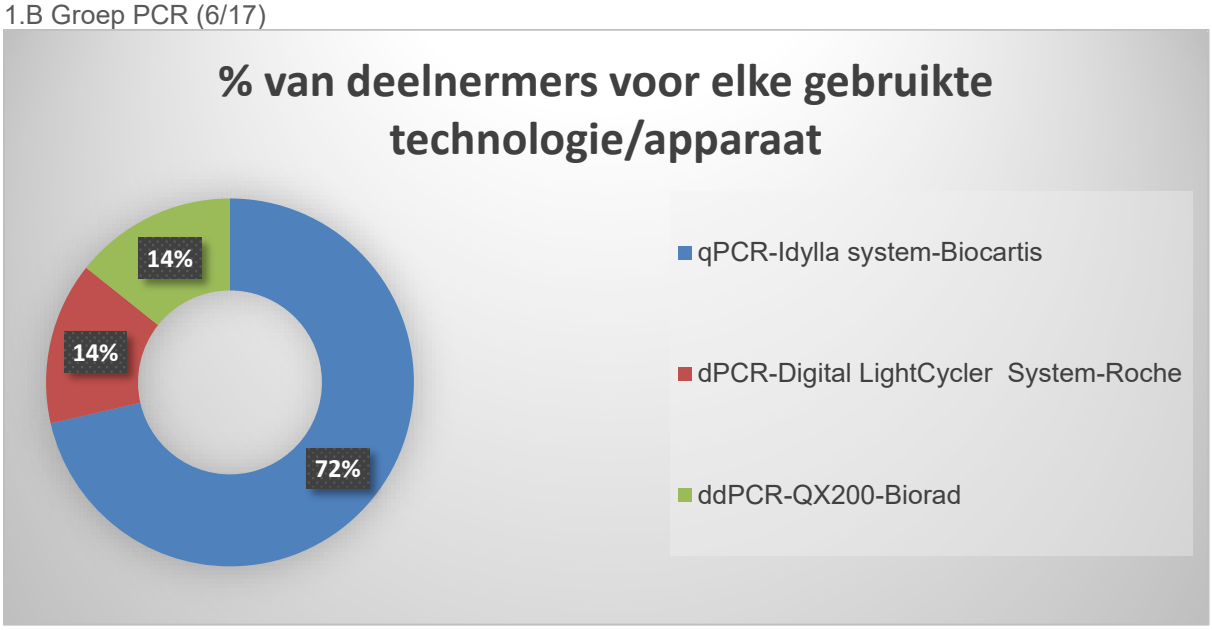


**Chart 3 : Verdeling van laboratoria per gebruikte technologie voor de detectie van EGFR mutaties met een PCR techniek.**

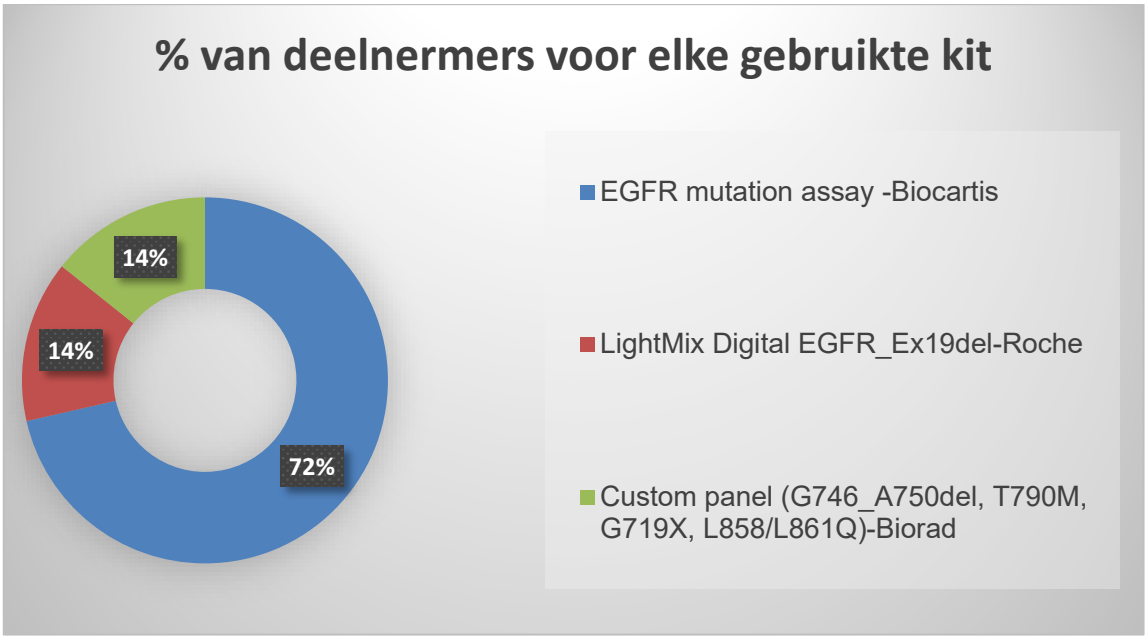


**Chart 4: Verdeling van laboratoria per gebruikte kit voor de detectie van EGFR mutaties met een PCR techniek.**

De meest gebruikte methodologie door de PCR gebruikers is de qPCR met de Idylla systeem van Biocartis. Het meeste gebruikte kit is de “EGFR mutation assay “ van Biocartis.

## 5 Conclusies over de resultaten van de laboratoria

De resultaten van de laboratoria voor klinische biologie en pathologische anatomie zijn bevredigend. Alle laboratoria hebben het staal aangeduid als Wild Type. Het was verwacht door de NGS analyse uitgevoerd door de firma. Alle laboratoria hebben een geslaagde score behaald wat betreft de genotypering. Het deel interpretatie en therapeutische conclusies werd niet gescoord.
3 laboratoria hebben een doelgerichte therapie aangeraden door de aanwezigheid van een BRAF mutatie. Inderdaad, in het kader van niet squameuze niet kleincellig longcarcinomen kan een therapie met BRAF inhibitoren van type Dabrafenib of Tremetinib aangeraden worden voor een tumor met een BRAF mutatie. Dit betekent niet dat de andere laboratoria de guidelines niet gevolgd hebben; deze hebben enkel aan het eerste doel van de enquête geantwoord hebben namelijk de detectie van EGFR mutaties en zij hebben geen rekening gehouden met de aanwezigheid van andere mutaties om zijn therapeutische conclusies te geven. Het betekent niet dat zij deze richtlijnen in routine niet volgen.

# INTERPRETATIE VAN HET INDIVIDUELE RAPPORT

Naast dit globale rapport, heeft u ook toegang tot een individueel rapport dat via email u gestuurd werd.

Hieronder vindt u de evaluatie criteria waarop de evaluatie die u krijgt in uw individueel rapport gebaseerd is.

**Evaluatiecriteria en bepaling van de toegewezen waarde**

Het evaluatiecriterium is de correcte detectie van de aanwezigheid of afwezigheid van een EGFR mutatie (in de scope van de NGS conventie) in het staal. De biologische en klinische classificaties zijn gescoord voor de laboratoria die een NGS techniek gebruiken. De classificaties zijn gevraagd met een educatief doel voor de laboratoria die een PCR techniek gebruiken.
Voor deze laboratoria zijn de classificaties dus niet gescoord. Inderdaad, deze classificaties zijn bepaald door NGS richtlijnen van de Compermed (BELAC 2-405-NGS R4-2023).
In het geval van de huidige casus, werden deze classificaties niet gescoord door de afwezigheid van een EGFR mutatie.

De aanwezigheid of afwezigheid van mutaties is gecertifieerd met een NGS analyse uitgevoerd door de firma (biobank) waarvan de FFPE blokken komen. De deelnemers die een NGS techniek gebruiken zijn niet geëvalueerd samen met de PCR gebruikers; het evalutatiecriterium blijft de correcte detectie van de mutatie in het gemuteerd staal.
In het geval van discrepantie tussen de resultaten van de deelnemers en het certificatie van de firma, zal het expertencomité de situatie analyseren en het zal de nodige beslissingen nemen wat betreft de evaluatie van de deelnemers.

**EINDE**

© Sciensano, Brussel 2025
Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder akkoord van Sciensano. De individuele resultaten van de laboratoria zijn vertrouwelijk. Zij worden door Sciensano niet doorgegeven aan derden, noch aan de leden van de Commissie, de Comités van experten of de werkgroep EKE.