



***III Controllo di Qualità Nazionale
per la determinazione delle mutazioni di EGFR
nel carcinoma polmonare 2015***

REPORT FINALE DEL PROGETTO

"III Controllo di Qualità Nazionale per la determinazione delle mutazioni di EGFR nel carcinoma polmonare"-2015

Il Comitato Scientifico AIOM e SIAPEC-IAP ha organizzato per il 2015 il Controllo di qualità (CQ) nazionale per la determinazione dello stato mutazionale del gene EGFR nel carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC). 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, al fine di individuare il trattamento terapeutico più appropriato per questa patologia.

I controlli di qualità hanno riguardato l'analisi delle mutazioni sensibilizzanti a carico degli esoni 18, 19, 20 e 21 del gene EGFR, la cui individuazione consente il trattamento del NSCLC con farmaci inibitori del dominio tirosino-chinasico del gene.

La fase iniziale del progetto ha riguardato l'individuazione di 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.8 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). Tra i campioni inviati sono state incluse sezioni FFPE di linee cellulari, acquistate presso l'azienda Horizon Discovery e testate mediante NGS prima dell'invio (Tab. 1). Questi due campioni mimano campioni biotici che in molti casi rappresentano l'unico materiale disponibile per le analisi molecolari.

Ai partecipanti è stata data la possibilità di indicare mutazioni di resistenza del gene EGFR, in particolare la mutazione p.T790M, presente nei campioni A5 ed A10 (Tab.1), o mutazioni in altri geni eventualmente riscontrate durante le analisi. Un errore a questo livello non ha comportato alcuna penalizzazione.

Campione	Risultati attesi
A1	WT
A2	WT
A3	WT
A4	WT
A5	p.T790M (c.2369C>T) 82,5%; p.L858R (c.2573T>G) 79,3%
A6	p.E746_A750delELREA (c.2235_2249del15) 44%
A7	p.E746_A750delELREA (c.2235_2249del15) 29,7%
A8	p.E746_A750delELREA (c.2235_2249del15) 40%
A9	p.L858R (c.2573T>G) 70%
A10	p.L858R (c.2573T>G) 94,6% da centro1 a centro30; p.L858R (c.2573T>G) 37,2% e p.T790M (c.2369C>T) 9% da centro31 a centro92

Tab. 1 – Campioni selezionati per il CQ EGFR 2015. In rosso le linee cellulari.

Tramite il sito internet dedicato (www.egfrquality.it), n.96 centri si sono registrati al programma; di questi, 92 hanno effettivamente partecipato al CQ inviando i risultati nei tempi prestabiliti. Il controllo di qualità si è svolto in un unico round.

In data 23/11/2015 una provetta tipo eppendorf con 2 sezioni da 10 micron per i campioni FFPE e una provetta con una sezione da 10 micron per i due campioni di linee cellulari sono state inviate 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 un tempo massimo di 3 settimane a partire dal 30/11/2015 (deadline 22/12/2015).

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 92 centri che hanno effettivamente partecipato al CQ, 12 (13%) hanno effettuato almeno un errore diagnostico (falso positivo/negativo) mentre i restanti 80 (87%) hanno superato il programma di controllo di qualità del gene EGFR nel NSCLC (Fig. 1). Nell'indicare i risultati relativi all'analisi dei campioni A5 e A10, solo cinque e tre centri rispettivamente hanno riportato la presenza della mutazione di resistenza. Non è noto se gli altri centri abbiano ricercato o meno la mutazione.

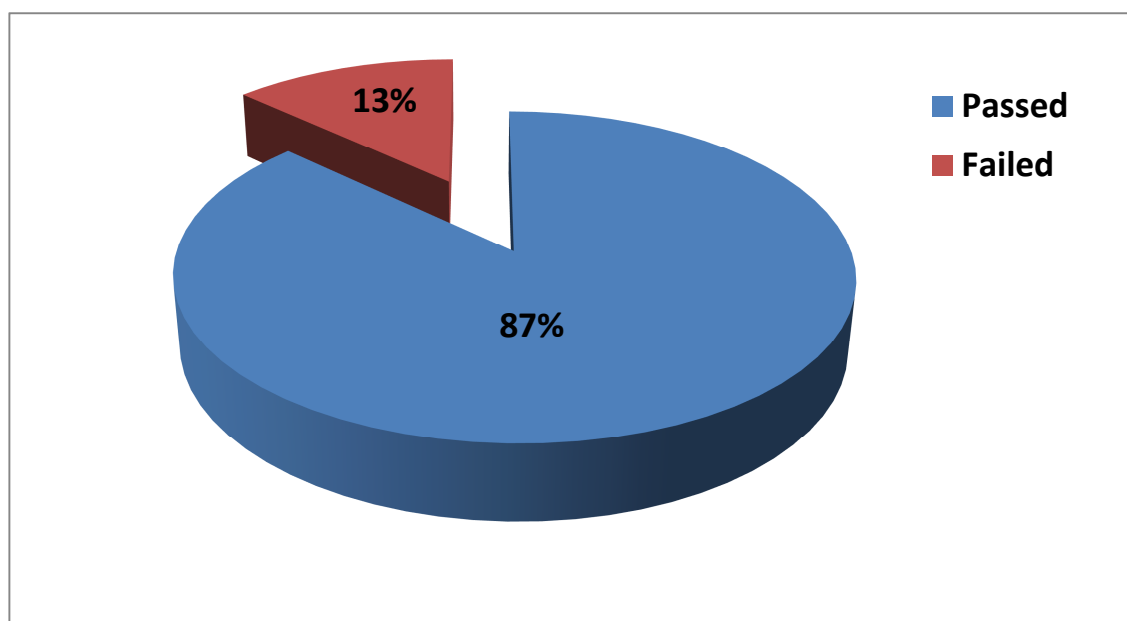


Fig. 1 – Risultati EGFR CQ 2015