



## Protocollo per il controllo di qualità dello stato mutazionale del gene KRAS

Il progetto di controllo di qualità per la determinazione dello stato mutazionale di KRAS ha la finalità di migliorare lo standard qualitativo di 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 colonretto metastatico suscettibili di un trattamento con anticorpi monoclonali anti-EGFR.

L'adesione al Progetto Controllo di Qualità è volontario e riguarda i centri di anatomia patologica/biologia molecolare che effettuano questa determinazione con finalità clinica. I centri di anatomia patologica/biologia molecolare con esito positivo al controllo di qualità verranno 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.**

**1.1** I centri di raccolta del materiale saranno quattro Anatomie Patologiche

**1.2** I centri selezioneranno dai loro archivi campioni di carcinoma del colon-retto con una percentuale di cellule neoplastiche di almeno il 50%, secondo quanto previsto dalle raccomandazioni AIOM-SIAPEC.

I casi verranno analizzati con indagini di biologia molecolare secondo il protocollo AIOM-SIAPEC-IAP per la ricerca dello stato mutazionale del gene KRAS e serviranno come standard di riferimento per i partecipanti al controllo di qualità.

## **2. Valutazione dello stato mutazionale del gene KRAS nei campioni selezionati**

**2.1** I centri di raccolta del materiale invieranno i loro campioni al centro di distribuzione dei campioni, che provvederà a sua volta ad inviarne sezioni ai centri di controllo

**2.2** Ogni centro di controllo riceve le sezioni in bianco e provvede alla ricerca dello stato mutazionale del gene KRAS mediante PCR/sequenza, pirosequenziamento e/o tecniche di REAL TIME PCR. Ogni centro eseguirà in media 30-40 analisi con

ognuna delle metodiche indicate per selezionare i casi che saranno impiegati per il controllo di qualità.

**2.3** I casi per i quali sarà riscontrata una concordanza assoluta delle determinazioni effettuate dai differenti centri di controllo serviranno come standard di riferimento per i partecipanti al controllo di qualità. Gli eventuali casi con discrepanze saranno esclusi.

### **3. Costituzione del centro raccolta e smistamento del materiale.**

È previsto un unico centro di raccolta e distribuzione del materiale

### **4. Distribuzione del materiale.**

**4.1** Per il controllo di qualità verranno utilizzati 10 casi che saranno scelti tra quelli per i quali le analisi dei centri di controllo dimostrano una concordanza del 100%. Da ogni caso verranno preparate sezioni in bianco, dello spessore di 10 micron che saranno inviate ai laboratori che hanno aderito al controllo di qualità. Per ogni caso saranno inviate 2 sezioni montate su di un unico vetrino.

**4.2** I casi verranno etichettati in modo anonimo con codifica nota solo al gruppo di controllo.

**4.3** Il centro che partecipa al controllo di qualità dovrà entro 30 giorni dalla data di consegna del materiale eseguire l'analisi mutazionale del gene KRAS con la metodica in uso. Il centro dovrà inserire il dato in una scheda elettronica a cui si potrà accedere dal portale <http://www.KRASquality.it>.

**4.4** I centri che aderiscono al controllo di qualità devono indicare la metodica utilizzata per la ricerca dello stato mutazionale del gene KRAS come previsto 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 verranno valutati attraverso il sistema informatico.

**5.2** Ad ogni campione sarà assegnato un punteggio secondo il seguente schema:

- a) Diagnosi corretta 2 punti

- |   |                                  |
|---|----------------------------------|
| b) Descrizione non corretta della mutazione             | 1,5 punti una sola volta         |
| c) Diagnosi parzialmente corretta                       | 1 punto                          |
| d) Mancata estrazione/amplificazione dal secondo in poi | 1 punto per il primo campione, 0 |
| e) Errore diagnostico                                   | 0 punti                          |

Il punteggio minimo per il superamento del test sarà stabilito dal Comitato AIOM-SIAPEC in rapporto alle risultanze della Consensus Conference Europea per la determinazione degli standard minimi dei programmi di controllo di qualità, che si terrà nel prossimo mese di Marzo.

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

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

**5.5** Se il secondo test presenta ancora discordanze, è previsto un programma di formazione tecnica presso centri di riferimento per la formazione distribuiti sul territorio nazionale. Sarà valutata la possibilità di una rivalutazione del centro sottoposto a tutoraggio dopo 12 mesi, se espressamente richiesta.

Comitato Scientifico Coordinatore AIOM – SIAPEC-IAP: *Claudio Clemente (Milano), Carmine Pinto (Bologna), Marcello Gambacorta (Milano), Antonio Marchetti (Chieti), Nicola Normanno (Napoli), Gian Luigi Taddei (Firenze)*

Segreteria: *Cecilia Bettinelli – AIOM (cecilia.bettinelli@aiom.it)*