



Associazione Italiana Oncologia Medica

REPORT FINALE DEL PROGETTO: “CONTROLLO DI QUALITÀ E VALIDAZIONE DEL TEST PER LA DETERMINAZIONE DELLO STATO MUTAZIONALE DEL GENE K-RAS”

Il progetto di controllo di qualità per la determinazione dello stato mutazionale di K-RAS, diretto e coordinato da un gruppo di lavoro di AIOM e SIAPEC-IAP, ha la finalità di migliorare lo standard qualitativo per questa determinazione e permettere sull'intero territorio nazionale adeguate valutazioni nella selezione dei pazienti con carcinoma del colon-retto avanzato suscettibili di un trattamento con anticorpi monoclonali anti-EGFR.

L'adesione al Progetto Controllo di Qualità è stata volontaria e ha riguardato i centri di anatomia patologica/biologia molecolare che effettuano correntemente questa determinazione con finalità clinica.

Il Comitato Scientifico AIOM e SIAPEC-IAP del progetto è coordinato da Carmine Pinto (Segretario Nazionale AIOM) e Claudio Clemente (Presidente Nazionale SIAPEC-IAP) ed è composto da Marcello Gambacorta (Milano), Antonio Marchetti (Chieti), Nicola Normanno (Napoli), Gian Luigi Taddei (Firenze).

Il CQ si è articolato in due fasi: alla prima fase hanno partecipato n.83 centri, alla seconda fase n. 9 centri.

Sono stati raccolti n.35 inclusioni in paraffina: n.10 inclusioni provenienti da Chieti (Prof. Marchetti), n.10 da Napoli (Prof. Nappi), n.10 da Milano (Dott. Veronese) e n.5 da Firenze (Prof. Taddei).

Da queste inclusioni ne sono state selezionate n.27 basandosi in primis sullo spessore dei preparati e sulla percentuale di cellule neoplastiche, ed inviate ai centri per la valutazione dello stato mutazionale del gene KRAS. Hanno eseguito una prima valutazione dei casi scelti i seguenti centri: Normanno, Taddei, Marchetti, Veronese. Dalle analisi dei quattro centri, sono risultati avere una concordanza assoluta per l'assetto mutazionale n.24 inclusioni. Di queste n.24 inclusioni ne sono state selezionate n.10 per la prima fase del CQ sia per quantità del materiale che per distribuzione di mutazioni. Tutti i n.10 casi

selezionati sono stati rivalutati sia per l'assetto mutazionale che per percentuale di cellule neoplastiche alla cinquantesima e all'ultima sezione ed inviate per il primo round agli 83 centri partecipanti. Il caso A10 è risultato essere "wild type" alla rivalutazione dell'ultima sezione invece che mutato in "G13D" ed è stato quindi scartato e sostituito con un caso avente lo stesso assetto mutazionale, rivalutato anch'esso prima di essere inviato secondo il protocollo stabilito. Ciascun caso inviato constava di n.2 sezioni da 10 micron adagate su di un unico vetrino. Per il secondo round è stato deciso di inviare lo stesso materiale del primo round.

Due centri hanno avuto n. 2 set di materiale perché alcuni vetrini del primo set sono arrivati rotti.

Carico di lavoro

Sezioni tagliate n. 1.260

Scatoline per invio vetrini n. 1.000

Buste per spedizione n. 100

Analisi di sequenza n.75

I risultati sono riportati nell'Allegato 1.

Milano, ottobre 2012

Allegato 1. Elenco centri che hanno superato il controllo di qualità per la determinazione dello stato mutazionale di KRAS nel carcinoma del colon-retto

Denominazione Struttura	Istituzione	Responsabile
	Azienda Ospedaliera Sant'Andrea - Roma	Prof.ssa Stefania Scarpino
U.O.C. Anatomia Patologica	I.R.C.C.S. - CROB - Rionero in Vulture (PZ)	Dott.ssa Giulia Vita
Immunologia e Diagnostica Molecolare Oncologica	Istituto Oncologico Veneto I.O.V. I.R.C.C.S. - Padova	Dott.ssa Roberta Bertorelle
Laboratorio Patologia Molecolare - U.O.C. Anatomia Patologica	Ospedale "S. Maria di Ca' Foncello" - Treviso	Dott.ssa Luisa Toffolatti
Laboratorio di Patologia Molecolare Oncologica e dei Trapianti	A.O.U. di Bologna - Policlinico S. Orsola-Malpighi - Istituto Oncologico "Addarii" - Bologna	Dott. Michelangelo Fiorentino
Laboratorio di Oncologia Molecolare	Fondazione Edo ed Elvo Tempia - Biella	Dott.ssa Maria Scatolini
S.S.D. Genetica Molecolare e Citogenetica - Dipartimento Oncoematologico - U.O.C. Anatomia Patologica	A.O. San Giovanni e Ruggi d'Aragona - Salerno	Dott.ssa Rosa Russo
Laboratorio Oncologia Molecolare - Sezione Anatomia Patologica - Dipartimento Scienze Biomediche e Oncologia Umana	A.O. San Giovanni Battista - Torino	Prof. Giorgio Inghirami
Laboratorio di Biologia Molecolare - U.O. Anatomia Patologica	Ospedale "Guglielmo da Saliceto" - Piacenza	Dott. Alessandro Ubiali
Laboratorio Genetica Molecolare	Istituto Tumori "Giovanni Paolo II" - Bari	Dott.ssa Stefania Tommasi
	I.R.C.C.S. "S. de Bellis" - Castellana Grotte (BA)	Dott.ssa Anna Maria Valentini
Laboratorio Patologia Molecolare - Anatomia Patologica	Istituto Clinico Humanitas - Rozzano (MI)	Prof. Massimo Roncalli
S.O.D. di Anatomia ed Istologia Patologica	A.O.U. Ospedali Riuniti "Umberto I - G.M. Lancisi - G. Salesi" - Ancona	Prof. Italo Bearzi
	Centro Ricerca e Diagnosi X-life - Ospedale Madonna delle Grazie - Matera	Dott.ssa Rosa Anna Cifarelli
Laboratorio di Patologia Molecolare - U.O. Anatomia Patologica III	Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana - Pisa	Prof.ssa Gabriella Fontanini
Laboratorio di Patologia Molecolare - Servizio di Istopatologia	Policlinico Universitario "A Gemelli" - Roma	Prof. Luigi Maria Larocca
Anatomia Patologica	Policlinico Universitario Campus Bio-Medico - Roma	Prof. Andrea Onetti Muda
II Laboratorio Analisi - Sezione di Citogenetica e Biologia Molecolare - Dipartimento di Patologia Clinica	Azienda Ospedaliero-Universitaria OO.RR. Foggia	Dott. Raffaele Antonetti

S.C.D.U. di Anatomia Patologica	A.O.U. San Luigi Gonzaga - Orbassano (TO)	Prof. Mauro Papotti
Anatomia Patologica	Istituto Nazionale Tumori Regina Elena - Roma	Dott.ssa Marcella Mottolese
Laboratorio di Anatomia Patologica	Ospedale di Circolo Varese - Università dell'Insubria - Varese	Prof. Carlo Capella
U.O. Anatomia Patologica	Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma	Prof. Enrico Maria Silini
Anatomia e Istologia Patologica 2	Università - Spedali Civili Brescia	Prof. Piergiovanni Grigolato
S.O.C. Anatomia Patologica	A.O.U. Santa Maria della Misericordia - Udine	Dott.ssa Giovanna De Maglio
	Consorzio per la Genetica Molecolare Umana - Monza (MB)	Prof. Alberto Piperno
Anatomia Patologica	Ospedale Centrale - Bolzano	Dott.ssa Christine Mian
U.O. Anatomia Patologica - Dipartimento di Diagnostica per Immagini e Medicina di Laboratorio	Azienda Ospedaliero-Universitaria di Ferrara	Prof. Giovanni Lanza
	Multilab Multimedia - Milano	Prof. Fausto Sessa
	Istituto Anatomia Patologica - Università degli Studi di Udine	Prof.ssa Laura Mariuzzi
Laboratorio di Biologia Molecolare - S.C. di Anatomia Patologica - Dipartimento Integrato Laboratori, Anatomia Patologica e Medicina Legale	A.O.U. Policlinico di Modena	Dott.ssa Stefania Bettelli
Laboratorio di Oncologia	I.R.C.C.S. Casa Sollievo della Sofferenza - San Giovanni Rotondo (FG)	Dott.ssa Paola Parrella
Laboratorio di Oncologia Molecolare - Dipartimento di Medicina Molecolare	Università La Sapienza - Policlinico Umberto I - Roma	Prof. Giuseppe Giannini
Laboratorio di Citogenetica e Patologia Molecolare	A.O. "SS. Antonio e Biagio" - Alessandria	Dott.ssa Sara Orecchia
Servizio di Anatomia ed Istologia Patologica	Istituto per la Ricerca e la Cura del Cancro - Candiolo (TO)	Dott. Mauro Risio
U.O. Anatomia Patologica	Ospedale Luigi Sacco - Milano	Dott.ssa Cristina Tonello
Laboratorio di Genetica Medica	A.O. S.G. Moscati - Avellino	Dott.ssa Maria Adalgisa Police
	Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori (I.R.S.T.) - Meldola (FC)	Dott. Daniele Calistri
U.O.C. Anatomia Patologica	ASL N. 1 Massa e Carrara	Dott. Andrea Cavazzana

	Azienda Ospedaliero-Universitaria di Sassari	Dott. Antonio Cossu
S.S. Biologia Molecolare - U.O. Anatomia Patologica	A.O. Ospedale Civile di Legnano (MI)	Dott.ssa Alessandra Movilia
U.O.C. Anatomia Patologica	Ospedale Santa Maria del Prato - Feltre (BL)	Dott. Duilio Della Libera
Anatomia Patologica	Azienda Ospedaliera di Lecco	Dott.ssa Marisa Piatti
Laboratorio di Biologia Molecolare - S.C. di Oncologia Medica	A.O. Santa Maria della Misericordia - Perugia	Dott.ssa Vienna Ludovini
Anatomia Patologica	Casa di Cura La Maddalena - Palermo	Dott.ssa Elena Roz
U.O. di Anatomia Patologica	Presidio Ospedaliero di Desio (MB)	Prof. Biagio Eugenio Leone
S.S.D. Anatomia Patologica	Ospedale "Regina Apostolorum" - Albano Lazianle (RM)	Dott.ssa Anna Crescenzi
U.O.C. Anatomia Patologica	Presidio Ospedaliero "L. Bonomo" - Andria (BAT)	Dott. Cosimo Damiano Inchingolo
	Nerviano Medical Sciences - Nerviano (MI)	Dott.ssa Antonella Isacchi
Dipartimento di Patologia Diagnostica e Laboratorio	Fondazione I.R.C.C.S. Istituto Nazionale Tumori - Milano	Prof. Giuseppe Pelosi
Servizio di Genetica	Istituti Ospitalieri di Cremona	Dott. Pietro Cavalli
U.O. Anatomia Patologica	Ospedale Civile Venezia	Dott.ssa Manuela Riccardi
1° Anatomia Patologica	Spedali Civili di Brescia	Prof. Fabio Facchetti
Dipartimento di Scienze Biomorfologiche e Funzionali	Università Federico II - Napoli	Prof. Giancarlo Troncone
S.C. Anatomia Patologica	A.O. SS. Annunziata - Taranto	Dott.ssa Anna Sebastio
U.O.C. Anatomia Patologica	AULSS 21 - Legnago (VR)	Dott. Roberto Vendraminelli
Laboratorio Patologia Molecolare - U.O. Anatomia Patologica	Ospedale Santa Chiara - Trento	Dott. Mattia Barbareschi
U.O. Anatomia Patologica	Arcispedale Santa Maria Nuova I.R.C.C.S. - Reggio Emilia	Dott. Riccardo Valli
Anatomia Patologica	Fondazione Centro San Raffaele - Milano	Prof. Claudio Doglioni

Laboratorio Diagnostica Molecolare - Anatomia Patologica	Ospedale Bellaria-Maggiore - Bologna	Prof. Giovanni Tallini
U.O.S. Diagnostica Molecolare	I.R.C.C.S. A.O.U. San Martino IST - Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro - Genova	Dott.ssa Simonetta Zupo
Patologia Molecolare - U.O. Anatomia Patologica	I.R.C.C.S. Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico - Milano	Prof.ssa Monica Miozzo
S.C. Anatomia Patologica	ASL 2 Savonese - Ospedale S. Paolo - Savona	Dott. Ezio Venturino
U.C.O. Anatomia e Istologia Patologica	A.O.U. Ospedale di Cattinara - Università di Trieste	Prof. Luigi Di Bonito
Laboratorio di Patologia Molecolare - Anatomia Patologica	A.O.U. "Maggiore della Carità" - Novara	Prof. Renzo Boldorini
S.C. Anatomia Patologica	Ospedale Maria Vittoria ASL TO2 - Torino	Dott. Stefano Taraglio
Medicina di Laboratorio - Anatomia Patologica - Dipartimento di Medicina Diagnostica e dei Servizi	Fondazione I.R.C.C.S. Policlinico San Matteo - Pavia	Prof. Marco Paulli
U.O. Anatomia Patologica e Citodiagnostica	Fondazione S. Maugeri - Pavia	Dott.ssa Laura villani
Sezione di Diagnostica Molecolare - Dipartimento di Medicina di Laboratorio e Biotecnologie Avanzate	I.R.C.C.S. San Raffaele Pisana - Roma	Dott. Raffaele Palmirota
U.O. Anatomia Patologica	Università di Genova	Prof. Roberto Fiocca
Laboratorio Analisi - Laboratorio Biologia Molecolare	Humanitas Centro Catanese di Oncologia	Dott.ssa Lucia Gullotti
Laboratorio di Genetica	Azienda Ospedaliera di Cosenza - Ospedale Mariano Santo	Dott. Salvatore Vaccarella
Sezione Patologia Molecolare - U.O.C. Anatomia Patologica	A.O. San Camillo-Forlanini - Roma	Dott. Alvaro Leone
Laboratorio di Biologia Molecolare - U.O.C. Anatomia Patologica	DAI Oncologico - A.O.U. Senese - Siena	Dott. Felice Arcuri
Genetica e Oncologia Molecolare Clinica	Università degli Studi di Palermo - Policlinico "Paolo Giaccone"	Prof. Antonio Russo
U.O. Anatomia ed Istologia Patologica	Ospedale San Giacomo Apostolo - Castelfranco Veneto (TV)	Dott.ssa Maria Raffaella Biasin
U.O.C. di Anatomia Patologica Citogenetica e Patologia Molecolare	Azienda Ospedaliera San Paolo - Milano	Prof. Gaetano Bulfamante
Dipartimento di Patologia e Diagnostica	Università di Verona	Prof. Aldo Scarpa
Laboratorio di Biologia Molecolare Applicata all'Anatomia Patologica - Dipartimento di Patologia Umana	Università degli Studi di Messina - A.O.U. "Policlinico G. Martino"	Prof. Giuseppe Giuffrè
Laboratorio di Tecnologie Oncologiche	Fondazione San Raffaele-Giglio - Ospedale di Cefalù (PA)	Dott. Martino Tinaglia
	Institutul National de Cercetare Dezvoltare - Bucarest (Romania)	Prof. Carmen Ardeleanu

Laboratorio di Farmacogenomica	INT - Fondazione Pascale - CROM - Napoli	Dott. Nicola Normanno
Divisione di Anatomia Patologica - Dipartimento di Oncologia e Neuroscienze	Università degli Studi "G. D'Annunzio" - Chieti	Prof. Antonio Marchetti
Istologia Patologica e Diagnostica Molecolare	DAI Biomedicina - A.O.U. Careggi - Università degli Studi di Firenze	Prof. Gian luigi Taddei
Anatomia Patologica	A.O. Ospedale Niguarda Ca' Granda - Milano	Prof. Marcello Gambacorta

Programma Italiano Controllo di Qualità Nazionale per la valutazione delle mutazioni di KRAS nel carcinoma del colon-retto

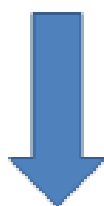


Programma Italiano Controllo di Qualità Nazionale per la valutazione delle mutazioni di KRAS nel carcinoma del colon-retto

- Selezione di campioni di carcinoma del colon-retto con almeno 50% di cellule tumorali
- Analisi dei tessuti in almeno quattro diversi laboratori di riferimento con almeno quattro diverse tecniche
- Selezione di 20 casi che hanno avuto una concordanza del 100% in tutti i laboratori di riferimento
- Spedizione di un vetrino (2 sezioni x 10µm) per ogni caso ai centri che hanno aderito al programma
- I Centri possono effettuare l'analisi molecolare con la tecnica utilizzata solitamente

METODICHE UTILIZZATE PER LA VALUTAZIONE DELLE MUTAZIONI

**SEQUENZIAMENTO DIRETTO 3 CENTRI
PIROSEQUENZIAMENTO 1 CENTRO
PCR-REAL TIME 1 CENTRO**



**SOLO I CAMPIONI CHE HANNO AVUTO UNA
CONCORDANZA DEL 100% IN TUTTI I CENTRI SONO
STATI SCELTI**

Risultati per caso

➤ **Sono stati conteggiati solo i genotipi**

➤ **Sistema di punteggio:**

- Genotipo corretto: 2.00
- Errore nomenclatura mutazioni: 1.50
- Test failure senza risultati sul campione: 1.00 per il primo campione, 0 per il secondo
- Risultati falsi-positivi e falsi-negativi: 0

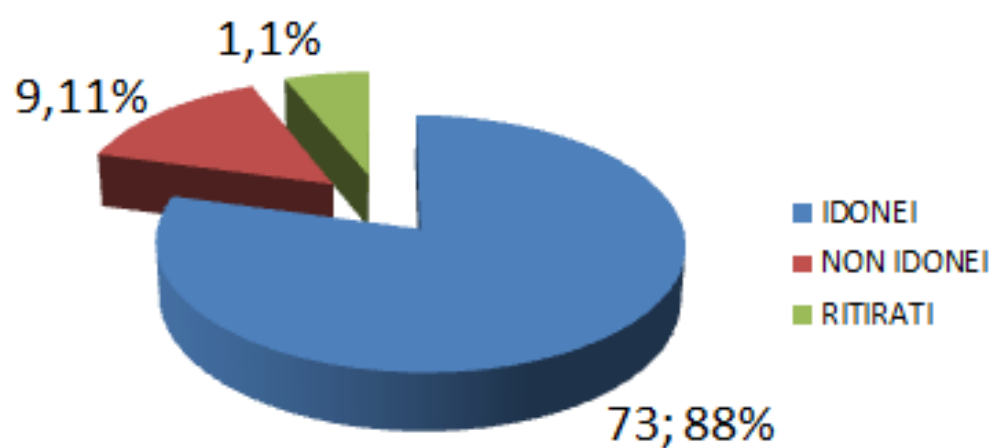
LIMITE DA SUPERARE > 18,5

HANNO ADERITO AL PROGETTO 83CENTRI- 5 CENTRI ORGANIZZATORI



Risultati del secondo Controllo di qualità di KRAS italiano

I ROUND



Totale 83 centri

Risultati del secondo Controllo di qualità di KRAS italiano

II ROUND

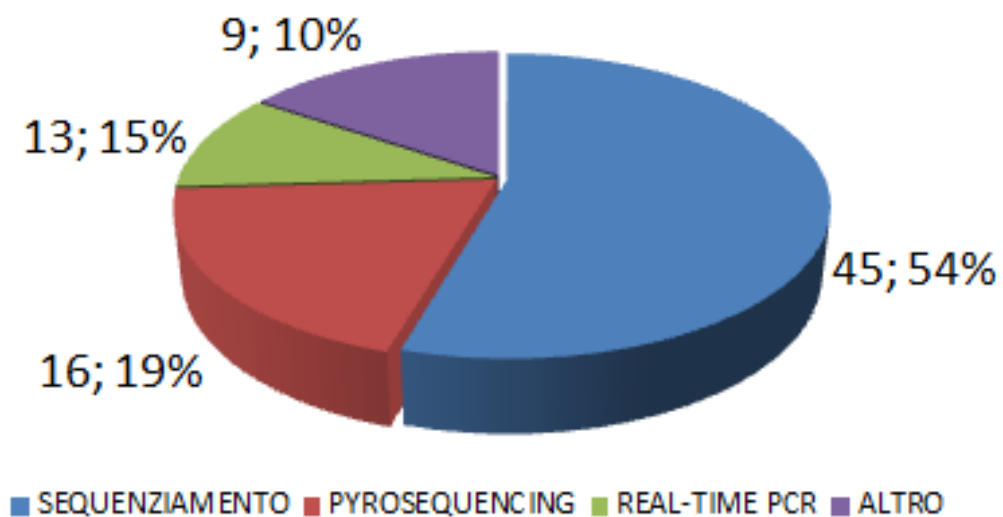
Hanno partecipato al secondo round 9 centri

5 CENTRI 55.5% IDONEI

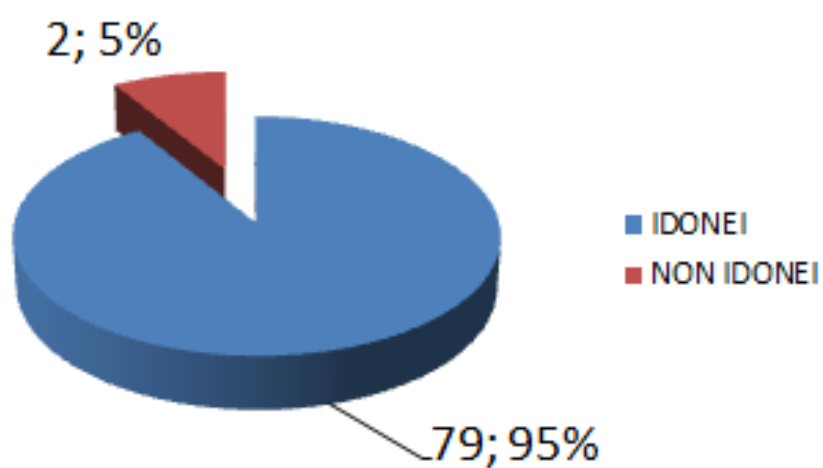
2 CENTRI 22.2% RITIRATI

2 CENTRI 22.2% NON IDONEI

Metodiche utilizzate per il Controllo di qualità di KRAS



Risultati finali del secondo Controllo di qualità di KRAS italiano



Conclusioni

- La maggior parte dei laboratori italiani desidera partecipare ad un programma di Controllo di qualità
- L'analisi dello stato mutazionale del gene KRAS viene effettuata ad un alto livello qualitativo nella maggior parte dei centri italiani: 79/83 (95%)