

# Quel testing dans le cancer du sein en 2026 ? Que mettre en place en pratique dans les centres ?

Frédérique Penault-Llorca, MD, PhD



# DECLARATION OF INTERESTS

Frédérique Penault-Llorca

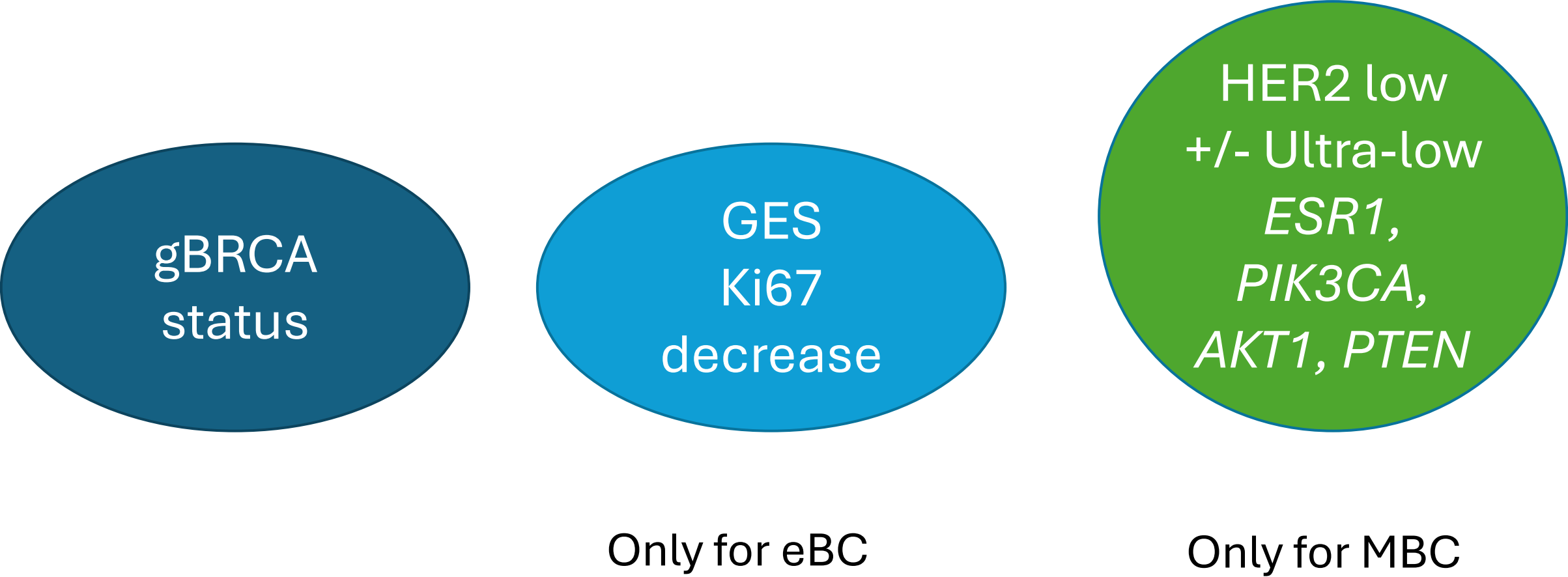
- Personal financial interests:
- Agendia, Astellas, AstraZeneca, Daiichi-Sankyo, Eisai, Exact Science, Gilead, GSK, Janssen, Lilly, MSD, Myriad, Nanostring, Novartis, Pfizer, Pierre-Fabre, Roche, Seagen, Veracyte
- Institutional financial interests:
- AstraZeneca, Daiichi-Sankyo, Genomic Health, MSD, Myriad, Nanostring, Roche
- Congress invitations:
- AbbVie, AstraZeneca, Bayer, BMS, MSD, Novartis, Roche, Lilly, Pfizer, Daiichi-Sankyo, Amgen
- Medical Societies:
- Cours Nice-St Paul on breast cancer and guidelines (co-President)
- Medical Organizations:
- Delegate President of UNICANCER- CEO of the Comprehensive Cancer Center Centre Jean Perrin

# Key biomarkers for HER2 breast cancer



HER2 + 3+  
or 2+  
amplified

# Key biomarkers for luminal breast cancers



gBRCA  
status

GES  
Ki67  
decrease

Only for eBC

HER2 low  
+/- Ultra-low  
*ESR1*,  
*PIK3CA*,  
*AKT1*, *PTEN*

Only for MBC

# Key biomarkers for TNBC



gBRCA  
status

PD-L1

HER2-low

Only for MBC

Only for MBC

Metastatic breast cancer

# CLINICAL PRACTICE GUIDELINES

ESMO Metastatic Breast Cancer Living Guideline  
v1.2 April 2025

## Biopsy of Metastatic Lesion to Confirm Diagnosis

15-18 % switch to TNBC

No need of Ki67



| Summary of recommendations                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | LoE, GoR                                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| <p>At first diagnosis of MBC, a biopsy should be carried out to:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Confirm histology</li><li>• Re-assess tumour biology (ER, PgR, HER2)</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <p>I, B</p> <p>I, A</p>                                                    |
| <p>Other therapeutically relevant biomarkers to be assessed as part of routine clinical practice include (Tarantino, 2023; Mosele, 2024):</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• In HER2-negative MBC:<ul style="list-style-type: none"><li>○ HER2-low status by IHC/ISH</li><li>○ Germline <b>BRCA1/2</b> [ESCAT score: I-A]</li><li>○ Germline <b>PALB2</b> [ESCAT II-B] mutational status</li></ul></li><li>• In TNBC: PD-L1 status</li><li>• In HR-positive, HER2-negative MBC:<ul style="list-style-type: none"><li>○ HER2-ultralow status by IHC</li><li>○ <b>PIK3CA</b> [ESCAT score: I-A], <b>AKT1/PTEN</b> [ESCAT I/II] and <b>ESR1</b> [ESCAT score: I-A] (after AI treatment) mutational status</li></ul></li></ul> | <p>I, A</p> <p>I, A</p> <p>III, C</p> <p>I, A</p> <p>II, A</p> <p>I, A</p> |
| <p>Genomic profiling and further diagnostic tests (e.g. on tumour tissue or ctDNA) should only be carried out as part of routine clinical practice if the result will change the treatment approach, as guided by the ESCAT scale, or if the patient can access appropriate clinical trials</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <p>III, B</p>                                                              |



SPECIAL ARTICLE

Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with advanced cancer in 2024: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group

M. F. Mosele<sup>1,2</sup>, C. B. Westphalen<sup>3</sup>, A. Stenzinger<sup>4</sup>, F. Barlesi<sup>1,2,5</sup>, A. Bayle<sup>5,6,7,8</sup>, I. Bièche<sup>9</sup>, J. Bonastre<sup>7,8</sup>, E. Castro<sup>10</sup>, R. Dienstmann<sup>11,12,13</sup>, A. Krämer<sup>14,15</sup>, A. Czarnecka<sup>16,17</sup>, F. Meric-Bernstam<sup>18</sup>, S. Michiels<sup>7,8</sup>, R. Miller<sup>19,20</sup>, N. Normanno<sup>21</sup>, J. Reis-Filho<sup>22</sup>, J. Remon<sup>2</sup>, M. Robson<sup>23</sup>, E. Rouleau<sup>24</sup>, A. Scarpa<sup>25</sup>, C. Serrano<sup>11</sup>, J. Mateo<sup>11</sup> & F. André<sup>1,2,5\*</sup>

Table 3. List of genomic alterations level I/II according to ESCAT in advanced breast cancer

| Gene    | Alteration                                        | Estimated prevalence | ESCAT score                                              | Drug class matched                                             | References                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------|---------------------------------------------------|----------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ERBB2   | Amplifications                                    | 15%-20%              | IA                                                       | Anti-HER2 monoclonal antibodies<br>HER2 TKIs<br>Anti-HER2 ADCs | Baselga et al., <i>N Engl J Med</i> 2012 <sup>55</sup><br>Krop et al., <i>Lancet Oncol</i> 2014 <sup>56</sup><br>Lin et al., <i>J Clin Oncol</i> 2020 <sup>57</sup><br>Saura et al., <i>J Clin Oncol</i> 2020 <sup>58</sup><br>Rugo et al., <i>JAMA Oncol</i> 2021 <sup>59</sup> |
|         | Hotspot mutations                                 | 4%                   | IIB                                                      | Pan-HER TKIs<br>Anti-HER2 ADCs                                 | Hyman et al., <i>Nature</i> 2018 <sup>51</sup><br>Smyth et al., <i>Cancer Discov</i> 2020 <sup>60</sup><br>Li et al., <i>Ann Oncol</i> 2023 <sup>61</sup>                                                                                                                        |
| PIK3CA  | Hotspot mutations                                 | 30%-40%              | IA (ER-positive<br>HER2-negative ABC)                    | α-specific PI3K<br>inhibitors                                  | André et al., <i>N Engl J Med</i> 2019 <sup>62</sup><br>Rugo et al., <i>Lancet Oncol</i> 2021 <sup>63</sup>                                                                                                                                                                      |
| ESR1    | Mutations                                         | 30%-40%              | IA (ER-positive<br>HER2-negative ABC<br>resistant to AI) | SERDs                                                          | Bidard et al., <i>J Clin Oncol</i> 2022 <sup>64</sup><br>Bardia et al., <i>Cancer Res</i> 2023 <sup>65</sup>                                                                                                                                                                     |
| BRCA1/2 | Germline pathogenic/likely<br>pathogenic variants | 4%                   | IA                                                       | PARP inhibitors                                                | Litton et al., <i>N Engl J Med</i> 2018 <sup>66</sup><br>Robson et al., <i>Eur J Cancer</i> 2023 <sup>67</sup>                                                                                                                                                                   |
|         | Somatic mutations                                 | 3%                   | IIB                                                      | PARP inhibitors                                                | Tung et al., <i>J Clin Oncol</i> 2020 <sup>68</sup>                                                                                                                                                                                                                              |
| PTEN    | Mutations/deletions                               | 7%                   | I/II                                                     | AKT inhibitors                                                 | Schmid et al., <i>J Clin Oncol</i> 2020 <sup>69</sup><br>Turner et al., <i>N Engl J Med</i> 2023 <sup>70</sup>                                                                                                                                                                   |
| AKT     | Mutations (p. E17K)                               | 5%                   | I/II                                                     | AKT inhibitors                                                 | Kalinsky et al., <i>JAMA Oncol</i> 2021 <sup>71</sup><br>Turner et al., <i>N Engl J Med</i> 2023 <sup>70</sup>                                                                                                                                                                   |
| PALB2   | Germline pathogenic/likely<br>pathogenic variants | 1%                   | IIB                                                      | PARP inhibitors                                                | Tung et al., <i>J Clin Oncol</i> 2020 <sup>68</sup><br>Gruber et al., <i>Nat Cancer</i> 2022 <sup>72</sup>                                                                                                                                                                       |

+ HER2 low, UL  
+ PD-L1

ABC, advanced breast cancer; ADCs, antibody—drug conjugates; AI, aromatase inhibitors; ER, oestrogen receptor; ESCAT, ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets; HER, human epidermal growth factor receptor; PARP, poly (ADP-ribose) polymerase; SERDs, selective oestrogen receptor degrader; TKIs, tyrosine kinase inhibitors.



# IHC-based biomarkers

ER, PgR: 1-9% HR low, consider as TNBC

HER2 low: 2+ non amplified, 1+

PD-L1 for TNBC

And next?...Ultra low  $0 < UL \leq 10\%$  ...

# Gene alterations, ESCAT level I

*PIK3CAm*

30-40%

*AKT1m*

5%

*PTEN intact*

7%

*gBRCAm*

5%

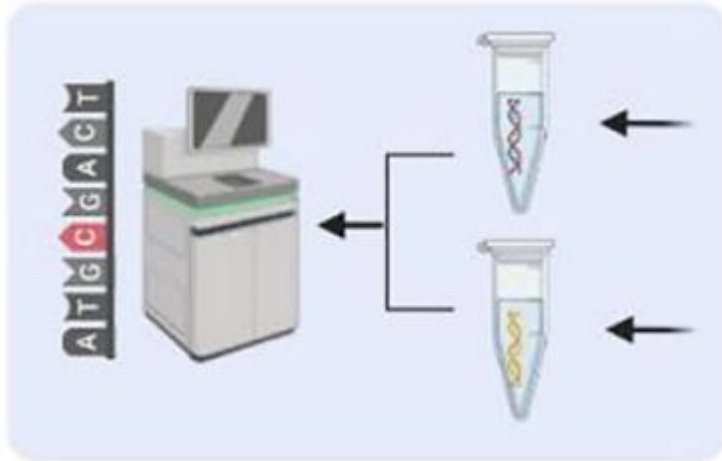
*ESR1m*

~30-40%

*ERBB-2 amp*

~15%

## Biopsie tissulaire



GOLD STANDARD

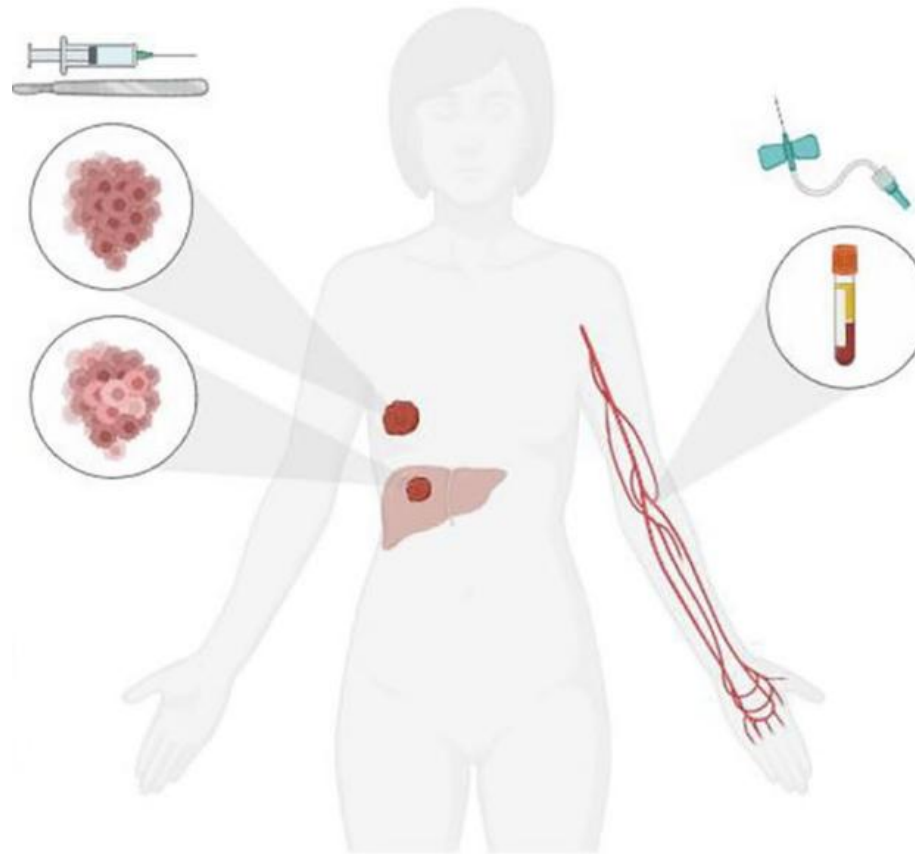
Donne d'importantes informations histopathologiques

Ne capture ni l'hétérogénéité tumorale ni les changements dynamiques

Procédure invasive

Permet IHC, HIS, CGP ou profilage moléculaire ciblé

Versus

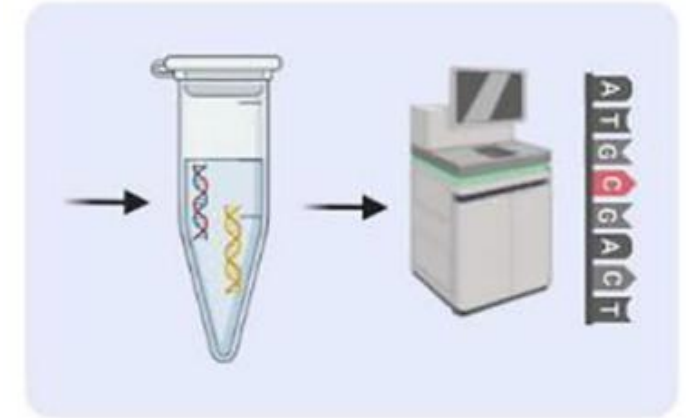


Patiente avec un CS métastatique

Avantages

Limitations

## Biopsie liquide



Rapide and peu invasive

Capture l'hétérogénéité tumorale

Permet des séries de tests

Nécessite des tests sensibles et un taux élevé d'excrétion de l'ADNtc si négatif → aller au tissu

Ne peut remplacer l'analyse histopathologique

Permet un profilage moléculaire ciblé, CGP (avec limitation)

# Capabilities and limitations of PCR and NGS technologies used to detect actionable biomarkers

| <br>Technology  | <br>Capabilities                                                                                                                                                                                                                                                                   | <br>Speed                                                   | <br>Costs                                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>PCR</b><br>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Single nucleotide variants, fusions, deletions, DNA methylation changes<sup>1,2</sup></li> <li>Detection of hot spots mutations in <b>one/a few genes</b>, no broad simultaneous genomic testing; limited multiplexing<sup>1,2</sup></li> <li>Mutations can be missed due to <b>limited coverage</b><sup>1,3</sup></li> </ul> | <b>Shorter turnaround</b> <sup>1,2</sup><br>but testing multiple biomarkers can be time-consuming and may exhaust a tissue sample <sup>2</sup> | <b>Testing multiple biomarkers can increase cost vs. NGS</b> <sup>2</sup>                                                                         |
| <b>NGS</b><br> | <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Broad simultaneous genomic testing</b> (whole genome/specific areas of interest)<sup>1,2</sup></li> <li><b>All classes of genomic variants</b><sup>1,2</sup></li> </ul>                                                                                                                                                    | <b>Longer turnaround</b>                                                                                                                       | <b>Generally higher cost</b><br><i>Targeted NGS gene panels are potentially cost effective vs. single gene sequential PCR testing<sup>2</sup></i> |

**Sample preparation and quality is critical for obtaining robust and accurate testing results, irrespective of the sample type (blood, tissue) or technology (PCR, NGS) used**

# Biomarqueurs pour les cancers du sein métastatiques ER+, HER2-.

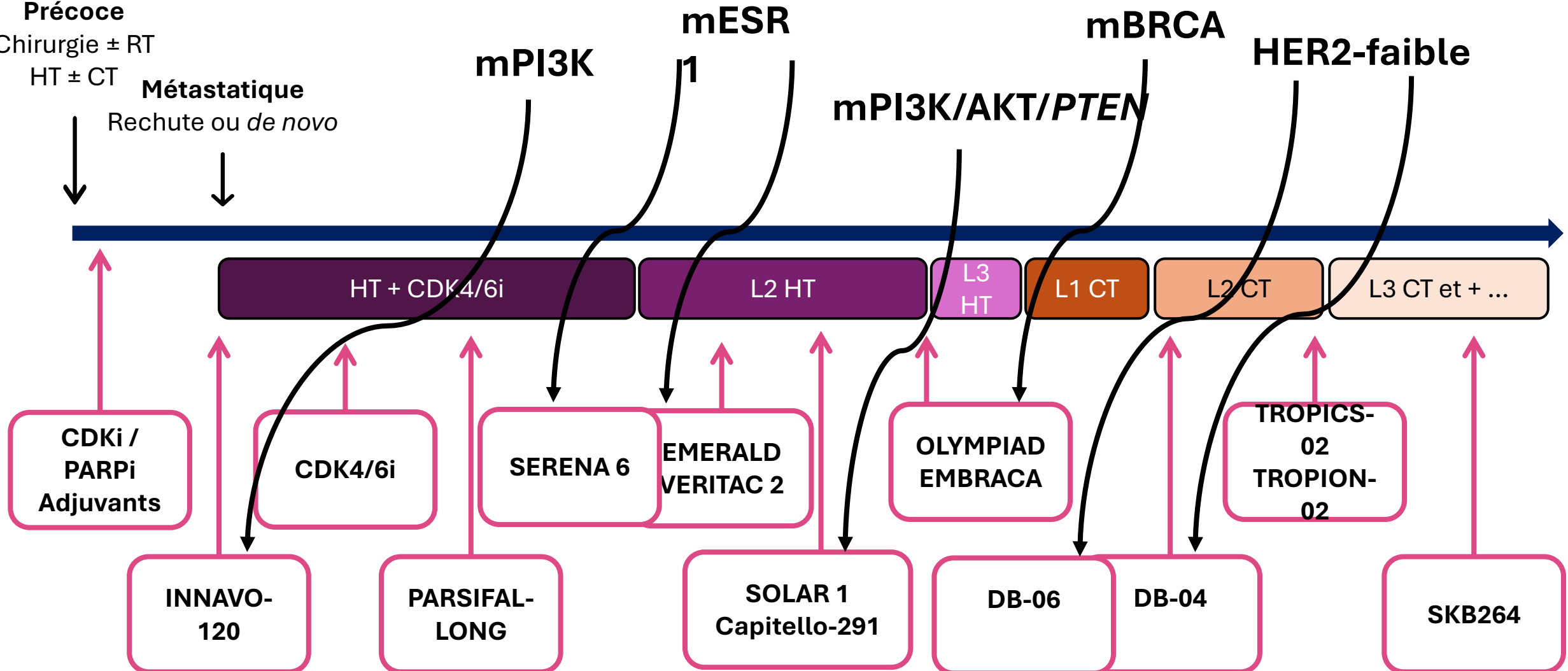
- **Évaluation de l'hormonosensibilité ( délai de rechute etc..)**
- ***gBRCAm* (5%)** si cela n'a pas été fait auparavant, ***gPALB2m* (1%)** optionnel
- Statut HER2 faible (IHC), bientôt Ultra-faible
- ***PIK3CAm* (30-40%), *PTENm* (7%) *AKT1m* (5%)** (tissu ou biopsie liquide NGS si PTEN) (à la rechute ou après CDK4/6i)
- ***ESR1m* (30-40%)** (LB) avant la 2<sup>ème</sup> ligne,
- Si les drogues sont disponibles **Fusions *NTRK*, statut MSI**, si des essais cliniques sont disponibles ***ERBB2/HER2m*, *gPALB2***.
- Aucun biomarqueur n'est disponible pour sélectionner les patientes pour les CDK4/6i.

## Précoce

Chirurgie ± RT  
HT ± CT

## Métastatique

Rechute ou *de novo*



# Message pour tests lors de la phase métastatique

- Le moment de prescrire un test et le type de test dépendent de l'altération recherchée
- Le plasma et les tissus fournissent généralement des informations complémentaires
- Utilisation du plasma pour détecter les mécanismes de résistance à un traitement antérieur (par exemple ***ESR1-mut***) : toujours lorsque la maladie progresse.
- Passer au tissu si la biopsie liquide est négative.
- Défis : Biomarqueurs, accès aux médicaments et remboursement



# Stratégie de testing

Au diagnostic de la phase métastatique  
PIK3CA si conditions cliniques requises

A la progression  
ESR1  
PIK3CA/AKT/PTEN=/-SBRCA

Si non testé auparavant  
gBRCA, gPALB2

Soit juste  
*PIK3CA*

Soit  
*PIK3CA/AKT/PTEN*  
*sBRCA*

ESR1 biopsie  
liquide

Circuit  
oncogénétique  
sang

Si sBRCA Circuit  
oncogénétique

PCR ciblée ou NGS  
Tissu>liquide

NGS  
Tissu>liquide

PCR ciblée ou NGS  
Biopsie liquide et  
tissu si negative

NGS

En pratique comment faire pour implémenter la biopsie liquide?

# Analyse NGS sur ADNtc - Circuit interne

Autre si  
large panel

**Centre de Lutte Contre le Cancer d'Auvergne**  
**LBM OncoGènAuvergne** (Directeur : Dr Mathilde GAY-BELLILE)  
**Unité fonctionnelle de Pathologie** (N°d'enregistrement : 63-72)  
Pr Frédérique PENAULT-LLORCA / Dr Lucie TIXIER DEVES  
58, rue Montalembert - B.P. 392 - 63011 CLERMONT-FERRAND Cedex1  
Tél : 04.73.27.81.67. Fax : 04.73.27.81.80 Internet : [www.cjp.fr](http://www.cjp.fr)

**Centre Jean PERRIN**  
UNICANCER Clermont Auvergne Métropole

**Analyse demandée**

Poumon ☐

NGS \*  
ADN (panel CJP 30 gènes\*)

Sein ☐

Autres : ☐

**Cadre réservé au laboratoire**

Réception secrétariat le :  
Par :  
Heure :  
N° examen :  
Conforme ☐  
Nb de tubes :  
Observation :  
Non Conforme ☐  
Réception technique :  
Reçu le : Par :  
Heure :  
Conforme ☐  
Non Conforme ☐  
Non-conformité (FA) n° :  
Congélation :  
Congelé le : Par :  
Heure :  
Volume de plasma (mL) :  
Stockage :  
Concentration ADN circulant (ng/μL) :

**FEUILLE DE PRESCRIPTION – BON DE COMMANDE**  
**Analyses Moléculaires sur ADN circulant**

Le Laboratoire récupérera dans un sachet de prélèvement violet :  
Cette feuille de prescription dûment complétée +/- ordonnance prescripteur  
**Prélèvements sanguins à transmettre au plus vite : postes 5829 / 8871**  
La copie du compte-rendu moléculaire et d'anatomopathologique

**RENSEIGNEMENTS PATIENT :**  
Nom de naissance :  
Nom d'usage :  
Prénom :  
Date de Naissance : Sexe :  
N° sécurité sociale :  
Adresse :  
**RENSEIGNEMENTS PRESCRIPTEUR :** (ou Tampon)  
Date de la demande :  
Nom, Prénom :  
Adresse de l'établissement du prescripteur :  
E-mail/tel :  
N° Identification :  
Signature :  
**RENSEIGNEMENTS PRELEVEUR :**  
Nom, Prénom :  
Date et heure du prélèvement : le ..... / ..... / ..... à ..... h .....  
Type de tubes utilisés : ☐ 4 Tubes EDTA de 5 mL  
(Conservation **1h à température ambiante**)  
☐ 2 Tubes Cell-Free DNA Collection de 8 mL  
(Roche, conservation 7 jours à température ambiante)  
**INFORMATIONS CLINIQUES :**  
Type histologique :  
Etat tumoral :  
Traitement actuel : ☐ Inhibiteur TK ☐ Chimiothérapie ☐ Néant ☐ Autre  
☐ Détection de mutation de résistance sous traitement (rechute / progression)  
☐ Mutation de sensibilité au traitement :  
Autres informations importantes :

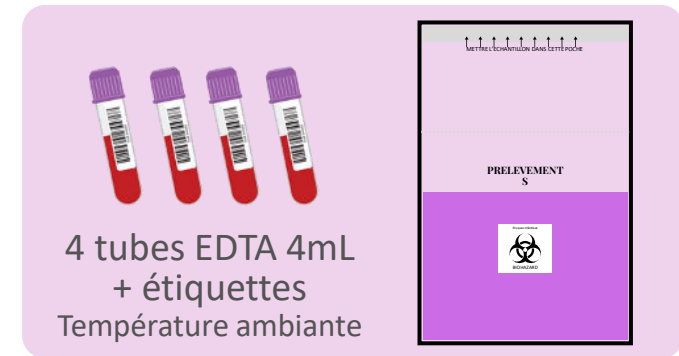
**Cette prescription vaut engagement de paiement au Centre Jean Perrin par l'établissement dont dépend le prescripteur.**  
\* Ces analyses nécessitent l'envoi de données informatiques **personnelles** sur des plateformes, extérieures à l'établissement, qui sont certifiées « Hébergeur de données de santé »  
Etablissement de Santé Privé d'Intérêt Collectif – Habilité à recevoir des dons et legs-Certifié sans réserve par l'H.A.S. en 2003,2007,2011,2016

PRA-FO-034 V04 Septembre 2024 1/2

## FEUILLE DE PRESCRIPTION - BON DE COMMANDE Analyses Moléculaires sur ADN circulant

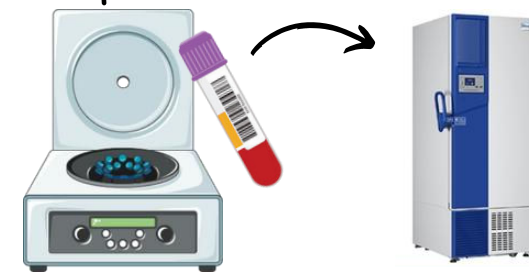
Mis à jour du Manuel de Prélèvement en cours (<https://cjp.manuelprelevement.fr/>)

### Circuit "Violet" / Kit de prélèvement



Sachets violets  
SPECIFIQUES  
Biopsie liquide

Délai de  
centrifugation  
de 2h après le  
prélèvement



Stockage -80°C  
jusqu'à analyse

# Analyse NGS sur ADNtc - Circuit externe

Autre si  
large panel

**Centre de Lutte Contre le Cancer d'Auvergne**  
**LBM OncoGènAuvergne** (Directeur : Dr Mathilde GAY-BELLILE)  
**Unité fonctionnelle de Pathologie** (N°d'enregistrement : 63-72)  
Pr Frédérique PENAULT-LLORCA / Dr Lucie TIXIER DEVES  
58, rue Montalembert - B.P. 392 - 63011 CLERMONT-FERRAND Cedex1  
Tél : 04.73.27.81.67. Fax : 04.73.27.81.80 Internet : [www.cjp.fr](http://www.cjp.fr)

**Centre Jean PERRIN**  
UNICANCER Clermont Auvergne Métropole

**Analyse demandée**

Poumon ☐

NGS \*  
ADN (panel CJP 30 gènes\*)

Sein ☐

Autres : ☒

**Cadre réservé au laboratoire**

Réception secrétariat le :  
Par :  
Heure :  
N° examen :  
Conforme ☐  
Nb de tubes :  
Observation :  
Non Conforme ☐  
Réception technique :  
Reçu le :  
Heure :  
Conforme ☐  
Non Conforme ☐  
Non-conformité (FA) n° :  
Congélation :  
Congelé le :  
Heure :  
Volume de plasma (mL) :  
Stockage :  
Concentration ADN circulant (ng/μL) :

**FEUILLE DE PRESCRIPTION – BON DE COMMANDE**  
**Analyses Moléculaires sur ADN circulant**

Le Laboratoire récupérera dans un sachet de prélèvement violet :  
Cette feuille de prescription dûment complétée +/- ordonnance prescripteur  
**Prélèvements sanguins à transmettre au plus vite : postes 5829 / 8871**  
La copie du compte-rendu moléculaire et d'anatomopathologique

**RENSEIGNEMENTS PATIENT :**  
Nom de naissance :  
Nom d'usage :  
Prénom :  
Date de Naissance :  
N° sécurité sociale :  
Adresse :  
Sexe :  
**RENSEIGNEMENTS PRESCRIPTEUR :** (ou Tampon)  
Date de la demande :  
Nom, Prénom :  
Adresse de l'établissement du prescripteur :  
E-mail/tel :  
N° Identification :  
Signature :  
**RENSEIGNEMENTS PRELEVEUR :**  
Nom, Prénom :  
Date et heure du prélèvement : le ..... / ..... / ..... à ..... h .....  
Type de tubes utilisés : ☐ 4 Tubes EDTA de 5 mL  
(Conservation **1h à température ambiante**)  
☐ 2 Tubes Cell-Free DNA Collection de 8 mL  
(Roche, conservation 7 jours à température ambiante)  
**INFORMATIONS CLINIQUES :**  
Type histologique :  
Etat tumoral :  
Traitement actuel : ☐ Inhibiteur TK ☐ Chimiothérapie ☐ Néant ☐ Autre  
☐ Détection de mutation de résistance sous traitement (rechute / progression)  
- Mutation de sensibilité au traitement :  
Autres informations importantes :

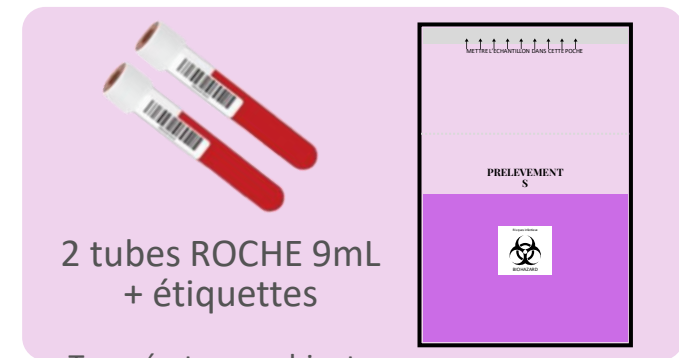
**Cette prescription vaut engagement de paiement au Centre Jean Perrin par l'établissement dont dépend le prescripteur.**  
\* Ces analyses nécessitent l'envoi de données informatiques automatisées sur des plateformes, extérieures à l'établissement, qui sont certifiées « Hébergeur de données de santé »  
Etablissement de Santé Privé d'Intérêt Collectif – Habilité à recevoir des dons et legs-Certifié sans réserve par l'H.A.S. en 2003,2007,2011,2016

PRA-FO-034 V04 Septembre 2024 1/2

## FEUILLE DE PRESCRIPTION - BON DE COMMANDE Analyses Moléculaires sur ADN circulant

Mis à jour du Manuel de Prélèvement en cours (<https://cjp.manuelprelevement.fr/>)

### Circuit "Violet" / Kit de prélèvement



2 tubes ROCHE 9mL  
+ étiquettes

Température ambiante

Sachets violets  
SPECIFIQUES  
Biopsie liquide

Envoi au plus vite au secrétariat de Pathologie du CJP,  
obligatoirement < 3 jours à Température ambiante

Merci pour votre écoute