



Associazione Italiana Oncologia Medica

REPORT FINALE DEL PROGETTO "Il Controllo di Qualità Nazionale per la valutazione delle mutazioni di BRAF nel melanoma"-2014

Il Comitato Scientifico AIOM e SIAPEC-IAP ha organizzato per il 2014 il Controllo di qualità nazionale per la determinazione dello stato mutazionale del gene BRAF nel melanoma, al fine di assicurare l'armonizzazione e l'accuratezza delle analisi molecolari sull'intero territorio nazionale, permettendo la corretta identificazione del migliore trattamento terapeutico di questa patologia.

I controlli di qualità hanno riguardato il codone 600 dell'esone 15 nel gene BRAF; la presenza di mutazioni a carico di questo esone rende possibile il trattamento del melanoma avanzato con inibitori del dominio chinasi di BRAF.

La fase iniziale del progetto è stata finalizzata all'individuazione di campioni FFPE idonei per l'invio ai centri iscritti al CQ. I campioni sono stati preliminarmente analizzati da tre centri di riferimento indipendenti con metodiche differenti (pirosequenziamento, Next Generation Sequencing, sequenziamento diretto, COBAS[®]). Tra i campioni che hanno ottenuto piena concordanza nelle analisi, ne sono stati selezionati n.10 con adeguata percentuale di cellule tumorali ($\geq 80\%$) e con una buona frequenza di alleli mutati (Tab. 1).

Campione	Risultati
A1	WT
A2	WT
A3	WT
A4	WT
A5	p.V600E (c.1799T>A) (26,6%)
A6	p.V600E (c.1799T>A) (52,8%)
A7	p.V600E (c.1799_1800TG>AA) (37,5%)
A8	p.V600E (c.1799T>A) (49,1%)
A9	p.V600E (c.1799T>A) (49,9%)
A10	p.V600K(c.1798_1799GT>AA) (V600M 73,5%; V600E 43%)

Tab. 1 – Campioni selezionati per il CQ BRAF 2014

Tramite il sito internet dedicato www.brafquality.it, n.95 centri si sono registrati al programma; di questi, 92 hanno effettivamente partecipato al CQ inviando i risultati nei tempi prestabiliti. Il controllo di qualità è stato svolto in un unico round.

Associazione Italiana Oncologia Medica - Via E. Nöe, 23 – 20133 Milano

Tel. 02/70630279 - Fax 02/2360018 - Sito Internet: www.aiom.it

Email Presidenza aiom.presidente@aiom.it - Email Segreteria: aiom.segretario@aiom.it

In data 18/11/2014 si è quindi proceduto all'invio di una provetta tipo eppendorf con 1 sezione da 10 micron ai centri registrati ed ammessi al CQ. I campioni sono stati anonimizzati, 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 un tempo massimo di 3 settimane a partire dal 25/11/2014 (deadline 16/12/2014).

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

- 1) un punteggio ≥ 18
- 2) l'assenza di errori gravi 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. La presenza anche di un solo falso negativo/positivo, pur determinando un punteggio di 18 secondo la tabella seguente, viene considerato insufficiente per il superamento del controllo di qualità, essendo un errore di questo tipo determinante ai fini della corretta 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

Inoltre, il Comitato Scientifico ha deciso all'unanimità di rilasciare una certificazione con riserva ai centri che, nonostante abbiano effettuato un unico grave errore di genotipizzazione, abbiano in precedenza superato il BRAF EQA 2012. Un errore di genotipizzazione nel prossimo controllo di qualità comporterà di conseguenza la cancellazione del centro dalla lista dei centri validati per l'analisi molecolare di BRAF nel melanoma.

Dei 92 centri che hanno effettivamente partecipato al CQ, 23 (25%) hanno effettuato almeno un errore diagnostico grave (falso positivo/negativo); di questi, 6 hanno effettuato un solo errore di genotipizzazione e superato precedentemente il CQ di BRAF, ricevendo quindi una certificazione provvisoria. In conclusione, 75 (82%) centri superano il BRAF CQ, mentre i restanti 17 (18%) non hanno superato il CQ (Fig. 1).

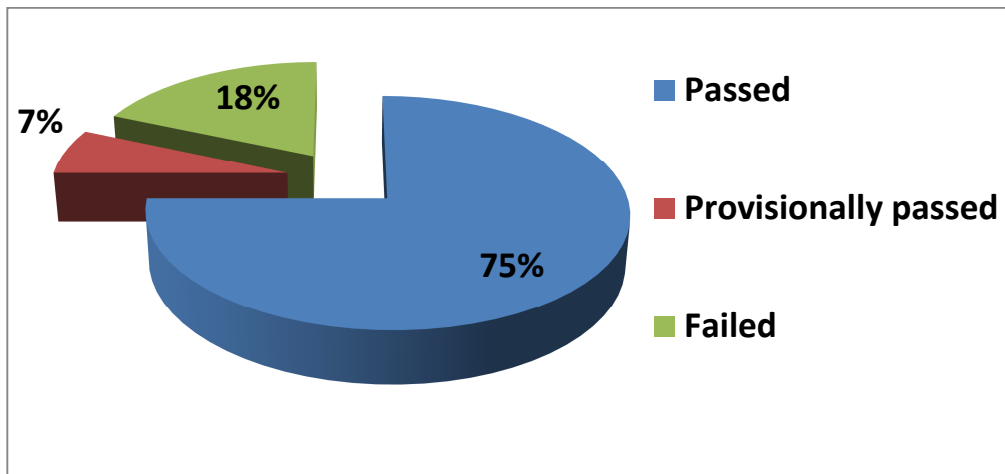


Fig. 1 – Risultati BRAF CQ 2014