



## Campagne 2024

### **INSTRUCTIONS AUX LABORATOIRES** à lire attentivement avant l'analyse des échantillons.

- 
- 1. Principe**
  - 2. Confidentialité des participants**
  - 3. Information sur les échantillons**
  - 4. Informations détaillées par programme**
    - a. Programme Analyse multiparamétrique sur tissus
    - b. Programme Méthode ciblée par gène
    - c. Programme Ovaire
    - d. Programme Fusion
  - 5. Cellularité tumorale**
  - 6. Interprétation**
  - 7. Demande de matériel supplémentaire**
  - 8. Transmission des résultats**
    - a. Délai de rendu
    - b. Soumission des résultats
  - 9. Notation**
    - a. Score de génotypage
    - b. Score de compte-rendu
    - c. Score d'interprétation
  - 10. Assistance**
  - 11. Contacts**
-

## 1. Principe

La campagne 2024 comporte quatre programmes pour l'analyse tissulaire :

- ❖ programme Analyse multiparamétrique sur tissus (NGS)
- ❖ programme Méthode ciblée par gène
- ❖ programme Ovaire BRCA1/2 comprenant le Test de la déficience du mécanisme de la recombinaison homologue (HRD)
- ❖ programme Fusion

L'envoi des échantillons a eu lieu le 09/07/2024.

Après extraction de l'ADN des échantillons envoyés, le participant analyse la présence de mutations ayant un impact médical en appliquant **son protocole habituel** sans modification et de préférence **au cours d'un run de routine du laboratoire contenant également des échantillons patients.**

## 2. Confidentialité des participants

Afin de préserver l'anonymat des laboratoires participants, chaque structure doit faire usage du numéro d'anonymat qui lui a été attribué.

Ce numéro se présente sous la forme : GTxxx

Les structures nouvellement inscrites en 2024 ont reçu leur information d'anonymat via courrier électronique.

Une **nouvelle messagerie électronique** anonymisée est mise à votre disposition pour communiquer de façon anonyme pendant la campagne :

- ❖ Se connecter sur le site <https://webmail.webmo.fr/>
- ❖ Saisir les identifiants de connexion :
  - nom d'utilisateur : [gtxxx@genetiss.org](mailto:gtxxx@genetiss.org)
  - nouveau mot de passe (communiqué au mois de mai 2024)

Pour garantir la confidentialité, le contenu des messages adressés ne devra comporter aucune information à caractère nominatif.

Cette boîte mail est utilisée pour tous les échanges dans le cadre du programme. N'hésitez pas à la consulter régulièrement.

## 3. Information sur les échantillons

Les boîtes de lames ou les tubes envoyés au laboratoire participant contiennent des sections de blocs tumoraux fixés et inclus en paraffine.

Les blocs sont obtenus à partir de prélèvements différents, comportant ou ne comportant pas une mutation du gène étudié.

Ces échantillons proviennent de blocs réels, évalués et sélectionnés par des plateformes expertes dans le cadre du soin, puis qualifiés de manière centralisée pour donner des résultats contributifs.

Un laboratoire européen, externe au contrôle de qualité gen&tiss, effectue en parallèle une validation de tous les échantillons. En cas de discordance, l'échantillon concerné pourrait être exclu du contrôle de qualité. Par conséquent, le résultat de cet échantillon ne serait pas pris en compte dans la note globale et serait considéré comme « éducatif ».

Les échantillons tissulaires peuvent se présenter sous 2 formes :

Coupes de tissus sur lames blanches	Copeaux de tissus en tubes
<p>Le laboratoire dispose de 3 coupes de tissu d'une épaisseur de 5 µm, dont <b>une</b>, doit être utilisée pour réaliser une <b>coloration HE afin de déterminer le pourcentage de cellules tumorales</b>.</p> <p>Il est recommandé de conserver les lames HE annotées (ou les images) indiquant la cellularité tumorale afin de pouvoir s'y référer en cas de discordance dans les résultats obtenus.</p> <p>Les deuxième et troisièmes coupes servent, après macro-dissection, à l'extraction de l'ADN.</p>	<p>Le laboratoire dispose de 3 copeaux de tissu fixé au formol et inclus en paraffine, d'une épaisseur de 5 µm.</p> <p><b>L'extraction d'ADN peut être réalisée directement à partir du tube</b></p> <p>La cellularité de ces échantillons est fournie dans les tableaux spécifiques à chaque programme (Paragraphe 4. Informations détaillées par programme)</p>

Chaque échantillon est numéroté de la façon suivante : année-type de programme-numéro d'identification de l'échantillon-n° de position des coupes dans le bloc.

Par exemple, la lame 24-Multi-01-coupe n°22 correspond à un échantillon du programme 2024 multiparamétrique, cas n°1, 22ème coupe du bloc.

**Le protocole d'extraction à partir des tissus doit être identique à celui utilisé en routine dans le laboratoire.**

**Les échantillons doivent être traités comme des échantillons à usage clinique et stockés en conséquence.**

**Note :**

Les échantillons et documents fournis concernent l'évaluation externe de la qualité (EEQ) dans le laboratoire participant.

Les échantillons doivent être manipulés et éliminés conformément aux procédures de sécurité établies dans le laboratoire participant.

#### 4. Informations détaillées par programme

##### a. Programme Analyse multiparamétrique sur tissus

Ce programme donne la possibilité aux participants d'étudier plusieurs marqueurs en parallèle sur les mêmes échantillons et favorise ainsi l'étude du génotype complet.

Il s'agit du programme principal qui rassemble les analyses sur le côlon, le mélanome et le poumon. Cette année, le participant reçoit 10 échantillons tissulaires : 3 par organe et un échantillon éducatif.

Il est possible d'utiliser toute technique y compris le séquençage de nouvelle génération (NGS). Les participants sont invités à analyser **tous les échantillons** et à tester **tous les marqueurs**, indépendamment du tissu. Le test MSI/méthylation du promoteur *MLH1* peut être évalué sur les échantillons « côlon ».

- Pour le cas **24-Multi-01** : vous disposez de 3 coupes de tissus (5 µm) sur lames dont **une doit être utilisée pour réaliser une coloration HE** afin de déterminer le pourcentage de cellules tumorales.

Ce cas est accompagné d'une prescription fictive comportant un numéro d'identification, une identité fictive et une date de naissance. Ces données doivent figurer dans le compte rendu qui vous est demandé pour ce cas. **Le participant doit anonymiser au mieux le compte-rendu en masquant les en-têtes et les noms des pathologistes / biologistes.**

Les deuxième et troisième coupes de ce cas servent à l'extraction de l'ADN après macrodissection.

- Le cas **24-Multi-10** est l'échantillon complémentaire à but « éducatif » qui est aussi utilisé pour évaluer la qualité des données NGS. Les résultats de génotypage obtenus pour cet échantillon ne font pas partie de la notation globale du génotype.
- **En complément :**  
Le programme « **Analyse bio-informatique des données NGS** » est basé sur l'évaluation de la qualité de l'analyse NGS à partir de l'échantillon éducatif (24-Multi-10).  
Il est possible de soumettre plusieurs pipelines.  
Les données bam et vcf sont à télécharger sur un site dédié (référence indiquée dans le paragraphe « Transmission des résultats. »)  
Le participant ne peut soumettre qu'un seul run (technique d'enrichissement et séquenceur).

Échantillons	Échantillons	Organes	Cellularité	Prescription et Compte-rendu (CR)	Réponses obligatoires	Autres gènes pouvant être étudiés
24-Multi-01-n° de coupe 24-Multi-02-n° de coupe 24-Multi-03-n° de coupe	3 lames blanches 5 µm 1 tube (3 copeaux 5 µm) 1 tube (3 copeaux 5 µm)	Poumon	à déterminer 60% 20%	<b>CR demandé</b> Pas de CR Pas de CR	<b>EGFR &amp; KRAS</b>	<i>BRAF, PIK3CA, ERBB2</i>
24-Multi-04-n° de coupe 24-Multi-05-n° de coupe 24-Multi-06-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm) 1 tube (3 copeaux 5 µm) 1 tube (3 copeaux 5 µm)	Côlon	40% 20% 50%	Pas de CR Pas de CR Pas de CR	<b>KRAS &amp; NRAS</b>	<i>BRAF, PIK3CA</i>
24-Multi-07-n° de coupe 24-Multi-08-n° de coupe 24-Multi-09-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm) 1 tube (3 copeaux 5 µm) 1 tube (3 copeaux 5 µm)	Mélanome	50% 30% 30%	Pas de CR Pas de CR Pas de CR	<b>BRAF &amp; NRAS</b>	<i>KIT</i>
24-Multi-10-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	Endomètre (Éducatif)	30%	Pas de CR	-	<i>KRAS, NRAS, EGFR, BRAF, KIT, PIK3CA, ERBB2</i>

**Le participant doit analyser les 9 échantillons** (24-Multi-01 à 24-Multi-09) et cribler **au minimum un** des couples suivants :

- ❖ *KRAS / NRAS*
- ❖ *EGFR / KRAS*
- ❖ *BRAF / NRAS*.

Les exons comportant des mutations activatrices connues doivent impérativement être couverts :

- ❖ pour *EGFR* : exons 18,19, 20 et 21
- ❖ pour *BRAF* : exons 11 et 15
- ❖ pour *KRAS/ NRAS* : exons 2, 3, et 4
- ❖ pour *ERBB2* : exon 20
- ❖ pour *PIK3CA* : exons 2, 5, 8,10 et 21

## b. Programme Méthodes ciblées par gène

Il s'agit du programme dédié à l'analyse ciblant **un gène unique**,  
Les participants doivent rendre les résultats sur les 5 échantillons fournis par gène.  
Le score de génotypage est déterminé sur tous les résultats. Il n'y a pas d'analyse d'autres gènes.

	Échantillons	Échantillons	Cellularité	CR demandé
<b>EGFR</b>	24-EGFR-01-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	20%	CR demandé pour 24-EGFR-01 *
	24-EGFR-02-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50%	
	24-EGFR-03-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50%	
	24-EGFR-04-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50%	
	24-EGFR-05-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	20%	
<b>KRAS</b>	24-KRAS-01-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	40%	CR demandé pour 24-KRAS-01 *
	24-KRAS-02-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50%	
	24-KRAS-03-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	20%	
	24-KRAS-04-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	60%	
	24-KRAS-05-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	10%	
<b>NRAS</b>	24-NRAS-01-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50%	Pas de CR demandé
	24-NRAS-02-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	60%	
	24-NRAS-03-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	20%	
	24-NRAS-04-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	60%	
	24-NRAS-05-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	25%	
<b>BRAF</b>	24-BRAF-01-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	30%	Pas de CR demandé
	24-BRAF-02-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50%	
	24-BRAF-03-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	10%	
	24-BRAF-04-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	30%	
	24-BRAF-05-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	30%	
<b>Méthylation MLH1 et MSI</b>	24-MSI-MLH1-01-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	40%	CR demandé pour 24-MLH1-MSI-01 *
	24-MSI-MLH1-02-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	40%	
	24-MSI-MLH1-03-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50%	
	24-MSI-MLH1-04-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	80%	
	24-MSI-MLH1-05-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	30%	

\* CR demandé si indiqué dans le document intitulé « Annexe » envoyé avec les échantillons.

Les exons comportant des mutations activatrices connues doivent être couverts :

- ❖ pour *KRAS*/*NRAS* : tous les exons 2, 3, 4
- ❖ pour *BRAF* : exons 11 et 15
- ❖ pour *EGFR* : exons 18,19, 20 et 21

## c. Programme Ovaire BRCA1/2

Il s'agit du programme dédié à l'analyse ciblant le cancer de l'ovaire. Il est demandé au laboratoire de rechercher tous les types de mutation, incluant *BRCA1* et *BRCA2*.

Les grands réarrangements géniques seront pris en compte dans la notation s'ils sont présents et si le laboratoire indique avoir validé sa méthode pour ces analyses

- Pour le cas **24-BRCA-01** : vous disposez de 3 coupes de tissus (5 µm) sur lames dont **une doit être utilisée pour réaliser une coloration HE** afin de déterminer le pourcentage de cellules tumorales.  
Ce cas est accompagné d'une prescription fictive comportant un numéro d'identification, une identité fictive et une date de naissance. Ces données doivent figurer dans le compte rendu qui vous est demandé pour ce cas. **Le participant doit anonymiser au mieux le compte-rendu en masquant les en-têtes et les noms des pathologistes / biologistes.** Les deuxième et troisième coupes de ce cas servent à l'extraction de l'ADN après macrodissection

- Le cas **24-BRCA-06** est l'échantillon complémentaire à but « éducatif » qui est aussi utilisé pour évaluer la qualité des données NGS. Les résultats de génotypage obtenus pour cet échantillon ne font pas partie de la notation globale du génotype.  
Il est possible de soumettre plusieurs pipelines.  
Les données bam et vcf sont à télécharger sur un site dédié (référence indiquée dans le paragraphe « Transmission des résultats. »)  
Le participant ne peut soumettre qu'un seul run (technique d'enrichissement et séquenceur).
- **En complément :**  
Le test de la déficience du mécanisme de la recombinaison homologe (HRD)  
Il est demandé aux laboratoires d'utiliser leur méthode interne pour évaluer le score GIS des échantillons. Le score d'instabilité génomique des échantillons envoyés aux participants a été qualifié selon la méthode Myriad MyChoice.  
L'homogénéité du bloc a été vérifiée par une technique validant les variations du nombre de copie (SNP-array / sWGS).  
**Il est demandé de rapporter le résultat du statut HRD sur le compte-rendu du cas 24-BRCA-01.**

Échantillons	Échantillons	Cellularité	CR demandé	Réponses obligatoires	Autres gènes pouvant être étudiés
24-BRCA-01-n° de coupe	3 lames blanches 5 µm	à déterminer	<b>CR demandé *</b>		
24-BRCA-02-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	30%	Pas de CR	<b>BRCA1</b> <b>BRCA2</b>	<i>TP53</i> <i>score HRD</i>
24-BRCA-03-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	70%	Pas de CR		
24-BRCA-04-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50%	Pas de CR		
24-BRCA-05-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50%	Pas de CR		
24-BRCA-06-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50%	Pas de CR		

\* CR demandé si indiqué dans le document intitulé « Annexe » envoyé avec les échantillons

#### d. Programme Transcrits de Fusion

Il s'agit d'un programme dédié à la détection des transcrits de fusion dans le cancer du poumon ou le cancer de la thyroïde.

Les participants doivent rendre les résultats sur **tous les échantillons** fournis. Le score de génotypage sera déterminé sur l'ensemble des résultats.

Il est demandé de rapporter **au minimum** les fusions et de rechercher les transcrits anormaux de l'exon 14 du gène *MET*.

Il est possible de rapporter les variants ponctuels si l'analyse bio-informatique est disponible. Il n'y a pas de compte-rendu à fournir dans le cadre de ce programme.

Échantillons	Échantillons	Cellularité	CR demandé	Réponses obligatoires
24-FUSION-01-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	20%	Pas de CR	<b>Fusion ALK, ROS1</b> <b>RET, NTRK1/2/3 &amp;</b> <b>MET</b>
24-FUSION-02-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	30%	Pas de CR	
24-FUSION-03-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50 %	Pas de CR	
24-FUSION-04-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	80 %	Pas de CR	

## 5. Cellularité tumorale

Les recommandations sur la détermination histologique de la cellularité sont issues de la réunion collégiale clôturant la campagne gen&tiss 2012.

La cellularité est à évaluer uniquement pour les cas reçus sous forme de tissus sur lames.

### ❖ Définition :

- Nombre total de cellules tumorales / nombre total de cellules, tous types confondus, en particulier en intégrant les lymphocytes (dans la zone tissulaire soumise à l'analyse de biologie moléculaire),

Ce nombre est donné en % (% CT).

### ❖ Bornes de quantification :

Pour les % faibles (< 30%) se limiter aux tranches suivantes			Pour les % forts (≥ 30%) se limiter aux valeurs suivantes :
< 1%			30%
1-4%	5-9%	10-14%	50%
15-19%	20-24%	25-29%	80%

**Note :** la cellularité se détermine sur les **cellules viables**.

Si vous identifiez la présence de nécrose et/ou de flaques de mucus dans les tumeurs mucineuses :

- éviter si possible ces zones lors de la macro-dissection
- signaler si de telles zones sont présentes dans l'échantillon
- quantifier ces zones en termes de surface

## 6. Interprétation

Il y a deux niveaux d'évaluation de l'interprétation des résultats :

### a. Interprétation des variants identifiés sur les échantillons analysés :

Tous les cas doivent être considérés comme des cas de patients avec tumeurs avancées nécessitant une orientation vers une thérapeutique ciblée en fonction des résultats moléculaires.

Il est important d'apporter un commentaire sur l'orientation thérapeutique, comme à une RCP moléculaire en distinguant bien ce qui relève des indications officielles et des publications médicales.

Pour l'interprétation des résultats MSI / méthylation du promoteur MLH1, il est demandé de fournir une interprétation sur la présence ou non d'un syndrome de Lynch.

Le laboratoire participant doit donner une interprétation des variants identifiés, au plus proche possible des pratiques du laboratoire. Il sera évalué la capacité à juger de la **pathogénicité** des variants et à donner une **orientation thérapeutique** en fonction des résultats.

Il est rappelé qu'un résultat sans mutation doit être interprété comme une absence de marqueur de sensibilité ou de résistance.

Il est demandé au participant de donner une conclusion correspondant pour chaque cas.

L'interprétation des résultats doit être saisie dans le formulaire de saisie de résultats en ligne, spécifique à chaque programme.

### b. Analyse de l'interprétation à partir d'une liste de variants supplémentaires

Une liste de variants supplémentaires est fournie pour juger de la capacité du laboratoire à classer ces variants en fonction de leur **pathogénicité** et de leur **impact thérapeutique**.

La recevabilité du classement de ces variants se fera en fonction du risque de perte de chance pour le patient. Plusieurs réponses sont donc acceptables.

## 7. Demande de matériel supplémentaire

Les participants peuvent demander l'envoi de matériel supplémentaire dans les cas exceptionnels suivants :

1. Lame(s) cassée(s) lors du transport et signalée(s) comme telle(s) dans l'attestation de réception
2. Non réception de l'envoi d'échantillons par le participant
3. Problème technique lors de l'analyse d'une lame (ex : perte de matériel lors de l'extraction)

Les situations n° 1 et n° 2 sont prioritaires sur la situation n°3.

La demande doit être adressée par courrier électronique à [secretariat@genetiss.org](mailto:secretariat@genetiss.org) en précisant les raisons.

Si la demande est acceptée, le matériel est envoyé sous 48h après formulation de la réponse à la requête.

La demande de matériel supplémentaire peut se faire jusqu'au **27/08/2024**

## 8. Transmission des résultats

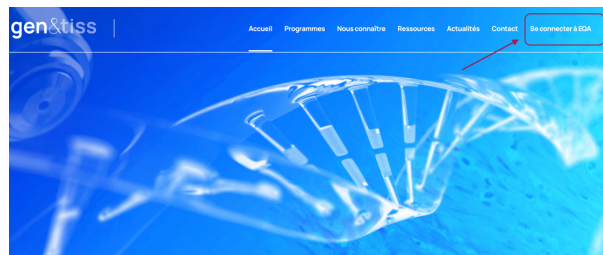
### a. Délais de rendu des résultats

Les résultats doivent être soumis au plus tard le **27/09/2024**

### b. Soumission des résultats

#### ❖ Résultats de génotypage et d'interprétation :

- Pour saisir et consulter les résultats des programmes, se connecter sur le site <http://www.genetiss.org> – et sélectionner la rubrique « Se connecter à l'EEQ »



- Une fois sur le site <https://eqascheme.org/login> saisir l'identifiant de connexion (gt00XXX@genetiss.org ) et le mot de passe :



Sign In  
Enter your email address and password below.

Email address

Password

No account? [Sign up!](#)  
[Forgot your password? Reset it!](#)

⇒ **Attention** : Ne pas créer de nouveau profil. Si vous n'arrivez pas à vous connecter ou s'il manque un programme, contactez [secretariat@genetiss.org](mailto:secretariat@genetiss.org)

- Remplir les tableaux de résultats en fonction des programmes souscrits.

#### → Section « Résultat d'analyse »

Pour tous les échantillons, ajoutez le **numéro de coupe** de l'échantillon

Exemple : pour « 24-Multi-02-**n** », bien indiquer le chiffre correspondant à la lettre **n**.



Cette indication est importante en cas de réclamation.

Pour la saisie des génotypes, utilisez exclusivement la nomenclature officielle HGVS (<http://www.hgvs.org/mutnomen/recs-DNA.html>).

Il est demandé de rapporter à la fois les variations avec un effet activateur et les variations de signification théranostique non déterminée.

Si d'autres marqueurs non proposés ont aussi été étudiés, les résultats peuvent être rapportés dans la colonne « autre génotype ».

Dans le tableau de résultats de génotype :

- si le gène n'a pas été testé, veuillez remplir « non testé »
- si le résultat est sans mutation, veuillez remplir « sauvage » ou « WT ».
- si le résultat est non contributif, veuillez remplir « NC ».

Toute autre dénomination risque d'être considérée comme « absence de résultat ».

En cliquant sur « Enregistrer et finir ultérieurement », vous pouvez sauvegarder votre saisie et finir plus tard la validation de votre soumission. Un code sera généré. Gardez ce code ou prévoyez votre adresse email pour accéder de nouveau à votre tableau de résultats.

Pour valider vos saisies, veuillez cliquer sur “vers la page de confirmation”.

#### → **Section « Méthode »**

Il est demandé de décrire l'approche technique utilisée pour l'étude des échantillons, à partir d'une liste de choix regroupant l'ensemble des analyses possibles.

Le participant pourra préciser en commentaire les conditions d'application de la technique.

#### → **Section « données statistiques »**

**La saisie de ces informations est obligatoire pour l'analyse globale.**

#### → **Télécharger le compte-rendu**

Télécharger le compte-rendu au format pdf, comme indiqué dans le document « Annexe » qui vous a été adressé spécifiquement avec les échantillons. Ce compte-rendu doit être rédigé de manière identique à ceux réalisés dans le cadre des analyses de routine.

**Rappel :** Le participant doit anonymiser au mieux les comptes-rendus en masquant les en-têtes et les noms des pathologistes / biologistes.

#### → **Téléchargement facultatif :**

Les données brutes (c'est-à-dire tout document ayant permis de rédiger le compte-rendu, export des automates : images, compte-rendu texte...) peuvent être téléchargées pour des cas jugés difficiles par le laboratoire participant.

**Au bas de cette page, n'oubliez pas de cliquer sur “Soumettre fiche”.**

Si le fichier est soumis avec succès, vous recevrez un message de confirmation dans votre boîte électronique anonyme [GT00XX@genetiss.org](mailto:GT00XX@genetiss.org).

**La participation est valide uniquement si l'intégralité des formulaires requis a été soumis.**

Les résultats doivent être soumis au plus tard le **27/09/2024** sous peine d'exclusion à la campagne.

### ❖ **Résultats du programme « Analyse bio-informatique des données NGS »**

Les fichiers type bam et vcf pour l'échantillon 24-Multi-10 et 24-BRCA-06 sont à télécharger sur un site dédié.

Le lien vers ce site vous sera envoyé ultérieurement par le secrétariat gen&tiss.

## 9. Notation

L'évaluation du laboratoire participant porte sur les résultats de génotypage, l'interprétation des résultats de génotypage et le compte-rendu

### a. Score de génotypage

La réussite au programme est validée lorsque le score de génotypage global est **supérieur ou égal à 18/20 (soit 90% du score maximum)**.

Les résultats sur les échantillons « éducatifs » sont évalués mais leur score n'est pas intégré dans le score global. Selon le programme, le nombre de cas notés pour le score global est indiqué dans le tableau ci-dessous :

Multiparamétrique	9 cas	Ovaire	5 cas
Méthode ciblée par gène	5 cas / gène	Transcrits de Fusion	4 cas

Le score de génotypage est attribué pour chaque gène analysé, selon les critères définis dans le tableau ci-dessous :

Critères de notation	
Génotype correct	2 points
Génotype correct, mais un VSI non détecté / non rapporté	2 points
Mutation détectée, mais le changement de nucléotide n'est pas décrit en raison de la technique utilisée (analyse de fragment, qPCR*)	2 points
La méthode ou la sensibilité ne permet pas la détection de la / des mutation(s).	2 points
Mutation non identifiée car non recherchée pour les autres marqueurs	2 points
Mutation non identifiée car fréquence allélique inférieure à la limite de détection annoncée – 5% tissu et 1% ctDNA	
Mutation détectée, mais la nomenclature est fautive après séquençage (erreur de nucléotide, mais même codon), pas de mutation mentionnée 'muté', ou faux nombre des paires de bases en cas d'une délétion	1,5 point
Erreur d'écriture dans le tableau de génotypage	1 point
Échantillon non contributif	0,5 point
Génotype incorrect	0 point
Mutation non identifiée car non recherchée pour <i>EGFR</i> exon 18 ou pour <i>KRAS/NRAS</i> exon 2,3,4	0 point
Une des deux mutations n'est pas identifiée	0 point
Nomenclature non HGVS	- 0,5 point (une seule fois sur le total)

\* Le compte-rendu doit être suffisamment explicite pour identifier la méthode.  
À défaut, le score sera 0 point comme dans le cas d'une erreur de mutation.

### Rappels :

#### ❖ Nomenclature :

L'utilisation de la **nomenclature HGVS** doit être favorisée pour homogénéiser les résultats (par exemple *KRAS*, c.34G>T, p.(Gly12Cys)).

L'utilisation d'autres nomenclatures entraînera un retrait de 0,5 point sur le score total.

Toute erreur de nomenclature (le codon est bien identifié, mais les nucléotides sont faux) entraîne une note de 1,5 au lieu de 2 pour l'échantillon.

Toute erreur de mutation (locus différent – erreur de codon) entraîne une note nulle pour l'échantillon.

## ❖ Échantillons non contributifs

Les échantillons ont été qualifiés pour donner des résultats contributifs

Si un échantillon est rendu « non contributif », le score pour cet échantillon sera de 0,5 point et il est demandé au laboratoire de préciser dans son interprétation les prochaines étapes pour l'analyse.

### ○ **Programme Multiparamétrique**

Les exons comportant des mutations activatrices connues doivent être couverts (cf. tableau dans paragraphe 4a)

L'absence de détection de ces mutations donne lieu à un score nul (0 point) pour l'échantillon, même si la recherche n'a pas été effectuée par la technique appliquée.

Pour les exons 19 et 20 du gène *EGFR* ainsi que pour l'exon 20 du gène *ERBB2*, il est accepté de ne pas décrire la mutation complètement **si la technique utilisée ne le permet pas**. Les 2 points seront attribués si la mutation est détectée (Exemple : « délétion de l'exon 19 / insertion exon 20 », toutefois, la description de la méthode **doit être présente** sans ambiguïté dans le compte-rendu ou dans le tableau de résultats.

### ○ **Programme Analyse bio-informatique des données NGS**

Pour l'évaluation du NGS, le participant devra réaliser l'analyse de l'échantillon « éducatif » du programme multiparamétrique et du programme ovaire

Le score prendra en compte les faux positifs / faux négatifs sur des marqueurs actionnables. Chaque participant recevra un rapport individuel spécifique à cette évaluation.

### ○ **Programme ciblé par gène**

Le génotype sera noté par gène pour chacun des cas à évaluer. Les exons comportant des mutations activatrices connues doivent être couverts (tous les exons 2, 3, 4 pour *KRAS/NRAS* – exons 11 et 15 pour *BRAF* – exons 18, 19, 20 et 21 pour *EGFR* – exons 10 et 21 pour *PIK3CA*). Pour ces cas, l'absence de détection de mutation donne une note nulle (0 point) au lieu de 2 pour l'échantillon, même si la recherche n'a pas été effectuée par la technique appliquée. Pour les analyses MSI, les réponses acceptables sont MSI, MSS, Non contributif et non testé.

### ○ **Programme Ovaire**

Le génotype des gènes *BRCA1* et *BRCA2* est obligatoire pour valider la participation à cette localisation. Il est demandé de rechercher tous les types de mutation. Les grands réarrangements géniques seront considérés dans la notation s'ils sont présents et si le laboratoire indique avoir validé sa méthode pour ces analyses.

**Pour le score HRD, il est demandé au laboratoire de fournir son résultat sous forme d'un score en indiquant son seuil et sa conclusion (stabilité génomique ou instabilité génomique / statut HRP ou HRD).**

### ○ **Programme Transcrits de Fusion**

Le génotype sera noté sur la capacité à détecter les partenaires impliqués dans la fusion. L'évaluation se fera obligatoirement sur les gènes *ALK*, *ROS1*, *RET*, *NTRK1/2/3* et *MET*. Il est demandé de respecter la nomenclature internationale. Là aussi, le recours à la nomenclature HGVS est recommandée. Si le participant a mis en place la détection des variants ponctuels sur ARN, il peut rapporter spécifiquement ces variants.

## **b. Score de comptes rendus**

Les comptes rendus feront l'objet d'une évaluation spécifique portant sur les données saisies et sur la présence de plusieurs items, selon les recommandations de l'INCa.

Chaque item présent est noté 1 point. Le score total sera le pourcentage d'items présents par rapport à l'ensemble des items attendus.

Les données à remplir sur le compte rendu sont fournies sur la feuille de prescription factice envoyée avec les échantillons.

La notation des comptes rendus prend en compte la présence des items **et** la pertinence des informations associées.

## c. Score d'interprétation

L'interprétation des résultats se fera directement sur le formulaire de saisie de résultats en ligne. Il est demandé au laboratoire participant de fournir sa conclusion pour chaque cas analysé. Ce score sera complété par les résultats d'interprétation des variants supplémentaires.

Pour les variants supplémentaires, il est demandé de classer la pathogénicité et l'actionabilité. Pour chacun de ces critères, plusieurs choix sont proposés par variant.

Si l'interprétation est erronée et entraîne une prise en charge inadaptée, aucun point ne sera attribué ; dans tous les autres cas, 2 points seront attribués.

## d. Certificat de participation

Un certificat individuel de participation sera émis pour chaque laboratoire participant. Le résultat général pour chaque programme souscrit ainsi que le détail par gène sera indiqué sur le certificat.

**Les participants avec moins de 18 sur 20 au score de génotype sur un marqueur donné n'auront pas de certificat de réussite pour ce marqueur.** Ils devront justifier par courrier des modifications dans leur protocole à la suite du résultat du programme.

## 10. Assistance

Après réception des échantillons, vous pourrez adresser toute question administrative ou technique au [secretariat@genetiss.org](mailto:secretariat@genetiss.org) et si besoin par téléphone au 03 88 12 81 41

Afin de garantir la confidentialité, le contenu des messages adressés ne devra comporter aucune information à caractère nominatif.

## 11. Contacts



Etienne ROULEAU  
+33 1 42 11 44 08  
[etienne.rouleau@gustaveroussy.fr](mailto:etienne.rouleau@gustaveroussy.fr)



Caroline Egele  
Anne Gaire

+33 (0)3 88 12 81 41  
[secretariat@genetiss.org](mailto:secretariat@genetiss.org)



### Biomedical Quality Assurance Research Unit

Els DEQUEKER  
[Els.Dequeker@kuleuven.be](mailto:Els.Dequeker@kuleuven.be)  
+32 16 3 45881