



Campagne 2025

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
 - 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 2025 comporte quatre programmes pour l'analyse tissulaire et un programme pour l'analyse d'ADN circulant. Cette année, l'envoi des échantillons s'effectue en 2 phases :

- **Envoi n°1** : L'envoi des échantillons a lieu la semaine du 21/07/2025 pour les programmes suivants :
 - ❖ programme Analyse multiparamétrique sur tissus (NGS)
 - ❖ programme Méthode ciblée par gène EGFR, KRAS, NRAS, BRAF et MLH1/MSI

- **Envoi n°2** : L'envoi des échantillons est prévu la semaine du 22/09/2025 pour les programmes suivants :
 - ❖ programme Ovaire comprenant le Test de la déficience du mécanisme de la recombinaison homologe (HRD)
 - ❖ programme Fusion
 - ❖ programme ADN circulant

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 2025 ont reçu leur information d'anonymat via courrier électronique.

Pour mémoire, une **nouvelle messagerie électronique** anonymisée a été mise à votre disposition en 2024 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
 - nouveau mot de passe (communiqué via email 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 programme de contrôle de qualité gen&tiss, effectuée 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 une, doit être utilisée pour réaliser une coloration HE afin de déterminer le pourcentage de cellules tumorales.</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>L'extraction d'ADN peut être réalisée directement à partir du tube</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 25-Multi-01-coupe n°37 correspond à un échantillon du programme 2025 multiparamétrique, cas n°1, 37ème 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 comporte des analyses sur le cancer du côlon, le cancer du poumon et le mélanome. Cette année, le participant reçoit 10 échantillons tissulaires : 3 par organe et un échantillon éducatif.

Il est possible d'utiliser toute technique d'analyse moléculaire, 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.

- Pour le cas **25-Multi-01** : vous disposez de 3 coupes de tissus (5 µm) sur lames dont **une coupe doit être utilisée pour réaliser une coloration HE** afin de déterminer le pourcentage de cellules tumorales. Les deuxième et troisième coupes de ce cas servent à l'extraction de l'ADN après macro-dissection.
Ce cas est accompagné d'une prescription fictive comportant un numéro d'identification, une identité fictive, une date de naissance fictive et un contexte clinique. Ces données doivent figurer dans le compte rendu à soumettre dans le cadre de ce programme.
Le participant doit anonymiser au mieux le compte-rendu en masquant les en-têtes de la structure et les noms des pathologistes / biologistes.
- Le cas **25-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 (25-Multi-10).
Il est possible de soumettre plusieurs pipelines.
Les données bam et vcf sont à télécharger sur un site dédié (le lien vers ce site vous sera envoyé ultérieurement par le secrétariat gen&tiss).
Le participant ne peut soumettre qu'une seule méthode (technique d'enrichissement et séquenceur).

Échantillons	Échantillons	Organes	Cellularité	Prescription et Compte-rendu (CR)	Réponses obligatoires	Autres gènes pouvant être étudiés
25-Multi-01-n° de coupe 25-Multi-02-n° de coupe 25-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 20% 70%	CR demandé Pas de CR Pas de CR	EGFR & KRAS	<i>BRAF, PIK3CA, ERBB2</i>
25-Multi-04-n° de coupe 25-Multi-05-n° de coupe 25-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% 40% 40%	Pas de CR Pas de CR Pas de CR	KRAS & NRAS	<i>BRAF, PIK3CA</i>
25-Multi-07-n° de coupe 25-Multi-08-n° de coupe 25-Multi-09-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm) 1 tube (3 copeaux 5 µm) 1 tube (3 copeaux 5 µm)	Mélanome	40% 60% 90%	Pas de CR Pas de CR Pas de CR	BRAF & NRAS	<i>KIT</i>
25-Multi-10-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	Carcinome urothélial de haut grade (Échantillon Éducatif)	20%	Pas de CR	-	<i>KRAS, NRAS, EGFR, BRAF, KIT, PIK3CA, ERBB2</i>

Le participant doit analyser les 9 échantillons.

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 Méthode ciblée 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
EGFR	25-EGFR-01-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	30%	CR demandé pour 25-EGFR-01 *
	25-EGFR-02-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50%	
	25-EGFR-03-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	40%	
	25-EGFR-04-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	30%	
	25-EGFR-05-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	30%	
KRAS	25-KRAS-01-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	20%	CR demandé pour 25-KRAS-01 *
	25-KRAS-02-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	40%	
	25-KRAS-03-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	40%	
	25-KRAS-04-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	70%	
	25-KRAS-05-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	40%	
NRAS	25-NRAS-01-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	40%	CR demandé pour 25-NRAS-01 *
	25-NRAS-02-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	60%	
	25-NRAS-03-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	80%	
	25-NRAS-04-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	15%	
	25-NRAS-05-n° de coupe	1 tube (1 copeau 15 µm)	80%	
BRAF	25-BRAF-01-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	10%	CR demandé pour 25-BRAF-01 *
	25-BRAF-02-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	10%	
	25-BRAF-03-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50%	
	25-BRAF-04-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	50%	
	25-BRAF-05-n° de coupe	1 tube (1 copeau 15 µm)	10%	
Méthylation MLH1 et MSI	25-MSI-MLH1-01-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	60%	CR demandé pour 25-MLH1-MSI-01 *
	25-MSI-MLH1-02-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	40%	
	25-MSI-MLH1-03-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	30%	
	25-MSI-MLH1-04-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	40%	
	25-MSI-MLH1-05-n° de coupe	1 tube (3 copeaux 5 µm)	20%	

* CR demandé si indiqué dans le document intitulé « Fiche d'accompagnement des échantillons » dans le cas où le laboratoire n'a pas participé au programme Multiparamétrique

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

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 FFPE 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.

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 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 en précisant la raison.

Si la demande est acceptée, le matériel est envoyé sous 48h avec confirmation.

La demande de matériel supplémentaire peut se faire jusqu'au **26/08/2025**.

8. Transmission des résultats

a. Délais de rendu des résultats

Les résultats doivent être soumis au plus tard le **26/09/2025**

b. Soumission des résultats

Une nouvelle plateforme a été développée pour améliorer la saisie des résultats ainsi que la gestion des participations aux campagnes d'EEQ gen&tiss.

La soumission des résultats en ligne via la nouvelle plateforme sera accessible après le 15/08/2025. Les modalités de connexion ainsi qu'un guide d'utilisation vous seront envoyés préalablement par voie électronique.

9. Notation

L'évaluation des participants porte sur les résultats de génotypage, l'interprétation des résultats de génotypage et l'évaluation d'un compte-rendu par laboratoire.

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
Méthode ciblée par gène	5 cas / gène

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 utilisée 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, section « Commentaires »).

○ **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.

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 fictives à faire figurer sur le compte rendu sont fournies sur la feuille de prescription factice adressée 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, en complément au programme Multiparamétrique.

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 ne pourront pas avoir la mention de réussite pour ce marqueur. Ils pourront justifier 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 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



Caroline Egele
Anne Gaire

+33 (0)3 88 12 81 41
secretariat@genetiss.org



Etienne ROULEAU
+33 1 42 11 44 08
etienne.rouleau@gustaveroussy.fr



Biomedical Quality Assurance Research Unit

Els DEQUEKER
Els.Dequeker@kuleuven.be
+32 16 3 45881