

# ***BRAF* rondzending SKML 2012**

Presentatie van de resultaten op de  
deelnemersbijeenkomst

5 februari 2013

Riki Willems  
Patricia Groenen  
Willeke Blokx  
Adriaan van den Brule

- Casus 1      Langerhanscel histiocytose  
therapeutisch beleid      c.1799T>A  
**macrodissectie, slechte kwaliteit**
- Casus 2      klier: melanoommetastase ?      c.1799T>A  
waarschijnlijk wel
- Casus 3      onder tepel: melanoommetastase ? c.1799T>A  
waarschijnlijk wel
- Casus 4      dunne darm / meso  
melanoommetastase ?      geen mutatie  
geen aanknopingspunt; uitgebreidere analyse  
**negatief monster**
- Casus 5      melanoommetastase in klier  
therapeutisch beleid      c.1798\_1799delinsAA  
**andere mutatie**

# Resultaten

## Casus 1: lastig materiaal

c.1799T>A

12 van de 16 labs 100% score

4 van de 16 labs geen resultaat

Oorzaak: # mogelijk heel kort mierenzuur ontkalking  
# onbekend

In de praktijk: # b.v. meer coupes gebruiken  
# meer / langer Prot K

# Resultaten

Cases 2, 3 en 4:

2 en 3: c.1799T>A  
4 geen mutatie

16 van de 16 labs 100% score

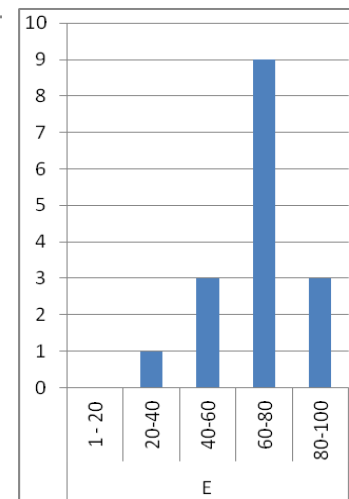
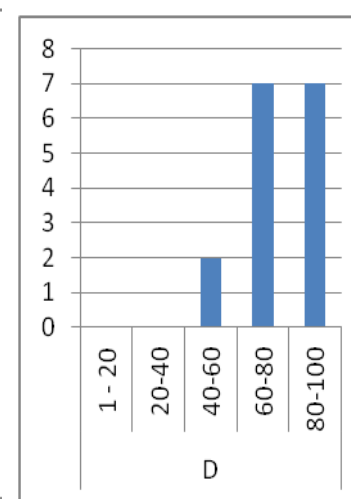
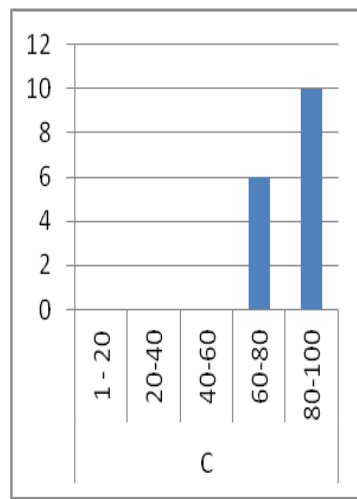
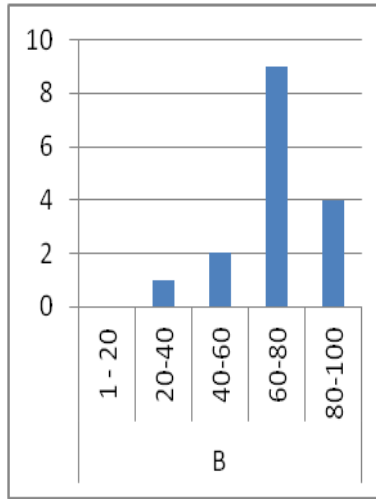
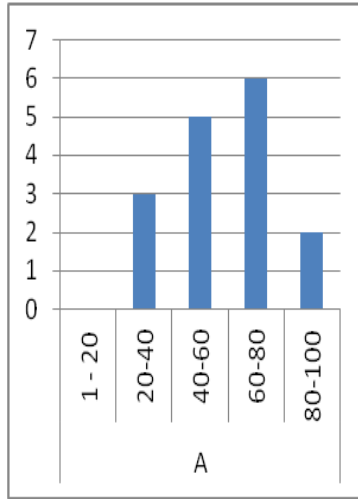
# Resultaten

Casus 5: andere mutatie [c.1798\\_1799delinsAA](#)

15 van de 16 labs 100% score = 94% voor alle labs samen

1 van de 16 labs dubbelmutatie gemist: Roche Cobas

# Tumorcel percentage



## Variatie ingeschat tumorcelpercentage

m.n. casus 1

Niet in alle gevallen is aangegeven of de hele coupe of het geselecteerde deel van de coupe is beoordeeld

Schattingen 20 – 40% worden gemeld door enkele labs terwijl de meeste labs dezelfde monsters hoger inschatten:  
20 – 40% is erg laag en kan in de buurt van detectiegrens van de methode terecht komen

Inschatting tumorcelpercentage blijft een lastige klus

# Gebruikte methode

sensitiv.    labs

Sanger Sequencing	20-30-40-50% T	8	1x aangevuld met Next Generation Sequencing ( E )	10% T
			1x aangevuld met Real time PCR ( A )	10% T
			1x aangevuld met mutatie specifieke PCR voor codon 600	10% T
Roche Cobas	10-50% T	2	1x aangevuld met Sanger Sequencing ( E )	
Real time PCR	10% T	1		
HRM	20% T	5	3x aangevuld met Sanger Sequencing	





## Variatie in gevoeligheid per methode:

Bv Sanger Sequencing 20 - 30 - 40 en 50% tumorcellen

Bv Roche Cobas 10 en 50% tumorcellen

## Diagnostische aanpak per lab:

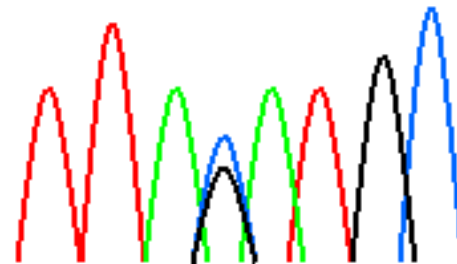
Van de 5 labs die HRM als primaire methode gebruiken geven slechts 3 labs aan dat afwijkende patronen worden gecheckt met Sanger Sequencing

Van de 2 Roche Cobas gebruikers controleert slechts 1 lab mbv Sanger Sequencing

# WMDP-richtlijn

## verslaglegging moleculaire diagnostiek in de pathologie

juni 2012



**Resultaat volgens standaardnomenclatuur.  
Mutaties bij voorkeur met cDNA sequentie en eiwitsequentie.  
(Zie: [www.hgvs.org/mutnomen/](http://www.hgvs.org/mutnomen/))**

*c.35G>A, p.(Gly12Asp)*

**Resultaat volgens standaardnomenclatuur.  
Mutaties bij voorkeur met cDNA sequentie en eiwitsequentie.  
(Zie: [www.hgvs.org/mutnomen/](http://www.hgvs.org/mutnomen/))**

*c.35G>A, p.(Gly12Asp)*

**Geteste gen(en), volgens standaardnomenclatuur  
(Zie de website van de Human Genome Nomenclature Committee:  
[www.genenames.org](http://www.genenames.org).)**

Het NCBI reference sequence nummer (RefSeq) van het geteste gen moet in de administratie **herleidbaar** zijn.  
Weergave in het verslag is optioneel.  
(Zie [www.ncbi.nlm.nih.gov/CCDS/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/CCDS/))

*EGFR (RefSeq NM\_005228.3)*

*KRAS (RefSeq NM\_004985.3)*

## Aantal Benoeming hotspot

---

- 14 c.1799T>A; (p.V600E)
- 12 c.1799T>A, p.V600E
- 6 c.1799 T>A (p.Val600Glu)
- 3 *BRAF* (NM\_004333.4) codon 600: c.1799T>A (p.(Val600Glu))
- 3 *BRAF* codon 600 (p.V600E)
- 3 c.1799T>A:p.Val600Glu (V600E)
- 3 p.V600E (c.1799T>A(p.Val600Glu))

## Aantal Benoeming hotspot

---

14 c.1799T>A; (p.V600E)

12 c.1799T>A, p.V600E

6 c.1799 T>A (p.Val600Glu)

3 *BRAF* (NM\_004333.4) codon 600: c.1799T>A (p.(Val600Glu))

3 *BRAF* codon 600 (p.V600E)

3 c.1799T>A:p.Val600Glu (V600E)

3 p.V600E (c.1799T>A(p.Val600Glu))

Aantal Benoeming dubbelmutatie

---

- 4 c. 1798-1799 GT>AA p. V600K
- 3 c. 1798\_1799GT>AA (p.V600K)
- 2 c.1798\_1799 GT>AA (p.Val600Lys)
- 1 *BRAF* (NM\_004333.4) codon 600: c.1798\_1799delinsAA (p.(Val600Lys))
- 1 *BRAF* codon 600 (p.V600K)
- 1 c.1798GT>AA(p.V600K)
- 1 p.V600E (c.1799T>A(p.Val600Glu), p.V600K c. 1798\_1799GT>AA (p.Val600Lys) en p.V600M c.1798G>A(p.Val600Met).
- 1 c.1798G>A, c.1799T>A (p.Val600Lys)
- 1 c.1798G>A; c.1799T>A (p.V600K)



Aantal Benoeming dubbelmutatie

---

4 c. 1798-1799 GT>AA p. V600K

3 c. 1798\_1799GT>AA (p.V600K)

2 c.1798\_1799 GT>AA (p.Val600Lys)

1 *BRAF* (NM\_004333.4) codon 600: c.1798\_1799delinsAA (p.(Val600Lys))

1 *BRAF* codon 600 (p.V600K)

1 c.1798GT>AA(p.V600K)

1 p.V600E (c.1799T>A(p.Val600Glu), p.V600K c. 1798\_1799GT>AA (p.Val600Lys) en p.V600M c.1798G>A(p.Val600Met).

1 c.1798G>A, c.1799T>A (p.Val600Lys)

1 c.1798G>A; c.1799T>A (p.V600K)

## Aantal Benoeming 'geen mutatie aangetoond'

---

- 7 wildtype
- 2 Er werd geen activerende *BRAF* mutatie teruggevonden in dit monster.
- 2 Wild type genotype. Geen mutatie.
- 1 *BRAF* (NM\_004333.4) codon 600: geen mutatie
- 1 geen mutatie aangetoond in *BRAF* exon 15.
- 1 wildtype voor *BRAF* exon 15
- 1 geen afwijking aangetoond.
- 1 geen mutatie

Aantal Benoeming 'geen mutatie aangetoond'

---

- 7 wildtype
- 2 Er werd geen activerende *BRAF* mutatie teruggevonden in dit monster.
- 2 Wild type genotype. Geen mutatie.
- 1 *BRAF* (NM\_004333.4) codon 600: geen mutatie
- 1 geen mutatie aangetoond in *BRAF* exon 15.
- 1 wildtype voor *BRAF* exon 15
- 1 geen afwijking aangetoond.
- 1 geen mutatie

# Benoemen resultaten

We hebben het allemaal over hetzelfde, maar we noemen het veelal net een beetje anders

Wenselijk:

Meer uniforme verslaglegging van de mutatie analyse, zeker met het oog op vele wijzigingen die nog zullen komen.

## Conclusie, waarin:

- analytische interpretatie van het testresultaat.
- klinische interpretatie van het testresultaat (**optioneel**). Hoewel de keuze voor een te gebruiken therapie niet tot de expertise van de patholoog/moleculair bioloog behoort, kunnen de implicaties van met name bijzondere of complexe mutaties toch tot het expertisegebied van moleculair biologen behoren.

*Bijvoorbeeld: Er is een mutatie in exon 2 van het KRAS gen aangetroffen. Tumoren met een activerende mutatie in KRAS reageren relatief slecht op therapie gericht tegen EGFR.*

# Resultaten klinische interpretatie

Nog erg veel verschillende formuleringen aangetroffen.

Enkele opvallende punten:

- a. tbv vraagstelling therapiebeleid zijn de meeste interpretaties goed.
- b. tbv vraagstelling melanoommetastase is uitsluitend BRAF mutatie analyse op de metastase onvoldoende

# ***BRAF* rondzending SKML 2012**

**Gemiddeld hoge score behaald met de test-resultaten**

**Aandachtspunten:**

- Inschatting tumorcelpercentage
- Aandacht voor afwijkende mutaties
- Aanvullende testen
- Nomenclatuur
- Verslaglegging