



REPORT FINALE DEL PROGETTO

”I Controllo di Qualità Nazionale per la valutazione delle mutazioni di biomarcatori nel carcinoma del colon-retto e del melanoma ”- 2016

con il contributo incondizionato di   

Il Comitato Scientifico AIOM e SIAPEC-IAP ha organizzato per il 2016 il controllo di qualità (CQ) nazionale per la determinazione di mutazioni actionable nel carcinoma del colon retto (CRC) e nel melanoma. Il progetto ha lo scopo di migliorare lo standard qualitativo e di garantire la presenza sull'intero territorio nazionale di centri in grado di eseguire in maniera adeguata le analisi molecolari dei geni KRAS, NRAS e BRAF nel CRC metastatico e di BRAF ed NRAS nel melanoma metastatico, al fine di individuare il trattamento terapeutico più appropriato.

Dato l'incremento del numero di biomarcatori la cui analisi è necessaria ai fini terapeutici e considerata la parziale sovrapposizione dei test richiesti per il CRC e per il melanoma, il Comitato Scientifico ha ritenuto opportuno unificare i due schemi relativi a queste due patologie; in tal modo, è stato possibile proporre ai centri partecipanti un controllo di qualità completo e aggiornato, ma allo stesso tempo con un minor aggravio di lavoro per i centri partecipanti.

Nel carcinoma del colon retto, le mutazioni di RAS rappresentano un indicatore di resistenza al trattamento con farmaci diretti contro il dominio extracellulare del gene EGFR, mentre mutazioni a carico del gene BRAF ricoprono un ruolo prognostico negativo. Nel melanoma, mutazioni rilevate nel gene BRAF indicano sensibilità al trattamento con farmaci BRAF-inibitori, mentre mutazioni a carico di NRAS, riscontrate maggiormente a livello dell'esone 3 (codone 61) ed in misura minore nell'esone 2 (codoni 12 e 13) del gene, rappresentano un fattore prognostico negativo. Farmaci attivi in pazienti con melanoma e mutazioni di NRAS sono in fase avanzata di sperimentazione clinica.

Data la maggior complessità dello schema, ai centri è stata fornita la possibilità di scegliere se partecipare solo ad uno dei due controlli di qualità (colon o melanoma) oppure ad entrambi.

La partecipazione ad **un solo** controllo di qualità ha previsto l'analisi di **10 campioni FFPE**, mentre per la partecipazione ad **entrambi** i CQ, **14 campioni FFPE** sono stati inviati ai centri.

La fase iniziale del progetto ha riguardato l'individuazione dei campioni FFPE idonei per l'invio ai centri iscritti al CQ. Tra i campioni analizzati da tre centri di riferimento indipendenti con metodiche differenti (Next Generation Sequencing, sequenziamento diretto, Sequenom, COBAS[®]) sono stati selezionati n.14 casi con piena concordanza tra le analisi, un'adeguata percentuale di cellule tumorali ($\geq 80\%$) e una buona frequenza di alleli mutati ($>15\%$, Tab. 1).

Ai partecipanti è stata data la possibilità di indicare anche mutazioni in altri geni eventualmente riscontrate durante le analisi. Un errore a questo livello non ha comportato alcuna penalizzazione.

		Samples		Mutational status of KRAS/NRAS/BRAF genes
COLON	}	C	1	KRAS p.G12D (c.35G>A) 39,6%
		C	2	KRAS p.G12S (c.34G>A) 25,1%
		C	3	WT
		C	4	WT
BOTH	}	A	5	WT
		A	6	WT
		A	7	WT
		A	8	NRAS p.Q61L (c.182A>T) 40,4%
		A	9	BRAF p.V600E (c.1799T>A) 22,6%
		A	10	WT
MELANOMA	}	M	11	BRAF p.V600K (c.1798_1799GT>AA) 42%
		M	12	BRAF p.V600E (c.1799T>A) 50,6%
		M	13	WT
		M	14	WT

Tab. 1 – Campioni selezionati per il CQ RAS/BRAF 2016.

Tramite il sito internet dedicato (www.rasbrafquality.it), n.106 centri si sono registrati al programma; di questi, 95 hanno chiesto di partecipare ad entrambi gli schemi previsti dal CQ, 9 hanno chiesto di partecipare al solo schema per il carcinoma del colon retto e 2 al solo schema per il melanoma. Il controllo di qualità si è svolto in un unico round.

In data 23/01/2017 una provetta tipo eppendorf con 2 sezioni da 10 micron è stata inviata ai centri registrati ed ammessi al CQ. I campioni sono stati resi anonimi, tramite l'assegnazione automatica di un codice casuale attraverso un'applicazione del sito web. Ai centri è stato chiesto di effettuare l'analisi molecolare con la metodica da essi utilizzata di routine e di inserire i risultati on-line entro 20 giorni lavorativi a partire dal 27/01/2017 (deadline 24/02/2017).

Il Comitato Scientifico ha stabilito come necessario per il superamento del Controllo di Qualità, il raggiungimento di entrambi i seguenti obiettivi:

- 1) un punteggio ≥ 18
- 2) l'assenza di errori di genotipizzazione (falsi negativi/positivi).

Di conseguenza, se un laboratorio realizza 18 punti senza aver commesso falsi negativi/positivi ha superato il controllo di qualità. Pur ottenendo un punteggio di 18 secondo la tabella seguente, la presenza anche di un solo falso negativo/positivo non consente il superamento del controllo di qualità, essendo un errore di questo tipo determinante ai fini della scelta terapeutica.

Nel dettaglio, la valutazione dei risultati è stata eseguita sulla base dei seguenti criteri di punteggio:

a)	Diagnosi corretta	2 punti
b)	Descrizione non corretta della mutazione	1,5 punti*
c)	Diagnosi parzialmente corretta	1 punto
d)	Mancata estrazione/amplificazione	0,5 punti
e)	Errore diagnostico	0 punti

*deduzione applicata una sola volta

Dei 104 centri iscritti al CQ riguardante il CRC, 2 non hanno inviato i risultati senza fornire ulteriori dettagli, per un totale di 102 partecipanti effettivi. Inizialmente, in base ai criteri di punteggio elencati, 23/102 centri (22.5%) non avevano superato il controllo di qualità. In fase di appello, 3/23 centri sono stati ammessi con riserva in quanto non avevano effettuato gravi errori di genotipizzazione.

Pertanto, il controllo di qualità per il CRC si è concluso con la certificazione di 82/102 centri partecipanti (80.4%). I restanti 20 (19.6%) hanno effettuato almeno un errore diagnostico (falso positivo/negativo), che preclude il superamento dello schema (Fig. 1).

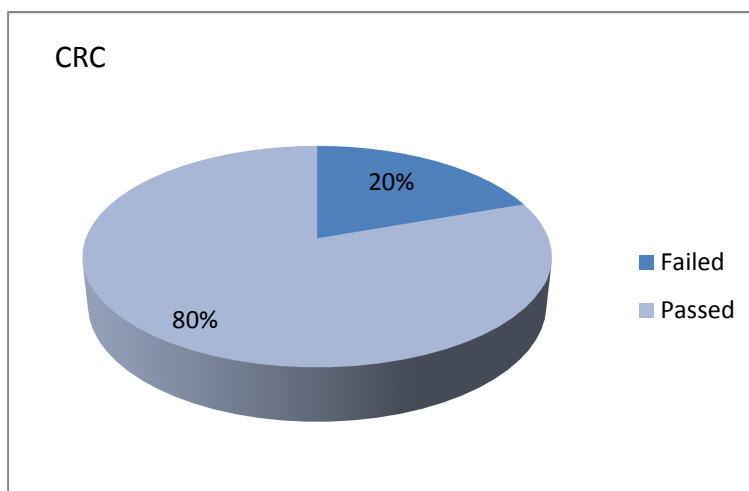


Fig. 1 – Risultati - schema carcinoma del colon retto 2016

Dei 97 centri iscritti al CQ riguardante il melanoma, 2 non hanno inviato i risultati senza fornire ulteriori dettagli, per un totale di 95 partecipanti effettivi. In un primo momento, in base ai criteri di punteggio stabiliti, 11/95 centri (11.6%) non avevano superato il controllo di qualità. In seguito alla fase di appello, solo un centro è stato ammesso con riserva in quanto non aveva effettuato gravi errori di genotipizzazione.

Pertanto, il controllo di qualità per il melanoma si è concluso con la certificazione di 85/95 centri (89.5%), mentre i restanti 10 (10.5%) hanno effettuato almeno un errore diagnostico (falso positivo/negativo), che preclude il superamento dello schema (Fig. 2).

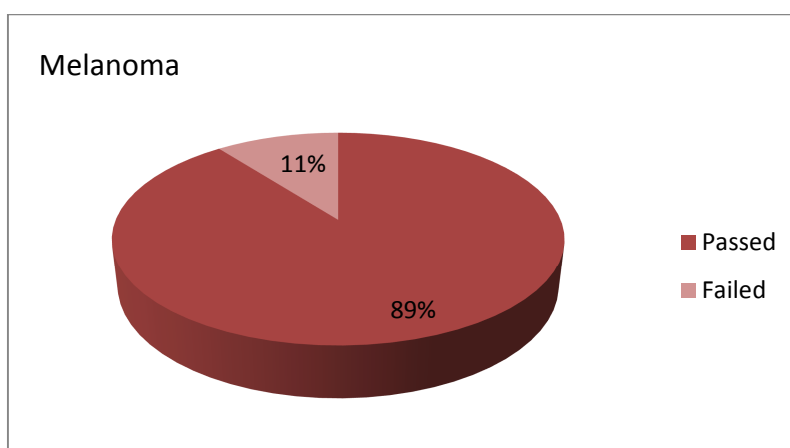


Fig. 2 – Risultati - schema melanoma 2016