



Protocollo per il controllo di qualità per la determinazione del riarrangiamento del gene ALK

Comitato Scientifico AIOM – SIAPEC-IAP

AIOM: Carmine Pinto, Vincenzo Adamo, Andrea Ardizzoni, Nicola Normanno, Giampaolo Tortora.

SIAPEC-IAP: Claudio Clemente, Antonio Marchetti, Oscar Nappi, Anna Sapino, Gian Luigi Taddei.

Il progetto di controllo di qualità per la determinazione del riarrangiamento del gene ALK ha la finalità di migliorare lo standard qualitativo per questa determinazione e garantire la presenza sull'intero territorio nazionale di centri in grado di eseguire in maniera adeguata questa analisi indispensabile per la individuazione dei pazienti con carcinoma del polmone non a piccole cellule (NSCLC) avanzato suscettibili di un trattamento con inibitore di ALK (anaplastic lymphoma kinase).

L'adesione al Progetto Controllo di Qualità è volontaria, riguarda i centri di anatomia patologica/patologia molecolare che effettuano questa determinazione con finalità clinica. I centri di anatomia patologica/patologia molecolare con esito positivo al controllo di qualità saranno elencati in un link previsto sui siti web di AIOM e SIAPEC-IAP. Per i centri con esito negativo è previsto un programma di formazione come di seguito riportato.

Il processo del controllo di qualità sarà gestito dal gruppo di lavoro comune AIOM-SIAPEC, secondo il seguente schema.

1. Selezione del materiale da sottoporre ad analisi e preparazione dei tissue microarray

1.1 I centri di raccolta e controllo del materiale sono cinque Anatomie Patologiche aventi come referenti Antonio Marchetti (Chieti), Massimo Barberis (Milano), Renato Franco (Napoli), Mauro Papotti (Torino), Giulio Rossi (Reggio Emilia).

1.2 I cinque centri selezioneranno dai loro archivi campioni di NSCLC con elevata percentuale di cellule neoplastiche. I casi saranno analizzati con metodica FISH secondo il protocollo AIOM-SIAPEC-IAP per l'analisi del riarrangiamento del gene ALK e serviranno come standard di riferimento per i partecipanti al controllo di qualità.

1.3 I centri di Barberis, Franco, Papotti e Rossi invieranno i loro campioni al centro di verifica e allestimento dei tissue microarray diretto da Antonio Marchetti (Chieti), che valuterà l'adeguatezza del materiale, effettuerà la determinazione della

traslocazione del gene ALK mediante FISH sui singoli casi ed allestirà dei tissue microarray (TMA) contenenti ciascuno 10 campioni.

2. Analisi del riarrangiamento del gene ALK nei campioni selezionati

2.1 Sezioni ottenute dai tissue microarray saranno analizzate in sede per la determinazione del riarrangiamento del gene ALK mediante FISH e inviate agli altri centri per l'effettuazione dello stesso tipo di analisi.

2.2 I microarray per i quali sarà riscontrata una concordanza assoluta tra i risultati forniti dai vari centri serviranno come standard di riferimento per i partecipanti al controllo di qualità. Gli eventuali microarray con risultati discrepanti saranno esclusi e si procederà al riallestimento degli stessi con le medesime procedure.

3. Costituzione del centro raccolta e smistamento del materiale

È previsto un unico centro di distribuzione del materiale facente capo a Marchetti.

4. Distribuzione del materiale

4.1 Il centro di Chieti preparerà sezioni in bianco dello spessore di 5 micron dai TMA selezionati. L'integrità della sezione prima della spedizione sarà documentata da una foto del preparato a piccolo ingrandimento.

4.2 Ogni centro partecipante al controllo di qualità riceverà una sezione in bianco del tissue microarray, accompagnata da una scheda in formato A4 con uno schema indicante la disposizione dei campioni sul microarray con codifica anonima, nota solo al gruppo di controllo. Nel caso in cui la sezione dovesse pervenire danneggiata, sarà possibile richiedere un secondo invio entro e non oltre 48 ore dall'arrivo del materiale.

4.3 Il centro che parteciperà al controllo di qualità dovrà eseguire l'analisi FISH per la determinazione del riarrangiamento del gene ALK ed inserire i risultati ottenuti in una scheda elettronica a cui si potrà accedere dal portale www.alkquality.it. I dati dovranno essere immessi entro la data indicata sul foglio di accompagnamento del materiale.

4.4 I centri che aderiranno al controllo di qualità dovranno indicare la metodica utilizzata per la ricerca del riarrangiamento del gene ALK come indicato nella

scheda. Eventuali cambiamenti di metodica dovranno essere tempestivamente comunicati al gruppo di lavoro AIOM-SIAPEC-IAP.

5. Gestione dei risultati

5.1. I risultati delle determinazioni provenienti dai centri aderenti al progetto saranno valutati attraverso il sistema informatico.

5.2 Il controllo di qualità verrà definito positivo se è stato raggiunto un punteggio superiore al 90% del punteggio massimo ottenibile secondo criteri già utilizzati per precedenti programmi di controllo di qualità gestiti da AIOM e SIAPEC-IAP.

5.3 Ai laboratori che non supereranno il test sarà data l'opportunità di partecipare ad un secondo round che sarà realizzato con le stesse modalità a distanza di circa 1 mese.

5.4 Se il secondo test è superato, il risultato sarà considerato positivo.

5.5 Se il secondo test presenterà ancora discordanze, è previsto un programma di formazione tecnica presso centri di riferimento per la formazione distribuiti sul territorio nazionale (Chieti-Marchetti, Milano- Barberis, Napoli-Franco, Torino-Papotti, Reggio Emilia-Rossi). È prevista una nuova rivalutazione del centro sottoposto a tutoraggio dopo 6 mesi.