

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO's
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

***AD HOC* EXPERTENCOMITE**

EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE

GLIBAAL RAPPORT
Next Generation Sequencing (NGS)

Vaste tumoren-DNA

2023-1

Sciensano/NGS EKE/14-NL

Biologische gezondheidsrisico's
Kwaliteit van laboratoria
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.sciensano.be

AD HOC EXPERTENCOMITE

Sciensano			
Secretariaat	TEL:	02/642.55.22	FAX: 02/642.56.45
	e-mail:	QL_secretariat@sciensano.be	
Aline Antoniou	Enquêtecöördinator	TEL:	02/642.55.27
		e-mail:	Aline.Antoniou@sciensano.be
Vanessa Ghislain	Vervanger enquêtecöördinator	TEL:	02/642.52.08
		e-mail:	Vanessa.Ghislain@sciensano.be
Experten	Instelling		
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		

De voorlopige versies van dit rapport werden voorgelegd aan de experten op: 24/04/2023, 22/05/2023.

Dit rapport werd besproken in de vergadering van het *ad hoc* expertencomité van: 22/05/2023.

Verantwoordelijkheden:

Het *ad hoc* expertencomité 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 studie wordt door de dienst Kwaliteit van laboratoria van Sciensano genomen.

Autorisatie van het rapport : door Aline Antoniou, enquêtecoördinator

Publicatiedatum: 23/06/2023

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:
<https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria>

INHOUDSTAFEL

1. INLEIDING	5
1.1. Doel van de EKE – vaste tumoren.....	5
1.2. Uitbestede activiteit	5
1.3. Materiaal.....	5
1.4. Vraag.....	5
1.5. Evaluatiecriteria	7
2. RESULTATEN	8
2.1. Overzicht van de deelnemers.....	8
2.2. Overzicht van de methoden.....	8
2.3. Overzicht van de resultaten.....	13
2.3.1. NGS-2023-1	13
2.3.2. NGS-2023-2	18
2.3.3. NGS-2023-3.....	21
2.3.4. Slaagpercentage van de deelnemers.....	24
2.3.5. Analyse van regio's van de NGS overeenkomst die niet door de panels worden gedekt.....	25
3. BIJLAGE	26
3.1. Regio's van de NGS overeenkomst geanalyseerd	26
3.2. Overzicht van de klinische conclusies	27
3.2.1. NGS-2023-1	27
3.2.2. NGS-2023-2	32
3.2.3. NGS-2023-3	36
3.3. Interpretatie van het individueel rapport	41

1. INLEIDING

De organisatie van EKE maakt deel uit van het nationale proefproject voor de invoering van de NGS-technologie in onze gezondheidszorg, dat begon in januari 2016. Alle informatie over het NGS-proefproject is te vinden in het NGS Roadbook:

https://www.compermed.be/docs/Roadbook%20PersMed%20NGS%20NL_0.pdf

1.1. Doel van de EKE – vaste tumoren

Deze EKE heeft als doel de stand van zaken na te gaan betreffende de wijze waarop somatische varianten in de vaste tumoren worden gedetecteerd, geselecteerd en gerapporteerd in het patiënten rapport.

1.2. Uitbestede activiteit

De tumorstalen werden geleverd door de firma Discovery Life Science.

1.3. Materiaal

Het materiaal voor deze studie bestond uit:

- 3 tubes met 1 of 2 FFPE coupes van 10 µm dikte afkomstig van 3 verschillende stalen met de volgende referentie: NGS-2023-1, NGS-2023-2 en NGS-2023-3.

Het jaar waarin de stalen werden gefixeerd en ingebed is 2020. De coupes werden gemaakt een maand voordat de FFPE slides naar de deelnemers werden verstuurd. Er werden stabiliteitstesten uitgevoerd en deze garanderen de stabiliteit van de FFPE slides gedurende ten minste 3 maanden.

De coupes werden serieel verdeeld in de tubes van de deelnemers. De eerste en laatste coupe van het blokje werden door de firma Discovery Life Science gebruikt voor een HE kleuring, teneinde het tumorpercentage en de homogeniteit van de tumor te beoordelen.

Tumorpercentage aan het begin en einde van de stalen:

NGS-2023-1 : 95%

NGS-2023-2 : 75%

NGS-2023-3 : 60%

1.4. Vraag

De stalen moesten geanalyseerd worden volgens de in het laboratorium geldende procedures voor de volgende maligniteiten:

NGS-2023-1: Schildkliercarcinoom

NGS-2023-2: Endometriumcarcinoom

NGS-2023-3: Long adenocarcinoom

Voor elk staal werd er gevraagd om alle varianten die volgens de geldende procedures van het laboratorium zouden worden gerapporteerd in het klinisch rapport van de patiënt, door te geven, maar enkel voor die regio's die zijn beschreven in de NGS overeenkomst en volgens de ComPerMed workflows (dus niet de andere eventueel geïdentificeerde varianten) :

staal	Klinische context	genen
NGS-2023-1	Schildkliercarcinoom, T2N1b, schildklier, coupes FFPE, V/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> promotor (c.-124C>T (C228T), c.-146C>T (C250T)) <i>TP53</i> (alle coderende exonen)
NGS-2023-2	Endometriumcarcinoom, endometrium, coupes FFPE, V/67	<i>POLE</i> (exon 9 (codons 286, 297), exon 13 (codons 411, 424) et exon 14 (codons 456, 459, 465)) <i>TP53</i> (alle coderende exonen)
NGS-2023-3	long adenocarcinoom , longbiopsie, coupes FFPE, M/72, roker	<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)

Er werd ook gevraagd om de aanbevelingen van ComPerMed en van MolecularDiagnostics.be over de interpretatie van varianten en de inhoud van klinische rapporten van NGS te raadplegen die gepubliceerd werden op de website van BELAC:

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

Op de antwoordwebsite: <https://eqatoolkit.sciensano.be/NGS/>, voor de studie NGS EKE vaste tumoren 2023/1, werd er aan de deelnemers gevraagd:

- De vragenlijst met betrekking tot de analysemethode in te vullen.
- De volgende parameters in te voeren voor elke variant die werd geïdentificeerd en volgens de procedures in het klinisch rapport wordt vermeld, en dit volgens de richtlijnen van BELAC:
 - Naam van het gen en het bijhorend NM nummer (dropdown menu)
 - Referentie nomenclatuur van de coderende DNA sequentie volgens HGVSn: <http://varnomen.hgvs.org/>
 - Referentie nomenclatuur van de proteïne sequentie volgens HGVS_p: <http://varnomen.hgvs.org/>
 - Allel frequentie
 - Biologische classificatie (dropdown menu)
 - Klinische classificatie (dropdown menu)
 - Bewijs van de classificatie Tier (dropdown menu)

Voor elk staal:

- De conclusies in de vrije tekst te schrijven, volgens de voorgestelde standaardinformatie (diagnose, prognose, therapie,...), en indien van toepassing voor het geëvalueerde staal.
- Er werd aan de deelnemers gevraagd om via de hen toegestuurde Belnet-link de ruwe data (FASTQ, BAM, BAI en VCF bestanden) door te sturen voor elk staal, de BED file(s) met de regio's die het gebruikte panel bevat en de bestanden met de posities en sequenties van de primers die gebruikt werden bij de verrijkingsmethode (MANIFEST, BED, ...).

1.5. Evaluatiecriteria

Dit rapport bevat de resultaten van de 18 deelnemende laboratoria. Voor de identificatie van de varianten, zijn de evaluatiecriteria gebaseerd op de consensus van de laboratoria met een drempelwaarde van 2/3 van de deelnemers.

In detail zijn de evaluatiecriteria:

1/ De identificatie van alle varianten gerapporteerd door ten minste 2/3 van de deelnemers, aanwezig in de 3 stalen: consensus voor de te rapporteren varianten. De mediane waarden van de allelfrequenties die de laboratoria voor deze varianten rapporteerden, worden alleen ter informatie weergegeven, net zoals de SD-waarden.

2/ De afwezigheid van de varianten gerapporteerd door minder dan 1/3 van de deelnemers, voor de 3 stalen: consensus voor de niet te rapporteren varianten.

Opmerkingen: De varianten gerapporteerd door 1/3 tot 2/3 van de laboratoria worden ook gedetailleerd beschreven in de rapporten en worden enkel ter informatie weergegeven: geen consensus. Een variant met een consensus die door de laboratoria werd gevonden, kan niet worden geëvalueerd indien de groep van experts deze consensus niet valideert.

Wat betreft de biologische en klinische interpretaties, voor de consensus voor de te rapporteren varianten, worden de antwoorden van de laboratoria gerangschikt als 'verwacht resultaat' (in groen), 'aanvaardbaar resultaat' (in geel), 'niet aanbevolen maar aanvaardbaar' (in oranje), 'niet aanvaardbaar resultaat' (in rood) of 'niet geëvalueerd resultaat' (in grijs). Deze categorieën worden door een groep van experts gedefinieerd door de resultaten van de consensus van de laboratoria te vergelijken met de resultaten die werden verkregen met behulp van de Belgische richtlijnen. Het bewijs voor de classificatie Tier van de laboratoria wordt in een tabel weergegeven.

De inhoud van de algemene conclusies die door de laboratoria werden gerapporteerd, wordt geclassificeerd op basis van standaardinformatie die door ten minste twee laboratoria werd opgenomen. Er is een analyse van regio's van de NGS overeenkomst die niet door de panels worden gedekt en deze wordt in het globaal rapport en in de individuele rapporten van de betrokken laboratoria gedocumenteerd.

2. RESULTATEN

2.1. Overzicht van de deelnemers

18 Belgische laboratoria werden opgenomen in de analyse van de resultaten. 3 deelnemers zitten in een participatief model, deze laboratoria voeren enkel de pre- en post-analytische fase uit. Zij besteden hun sequencing uit aan een laboratorium dat hiervoor verantwoordelijk is.

Regio	N
Vlaams Gewest	11
Brussels Hoofdstedelijk Gewest	4
Waals Gewest	3
Totaal	18

Laboratorium	N
Pathologische anatomie	10
Klinische biologie	7
Humane genetica	1
Totaal	18

2.2. Overzicht van de methoden

Q1. Welk referentiegenoom gebruikt u voor de analyse?

Antwoorden	N
hg19/GRCh37	15
hg38/GRCh38	3

Opmerkingen: Sommige laboratoria gebruiken verschillende referentiegenomen afhankelijk van de indicatie.

Q2. Welke sequencer gebruikt u voor NGS analyses voor vaste tumoren (firma en platform)?

Antwoorden	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. Welke genpanels worden gebruikt voor NGS analyses op DNA voor vaste tumoren (naam van commerciële en / of custom kits)?

Antwoorden	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

Opmerkingen: Sommige laboratoria gebruiken verschillende genpanels afhankelijk van de indicatie.

Q4. Welke aanrijkingstrategie wordt gebruikt voor NGS analyses op DNA voor vaste tumoren?

Antwoorden	N
Amplicon-based	9
Probe-based	9

Q5. Is/zijn uw methode(s) single of paired-end?

Antwoorden	N
Paired-end	15
Single-end	3

Q6. Wat is de lengte van de de reads gegenereerd door uw methode?

Antwoorden	N
75	1
100	1
101	1
120	1
150	10
151	2
250	1
300	1
Variabel	1

Q7. Gebruikt uw methode UMI om duplicate reads uit te sluiten?

Antwoorden	N
Nee	13
Ja	5

Q8. Welke bioinformatica software wordt gebruikt voor de secundaire data analyse? (alignment en variant calling)

Antwoorden	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

Opmerkingen: De bio-informatica tools zijn in *open source* gebruikt met de volgende combinaties: 1/ BWA, GATK , Unified Genotyper, MuTect, 2/ BWA, samtools, GATK, Mutect2, 3/ BWA, VarDict

Q9. Welke bioinformatica software wordt gebruikt voor de tertiaire data analyse? (variant annotaties, extra filters,...)

Antwoorden	N
Manueel analyse vanaf openbare databanken	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

Opmerkingen: De bio-informatica tools zijn in *open source* gebruikt met de volgende combinaties: 1/ Annotar, 2/ TransVar

Q10. Wat is de gevalideerde detectielimiet van de allelfrequentie van SNV en indel varianten (VAF%) in vaste tumoren?

	3%	4%	5%	8.5%
SNV (Single nucleotide variants)	1	2	14	1
Indels	2	2	13	1

Opmerkingen: Voor sommige laboratoria kan de detectielimiet variëren afhankelijk van de indicatie.

Q11. Wat is voor SNV en indels het minimum aantal mutante reads op een bepaalde positie die door uw analysemethode wordt geaccepteerd (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

Opmerkingen: Voor sommige laboratoria kunnen deze waarden variëren afhankelijk van de indicatie, de allelfrequentie en de getargete regio's.

Q12. Wat is voor SNV en indels het minimale aantal reads dat op een bepaalde positie wordt geaccepteerd om de aanwezigheid van een variant uit te sluiten?

	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

Opmerkingen: Voor sommige laboratoria kunnen deze waarden variëren afhankelijk van de indicatie, de allelfrequentie en de getargete regio's.

Q13. Welke andere categorieën van somatische varianten dan SNV en indels worden gedetecteerd door uw NGS methode voor vaste tumoren op DNA? CNV, lange indels,...+ vermeld de betrokken genen per categorie van varianten

Antwoorden	N
Lange indels	6
CNV (Copy number variants)	5
MSI	1
TMB	1

Q14. Welk type staal wordt in uw laboratorium gesequeneerd voor het opsporen van somatische varianten?

Antwoorden	N
Paraffineweefsel	18
Cytologisch vocht	6
Vers weefsel	2
Circulerend tumor-DNA	1
Uitstrijkje	1

Q15. Wanneer u, in de routine, somatische varianten in vaste tumoren opspoort op DNA, sequeneert u dan een normaal staal van dezelfde patiënt in parallel met het tumorstaal?

Antwoorden	N
Nee	17
Ja	1

Q16. Voor stalen in paraffine: schat een patholoog de tumorinhoud op een Hematoxyline-Eosine slide (HE) voordat u doorgaat met de NGS analyse?

Antwoorden	N
Ja	18

Q17. Concentreert uw laboratorium de tumorcelpopulatie voorafgaand aan een NGS analyse ?

Antwoorden	N
Ja, met handmatige dissectie m.b.v. een HE slide vooraf omcirkeld door een patholoog	16
In sommige gevallen, wanneer infiltratie van tumoren onvoldoende is, met handmatige dissectie m.b.v. een HE slide vooraf omcirkeld door een patholoog	2

Q18. Wat is het minimum percentage neoplastische cellen dat in het staal moet aanwezig zijn om een NGS analyse uit te voeren?

Antwoorden	N
>5%	2
>10%	15
>20%	1

Opmerkingen: Sommige laboratoria starten ook de NGS analyse onder het aangegeven percentage neoplastische cellen maar negatieve resultaten worden gerapporteerd onder voorbehoud.

Q19. Wat is de minimum hoeveelheid genomisch DNA vereist in uw laboratorium voor het uitvoeren van een NGS analyse op vaste tumoren?

Antwoorden	N
0-10ng	6
11-50ng	4
51-100ng	7
101-200ng	1

Q20. Welke methode wordt gebruikt voor de kwantificatie van DNA?

Antwoorden	N
Qubit	16
NanoDrop	2
Quantus	2

Q21. Welke richtlijnen worden gebruikt voor de interpretatie van de somatische varianten?

Antwoorden	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. Overzicht van de resultaten

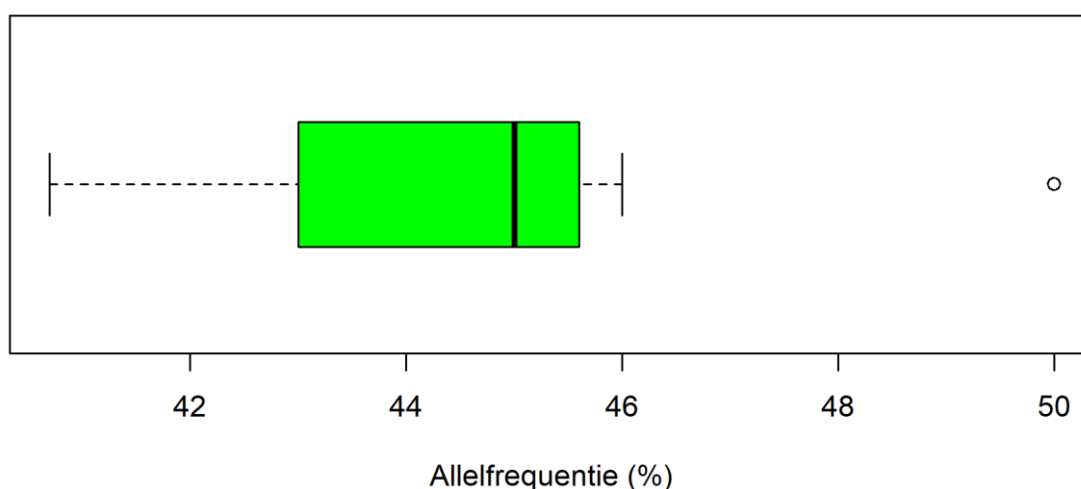
2.3.1. NGS-2023-1

Geslacht	V
Anatomische localisatie van het staal	Schildklier
Staal bewaring	Coupes FFPE
Type primaire tumor, histologie en klinische informatie	Schildkliercarcinoom, T2N1b
Leeftijd van de patiënt	42

Consensus voor te rapporteren varianten

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) (Mediaan allelfrequentie: 45 %)	
Identificatie van de variant	N
Ja	16
Neen	2
Biologische classificatie	N
Pathogeen	16
Totaal	16
Klinische classificatie	N
Tier I	9
Tier II	6
Tier III	1
Totaal	16

Opmerkingen: De variant *HRAS* NM_005343.3; c.182A>G; p.(Gln61Arg) werd gerapporteerd door 16 laboratoria. 2 laboratoria hebben deze variant niet gerapporteerd. Eén van deze laboratoria heeft de analyse op dit staal niet uitgevoerd wegens een technisch probleem en heeft daarom de variant niet geïdentificeerd. Het tweede laboratorium meldde de variant *NRAS* NM_002524.4; c.182A>G; p.(Gln61Arg) in plaats van de variant *HRAS*. Enkel de variant *HRAS*

komt voor in de ruwe data van het laboratorium dat *NRAS* rapporteerde. Dit is waarschijnlijk een menselijke fout die ook voorkomt in de conclusies van dit laboratorium. Voor de biologische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie pathogeen. De klinische classificaties werden niet geëvalueerd door de experts vanwege het ontbreken van een consensus van de laboratoria voor deze variant.

Klinische classificatie	Bewijs van de classificatie 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 voor de niet te rapporteren varianten

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

<i>NRAS</i> NM_002524.4; c.182A>G; p.(Gln61Arg) (Mediaan allelfrequentie: 43 %)	
Identificatie van de variant	N
Ja	1
Neen	17
Biologische classificatie	N
Pathogeen	1
Totaal	1
Klinische classificatie	N
Tier II	1
Totaal	1

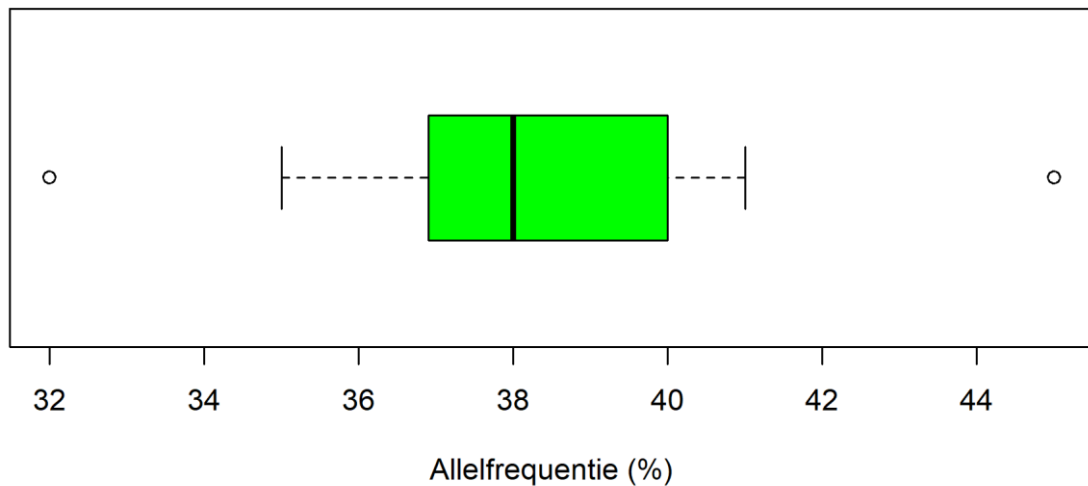
Opmerkingen: Eén laboratorium meldde de variant *NRAS* NM_002524.4; c.182A>G; p.(Gln61Arg) in plaats van de variant *HRAS*. Enkel de variant *HRAS* komt voor in de ruwe data van het laboratorium dat *NRAS* rapporteerde. Dit is waarschijnlijk een menselijke fout die ook voorkomt in de conclusies van dit laboratorium.

Klinische classificatie	Bewijs van de classificatie 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

Niet geëvalueerde varianten

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.? (Mediaan allelfrequentie: 38 %)	
Identificatie van de variant	N
Ja	13
Neen	5
Biologische classificatie	N
Vermoedelijk pathogeen	12
Pathogeen	1
Totaal	13
Klinische classificatie	N
Tier III	10
Tier II	2
Tier I	1
Totaal	13

Opmerkingen: De variant TP53 NM_000546.5; c.783-1G>A; p.? werd gerapporteerd door 13 laboratoria. Deze variant bevindt zich in de intronische regio op positie -1 van de 5' regio van exon 8 van het gen TP53, dit is geen vereiste regio volgens de NGS overeenkomst voor de vaste tumoren (enkel alle coderende exonen). Om deze reden wordt de variant niet geëvalueerd. Experts raden echter aan deze variant te rapporteren als deze in de klinische praktijk wordt geïdentificeerd (potentieële splicing zone; cfr. BELAC 2-405-NGS R3-2021, Exceptions to the workflow v2, blz.29, punt 4). Biologische en klinische classificaties voor deze variant worden ter informatie gegeven.

Klinische classificatie	Bewijs van de classificatie 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

Aanwezigheid of afwezigheid van de variant *TP53* NM_000546.5; c.783-1G>A in deelnemersgegevens (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%

Standaardinformatie	Specifieke informatie opgenomen in de algemene conclusie door tenminste 2 laboratoria enkel voor de variant <i>HRAS</i>	Laboratoria
Diagnostische conclusie	Varianten <i>HRAS</i> zijn recurrent in zowel benigne als maligne schildkliertumoren	12
	De variant <i>HRAS</i> is geassocieerd met een hoog risico op maligniteit	2
	De variant <i>HRAS</i> is een driver variant	4
	Te correleren met de pathologie	3
Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	De prognostische betekenis van de variant <i>HRAS</i> is niet gekend	5
(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere pathologie	De therapeutische betekenis van de variant <i>HRAS</i> is niet gekend	3
Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere pathologie	De variant <i>HRAS</i> is onderwerp van klinische studies ikv farnesyl transferase inhibitie (FTI; tipifarnib) bij vaste tumoren	4

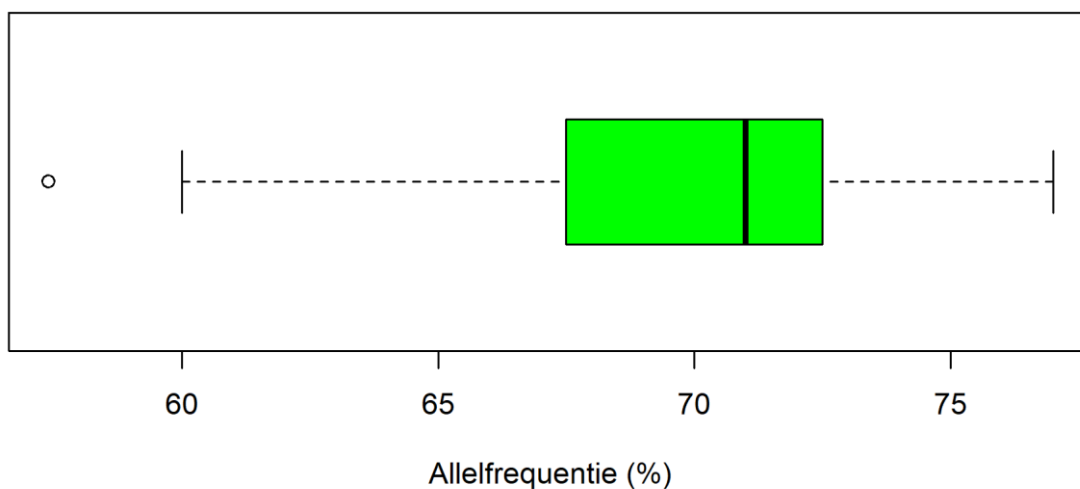
2.3.2. NGS-2023-2

Geslacht	V
Anatomische localisatie van het staal	Endometrium
Staal bewaring	Coupes FFPE
Type primaire tumor, histologie en klinische informatie	Endometrium carcinoom
Leeftijd van de patiënt	67

Consensus voor te rapporteren varianten

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

TP53 NM_000546.5; c.574C>T; p.(Gln192*) (Mediaan allelfrequentie: 71 %)	
Identificatie van de variant	N
Ja	15
Neen	3
Biologische classificatie	N
Vermoedelijk pathogeen	10
Pathogeen	5
Totaal	15
Klinische classificatie	N
Tier II	8
Tier I	6
Tier III	1
Totaal	15

Opmerkingen: De variant TP53 NM_000546.5; c.574C>T; p.(Gln192*) werd gerapporteerd door 15 laboratoria. 3 laboratoria hebben deze variant niet gerapporteerd. Bij deze 3 laboratoria is de variant aanwezig in hun ruwe data: bij 2 laboratoria in de VCF en BAM files; bij 1 laboratorium enkel in de BAM files. De mediane allelfrequentie van deze variant is 71%. De allelfrequentie van de mutatie ligt boven de detectielimiet van de laboratoria. In hun conclusies stellen de 3 laboratoria dat hun analyse niet contributief is wegens onvoldoende sequentiekwaliteit. Bij deze

laboratoria ligt het aantal gesequeneerde reads op de positie van de variant (respectievelijk 71, 209 en 110) lager dan hun minimum aantal reads om de variant uit te sluiten (respectievelijk 500, 350 en 300). De mediane coverage van alle laboratoria op deze positie is 584 reads. 5 laboratoria die de variant rapporteerden, gaven in hun conclusies aan dat de kwaliteit van het staal niet optimaal was. Wat betreft de biologische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie vermoedelijk pathogeen. De classificatie pathogeen wordt beschouwd als niet aanbevolen volgens de Belgische richtlijnen maar aanvaardbaar omdat dit geen invloed heeft op de follow-up van de patiënt. In de Belgische richtlijnen wordt een Loss-of-Function (LoF) van het type frameshift in een Tumor Suppressor (TS) gen geclassificeerd als vermoedelijk pathogeen. Enkel de somatic missense or in-frame indels varianten worden in aanmerking genomen in de 'Exceptions to the workflow v2' van de Belgische richtlijnen (blz. 29, punt 1). De klinische classificaties werden niet geëvalueerd door de experts vanwege het ontbreken van een consensus van de laboratoria voor deze variant.

Klinische classificatie	Bewijs van de classificatie 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

Aanwezigheid of afwezigheid van de variant *TP53* NM_000546.5; c.574C>T; p.(Gln192*) in deelnemersgegevens (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%

Standaardinformatie	Specifieke informatie opgenomen in de algemene conclusie door tenminste 2 laboratoria	Laboratoria
Diagnostische conclusie	De aanwezigheid van een variant <i>TP53</i> is indicatief voor een sereus-type endometriumcarcinoom	4
	Moleculaire classificatie endometriumcarcinoma: <i>TP53</i> -mutant endometriumadenocarcinoma	3
	Te correleren met histologie-immuunhistochemie	5
Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	De variant <i>TP53</i> is geassocieerd met een slechte prognose	10
Andere	Kwaliteit van het staal suboptimaal	8

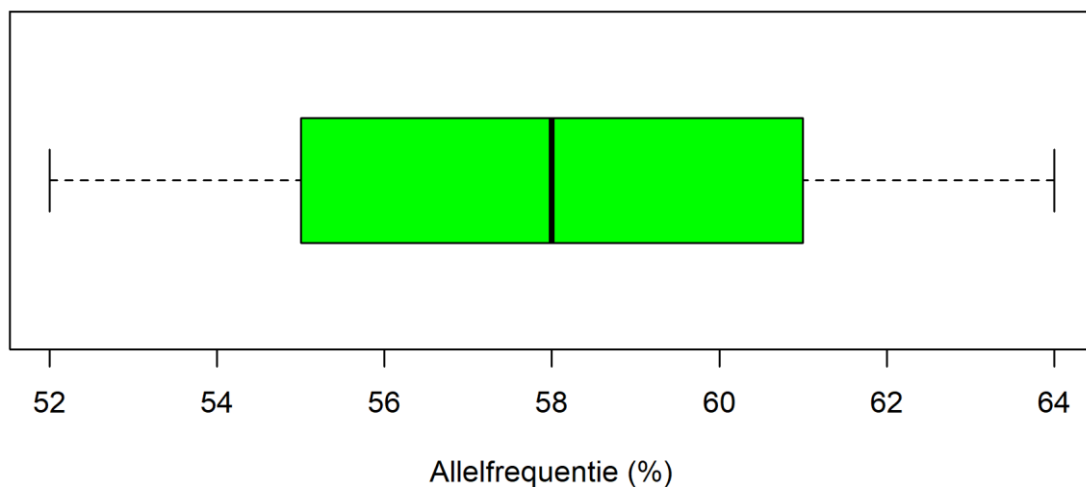
2.3.3. NGS-2023-3

Geslacht	M
Anatomische localisatie van het staal	Longbiopsie
Staal bewaring	Coupes FFPE
Type primaire tumor, histologie en klinische informatie	Long adenocarcinoom
Leeftijd van de patiënt	72

Consensus voor te rapporteren varianten

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) (Mediaan allelfrequentie: 58 %)	
Identificatie van de variant	N
Ja	17
Neen	1
Biologische classificatie	N
Pathogeen	11
Vermoedelijk pathogeen	6
Totaal	17
Klinische classificatie	N
Tier II	12
Tier I	4
Tier III	1
Totaal	17

Opmerkingen: De variant *KRAS* NM_004985.4; c.437C>T; p.(Ala146Val) werd gerapporteerd door 17 laboratoria. Eén laboratorium heeft de analyse op dit staal niet uitgevoerd wegens een technisch probleem en heeft daarom de variant niet geïdentificeerd. Voor de biologische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie vermoedelijk pathogeen. De classificatie pathogeen wordt beschouwd als niet aanbevolen volgens de Belgische richtlijnen

maar aanvaardbaar omdat dit geen invloed heeft op de follow-up van de patiënt. In de Belgische richtlijnen staat niet deze variant in de tabel 'Annex 1 Consensus Pathogenic Variants (CPV) in the Convention genes of solid and hematological tumors v2' (enkel de variant A146T/Ala146Thr) en de classificatie moet de scoring table volgen. Voor de klinische classificatie is het verwachte resultaat voor deze variant de classificatie Tier II vanwege de consensus van de laboratoria. De classificatie Tier I wordt als aanvaardbaar beschouwd, omdat het onderscheid tussen de classificaties Tier I en Tier II niet duidelijk gedefinieerd is wanneer de variant geen therapeutische implicatie heeft. De classificatie Tier III wordt als niet-aanvaardbaar beschouwd gezien het prognostische nut van deze variant.

Klinische classificatie	Bewijs van de classificatie 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

Standaardinformatie	Specifieke informatie opgenomen in de algemene conclusie door tenminste 2 laboratoria	Laboratoria
Diagnostische conclusie	Varianten <i>KRAS</i> gen zijn recurrent in NSCLC	5
Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	De prognostische betekenis van de variant <i>KRAS</i> is niet gekend in NSCLC	7
	De variant <i>KRAS</i> is geassocieerd met een slechte prognose in gemetastaseerde colorectale tumoren	4
	De variant <i>KRAS</i> is een driver variant	3
(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere pathologie	Een mutatie predictief voor gevoeligheid aan doelgerichte behandeling zoals EGFR of BRAF-MEK inhibitoren kan niet worden aangetoond	13
	In colorectale tumoren worden de varianten <i>KRAS</i> in verband gebracht met resistentie tegen anti-EGFR	6
Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere pathologie	Klinische studies voor NSCLC patiënten met variant <i>KRAS</i>	6
Variants identifiés présentant un intérêt clinique	Varianten <i>KRAS</i> en <i>EGFR</i> of translocaties van de <i>ALK</i> en <i>ROS1</i> genen zijn mutueel exclusief	2
Andere	Kwaliteit van het staal suboptimaal	2

2.3.4. Slaagpercentage van de deelnemers

Consensus voor de te rapporteren varianten

Slaagpercentage gebaseerd op consensus voor de te rapporteren varianten*	N
3/3 (100%)	13
2/3 (66,67%)	4
1/3 (33,33%)	1
Totaal slaagpercentage: 88,89% (48/54)	

In het staal NGS-2023-1 hebben 15 laboratoria de variant *TP53*, NM_000546.5; c.783-1G>A; p. ? gerapporteerd en werd in de categorie van de niet geëvalueerde varianten geclassificeerd ondanks de consensus van de laboratoria. Deze variant bevindt zich in de intronische regio op positie -1 van de 5' regio van exon 8 en is momenteel niet opgenomen in de vereiste regio's van de NGS overeenkomst.

Consensus voor de niet te rapporteren varianten

In het staal NGS-2023-1 meldde één laboratorium de variant *NRAS* NM_002524.4; c.182A>G; p.(Gln61Arg) in plaats van de variant *HRAS*. Deze variant wordt beschouwd als vals positief, aangezien de fout ook voorkomt in de door het laboratorium gerapporteerde conclusies.

Biologische en klinische classificaties

Slaagpercentage van deelnemers voor de classificaties voor de consensus voor de te rapporteren varianten	N
Biologische classificaties *	
1/1, 2/2 of 3/3 (100%)	18
Totaal slaagpercentage - biologische classificaties : 100%	
Klinische classificaties *	
1/1 (100%)	16
0/1 (0%)	1
Totaal slaagpercentage - klinische classificaties : 94,11%	

* De resultaten 'niet aanbevolen maar aanvaardbaar' en 'aanvaardbaar' worden als succesvol beschouwd.

Bij gebrek aan een consensus van de laboratoria werden de klinische classificaties van de stalen NGS-2023-1 en NGS-2023-2 niet geëvalueerd.

2.3.5. Analyse van regio's van de NGS overeenkomst die niet door de panels worden gedekt

Staal	Aantal laboratoria dat alle regio's van de overeenkomst dekt
NGS-2023-1 (schildklier)	14
NGS-2023-2 (endometrium)	14
NGS-2023-3 (long)	13

De analyse werd uitgevoerd op de BAM files die door de laboratoria zijn doorgestuurd en dit enkel voor de regio's vereist door de NGS overeenkomst vanaf 1 januari 2022 voor elke indicatie die bij de EKE wordt beoordeeld (zie bijlage 3.1. 'Regio's van de overeenkomst geanalyseerd'). Er werd een drempel van 50 reads gebruikt om te bepalen of de positie al dan niet door het panel werd gedekt. Voor één laboratorium werd de analyse uitgevoerd op de FASTQ files, aangezien de BAM files niet werden doorgestuurd.

5 laboratoria gebruiken panels die niet alle regio's vereist door de NGS overeenkomst dekken. Wij vragen de laboratoria om hun analysepanels bij te werken volgens de vereisten van de RIZIV overeenkomst en dit na elke revisie. De regio's die niet door de laboratoria worden gedekt werden niet geëvalueerd.

Het laboratorium 5 heeft de analyses voor NGS-2023-1 en NGS-2023-3 niet uitgevoerd en heeft de BED files voor deze indicaties niet ingediend. Voor dit laboratorium hebben wij geoordeeld dat niet alle voor deze indicaties vereiste regio's waren gedekt.

Laboratorium	Staal	Lengte in bp die niet door het laboratorium panel wordt gedekt
1	NGS-2023-1 (schildklier)	301
	NGS-2023-2 (endometrium)	31
	NGS-2023-3 (long)	171
2	NGS-2023-2 (endometrium)	17
	NGS-2023-3 (long)	261
3	NGS-2023-1 (schildklier)	300
	NGS-2023-2 (endometrium)	1
	NGS-2023-3 (long)	247
4	NGS-2023-1 (schildklier)	98
	NGS-2023-3 (long)	104
5	NGS-2023-1 (schildklier)	1509
	NGS-2023-2 (endometrium)	21
	NGS-2023-3 (long)	772

3. BIJLAGE

3.1. Regio's van de NGS overeenkomst geanalyseerd (Referentie 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. Overzicht van de klinische conclusies

Deze gegevens zijn de antwoorden ingegeven op de website <https://eqatoolkit.sciensano.be/NGS/> en werden hieruit geëxtraheerd. Om geen vertaalfouten te introduceren, werden de conclusies in de taal van het laboratorium behouden. Eén laboratorium heeft niet voor elk staal de gevraagde algemene conclusies gegeven.

3.2.1. NGS-2023-1

Lab 1	Diagnostische conclusie	Er werd een pathogene mutatie gedetecteerd in HRAS. HRAS mutaties komen frequent voor bij folliculaire varianten van een papillair schildklier carcinoom.
Lab 2	Diagnostische conclusie	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	Prognostische informatie voor deze of een andere 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 schildklier carcinoomen. De predictieve/prognostische betekenis van de variant in het TP53 gen, C.783G>A (p.?) is tot op heden onvoldoende gekend.
Lab 2	Andere	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	Diagnostische conclusie	Varianten in het HRAS gen zijn recurrent in zowel benigne als maligne schildkliertumoren met een folliculair groeipatroon, weinig gedifferentieerde en anaplastische carcinoomen en sommige vormen van medullair schildklier carcinoom.
Lab 3	Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	Varianten in het TP53 gen zijn recurrent in schildkliertumoren en meer specifiek in weinig gedifferentieerde en anaplastische schildklier carcinoomen.
Lab 3	Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere 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	Diagnostische conclusie	Conclusie: 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.
Lab 5	Diagnostische conclusie	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 5	Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere 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 5	Informatie over de geïdentificeerde genen/varianten met klinisch belang	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 6	Diagnostische conclusie	- 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

Lab 7	Diagnostische conclusie	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	Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere 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	Informatie over de geïdentificeerde genen/varianten met klinisch belang	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	Diagnostische conclusie	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 schildklier carcinoom (PMID: 23625203, 20526288, 12866375, 22650231).
Lab 8	Andere	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	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere 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	Andere	De vermoedelijk pathogene variant c.783-1G>A werd gevonden in het TP53 gen intron 7. De therapeutische impact is niet gekend.
Lab 10	Diagnostische conclusie	Mutaties in HRAS en TP53 zijn recurrent in schildklier carcinoom. 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 schildklier carcinoom [1, 2].

Lab 10	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	Informatie over de geïdentificeerde genen/varianten met klinisch belang	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	Andere	Referenties: [1] PMID 31549998 [2] PMID 31672298 [3] PMID 28231576 [4] PMID 28635633
Lab 11	Diagnostische conclusie	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	Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	The presence of a TP53 variant in malignant thyroid lesions is usually associated with aggressive tumor behavior.
Lab 11	Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere 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	Diagnostische conclusie	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 schildkliercarcinoom, de klinische relevantie is in schildkliercarcinoom tot op heden onvoldoende gekend. [2, 3] [1] NCCN guidelines Thyroid Carcinoma version 3.2022 [2] PMID: 31549998 [3] Compermed guidelines
Lab 13	Diagnostische conclusie	HRAS hotspot mutatie als merker voor schildklierneoplasië. 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	Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere pathologie	HRAS mutatie is onderwerp van diverse klinische studies ikv farnesyl transferase inhibitie (FTI; tipifarnib) bij vaste tumoren.
Lab 14	Diagnostische conclusie	HRAS mutations are frequently found in thyroid carcinoma.

Lab 15	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	Diagnostische conclusie	Résultats suivront (problème de fournisseur panels NGS (Qiagen))
Lab 16	Andere	Résultats suivront (problème de fournisseur panels NGS (Qiagen))
Lab 17	Diagnostische conclusie	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	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere pathologie	NRAS mutaties zijn in colorectaal carcinoom predictief voor resistentie aan anti-EGFR moAbs.
Lab 17	Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere pathologie	NRAS mutaties zouden predictief kunnen zijn voor respons op MEK-inhibitoren (cfr. klinische studies).
Lab 18	Diagnostische conclusie	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 schildklier carcinomen.
Lab 18	Andere	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	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere 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	Andere	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 pathogene 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	Andere	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	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	Diagnostische conclusie	Analyse non contributive due à la mauvaise qualité du séquençage. Il pourrait être intéressant de tester un autre échantillon.
Lab 6	Diagnostische conclusie	- 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	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere 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	Diagnostische conclusie	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	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	Informatie over de geïdentificeerde genen/varianten met klinisch belang	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	Andere	Données à corrélér aux données pathologiques : quel type de carcinome de l'endomètre?
Lab 8	Diagnostische conclusie	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	Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	Bovendien zijn TP53 varianten in endometrium kanker geassocieerd met een ongunstige prognose (PMID: 28061006).
Lab 8	Andere	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	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	Andere	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	Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	TP53 varianten zijn geassocieerd met een ongunstige prognose als het een single classifier betreft [1,2].
Lab 10	Informatie over de geïdentificeerde genen/varianten met klinisch belang	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	Andere	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	Diagnostische conclusie	Molecular classification endometriumcarcinoma: TP53-mutant endometriumadenocarcinoma
Lab 11	Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	TP53-mutant endometriumadenocarcinoma is associated with poor prognosis.
Lab 12	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	Gecombineerd effect van varianten of biomerkers	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	Diagnostische conclusie	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	Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	Mutation TP53 associée à un haut risque clinique
Lab 15	Andere	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	Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	Pronostic défavorable pour tous stades de cancers endométriaux
Lab 16	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere 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	Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere pathologie	PORTEC-3 (2020)
Lab 16	Andere	Gène POLE bientôt disponible dans notre panel.

Lab 17	Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	Er werd geen POLE mutatie gedetecteerd. Er werd wel een TP53 mutatie gedetecteerd: prognostisch ongunstig in endometriumcarcinoom.
Lab 17	Diagnostische conclusie	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	Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	TP53 varianten worden als prognostisch ongunstig beschouwd bij POLE-WT en MSI-L endometriumcarcinoma.
Lab 18	Andere	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	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere 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	Diagnostische conclusie	Een mutatie predictief voor gevoeligheid aan doelgerichte behandeling zoals EGFR of BRAF/MEK inhibitoren kan niet worden aangetoond.
Lab 2	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	Andere	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	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere 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	Informatie over de geïdentificeerde genen/varianten met klinisch belang	Varianten in het KRAS gen zijn recurrent in NSCLC.
Lab 4	Andere	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	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere 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	Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere pathologie	Il existe des essais cliniques pour les patients avec un carcinome pulmonaire non à petites cellules présentant une mutation du gène KRAS. www.clinicaltrilas.gov
Lab 5	Informatie over de geïdentificeerde genen/varianten met klinisch belang	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	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere 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	Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere pathologie	Il existe des essais cliniques pour les patients avec un carcinome pulmonaire non à petites cellules présentant une mutation du gène KRAS. www.clinicaltrilas.gov
Lab 7	Informatie over de geïdentificeerde genen/varianten met klinisch belang	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	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere 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	Andere	Er werden geen andere (vermoedelijk) pathogene varianten geïdentificeerd in BRAF, EGFR, KRAS, MET en HER2.

Lab 9	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere 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	Andere	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	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere 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	Informatie over de geïdentificeerde genen/varianten met klinisch belang	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	Andere	referenties: [1] NCCN guidelines Non-Small Cell Lung Cancer v2.2023
Lab 11	Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	Unknown prognostic/predictive value
Lab 12	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere 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	Informatie over de geïdentificeerde genen/varianten met klinisch belang	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	Diagnostische conclusie	KRAS A146V mutatie positief in long tumoren. Geen gevalideerde klinische implicaties
Lab 13	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere pathologie	EGFR mutatie negatief. Geen indicatie voor anti-EGFR TKI behandeling bij longtumoren (Rosell R et al. 2012 Lancet Oncology).
Lab 13	Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere 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	Diagnostische conclusie	KRAS is the most frequent oncogene in non-small cell lung cancer (NSCLC)
Lab 14	Prognostische informatie voor deze of een andere pathologie	(KRAS) mutations are associated with poor prognosis, likely due to poor responses to most systemic therapies and lack of targeted drugs.
Lab 14	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere pathologie	Absence of EGFR activating mutation in this pulmonary adenocarcinoma do not prompt for na EGFR-directed TKI therapy.
Lab 15	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere pathologie	Les mutations de KRAS ont été associées à une résistance aux inhibiteurs d'EGFR (Linardou et al., Lancet Oncol 2008).
Lab 15	Gecombineerd effect van varianten of biomerkers	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	Diagnostische conclusie	Résultats suivront (problème de fournisseur panels NGS (Qiagen)
Lab 16	Andere	Résultats suivront (problème de fournisseur panels NGS (Qiagen)

Lab 17	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere 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 colorectaal carcinoom.
Lab 17	Goed onderbouwde of lopende klinische studies voor deze of een andere pathologie	Er zijn momenteel RAS-pathway inhibitoren in klinische ontwikkeling.
Lab 18	Diagnostische conclusie	Varianten in het KRAS gen zijn recurrent in NSCLC.
Lab 18	Prognostische informatie voor deze of een andere 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	(Geen) indicatie voor de standaardtherapie van deze pathologie of een andere pathologie	Een mutatie predictief voor gevoeligheid aan doelgerichte behandeling zoals EGFR of BRAF/MEK inhibitoren kan niet worden aangetoond.
Lab 18	Andere	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. Interpretatie van het individueel rapport

Naast dit algemene rapport kreeg u ook een individueel rapport. Hieronder vindt u informatie die kan helpen bij de interpretatie van dit rapport. De positie van uw kwantitatieve resultaten wordt gegeven in vergelijking met alle resultaten van alle deelnemers en alle methoden samen.

De volgende gegevens worden vermeld:

- Uw resultaat (R)
- De mediaan (MAF):
de middenwaarde van de resultaten van alle laboratoria en alle methoden samen.
- De algemene standaarddeviatie (SD):
de maatstaf van de spreiding van de resultaten van alle laboratoria, alle methoden samen.
- De Z-score:
het verschil tussen uw resultaat en de mediaan (uitgedrukt in standaarddeviatie-eenheden):
 $Z = (R - MAF) / SD$
Uw resultaat wordt genoemd als **IZI > 3**.
- De grafische interpretatie van de positie van uw resultaat (R) in vergelijking met alle resultaten van alle deelnemers, gebaseerd op de methode van Tukey, voor elke parameter en voor elk geanalyseerd staal.

Deze parameters geven u een ruwe indicatie van de positie van uw resultaat (R) ten opzichte van de mediaan (MAF).

U kan meer details vinden in de brochures die beschikbaar zijn op onze website op het volgende adres:

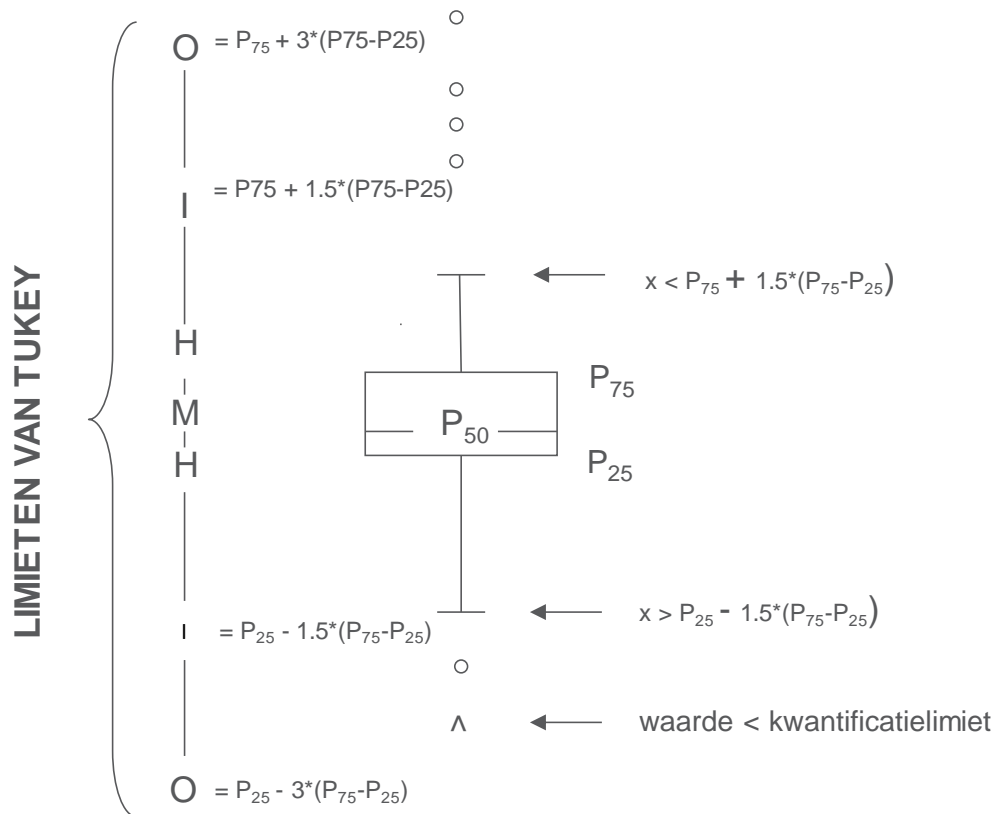
<https://www.sciensano.be/nl/externe-kwaliteitsevaluatie/klinische-gezondheid-eke-klinische-biologie>

- Algemene informatiebrochure EKE
- Statistische methoden gebruikt voor EKE
- Verwerking van gecensureerde waarden

Grafische voorstelling

Naast de tabellen met de resultaten, wordt er soms een grafische voorstelling van de resultaten als “box en whisker plot” toegevoegd. Zij bevat de volgende elementen:

- een rechthoek die gaat van percentiel 25 (P_{25}) tot percentiel 75 (P_{75})
- een centrale lijn die de mediaan van de resultaten voorstelt (P_{50})
- een ondergrens die de kleinste waarde voorstelt $x > P_{25} - 1.5 * (P_{75} - P_{25})$
- een bovengrens die de grootste waarde voorstelt $x < P_{75} + 1.5 * (P_{75} - P_{25})$
- alle punten buiten dit interval worden voorgesteld door een cirkel.



Overeenkomstige limieten in geval van een normale verdeling

EINDE

© Sciensano, Brussel 2023.

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 expertencomités of de werkgroep EKE.