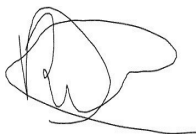


HMF-IVDD-430

Manual de usuario de OncoAct



Aprobación del Gerente de calidad:

Fecha de emisión:	30/06/2026 03:00 PM
Fecha de próxima revisión:	30/11/2026
Segunda versión creada por:	Sandra van den Broek
Nivel de confidencialidad:	Público

NOTA: Toda copia en papel es un documento no controlado.

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

Historial de revisiones				
Versión	Descripción del cambio	Sección / N.º página	Revisado por	Fecha de emisión
1.0	Primera emisión	Todas	PR	02/06/2021 16:21
2.0	Actualización de OncoAct v5.33-1.0	Todas	SvdB	15/11/2023 14:01
2.1	Actualización relacionada con la primera ronda de revisión de DEKRA: se ha actualizado la etiqueta del producto, se han alineado las métricas de rendimiento y los títulos de las secciones 8 y 9; se añadió una referencia a EUDAMED y la descripción de los formatos de informe legibles por máquina.	Todas	SvdB, DP	20/09/2024 11:02
2.2	Actualización relacionada con la segunda ronda de revisión de DEKRA: se ha actualizado la etiqueta del producto, la sección 7.2 con «Competencias específicas» y se ha añadido una advertencia sobre una menor cobertura de secuenciación. Se han sustituido las referencias a VAL-051 por VAL-055 y las de VAL-074 por Samsom et al. 2022.	2, 7.2, 8	SvdB	31/03/2025 18:02
2.3	Actualización relacionada con la tercera ronda de revisión de DEKRA: se ha añadido información a la descripción e información del usuario de IVD sobre los genes utilizados en la sección 5. Se ha actualizado la sensibilidad de la carga mutacional tumoral (TMB). Se han añadido advertencias adicionales en la sección 8 y se ha actualizado la sección 11 (anexo) a su estado actual.	4.1; 5; 7.3; 7.4; 8; 11	SvdB	23/06/2025 15:53
2.4	Actualización relacionada con la cuarta ronda de revisión de DEKRA: se ha actualizado el logo de Hartwig en la etiqueta, la tabla de rendimiento analítico de la TMB y del límite de detección, y se han añadido advertencias adicionales en la sección 8. Se ha corregido el correo electrónico diagnosticssupport@hartwig...n en la sección 7.2.	2, 7.2 7,3; 8	SvdB	05/01/2026 17:29
2.5	Se ha sustituido la imagen de la etiqueta por una nueva, ver INCID26-321	2	XiZo	30/06/2026 03:00 PM

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

--	--	--	--	--

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

Índice

1	Identificación	4
2	Etiqueta	4
3	Uso previsto	5
4	Usuarios previstos.....	5
4.1	Usuarios de IVD	5
4.2	Médicos colegiados y otros expertos médicos colegiados.....	5
5	Principio de la prueba	6
6	Limitaciones de los datos de entrada	7
7	Cálculos e interpretaciones de los resultados	8
7.1	Interpretación de los informes	8
7.1.1	Tipos de informes.....	8
7.2	Recomendaciones para procedimientos de control de calidad	9
7.2.1	Formatos de informes legibles por máquina.....	9
7.3	Rendimiento analítico	10
7.4	Rendimiento clínico	15
7.5	Enfoque matemático sobre el que se realiza el cálculo del resultado analítico	17
8	Riesgos residuales de uso (advertencias y precauciones de seguridad).....	18
9	Información de contacto del fabricante.....	19
10	Notas finales	19
11	Anexo: Manual del informe tumoral WGS de OncoAct	19

Instrucciones de uso del producto IVDR:

Hartwig Medical OncoAct

Versión online: <https://www.oncoact.nl/manual>

1 Identificación

Se puede identificar un informe de OncoAct mediante:

- El logo de Hartwig Medical Foundation en la esquina superior izquierda en todas las páginas del informe.
- El título «Hartwig Medical OncoAct» en la parte superior central de todas las páginas del informe.
- La firma del director de Hartwig Medical Foundation en la última página del informe.

2 Etiqueta



	V5.33-1.0		
	In Vitro Diagnostic medical device		Hartwig Medical Foundation Science Park 408 1098 XH Amsterdam www.Hartwigmedicalfoundation.nl
	(01)08720299486058(8012)v5.33-1.0		0344
	Instructions for use are supplied in electronic form instead of paper form. URL: https://oncoact.nl/manual/ Email: diagnosticssupport@hartwigmedicalfoundation.nl Device with internet access, web browser and PDF reader required for reading the manual. Paper instructions for use can be requested at no additional cost by contacting Hartwig using the indicated e-mail address and will be delivered within 7 days		

3 Uso previsto

OncoAct es un producto sanitario para diagnóstico in vitro (IVD) que consiste en un software que analiza datos de secuenciación del genoma completo con fines de diagnóstico del cáncer y toma de decisiones terapéuticas. Detecta y mide todos los tipos de alteraciones genómicas basadas en ADN relacionadas con la oncología y las características genómicas (biomarcadores) que puedan ser relevantes para el diagnóstico y la toma de decisiones terapéuticas de pacientes con cáncer. Para ello se utilizan datos de secuenciación de ADN del genoma completo derivados de biomaterial de referencia y de tumores no fijados en formalina. Los resultados analíticos pueden ser tanto cuantitativos como cualitativos. El producto del software que se entrega al cliente consiste en un informe que presenta una visión general de las alteraciones genómicas y las características (biomarcadores) relacionadas con la oncología que incluyen enlaces a los tratamientos asociados y a posibles estudios clínicos. OncoAct solo está disponible para médicos colegiados u otros expertos médicos colegiados que hayan solicitado la prueba de IVD, con el fin de facilitar y/o respaldar el diagnóstico y la toma de decisiones terapéuticas para pacientes oncológicos. El uso clínico previsto de OncoAct es para pacientes con cáncer que buscan un tratamiento sistémico y de los cuales se pueden extraer de forma segura los biomateriales (material tumoral con suficientes células tumorales y una muestra de referencia).

4 Usuarios previstos

4.1 Usuarios de IVD

Los bioinformáticos y los biólogos moleculares clínicos de patología que trabajan para Hartwig Medical Foundation son los usuarios previstos de OncoAct en lo que respecta al análisis de datos y la elaboración de informes (uso analítico).

Hartwig Medical Foundation cuenta con la acreditación de la norma ISO/IEC 27001:2022 para su sistema de gestión de seguridad de la información (el número de referencia es ISMS-K-0216521/1). El uso analítico del producto, que está relacionado con la ejecución del software, siempre lo realiza un empleado formado de Hartwig, siguiendo la norma ISO 27001. El software (incluyendo los datos procesados) siempre se ejecuta en la nube (Google Cloud Platform), en un proyecto específico de Hartwig gestionado internamente bajo la norma 27001.

4.2 Médicos colegiados y otros expertos médicos colegiados

Los médicos colegiados y otros expertos médicos colegiados que trabajan en el departamento de oncología de los hospitales son los usuarios de los resultados (los hallazgos) que se muestran en el informe de OncoAct (uso clínico). Los expertos médicos utilizarán los resultados durante el proceso de toma de decisiones terapéuticas, en colaboración con otros especialistas (p. ej.: en los comités moleculares de tumores).

5 Principio de la prueba

La secuenciación del genoma completo (WGS) puede realizarse para generar una imagen completa de las alteraciones y características genómicas (biomarcadores) relacionadas con la oncología. Además de analizar los datos de la secuenciación del genoma completo del tumor (generados al secuenciar el ADN procedente del material tumoral), también se analizan los datos de la secuenciación del genoma completo de células normales (generados al secuenciar el ADN procedente de material sano, no tumoral, del mismo individuo). Esto da como resultado un análisis exhaustivo que incluye:

- Detección de variantes pequeñas (somáticas), de menos de 50 pares de bases aproximadamente, así como información sobre el número de copias, si son bialélicas y si una variante es un punto caliente o una mutación conductora.
- Características del tumor: pureza y ploidía.
- Ganancias y pérdidas de genes.
- Fusiones de genes.
- Disrupciones homocigotas.
- Disrupciones génicas.
- Inserciones víricas y virus no integrados detectados.
- Puntuación de la deficiencia de recombinación homóloga.
- Estado de microsatélites.
- Farmacogenética para los genes DPYD y UT1GA1.
- Predicción molecular del tejido de origen.
- Carga mutacional del tumor.
- Enfoques terapéuticos basados en la genómica: evidencia de alto nivel y estudios clínicos.
- Visión general gráfica de todas las alteraciones encontradas en el tumor.

Los genes específicos y el tipo de alteraciones genómicas notificadas para cada gen pueden consultarse en la hoja de especificaciones de WGS de tumores de OncoAct HMF-IVDD-399 (<https://www.oncoact.nl/specsheetOncoActWGS>). El contenido del informe, que contiene toda la información anterior, le proporciona al experto médico colegiado la oportunidad de personalizar el tratamiento de este paciente para su tipo específico de cáncer.

Nota: también se informa de las variantes germinales (en las mismas tablas que las variantes somáticas), pero no se indica de forma activa que sean germinales.

6 Limitaciones de los datos de entrada

Los datos de entrada de la prueba de IVD deben ser datos de secuenciación del genoma completo (tumor y referencia) que cumplan los siguientes criterios:

- Los datos del tumor y la referencia deben proceder del mismo individuo.
- Los datos del tumor deben generarse a partir de material tumoral no fijado en formalina con un porcentaje mínimo de células tumorales del 20 % (determinado mediante procedimientos patológicos estándar o análisis molecular).
- Los datos de la referencia deben generarse a partir de materiales sanos y no tumorales.
- Los datos del tumor y la referencia no deben estar contaminados con datos de otras fuentes, lo que incluye a otros individuos (p. ej.: un trasplante de células madre) o una mezcla de datos del tumor y la referencia (p. ej.: leucemia).
- Los datos deben generarse utilizando el kit de preparación de bibliotecas Illumina TruSeq nano (o un kit de calidad equivalente verificada*), con un secuenciador NovaSeq 6000 (o uno de calidad equivalente verificada*), con una longitud de lectura de 2 x 150/151 pb **la calidad debe haber sido verificada utilizando muestras de prueba distribuidas por Hartwig.*
- Los datos deben tener un valor de calidad mínimo (Q30) del 85 %.
- Los datos de la referencia deben tener un rendimiento mínimo de 100 Gbases tras la eliminación de las lecturas con un valor de calidad inferior al 85 % (Q30).
- Los datos del tumor deben tener un rendimiento mínimo de 300 Gbases tras la eliminación de las lecturas con un valor de calidad inferior al 85 % (Q30).
- Los datos deben entregarse en formato FASTQ.
- Los datos deben enviarse con los identificadores correspondientes y la localización y el tipo de tumor primarios.

7 Cálculos e interpretaciones de los resultados

El software incluye varios elementos (herramientas) con diferentes cálculos para aproximarse a la realidad biológica. Por lo tanto, los resultados deben interpretarse con precaución y deben utilizarse únicamente como evidencia de apoyo para el diagnóstico y la toma de decisiones terapéuticas por parte de expertos médicos colegiados.

7.1 Interpretación de los informes

7.1.1 Tipos de informes

Existen cuatro versiones diferentes del informe de análisis de ADN de OncoAct, cada una con un propósito distinto:

Tipo	Propósito	Enlace al código de documentación de Hartwig:
Informe tumoral WGS de OncoAct	Elaboración de informes para datos de entrada que superan todos los controles de calidad en la prueba de IVD (los datos de entrada cumplieron todos los criterios establecidos en el apartado 6).	HMF-FOR-080
Informes en los que los controles de calidad no fueron satisfactorios (los datos de entrada no cumplieron los criterios establecidos en el apartado 6):		
<i>Informe tumoral WGS de OncoAct – análisis de baja pureza</i>	Elaboración de informes para datos de entrada que no superan el control de calidad de pureza tumoral en la prueba de IVD y, por lo tanto, la prueba de IVD solo ha podido realizarse con un rendimiento menor (los datos de entrada no cumplieron el criterio de pureza [«los datos tumorales se generan utilizando material tumoral fresco con un porcentaje mínimo de células tumorales del 20 %»], tal y como se describe en el apartado 6. Sin embargo, la notificación de los resultados de la prueba sigue siendo conveniente, acompañada de una advertencia que indique que los resultados deben interpretarse con extrema precaución). Nota: el porcentaje mínimo de células tumorales medido por OncoAct debe ser del 8 %.	HMF-FOR-209
<i>Informe tumoral WGS de OncoAct – análisis tumoral fallido</i>	Elaboración de informes para datos de entrada donde los datos del tumor no superaran los controles de calidad en la prueba de IVD y, por lo tanto, no se han podido generar resultados para el tumor (los datos de entrada para el tumor no cumplieron los criterios establecidos en el apartado 6, pero la notificación de los resultados de la prueba sigue siendo conveniente, acompañada de una advertencia que indique que los resultados disponibles son limitados).	HMF-FOR-083
<i>Informe tumoral WGS de OncoAct – análisis fallido</i>	Elaboración de informes para los datos de entrada que no superan los controles de calidad en la prueba de IDV y, por lo tanto, no se han podido generar los resultados para el tumor (los datos de entrada no cumplieron los criterios establecidos en el apartado 6).	HMF-FOR-082

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

7.1.1.1 Informe tumoral WGS de OncoAct

El informe tumoral WGS de OncoAct se emite cuando los datos de entrada han superado todos los controles de calidad y se han generado resultados fiables con la prueba de IVD. Al final de este manual de usuario se incluye un ejemplo de informe tumoral WGS de OncoAct con explicaciones sobre todas las secciones. Ver la sección 11 (anexo): «Manual del informe tumoral WGS de OncoAct».

7.1.1.2 Informe tumoral WGS de OncoAct – análisis de baja pureza

Informe similar al informe tumoral WGS de OncoAct (descrito anteriormente), pero con una advertencia de que los resultados deben interpretarse con extrema precaución.

7.1.1.3 Informe tumoral WGS de OncoAct – análisis tumoral fallido

Informe limitado que solo contiene los resultados de la prueba de IVD para los datos de entrada de la referencia. El informe también contiene una descripción del motivo del fallo en el análisis de los datos de entrada del tumor.

7.1.1.4 Informe tumoral WGS de OncoAct – análisis fallido

Informe de una sola página sin resultados de la prueba de IVD que únicamente describe el motivo del fallo en el análisis de los datos de entrada.

7.2 Recomendaciones para procedimientos de control de calidad

No es necesario que el usuario realice ningún procedimiento de control de calidad. Sin embargo, los expertos médicos colegiados deben ser competentes (formación y capacitación correctas) para la interpretación de los resultados de las pruebas de diagnóstico molecular en general y del informe de OncoAct en particular.

Competencias específicas para expertos médicos colegiados:

- Conocimiento de las opciones de tratamiento estándar para alteraciones genómicas específicas.
- Conocimiento sobre cómo contactar con oncólogos médicos en grandes centros oncológicos (universitarios) para valorar opciones terapéuticas en investigación.

Nota: ambas competencias constituyen conocimientos básicos para los oncólogos médicos titulados en los Países Bajos.

Competencias específicas para biólogos moleculares clínicos en patología:

- Conocimiento experto en tecnología de secuenciación de ADN, incluida la secuenciación de nueva generación.
- Comprensión de las herramientas bioinformáticas para el análisis de los resultados de secuenciación de ADN.
- Conocimiento experto en la interpretación y clasificación de los resultados de ADN en el ámbito de la oncología/patología.

Nota:

Se recomienda debatir los resultados de OncoAct en un comité molecular de tumores. Los comités moleculares de tumores cuentan con el conocimiento mencionado anteriormente (deben incluir, como mínimo, al especialista médico responsable del tratamiento, un patólogo y un biólogo molecular clínico en patología). Consulte las directrices de calidad neerlandesas para el diagnóstico molecular en oncología:

<https://www.zorginzicht.nl/binaries/content/assets/zorginzicht/kwaliteitsinstrumenten/kwaliteitsstandaard-organisatie-van-moleculaire-pathologie-diagnostiek-in-de-oncologie.pdf>.

Importante: si existe alguna duda o falta de claridad sobre los resultados de OncoAct, póngase en

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

contacto con el especialista o comité molecular de tumores de su hospital, o contacte con los biólogos moleculares clínicos de Hartwig Medical Foundation a través de diagnosticssupport@hartwigmedicalfoundation.nl.

7.2.1 Formatos de informes legibles por máquina

Además del informe de OncoAct en formato PDF, se incluyen dos formatos legibles por máquina (XML y JSON). Estos formatos contienen la misma información que el informe de OncoAct y permiten el procesamiento automático de los datos mediante los sistemas propios del hospital.

El formato XML está diseñado específicamente para ser leído en PALGA (<https://www.palga.nl/>), utilizando el módulo de protocolo «Moleculaire Bepalingen». Obtenga más información en <https://www.palga.nl/moleculaire-diagnostiek>. La responsabilidad de lectura de esta información recae en el hospital. Tenga en cuenta que en el formato XML no se han podido incorporar todas las alteraciones genómicas, y algunas de ellas (como las disrupciones génicas) no se notifican.

7.3 Rendimiento analítico

El software de OncoAct incluye diversos resultados. Las declaraciones de rendimiento analítico de estos resultados se basan en las validaciones y verificaciones realizadas dentro del Sistema de Gestión de Calidad (ISO 17025, acreditado desde 2017). A continuación, se muestra un resumen de todas las declaraciones de rendimiento analítico y el rendimiento observado en las validaciones y/o verificaciones:

Característica	N.º	Declaración de rendimiento	Validación del método	Rendimiento obtenido	Documentación de evidencia disponible en Hartwig (puede consultarse previa solicitud)
Aplicabilidad analítica de OncoAct	1	OncoAct es aplicable para datos de entrada (tumor y referencia) que cumplan todos los criterios establecidos en el apartado 6.	Comparación con el «estándar de atención» actual en la práctica clínica.	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración.	HMF-VAL-055 Hartwig Medical OncoAct – información técnica y de validación; https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988
Rendimiento analítico de OncoAct para alteraciones genómicas somáticas	2	Para los datos de entrada (tumor y referencia) que cumplan todos los criterios establecidos en el apartado 6, el rendimiento en la detección de variantes somáticas (SNV, MNV e indels, variantes estructurales con fusiones y alteraciones homocigóticas, y alteraciones en el número de copias génicas) debe ser del 95 % o mayor.	Ver declaración 3 (SNV, MNV e indels), 4 (variantes estructurales, con 5 [fusiones] y 6 [alteraciones homocigóticas]) y 7 (alteraciones en el número de copias génicas)	Ver declaración 3 (SNV, MNV e indels), 4 (variantes estructurales, con 5 [fusiones] y 6 [alteraciones homocigóticas]) y 7 (alteraciones en el número de copias génicas)	Ver declaración 3 (SNV, MNV e indels), 4 (variantes estructurales con 5, 6) y 7 (alteraciones en el número de copias génicas)

Manual de usuario de OncoAct

HMf-IVDD-430 V2.5

Sensibilidad analítica y especificidad para SNV, MNV e indels somáticas	3	La sensibilidad y la especificidad para la detección de SNV, MNV e indels deben ser superiores al 95 % en comparación con las pruebas del estándar de atención actual	Comparación con el «estándar de atención» actual en la práctica clínica	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración, ya que el estudio de confirmación original mostró: concordancia = 98 %; la validación original mostró: sensibilidad = 99 %; especificidad = 95 %; en comparaciones recientes con pruebas del tratamiento habitual se ha hallado una sensibilidad del 99 %	HMf-VAL-045 Validación de variantes basadas en WGS mediante smMIP, HMf-VAL-061 Validación de mutaciones SNV-MNV-INDEL utilizando WGS, HMf-VAL-065 Validación de SAGE 2.2 https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988
Sensibilidad analítica y especificidad para fusiones somáticas a partir de variantes estructurales	4	La sensibilidad y la especificidad para la detección de fusiones a partir de variantes estructurales deben ser superiores al 95 % en comparación con las pruebas del estándar de atención actual	Comparación con el tratamiento habitual actual en la práctica clínica (aunque las pruebas analizan diferentes mecanismos/resultados, por lo que no son totalmente comparables)	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración, ya que la validación original mostró: sensibilidad = 93 %; especificidad = 100 % (nota: las cifras de la validación son reducidas, pero los resultados están respaldados por los datos de validación del análisis de variantes estructurales); en comparaciones recientes con las pruebas del tratamiento habitual se ha hallado una sensibilidad del 98 %	HMf-VAL-066 Validación del análisis de variantes estructurales, https://genomebiology.biomedcentral.com/article/S10.1186/s13059-021-02423-x , HMf-VAL-060 Validación de la lectura de genes de fusión utilizando WGS, https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

Sensibilidad analítica y especificidad para alteraciones somáticas (homocigóticas)	5	La sensibilidad y la especificidad para la detección de disrupciones homocigotas deben ser superiores al 95 % en comparación con las pruebas del estándar de atención actual	Comparación con el tratamiento habitual actual en la práctica clínica (aunque las pruebas analizan diferentes mecanismos/resultados, por lo que no son totalmente comparables)	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración, ya que la validación mostró: sensibilidad = 100 %; especificidad = 100 % (nota: las cifras de la validación son reducidas, pero los resultados están respaldados por los datos de validación del análisis de variantes estructurales)	HMF-VAL-066 Validación del análisis de variantes estructurales, https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-021-02423-x , HMF-VAL-068 Validación de la lectura de las alteraciones homocigóticas
--	---	--	--	---	--

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

Sensibilidad y especificidad analítica para alteraciones somáticas en el número de copias génicas	7	La sensibilidad y la especificidad para la detección de alteraciones en el número de copias génicas deben ser superiores al 95 % en comparación con las pruebas del tratamiento habitual actual	Comparación con el tratamiento habitual actual en la práctica clínica (aunque las pruebas analizan diferentes mecanismos/resultados, por lo que no son totalmente comparables)	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración, ya que la validación original mostró: sensibilidad = 100 %; especificidad = 83 % (nota: las cifras en la validación son reducidas); en comparaciones recientes con las pruebas del tratamiento habitual se ha hallado una sensibilidad del 98 %	HMF-VAL-049 Validación del número de copias basado en WGS_ERBB2, https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988
Rendimiento analítico de OncoAct para alteraciones genómicas germinales	8	Para los datos de entrada (tumor y referencia) que cumplan todos los criterios establecidos en el apartado 6, el rendimiento para la detección de alteraciones germinales (SNV, MNV, indels, variantes estructurales) debe ser del 95 % o superior	Ver declaración 9 (SNV, MNV e indels) y 10 (variantes estructurales con disrupciones homocigotas)	Ver declaración 9 (SNV, MNV e indels) y 10 (variantes estructurales con disrupciones homocigotas)	Ver declaración 9 (SNV, MNV e indels) y 10 (variantes estructurales con disrupciones homocigotas)
Sensibilidad y especificidad analítica para SNV, MNV e indels germinales	9	La sensibilidad y la especificidad para la detección de SNV, MNV e indels germinales debe ser superior al 95 % en comparación con las pruebas del estándar de atención actual	Comparación con el tratamiento habitual actual en la práctica clínica	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración: sensibilidad = 100 %, especificidad = 99 %	HMF-VAL-072 Validación de análisis germinales, HMF-VER-076 Verificación de SAGE para análisis germinal frente a Bachelor, HMF-VAL-077 Validación de PAVE

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

Sensibilidad analítica para disrupciones germinales (homocigotas)	10	La sensibilidad para la detección de alteraciones germinales (homocigotas) debe ser superior al 95 % en comparación con las pruebas del estándar de atención actual	Comparación con el tratamiento habitual actual en la práctica clínica (en la selección para la validación se produjo un sesgo hacia una selección de variantes estructurales más complejas)	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración: sensibilidad = 90 %. Sin embargo, existió un sesgo hacia la selección de variantes muy complejas en la validación, lo que justifica asumir que la sensibilidad general es superior al 95 %	HMF-VAL-072 Validación de análisis germinales
Sensibilidad analítica y especificidad para inserciones víricas y virus no integrados detectados en el tumor	11	La sensibilidad y la especificidad para la detección de MSI deben ser superiores al 95 % en comparación con las pruebas del estándar de atención actual	Comparación con el tratamiento habitual actual en la práctica clínica (aunque las pruebas analizan diferentes mecanismos/resultados, por lo que no son totalmente comparables)	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración, ya que la validación original mostró: sensibilidad = 100 %; especificidad = 100 %. En las comparaciones recientes con las pruebas del tratamiento habitual se ha hallado una sensibilidad del 100 %	HMF-VAL-064 Validación de la detección de virus utilizando WGS, HMF-VER-084 Verificación del intérprete de virus v1.1, https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988
Sensibilidad analítica y especificidad para la puntuación de microsatélites del tumor	12	La sensibilidad y la especificidad para la detección de MSI deben ser superiores al 95 % en comparación con las pruebas del estándar de atención actual	Comparación con el «estándar de atención» actual en la práctica clínica	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración: sensibilidad = 100 %; especificidad = 97 %. En las comparaciones recientes con las pruebas del estándar de atención se ha hallado una sensibilidad del 100 % (aunque las cifras comparadas fueron reducidas)	HMF-VAL-043 Validación de la lectura de microsatélites utilizando WGS, https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

Concordancia analítica de la puntuación de la deficiencia en la combinación homóloga del tumor	13	La concordancia de los resultados de la deficiencia en la recombinación homóloga debe ser superior al 95 % en comparación con las clasificaciones de recombinación homóloga anteriores	Comparación con la versión anterior/COLO82 9 que está científicamente validada + comparación con clasificaciones anteriores que han demostrado validez científica/clínica	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración: concordancia = 99 %. En las comparaciones recientes con las pruebas del tratamiento habitual se ha hallado una sensibilidad del 100 % (aunque las cifras comparadas fueron reducidas). En una publicación científica se respalda aún más la validez de la detección de la deficiencia en la recombinación homóloga dentro de OncoAct	HMF-VAL-062 Validación del clasificador de deficiencia en HR utilizando WGS, HMF-VER-053 Verificación de CHORD v2 (clasificador de deficiencia en la recombinación homóloga, HR), https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988 , https://www.nature.com/articles/s41467-020-19406-4
Sensibilidad analítica y especificidad para la carga mutacional total y tumoral	14	La sensibilidad y la especificidad para la detección de la carga mutacional tumoral deben ser superiores al 95 % en comparación con las pruebas del estándar de atención actual	Comparación con el tratamiento habitual actual en la práctica clínica	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración para la carga mutacional total: sensibilidad = 100 %; especificidad = 100 %. Para la carga mutacional tumoral no se cumple la declaración: sensibilidad = 80 %; especificidad = 75 %. Este menor rendimiento puede explicarse por la heterogeneidad de los cálculos de la carga mutacional tumoral en las diferentes pruebas (nota: las cifras en la validación son reducidas, pero los resultados están respaldados por los datos de la validación de las SNV, MNV e indels somáticas)	HMF-VAL-061 Validación de mutaciones SNV-MNV-INDEL utilizando WGS, https://www.nature.com/articles/s41416-020-0762-5

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

Concordancia analítica del genotipado farmacogenético (DPYD y UGT1A)	15	La concordancia del genotipado farmacogenético de DPYD y UGT1A debe ser superior al 99 % en comparación con las pruebas del estándar de atención actual	Comparación con el «estándar de atención» actual en la práctica clínica y las estadísticas poblacionales de la literatura científica	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración: concordancia = 100 % (nota: las cifras en la validación son reducidas, pero los resultados están respaldados por los datos de validación de las SNV, MNV e indels germinales; y por una comparación con las estadísticas poblacionales de la literatura científica)	HMF-VAL-069 Validación de la lectura del genotipo de DPYD utilizando WGS, HMF-VER-075 Verificación de farmacogenómica, HMF-VAL-072 Validación de análisis germinales
<u>Concordancia</u> analítica de la determinación del estado de HLA	16	La concordancia de la determinación del estado de HLA debe ser superior al 99 % en comparación con las pruebas validadas clínicamente	Comparación con una prueba independiente validada clínicamente	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración: concordancia = 100 %	HMF-VAL-076 Validación del tipaje de HLA mediante WGS
Concordancia analítica de la predicción molecular del tejido de origen	17	La concordancia de las predicciones moleculares del tejido de origen debe ser superior al 90 % para resultados concluyentes tras la validación interna (nota: este es el único rendimiento que es inferior y se indica específicamente en el informe de OncoAct)	Validación interna utilizando un conjunto de prueba independiente	La evidencia analítica disponible demuestra que se cumple esta declaración: el 74 % de las muestras del conjunto de prueba obtuvieron resultados concluyentes y, entre ellas, la concordancia = 93 %. En una publicación científica se respalda aún más la validez de la predicción molecular del tejido de origen dentro de OncoAct	HMF-VAL-071 Validación del algoritmo CUPPA, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9808446/
Reproducibilidad analítica de OncoAct	18	La reproducibilidad se controla mediante verificaciones tras las actualizaciones	Todas las verificaciones	Las verificaciones tras cada actualización controlan la reproducibilidad	HMF-PRO-007 Validación y verificación, HMF-VER-109 Verificación de la cadena de procesamiento v5.33, HMF-VER-112 Verificación de la cadena de procesamiento de informes de OncoAct v1.0

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

Límites de detección de OncoAct	19	Los datos de entrada proporcionados deben cumplir los criterios establecidos en el apartado 6 (limitaciones de los datos de entrada). Estos parámetros de calidad garantizan que se alcance una cantidad mínima de lecturas de secuenciación de alta calidad, lo que actúa como los determinantes prácticos del límite de detección (LoD)	Todas las verificaciones y validaciones	Los datos utilizados en las verificaciones y validaciones cumplen los criterios descritos en el apartado 6 (limitaciones de los datos de entrada).	HMF-PRO-007 Validación y verificación, HMF-SOP-025 Informe de pruebas de laboratorio y transferencia de datos
---------------------------------	----	---	---	--	---

Asimismo, el rendimiento analítico ha sido descrito y publicado en revistas científicas revisadas por pares. Ver [https://www.jmdjournal.org/article/S1525-1578\(21\)00120-3/fulltext](https://www.jmdjournal.org/article/S1525-1578(21)00120-3/fulltext).

La conclusión fue que el análisis de los datos de secuenciación del genoma completo tiene una sensibilidad y precisión superiores al 95 % en comparación con el análisis de los datos procedentes de las técnicas de ADN utilizadas habitualmente para el diagnóstico, y todas las alteraciones genómicas relevantes relacionadas con la oncología se pueden detectar de forma fiable en un único ensayo, tal y como también demuestran nuestras verificaciones y/o validaciones.

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

7.4 Rendimiento clínico

OncoAct es una herramienta de apoyo para el diagnóstico y la toma de decisiones terapéuticas. El experto médico colegiado la usa como apoyo en la toma de decisiones y, por consiguiente, no se pueden definir la sensibilidad y la especificidad de los efectos para el paciente. Sin embargo, en un gran estudio clínico (el estudio WIDE, en el que participaron expertos médicos [HMF-IVDD-268 Adjunto 2 Protocolo de rendimiento clínico del estudio WIDE; <https://bmcmmedgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12920-020-00814-w>]), se evaluó el rendimiento de OncoAct en comparación con el tratamiento habitual en la práctica clínica. A continuación, se presentan los resultados de ese estudio:

Característica	N.º	Declaración de rendimiento	Validación del método	Rendimiento obtenido	Documentación de evidencia disponible en Hartwig (puede consultarse previa solicitud)
Sensibilidad clínica de OncoAct	1	La sensibilidad clínica se define como la probabilidad de que la prueba encuentre una alteración genómica clínicamente relevante en un tumor cuando esta se encuentra realmente presente en el tumor. Dicha sensibilidad clínica debe ser de al menos el 95 %	Investigación clínica (estudio WIDE), mediante la comparación de los resultados del informe de OncoAct con los resultados del «estándar de atención» actual en la práctica clínica	La evidencia clínica disponible demuestra que se cumple la declaración: la sensibilidad clínica (a nivel de alteración genómica) fue del 99 % (y se encontraron 3860 alteraciones genómicas adicionales utilizando OncoAct); la sensibilidad clínica (a nivel de paciente) fue del 98 %	https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988
Especificidad clínica de OncoAct	2	La especificidad clínica se define como la probabilidad de que la prueba no encuentre una alteración genómica clínicamente relevante en un tumor cuando esta no se encuentra realmente presente en el tumor. Dicha especificidad clínica debe ser de al menos el 95 %	Investigación clínica (estudio WIDE), mediante la comparación de los resultados del informe de OncoAct con los resultados del «estándar de atención» actual en la práctica clínica	La evidencia clínica disponible demuestra que se cumple la declaración: la especificidad clínica (a nivel de paciente) fue del 100 %	https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

Valor predictivo positivo	3	El valor predictivo positivo se define como la probabilidad de que un tumor albergue realmente una alteración genómica clínicamente relevante, dado que la prueba ha detectado una alteración genómica clínicamente relevante en el tumor: el valor predictivo positivo debe ser de al menos el 95 %	Investigación clínica (estudio WIDE), mediante la comparación de los resultados del informe de OncoAct con los resultados del «estándar de atención» actual en la práctica clínica	La evidencia clínica disponible demuestra que se cumple la declaración: el valor predictivo positivo (a nivel de paciente) fue del 100 %	https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988
Valor predictivo negativo	4	El valor predictivo negativo se define como la probabilidad de que un tumor no albergue una alteración genómica clínicamente relevante, dado que la prueba no ha detectado una alteración genómica clínicamente relevante en el tumor: el valor predictivo negativo debe ser de al menos el 95 %	Investigación clínica (estudio WIDE), mediante la comparación de los resultados del informe de OncoAct con los resultados del «estándar de atención» actual en la práctica clínica	La evidencia clínica disponible demuestra que se cumple la declaración: el valor predictivo negativo (a nivel de paciente) fue del 98 %	https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988
Razones de verosimilitud	5	La razón de verosimilitud positiva se define como la relación entre la probabilidad de obtener un resultado positivo en la prueba para un tumor con una alteración genómica clínicamente relevante y la probabilidad de obtener un resultado positivo en un tumor sin dicha alteración. La razón de verosimilitud negativa se define como la relación entre la probabilidad de obtener un resultado negativo en la prueba para un tumor con una alteración genómica clínicamente relevante y la probabilidad de obtener un resultado negativo para un tumor sin dicha alteración. Sin declaraciones de rendimiento	Investigación clínica (estudio WIDE), mediante la comparación de los resultados del informe de OncoAct con los resultados del tratamiento habitual actual en la práctica clínica	La evidencia clínica disponible demuestra (a nivel de paciente) una razón de verosimilitud positiva de ∞ y una razón de verosimilitud negativa de 0,02	https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

Porcentaje de pacientes adicionales (que iniciaron tratamiento) con opciones terapéuticas (acceso ordinario + acceso temprano), basado en OncoAct	6	Sin declaraciones de rendimiento	Investigación clínica (estudio WIDE), mediante la comparación de los resultados del informe de OncoAct con los resultados del «estándar de atención» actual en la práctica clínica	La evidencia clínica disponible demuestra un 10 % de pacientes adicionales	https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988
Porcentaje de pacientes adicionales (que iniciaron tratamiento) con opciones terapéuticas (ensayos clínicos), basado en OncoAct	7	Sin declaraciones de rendimiento	Investigación clínica (estudio WIDE), mediante la comparación de los resultados del informe de OncoAct con los resultados del «estándar de tratamiento» actual en la práctica clínica	La evidencia clínica disponible demuestra un 80 % de pacientes adicionales	https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988

En conclusión, OncoAct presenta un alto rendimiento y valor añadido en comparación con el «estándar de atención» en la práctica clínica, con una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo superiores al 95 %. Estos resultados también han sido publicados en una revista revisada por pares:

<https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5988>.

7.5 Enfoque matemático sobre el cual se realiza el cálculo del resultado analítico

El software incluye varios elementos (herramientas) diferentes con cálculos distintos para distintos problemas. Todas estas herramientas también están disponibles en código abierto y se pueden consultar para revisar el enfoque matemático en

<https://github.com/hartwigmedical/pipeline5>.

8 Riesgos residuales de uso (advertencias y precauciones de seguridad)

- El informe de OncoAct es interpretado por alguien que no tiene experiencia en la revisión e interpretación de resultados de pruebas de diagnóstico molecular (como OncoAct).
- Los expertos médicos siempre deben utilizar OncoAct como complemento de otros procedimientos diagnósticos estándar y datos que consideren el estado de salud y los antecedentes clínicos del paciente.
- La sensibilidad clínica de OncoAct es alta (>95 %), pero siempre existe el riesgo de falsos negativos y falsos positivos. El experto médico colegiado que utilice el informe de OncoAct siempre debe tener esto en cuenta al revisar e interpretar los resultados. En el caso de los informes de análisis de OncoAct con baja pureza, el riesgo de falsos negativos es mayor (sensibilidad >85 % en lugar de >95 %), por lo que el informe debe interpretarse con extrema precaución.

Importante:

SPATA31A7, LINC01001, GTF2I, OR4F21, PMS2, RXRA, SLCO1B1 y BTK contienen uno o varios exones para los cuales la detección de variantes genómicas es menos sensible debido a una menor cobertura de secuenciación con una calidad de mapeo suficiente para estas regiones. Interprete los resultados de estos genes con precaución. Cuando exista la sospecha de que pueda haber alteraciones genómicas relevantes, considere la inspección manual o la validación ortogonal.

Importante:

Existe un mayor riesgo de obtener una predicción molecular errónea del tejido de origen (sensibilidad >90 % en lugar del estándar >95 %). Interprete esta predicción con precaución y únicamente como apoyo complementario a la evaluación (histopatológica) estándar, considerando todo el contexto clínico.

Importante:

La puntuación de deficiencia en la recombinación homóloga siempre debe interpretarse en combinación con la presencia (o ausencia) de inactivación de los genes relacionados con la deficiencia en la recombinación homóloga (BRCA1, BRCA2, RAD50, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD54L, PALB2, ATM, BARD1, BRIP1, CHEK1, CHEK2, CDK12, FANCL, PPP2R2A).

Importante:

El valor de corte (10 mut/Mb) utilizado para determinar la clasificación del estado de la carga mutacional tumoral (alta/baja) se basa en el conocimiento (científico) actual y en el consenso de la comunidad (<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10248461/>), pero podría cambiar con nuevas evidencias y conocimientos. También se proporciona la carga mutacional tumoral, pero sin ningún punto de corte, dado que actualmente no existen tratamientos registrados basados en ella. Por lo tanto, la interpretación de la carga mutacional tumoral debe realizarse con precaución.

Importante:

La evidencia para la detección del virus de Epstein-Barr (VEB) mediante OncoAct aún es limitada. Cuando se notifique un resultado positivo para el VEB, considere la validación ortogonal de dicho resultado.

Importante:

Se proporcionan anotaciones adicionales a las alteraciones genómicas (ploidía, valor de la frecuencia del alelo variante ajustada por el tumor), pero todavía no se utilizan en el estándar de atención ni en las directrices clínicas. La interpretación de esta información debe realizarse con precaución.

- El resumen de seguridad y rendimiento (HMF-IVDD-275 Resumen de seguridad y rendimiento de OncoAct) se puede consultar en EUDAMED o se puede solicitar a la Hartwig Medical Foundation (ver la información de contacto más abajo).

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

9 Información de contacto del fabricante

Hartwig Medical Foundation

Science Park 408

1098 XH Ámsterdam

Tel: +31 (0) 20 – 235 2640

Página web: <https://www.hartwigmedicalfoundation.nl> / <https://www.oncoact.nl>

Correo electrónico: info@hartwigmedicalfoundation.nl

[/diagnosticssupport@hartwigmedicalfoundation.nl](mailto:diagnosticssupport@hartwigmedicalfoundation.nl)

10 Notas finales

Estas instrucciones de uso han sido emitidas el (versión 2.5).

Notifique cualquier incidente grave que haya ocurrido en relación con el producto de OncoAct al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el experto médico colegiado (usuario). Utilice los datos de contacto indicados arriba.

11 Anexo: Manual del informe tumoral de WGS de OncoAct

Informe de ejemplo con explicaciones de todas las secciones.

An OncoAct report can be identified by the:

- Hartwig Medical Foundation logo at the top left corner on all pages of the report
- Title "Hartwig Medical OncoAct" at the top center of all pages of the report
- Signature of the Director Hartwig Medical Foundation on the last page of the report

One page summary with the most important results of the whole genome sequencing (WGS) analysis.

Primary tumor location and type as provided by the requesting medical expert.

Concise textual summary of the most relevant findings and their potential treatment options.

Overview of the main genomic tumor characteristics:

- Molecular tumor cell purity as measured using the sequencing data
- Molecular tissue of origin prediction
- Mutational burden status (low or high)
- Microsatellite status (stable - MSS, or unstable - MSI)
- Homologous recombination (HR) status (proficient or deficient)
- Tumor-associated viruses

More details are provided on page 5 and 6.

Overview of the main genomic tumor alterations:

- Genes with driver mutation(s)
- Genes with substantial copy gain (amplification)
- Genes that are completely lost in the tumor
- Genes that are completely disrupted in the tumor
- Gene fusions (in-frame and potential activating)

More details are provided on page 3.

Hartwig Medical OncoAct

OncoAct tumor WGS report

Summary

PRIMARY TUMOR LOCATION: Skin

PRIMARY TUMOR TYPE: Melanoma

The information regarding the primary tumor location and type, and the information related to the biopsy, is based on information received from the originating hospital.

Summary of most relevant findings

- Molecular tissue of origin prediction: Melanoma (likelihood: 99.6%)
- BRAF p.V600E activating mutation, possible indication for BRAF and MEK inhibitors
- CDKN2A p.A486T, p.G486S inactivation
- PTEN (negative) (0 loss)
- TERT (G-125, -124delC) promoter mutation
- TMB (13.7) positive, possible indication for checkpoint inhibitors

An overview of all detected cancer associated DNA alterations can be found in the report

Further interpretation of these results within the patient's clinical context is required by a clinician with support of a molecular tumor board

Tumor characteristics

Tumor purity: 99%

Molecular tissue of origin prediction: Melanoma (99.6%)

Tumor mutational burden status: High (13.7)

Microsatellite status: MSS (0.1)

HR Status: Proficient (0.00)

Virus: None

Genomic alterations in cancer genes

Genes with driver mutation: BRAF, CDKN2A, TERT

Amplified gene(s): None

Deleted gene(s): PTEN

Homozygously disrupted genes: None

Gene fusions: None

Pharmacogenetics

GENE FUNCTION

DPYD Normal Function

UGT1A1 NA

HLA Alleles

GENE GERMLINE ALLELE

HLA-A A*01:01

HLA-B B*40:02 [B*08:01

HLA-C C*07:01 [C*03:04

Germline results

Underlying data concerning cancer predisposition genes may be requested by a licensed clinical genetics laboratory after the patient has given informed consent.

Patient and sample details as provided by the requesting medical expert.

The status of the patient's genes involved in drug metabolism (pharmacogenetics) and status of the HLA alleles are summarized here. More details are provided on page 4.

This report is focused on the identification of all oncogenic driver alterations and the potential targets for therapy. Only tumor-associated genomic alterations in cancer associated genes are reported. The complete list of genes analyzed in this report can be found in <https://www.oncoact.nl/specsheetOncoActWGS>.

Germline results may be requested by a clinical geneticist, when informed consent was given by the patient.

1/1 HMF-FOR-080 v6.0.7

HMF-IVDD-430 V2.5

La tabla «High level evidences» (evidencia de alto nivel) muestra los **emparejamientos específicos y no específicos del tipo de tumor** de los biomarcadores identificados (columnas «Match» [emparejamiento] y «Genomic events» [alteración genómica]) con las posibilidades terapéuticas disponibles (columna «Drug type»). El emparejamiento entre las alteraciones genómicas halladas con el tratamiento y la respuesta prevista se basa en la información recopilada en bases de conocimiento externas.

Resumen de los **ensayos clínicos** en los Países Bajos que tienen una (o más) de las alteraciones genómicas observadas como criterio de inclusión, incluidos también los ensayos clínicos de fase 1. El emparejamiento de los ensayos clínicos se realiza utilizando la base de datos Genomemon Clinical Knowledgebase (CKB) y es, en la medida de lo posible, específico para el tipo de tumor. Se proporcionan más detalles al final de esta página.

Detalles de las evidencias:

- NIVEL:** el nivel de evidencia de la asociación entre el biomarcador y el tratamiento. Aquí solo se muestran los elementos con los niveles de evidencia más altos de las alteraciones genómicas y sus tratamientos, incluidas las asociaciones de validación (A, por ejemplo, aprobado por la FDA/EMA, guías clínicas nacionales, ensayos clínicos en fase 3/4) y elementos con evidencias clínicas sólidas (B, por ejemplo, ensayos en fase 1/2).
- RESPUESTA:** la respuesta prevista para el tratamiento (columna «Drug type» [tipo de fármaco]) basada en la alteración genómica asociada. Se prevé que el tumor sea sensible (triángulo azul) o que presente resistencia (matata o adquirida; triángulo rojo) al fármaco. Se proporcionan más detalles al final de esta página.

Genomic based therapy approaches

High level evidence

DRUG TYPE	TUMOR TYPE SPECIFIC	MATCH	LEVEL	RESPONSE	GENOMIC EVENT
BRAP inhibitor	Yes	Codon -600, Hotspot	A	▲	BRAP p.V600E
BRAP inhibitor, MEK inhibitor (Pani, MEK1 inhibitor, MEK2 inhibitor)	Yes	Codon -600, Hotspot	A	▲	BRAP p.V600E
Immune Checkpoint Inhibitor	Yes	Signature	A	▲	High tumor mutational burden
MEK inhibitor (Pani, MEK1 inhibitor, MEK2 inhibitor)	Yes	Hotspot	A	▲	BRAP p.V600E
MEK inhibitor (Pani), MEK1 inhibitor, MEK2 inhibitor, RAF inhibitor (Pani)	Yes	Codon -600, Hotspot	A	▲	BRAP p.V600E
RAF inhibitor (Pani)	Yes	Codon -600, Hotspot	A	▲	BRAP p.V600E
Act inhibitor (Pani)	No	Deletion	A	▲	PTEN partial loss
MEK1 inhibitor, MEK2 inhibitor	No	Hotspot	A	▲	BRAP p.V600E
PROCR inhibitor	No	Deletion	A	▲	PTEN partial loss

Potentially relevant clinical studies (NL)

NCT ID	TRIAL	DRUG	MATCH	GENOMIC EVENT
NCT0268687	MR-3475-158KEYNOTE-158	Pembrolizumab	Signature	High tumor mutational burden
NCT02670705	Sub	Atezolizumab, atezolizumab + FOLFIRI	Signature	High tumor mutational burden
NCT0475485	BREFFLY-1	Tovorafenib	Activation	BRAP p.V600E

The Genomemon Clinical Knowledgebase (CKB) is used to generate genomic events with high level evidence. Only evidence of level A (FDA approved therapy and/or guidelines, level B (see clinical trials), and/or level C (early clinical trials) are reported. Evidence level of level D (case reports and preclinical evidence) are not reported. The response symbol ▲ means that the evidence is responsive. The resistant symbol ▼ means that the evidence is resistant. The alteration P (potential) after the response symbol indicates the evidence is predicted responsive/resistant (meaning, the evidence data are limited but a potential responsiveness is suggested). More details about CKB can be found in our Glossary Of Terms.

The Genomemon Clinical Knowledgebase (CKB) database is used to generate genomic events for potential clinical study eligibility. Please note that clinical study eligibility depends on multiple patient and tumor characteristics of which only the genomic events are considered in this report. Therefore, although a clinical study is shown, the patient may not be eligible. When the information is available, clinical studies are filtered on gender.

If the high level evidence or clinical study matching is based on a mutation, but this is not a hotspot (see table Tumor observed variants under Genomic events), that high level evidence or clinical study should be interpreted with extra caution.

If the high level evidence or clinical study matching is based on an amplification, the high level evidence or clinical study that corresponds with 'overexpression' of the gene is also matched. The same rule applies for deletions and underexpression.

For MEK1 genes only: if the high level evidence or clinical study matching is based on an inactivation or deletion, the high level evidence or clinical study that corresponds with 'absence of protein expression' of that gene is also matched.

Using WGS data of the tumor and the reference sample, the molecular tumor cell purity and the average tumor ploidy are estimated.

Tumor specific variants are reported for more than 460 cancer related genes. Only non-synonymous variants are reported and are sorted according to the oncogenic driver likelihood (high, medium and low). Gene coding and protein annotation (VARIANT) is based on the observed chromosomal variants (POSITION) is based on the canonical transcript of the gene and, for certain genes, based on the clinical most relevant transcript. A complete list of the transcripts used can be found in <https://www.oncoact.nl/specheerOncoActWGS>. The READ DEPTH provides the 'raw' sequencing read count of the variant and the total reads observed on the chromosomal position. The tumor variant allele frequency (TVAF) and the gene copy number for all variants have been corrected based on the tumor purity to only represent a tumor specific value. The BIALLELIC column provides information on whether the observed variant is detected in both alleles (bi-allelic) or whether a wildtype allele is still present. A HOTSPOT status highlights the clinical importance of this variant and is provided based on information available from different knowledgebases including CIVIC, DoCM and CGI.

Overview of all observed tumor specific gene disruptions due to structural variants. For each disruption, the disrupted canonical transcript range is shown, as well as the type of disruption (deletions (DEL), inversions (INV), duplications (DUP) and single breaks (BND)) and the number of disrupted and undistrupted allele copies.

Hartwig Medical OncoAct

HOSPITAL PATIENT ID
reporting_normal

REPORT DATE
30-Apr-2023

Genomic events (1/2)

Tumor purity & ploidy

Tumor purity: 99%

Average tumor ploidy: 3.1

Tumor observed variants

GENE	POSITION	VARIANT	READ DEPTH	COPIES	TVAF	BIALLELIC	HOTSPOT	DRIVER
BRAP	7:140453136	c.1799T>A (p.Val600Glu)	150 / 221	6.0	68%	No	Yes	High
CDKN2A	9:219711153	c.246_247delC (p.Gly59fs)	99 / 99	2.0	100%	Yes	Near	High
CDKN2A	9:15	c.203_204delC (p.Asn68fs)	99 / 99	2.0	100%	Yes	Near	High
TERT	5:129528	c.-105_124delC (p.Trp43fs)	56 / 65	2.0	87%	Yes	Yes	High
SF3B1	2:185628779	c.2193C>T (p.Pro714Leu)	74 / 111	3.0	67%	No	No	Low
TP53	17:319604330	c.149T>G (p.Leu59fs)	47 / 112	4.0	42%	No	No	Low

Variant annotation is by default based on the canonical transcript. In case another transcript is more commonly used in routine practice, this annotation is also provided (bottom annotation).

Tumor observed gains & losses

CHROMOSOME	REGION	GENE	TYPE	MIN COPIES	MAX COPIES	CHROMOSOME WITH COPIES
10	q23.31	PTEN	partial loss	0	2	2

Tumor observed gene fusions

None

Tumor observed homozygous disruptions

Complex loss of wild type alleles

None

Tumor observed gene disruptions

LOCATION	GENE	DISRUPTED RANGE	TYPE	CLUSTER ID	DISRUPTED COPIES	UNDISRUPTED COPIES
10q23.31	PTEN	Intron 5 > Intron 6	DEL	68	2.0	0.0

Tumor specific copy number alterations are listed here, including gene copy-gains (amplification) and complete losses.

Gene copy gains are reported if the complete gene (full gain) or only part of the gene (partial gain) shows an increase in copy number. A distinction is made between a sufficiently high enough (defined as higher than 3x the tumor ploidy).

For gene copy losses, only tumor-specific complete losses are reported (0 copies). A distinction is made between a partial loss (only part of the gene has 0 copies) and a full loss (the complete gene has 0 copies) of the gene.

The detected gene fusions that are predicted to result in a viable fusion product are listed here. Information about the fusion partners include:

- The genetic breakpoints of the genes involved (exon level) and their position (5' or 3') in the fusion
- The phasing of the genes ('inframe' or 'out of frame' splicing, which is required for an inframe fusion product)
- The calculated copies of the fusion in the tumor
- The driver likelihood of the gene fusion, with a high-driver status for all known fusions.

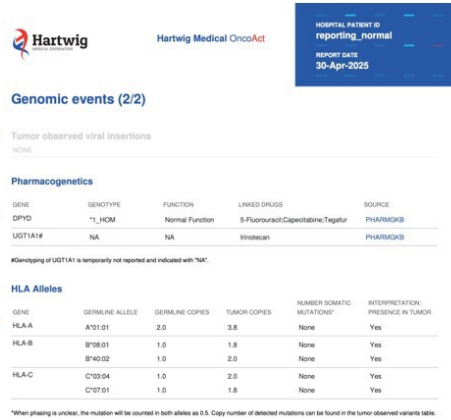
Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

Si existe un virus en el tumor se informará de su tipo específico y del número de integraciones víricas en el ADN del tumor. En el tumor se analiza la presencia de cinco virus asociados a tumores, concretamente: el virus del papiloma humano (VPH), el virus del herpes humano 8 (VHH-8), el virus de la hepatitis B, el virus de Epstein-Barr (VEB) y el poliomavirus de células de Merkel (MCPV).

Los hallazgos farmacéuticos muestran el estado de los alelos de los genes DPYD y UGT1A1 del paciente y el efecto previsto de las variantes en su función proteica con respecto a los fármacos relacionados. Actualmente, solo se describe el estado de DPYD y UGT1A1, pero se podrían incluir más genes para respaldar la elección de medicamentos y mejorar los tratamientos personalizados.

Aquí se informa sobre el estado de los genes del antígeno leucocitario humano (HLA) A, B y C. La posible variabilidad de estos genes constituye la base para una respuesta inmunitaria adaptativa competente contra patógenos y antígenos tumorales. Las variantes específicas de HLA pueden modificar la funcionalidad del repertorio de células inmunitarias y, por lo tanto, alterar la eficacia de las respuestas inmunitarias adaptativas.



Using WGS data, the HR status of the tumor can be accurately predicted by the CHORD classifier tool based on specific single nucleotide variants (SNV), insertions and deletions (indels), and structural variant (SV) types. A score higher than 0.5 indicates HR deficiency caused by complete (bi-allelic) inactivation of BRCA1/2 or possibly other genes in the HR pathway (e.g. RAD51C, PALB2). More details are described in Nguyen *et al.* Nature Communications, 2020.

Tumor genomic profiles (1/2)

Homologous recombination status

Proficient 0.00



Microsatellite status

Stable 0.1



Tumors with a microsatellite stability score lower than 4 are considered microsatellite stable (MSS) and tumors with a score larger than 4 are considered microsatellite unstable (MSI). The WGS-based MSI readout has been validated against the routine MSI-POR assay and immunohistochemistry status of proteins involved in the mismatch repair (MMR) pathway.

The tumor mutational burden is reported as:

- The mutational load (ML), which is defined by the total number of somatic missense variants across the whole genome of the tumor.
- Tumor mutational burden (TMB) score, which is calculated by the number of all somatic variants per genome Mb.

Although closely related, differences between both metrics exist. For TMB, tumors with a score >10 are considered to have a high mutational burden, which has clinical significance for possible treatment with immunotherapy.

Tumor mutational burden

High 13.7



Tumor mutational load

165



Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

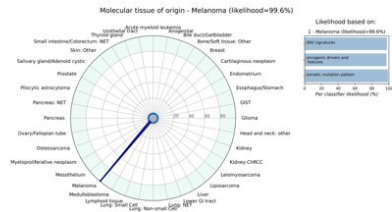


Hartwig Medical OncoAct



Tumor genomic profiles (2/2)

Molecular tissue of origin prediction



The title shows the conclusion of the prediction of the molecular tissue of origin. If none of the competing predictions has a likelihood $\geq 80\%$, no reliable conclusion can be drawn (results inconclusive).

The left plot shows the likelihoods (percentages) for all the origin types analyzed by the molecular tissue of origin prediction tool. Only when the likelihood is $\geq 80\%$ (a peak in the green outer band of the plot), a reliable prediction (with $\geq 80\%$ accuracy) can be drawn. Lower likelihoods ($< 80\%$) suggest there is a similarity with that tissue of origin, but this is less strong and there is lower confidence.

The right plot shows the breakdown of the strongest predicted likelihood(s) into the contribution of the 11 DNA types related to those used in Cosmic signatures: C1 driver landscape and passenger characteristics (e.g. tumor type observed sharing), and C2 somatic mutation pattern (mutation distribution across the genome).

6/11 HMF-FOR-080 v0.0.7



Hartwig Medical OncoAct



CIRCOS plot



The outer first circle shows the chromosomes. The darker shaded areas represent large gaps in the human reference genome: i.e. regions of centromeres, heterochromatin & missing short arms.

The second circle shows all tumor observed variants (not, exon, intron and intergenic regions) and are divided into an outer ring of single nucleotide polymorphism (SNP) allele frequencies and an inner ring of short insertion/deletion (indel) locations. Variant allele frequencies have been converted to tumor purity and scale from 0 to 100%. Each dot represents a single variant and are colored according to the type of base change (e.g. C to T/G to A in red) and are in concordance with the coding used in Alexandrov et al. (2013) Nature paper that describes the use of mutational signatures. INDELs are colored yellow and red for insertions and deletions respectively.

The third circle shows all observed tumor purity adjusted copy number changes, including both focal and chromosomal events. Copy number losses are indicated in red, green shows regions of copy number gain. The scale ranges from 1 (complete loss) to 6 (high level gains). If the allelic copy number is > 6 it is shown as 6 with a green dot on the diagram.

The fourth circle represents the observed minor allele copy numbers across the chromosome. The region of the chart is from 0 to 3. The expected normal minor allele copy number is 1, and anything below 1 is shown as a bar and represents a CNV event (deletion). Minor allele copy numbers above 1 indicate amplification events of both A and B alleles at the indicated locations (blue).

The innermost circle displays the observed structural variants within or between the chromosomes. Translocations are indicated in blue, deletions in red, inversions in yellow, tandem duplications in green and insertions in black.

7/11 HMF-FOR-080 v0.0.7

La herramienta de predicción molecular del tejido de origen muestra el tejido de origen tumoral previsto basándose en tres lecturas diferentes de los datos de WGS (gráfico de la derecha). En el gráfico de la izquierda se muestra una representación visual de la predicción distribuida según los distintos orígenes. La probabilidad (semejanza) para una predicción del origen específica debe ser superior al 80 %; de lo contrario, no se podrá extraer una conclusión fiable («resultados no concluyentes»).

Debajo del gráfico se describe cómo interpretar los gráficos de predicción molecular del tejido de origen.

A CIRCOS plot visualizes the position, size and orientation of all tumor-specific genomic alterations. These alterations include single nucleotide variants, insertions/deletions, copy numbers changes, translocations and other structural variants.

Details on how to interpret a CIRCOS plot are described on the bottom of this page.

Manual de usuario de OncoAct

HMF-IVDD-430 V2.5

[illegible]

Each OncoAct report ends with more Sample details and Disclaimers (page 10) and the signature of the Director Hartwig Medical Foundation (page 11).

The Sample details include additional information about the sample processing and report generation. The Disclaimers include the version of the report, the UDI-DI of the OncoAct product and general aspects of the performance of OncoAct (sensitivity).

For feedback and complaints, please contact: qualitysystem@hartwigmedicalfoundation.nl.

For questions regarding the contents of a report, please contact: diagnosticssupport@hartwigmedicalfoundation.nl.

 Hartwig Medical OncoAct	 Hartwig Medical OncoAct	HOSPITAL PATIENT ID reporting_normal REPORT DATE 30-Apr-2025
Sample details & disclaimers (1/2)		
Sample details The samples have been sequenced at Hartwig Medical Foundation, Science Park 408, 10800 Amsterdam. The hospital patient ID is: reporting_normal and the pathology issue ID is: pathologynumber. The results in this report have been obtained between 01-Jan-2023 and 30-Apr-2023. This analysis is performed on the tumor sample as arrived on 01-Jan-2023 with barcode normal. The results stated in this report are based on the tested tumor and reference sample. This equipment is performed according to lab procedures: ISO17 v4.1-SPECT v4.0-PREPRINT v4.0 This report is performed to: studyR, official@hospitalname, hospitalPostCode.hospitalCity <i>Comments: this is a test report based on the COLO829 cell line.</i>	Disclaimers The data of which this report is based is generated from tests that are performed under NEN-EN-ISO/IEC 17025:2017 TESTING L&D accreditation and have passed all internal quality controls. This report is generated using the molecular pipeline version 5.39 and OncoAct reporting engine version 1.6. ID: HRM20230500000APR03-1-1 This report was generated automatically and checked by a trained Clinical Molecular Biologist in Pathology (NMMP). The primary tumor location and primary tumor type have influence on the clinical end-use utility matching. No check is performed to verify the received information. The conclusion of this report is based solely on the results of the whole genome sequencing of the received biospecimen, and the additional primary tumor location and type information received from the hospital. Further interpretation of these results with the patient's clinical context is recommended by a clinician with support of a molecular tumor board. Based on a limited tumor purity of at least 20%, the test has a sensitivity of ~ 95% for detection of tumor observed variants, tumor observed gene and losses, tumor observed gene fusions and tumor observed gene/homologous deletions. Hartwig Medical Foundation is not responsible for the content of all external data sources used to do the analyses and generate this report. Hartwig Medical Foundation is not liable and cannot be held accountable for any inaccuracies, incompleteness or error of any other kind in these data sources, or the external software used to harmonize and curate these data sources. Based on the Dutch Act on Exceptional Medical Treatments (in Dutch: "Wet bijzondere medische verrichtingen") (Storting Hartwig Medical Foundation is not authorized to interpret germline results, but may share data on explicit request of a licensed clinical genetics laboratory that is authorized to provide germline test results. For feedback or complaints please contact: qualitycontrol@hartwigmedicalfoundation.nl. For questions about the contents of this report, please contact: diagnosticssupport@hartwigmedicalfoundation.nl.	— End of report —
	 Edwin Cuppen, Director Hartwig Medical Foundation	