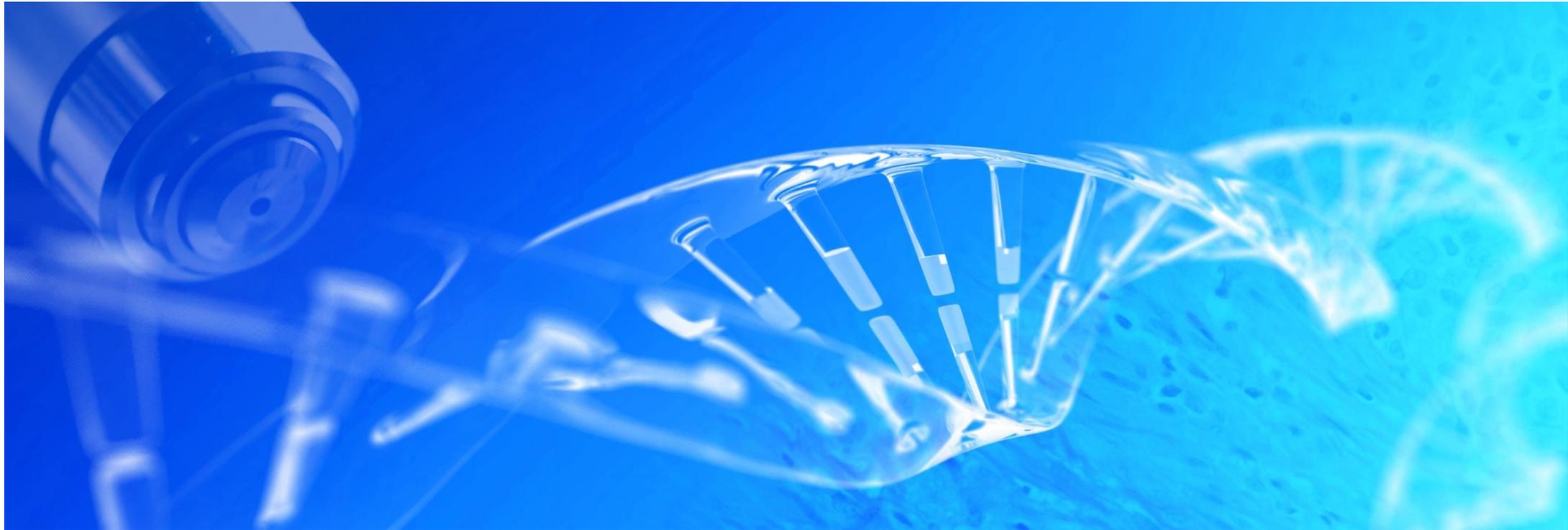


gen&tiss

Programmes nationaux d'EEQ Gen&tiss

Réunion de restitution de la campagne 2024 – 18 mars 2025



Programme

Modérateur: Prof. Alexandre Harlé

14h00: Accueil des participants

14h05-15h05: Bilan des résultats de génotypes, programmes Tissus: Dr. Etienne Rouleau

15h05-15h35: Bilan des résultats de génotypes, programme ADN tumoral circulant: Prof. Marc Denis

15h35-16h00: Autres EEQ - retours préliminaires: Dr. Etienne Rouleau

- Bilan sur l'interprétation des variants
- Bilan sur l'analyse bio-informatique des données NGS

16h00-16h30 : Conclusion et échange sur le programme

ORGANISATION



Responsabilités

Activité	Partie responsable	Coordonnées
Coordination du programme	KU Leuven	Prof. Dr. Els Dequeker , Biomedical Quality Assurance Research Unit Kapucijnenvoer 7 block H 3000 Leuven – Belgique gentiss.eqa@kuleuven.be
Support administratif, technique & financier	AFAQAP	Prof. Dr. Jean-Pierre Bellocq , Hôpital d'Hautepierre 1, avenue Molière 67098 Strasbourg Cedex – France secretariat@afaqap.org
Selection & validation des échantillons	Institut Gustave Roussy	Dr. Etienne Rouleau, Gustave Roussy 114, rue Edouard-Vaillant 94805 Villejuif Cedex – France ETIENNE.ROULEAU@gustaveroussy.fr
Validation des échantillons	ULB-Hôpital Erasme	Prof. Dr. Salmon Dr Claude Van Campenhout, PhD ULB-Hôpital Erasme Hôpital de Jour - Service d'Anatomie Pathologique Route de Lennik 808. 1070 Bruxelles - Belgique
Programme ADN circulant	UFR de Médecine - Nantes	Prof. Dr. Marc Denis, UFR de Médecine - Nantes 1 rue Gaston Veil - BP 53508 44035 Nantes Cedex1 – France

Planning 2024

Programme	Envoi des échantillons	Fin du programme
Multiparamétrique	12 juillet 2024	27 septembre 2024
Méthode Ciblée		
Ovaire		
Fusion		
ADN circulant	24 septembre 2024	08 novembre 2024

- Libération des génotypes : **31 octobre 2024**
- Accès aux résultats individuels de génotypes : **27 janvier 2025**
- Fin de la période de recours pour génotypes : **28 février 2025**
- Accès aux résultats individuels d'interprétation : **11 mars 2025**
- Fin de la période de recours pour les interprétations : **11 avril 2025**
- Réunion de restitution : **18 mars 2025**

Description de la campagne 2024

Programmes	Echantillons	Gènes à analyser	Variants additionnels
Analyse multiparamétrique	24-Multi-1 - 10	<i>EGFR, KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA, KIT, MSI</i>	6 variants
Méthode ciblée par gène	24-EGFR-01 - 05	<i>EGFR</i>	-
	24-KRAS-01 - 05	<i>KRAS</i>	-
	24-NRAS-01 - 05	<i>NRAS</i>	-
	24-BRAF-01 - 05	<i>BRAF</i>	-
	24-MLH1-MSI-01 - 05	<i>MLH1</i>	-
	24-MLH1-MSI-01 - 05	MSI	-
Transcrits de Fusion - poumon	24-Fusion-01 - 04	<i>RET, ALK, ROS1, NTRK1/2/3</i>	-

Description de la campagne 2024

Programmes	Echantillons	Gènes à analyser	Variants additionnels
ADN circulant	24-cfDNA-01 - 04	<i>EGFR</i>	-
	24-cfDNA-05 - 06	<i>KRAS</i>	-
	24-cfDNA-07 -08	<i>NRAS, BRAF</i>	-
Ovaire	24-BRCA-01 - 06	<i>BRCA1, BRCA2, TP53, GIS</i>	6 variants
Qualité des données NGS	24-Multi-10	Analyse données BAM & VCF	
	24-BRCA-06		
Compte-Rendu	Evaluation d'un compte-rendu par participant		

PARTICIPATION 2024



gen&tiss

Évaluation Externe de la Qualité des examens moléculaires en génétique somatique

Evolution de la participation



Croissance de la participation



Evolution de la participation

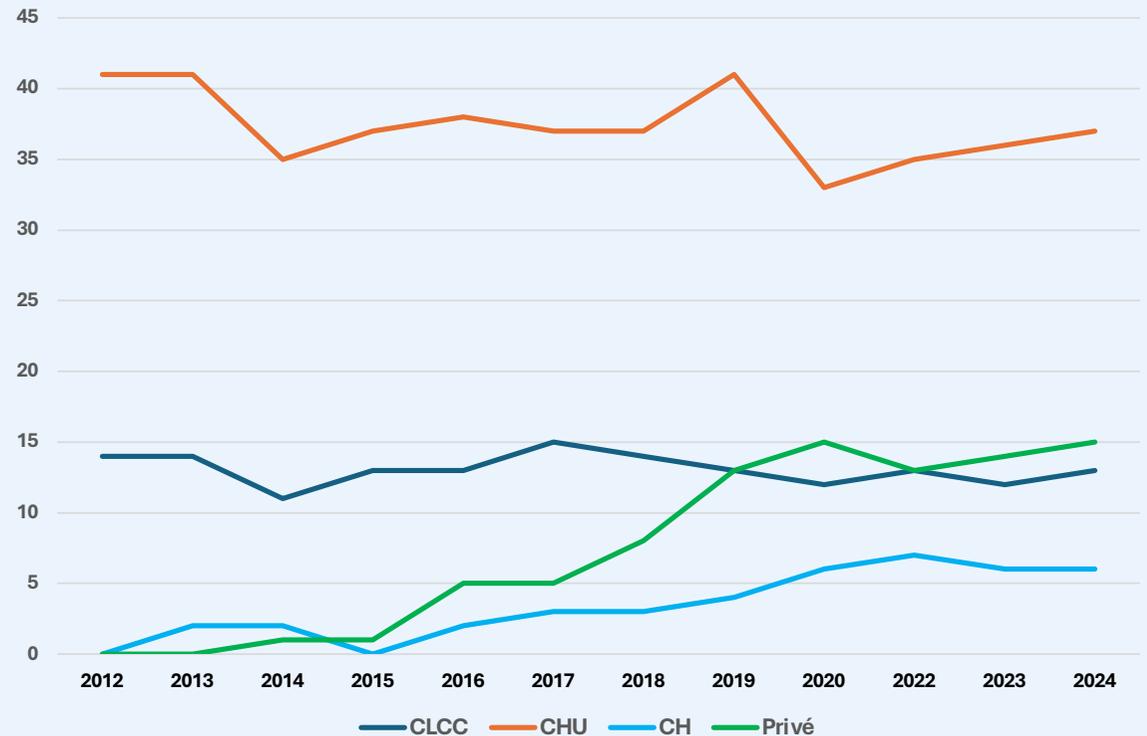
Tendances par type structure

- Participation en hausse pour les CH et laboratoires privés
- Participation stable pour les CLCC

Participation globale en légère hausse en 2024

Participation 2024 par type structure

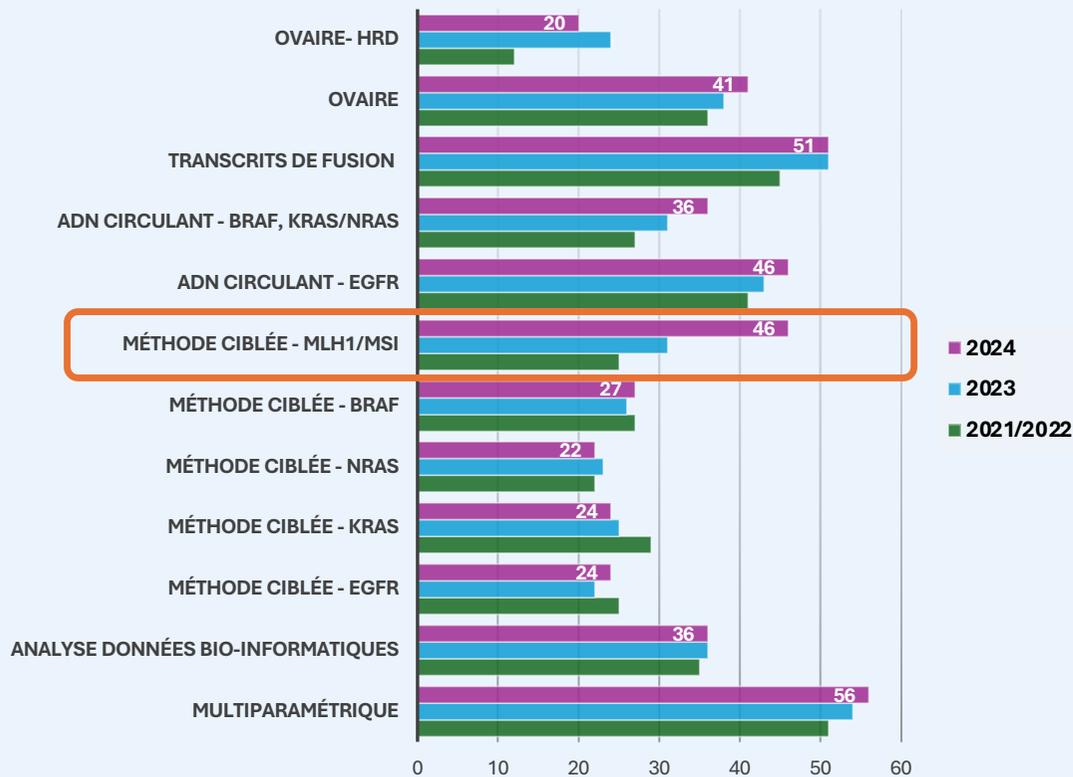
CHU	Privé	CLCC	CH
37	15	13	6



Participants inscrits en 2024 – par programme

Année	Comptes-rendus	Colon	Poumon	Mélanome	Ovaire	Ciblé	ADN circulant	Fusion
2024	61	56	56	56	41	56	46	51
2023	62	53	53	53	38	53	43	50
2021/2022	63	51	51	51	37	56	40	45
2020	63	52	52	52	29	45	40	33
2019	63	52	52	52	25	22	37	
2018	61	51	49	51	26	5	39	
2017	57	47	42	44	21	3	40	
2016	53	48	44	46	17	2		
2015	48	48	46	45				
2014	44	49	46					
2013	45	49	45					
2012	45	50	45					

Evolution de la participation par programme



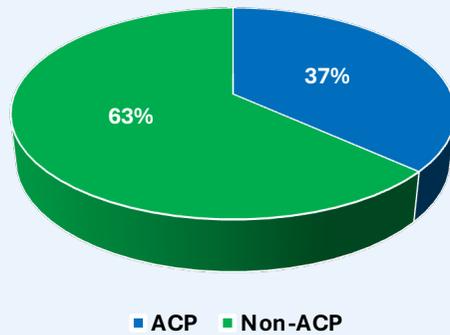
Croissance régulière au cours des 3 dernières années

➤ Quasi-totalité des programmes

Croissance la plus élevée:

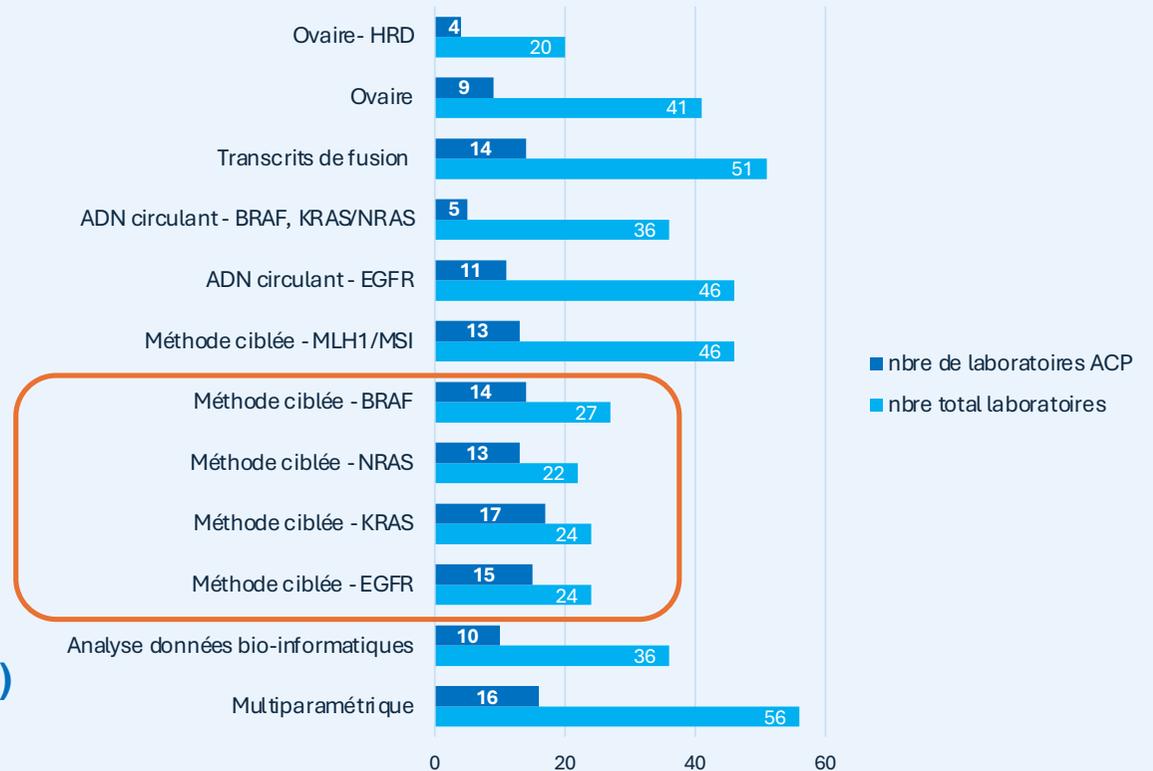
➤ Programme Ciblé MLH1/MSI

Répartition de la participation par type de structure



Nombre total laboratoires participants: **71**

Nombre laboratoires ACP participants: **26 (24+2)**



Participants inscrits en 2024 – par marqueur

	<i>EGFR</i>	<i>KRAS</i>	<i>NRAS</i>	<i>BRAF</i>	<i>PIK3CA</i>	<i>KIT</i>	<i>MSI</i>	<i>MLH1</i>	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>TP53</i>	<i>GIS</i>	<i>RET</i>	<i>ALK</i>	<i>ROS1</i>	<i>NTRK1/2/3</i>
Multi	56	56	56	56	52	49	30	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ciblé	24	24	22	27	–	–	46	46	–	–	–	–	–	–	–	–
Ovaire	–	–	–	–	–	–	–	–	41	41	41	20	–	–	–	–
ADNc	41	30	29	29	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Fusion	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	51	51	51	51

RESULTATS DE GENOTYPE



Principe de notation

- **Considéré comme SUCCES:**
 - À partir de 16/18 pour les échantillons du programme multiparamétrique
 - À partir de 9/10 pour les échantillons des programmes méthode ciblée, Ovaire, ADN tumoral circulant et Fusion.

Un résultat strictement en dessous de 89% est considéré comme un “**échec**”

- **Considérés comme EDUCATIF :** échantillons qui ne sont pas comptabilisés dans le score total de génotypage
 - 24-Multi-10
 - 24-BRCA-06 et 24-BRCA-04 pour l’analyse du gène *BRCA2*



Critères de notation

Score	Points	
a	Génotype correct	2
a*	Génotype correct, mais un VUS non détecté / rapporté	2
b	Génotype incorrect	0
c	Mutation non identifiée car non recherchée pour EGFR (exons 18, 19,20, 21), pour BRAF (exons 11,15), pour KRAS et NRAS (exons 2,3,4)	0
d	Un des deux mutations n'est pas identifiée	0
e	Mutation détectée, mais le changement de nucléotide est non décrit à cause de la technique utilisée – analyse de fragment, qPCR	2
f	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
g	Mutation détectée, mais erreur de mutation (erreur de codon)	0
h	Echantillon non contributif	0,5
i	Erreur d'écriture dans le tableau de génotypage	1
k	Absence de précision sur la mutation	1
l	La méthode ou la sensibilité ne permet pas la détection de la/des mutations	2

Critères de notation – nomenclature HGVS

Score		Points
x	Erreur non significative : petite erreur dans la nomenclature, des aberrations sans impact	Aucun retrait de points
y	Erreur significative : utilisation incorrecte de la nomenclature HGVS pour les changements de nucléotides ou d'acides aminés	- 0,5 point (une seule fois)
z	Génotype uniquement mentionné au niveau des acides aminés ou uniquement au niveau des nucléotides	- 0,5 point (une seule fois)

Exemples:

- **Score x:**
 - Parenthèses sur les changements d'acide aminé
 - Confusion avec un codon de termination: 'X' au niveau p.
- **Score y:**
 - *KRAS* Glu12Val au lieu de p.(Gly12Val)
 - Ancienne nomenclature
- **Score z:**
 - Pas de génotype sur niveau c. ou p.

Mélange de nomenclature ancienne avec nomenclature HGVS: aucun point déduit

Résultats globaux – Génotypes Programme Multiparamétrique

TEST	Nombre de participants ayant réussi (Echantillons 01-09)	% Succès	Score moyen	Score min	Score max	Nombre de participants ayant réussi Echantillon Educatif	% Succès Echantillon Educatif	Score moyen Echantillon Educatif
<i>EGFR</i>	53 (n=56)	95%	97 %	33%	100%	53 (n=56)	95%	95%
<i>KRAS</i>	56 (n=56)	100%	99%	89%	100%	56 (n=56)	100%	100%
<i>NRAS</i>	54 (n=56)	96%	99%	83%	100%	56 (n=56)	100%	100%
<i>BRAF</i>	55 (n=56)	98%	99%	86%	100%	55 (n=55)	100%	100%
<i>PIK3CA</i>	55 (n=56)	98%	99%	81%	100%	53 (n=55)	96%	96%
<i>KIT</i>	56 (n=56)	100%	100%	92%	100%	55 (n=55)	100%	100%
Instabilité des microsatellites	28 (n=30)	93%	99%	83%	100%	15 (n=21)	71%	73%

Génotypes attendus - Programme Multiparamétrique

Echantillon	Tissus	Cellularité	Statut <i>ERBB2</i>	Statut <i>PIK3CA</i>	Statut <i>KIT</i>	Statut Microsatellites	Autres génotypes
24-MULTI-01	Poumon	30%	WT	WT	WT	Stable	-
24-MULTI-02	Poumon	60%	WT	WT	WT	Stable	<i>TP53</i> :c.437G>A ; p.(Trp146Ter) Amplification de <i>MET</i>
24-MULTI-03	Poumon	20%	WT	WT	WT	Stable	-
24-MULTI-04	Côlon	40%	WT	c.1633G>A ; p.(Glu545Lys) FA : 15%	WT	Stable	-
24-MULTI-05	Côlon	50%	WT	WT	WT	Stable	<i>TP53</i> : c.743G>A, p.(Arg248Gln)

Génotypes attendus - Programme Multiparamétrique

Echantillon	Tissus	Cellularité	Statut <i>EGFR</i>	Statut <i>KRAS</i>	Statut <i>NRAS</i>	Statut <i>BRAF</i>
24-MULTI-01	Poumon	30%	c.2303_2305delinsTTT ; p.(Ser768_Val769delinsIleLeu) FA : 65%	WT	WT	WT
24-MULTI-02	Poumon	60%	WT	WT	c.181C>A ; p.(Gln61Lys) FA : 20%	c.1397G>T ; p.(Gly466Val) FA : 60%
24-MULTI-03	Poumon	20%	c.2335_2336delinsTT ; p.(Gly779Phe) FA : 20%	WT	WT	WT
24-MULTI-04	Côlon	40%	WT	c.30_35dup ; p.(Ala11_Gly12dup) FA : 15%	WT	WT
24-MULTI-05	Côlon	50%	WT	WT	WT	c.1799T>A p.(Val600Glu) FA : 25%

Génotypes attendus - Programme Multiparamétrique

Echantillon	Tissus	Cellularité	Statut <i>EGFR</i>	Statut <i>KRAS</i>	Statut <i>NRAS</i>	Statut <i>BRAF</i>
24-MULTI-06	Côlon	50%	WT	c.34G>A ; p.(Gly12Ser) FA : 35%	WT	WT
24-MULTI-07	Mélanome	50%	WT	WT	WT	WT
24-MULTI-08	Mélanome	30%	WT	WT	WT	c.1799T>A ; p.(Val600Glu) FA : 20%
24-MULTI-09	Mélanome	30%	WT	WT	c.181_182delinsTT ; p.(Gln61Leu) FA : 20%	WT
24-MULTI-10 *	Endomètre	30%	WT	WT	WT	WT

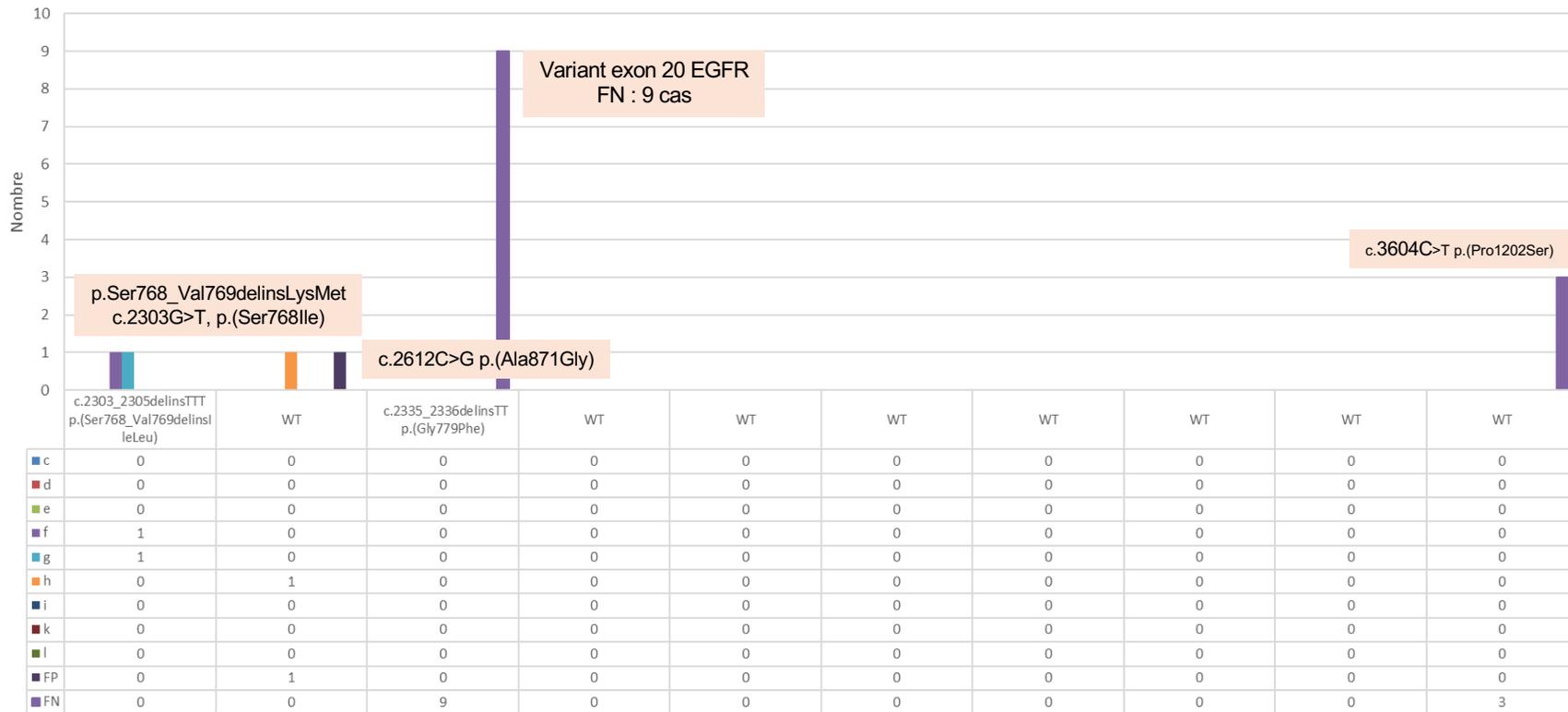
* Echantillon à but éducatif, ne participant au score global de Génotype

Génotypes attendus - Programme Multiparamétrique

Echantillon	Tissus	Cellularité	Statut <i>ERBB2</i>	Statut <i>PIK3CA</i>	Statut <i>KIT</i>	Statut Microsatellites	Autres génotypes
24-MULTI-06	Côlon	50%	WT	WT	WT	Stable	Amplification de <i>ERBB2</i>
24-MULTI-07	Mélanome	50%	WT	WT	WT	Stable	-
24-MULTI-08	Mélanome	30%	WT	WT	WT	Stable	-
24-MULTI-09	Mélanome	30%	WT	WT	WT	Stable	-
24-MULTI-10 *	Endomètre	30%	WT	c.1637A>C; p.(Gln546Pro) FA : 20%	WT	Instable	-

* Echantillon à but éducatif, ne participant au score global de Génotype

Résultats Multiparamétrique - EGFR



Échantillons:
 FP: 9
 FN: 1
 NC: 1

Educatif
 FP: 3
 FN: 0

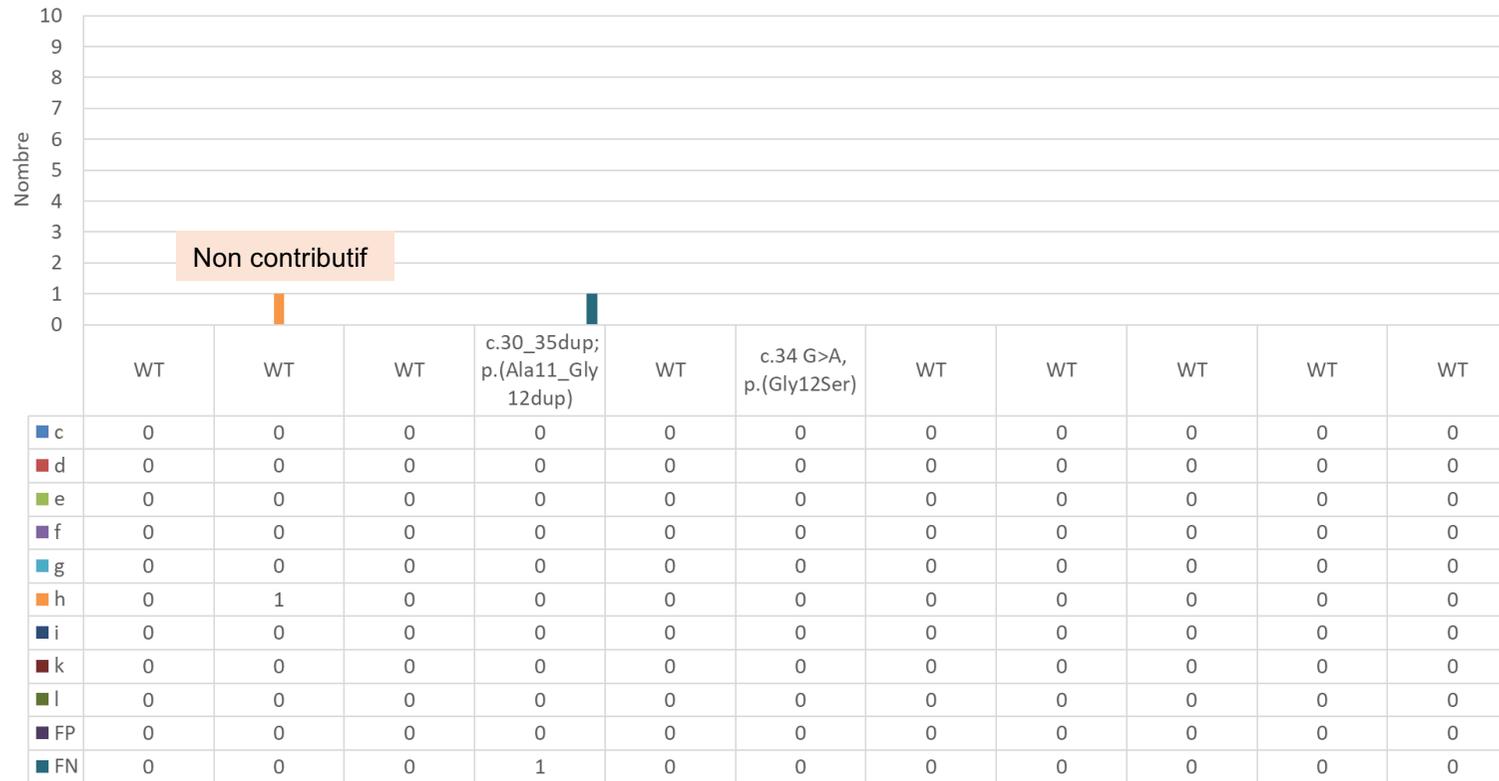
Résultats Multiparamétrique – *EGFR*

Description des Faux négatifs:

9 erreurs sur l'échantillon 24-EGFR-03:

- 4 *Oncomine Precision assay GX (Thermofisher)*
- 1 Non NGS
- 1 Agilent
- 1 Maison Fluidigm
- 1 CTL Variant plex

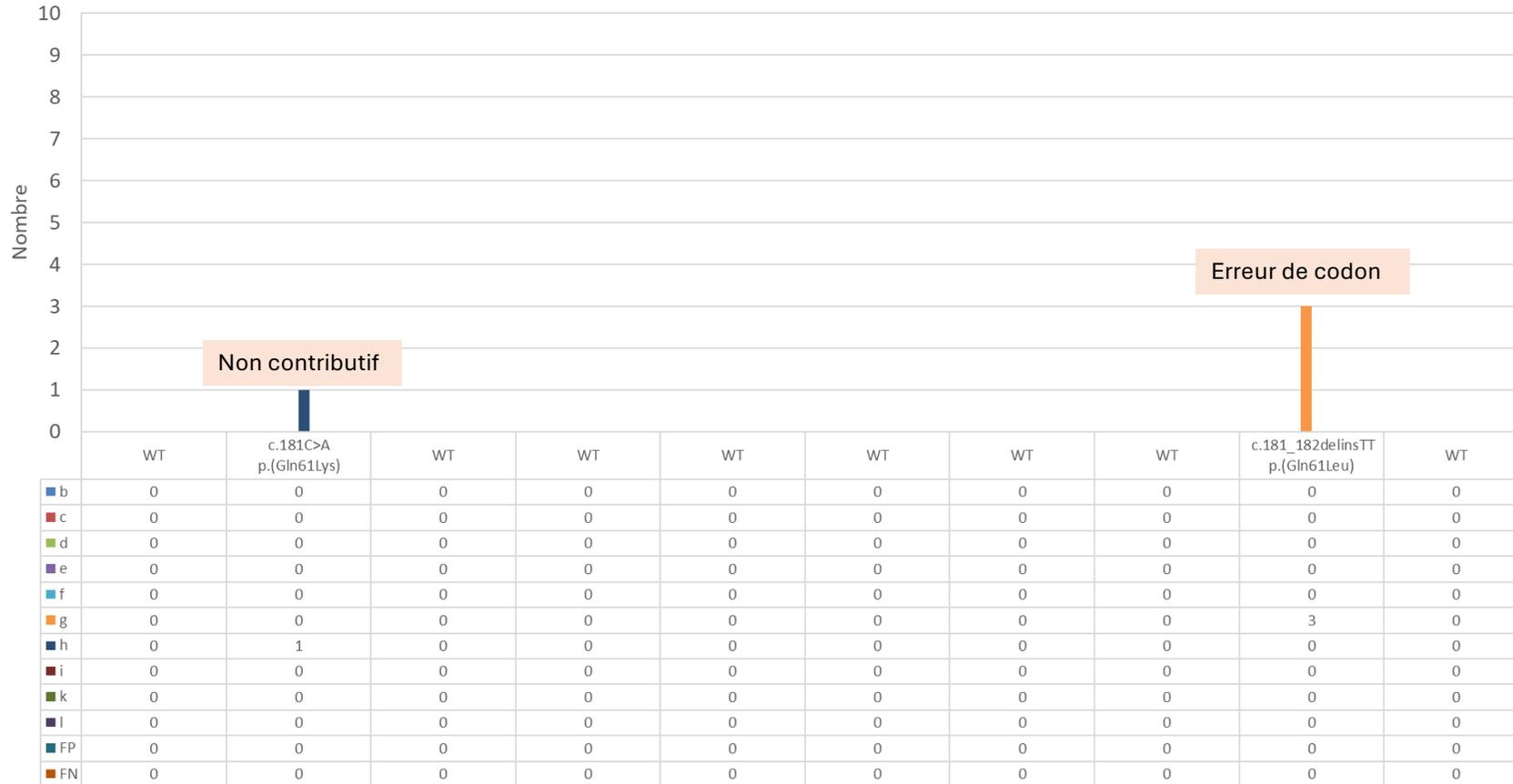
Résultats Multiparamétrique - KRAS



Echantillons:
 FP: 0
 FN: 1
 NC: 1

Educatif
 FP: 0
 FN: 0

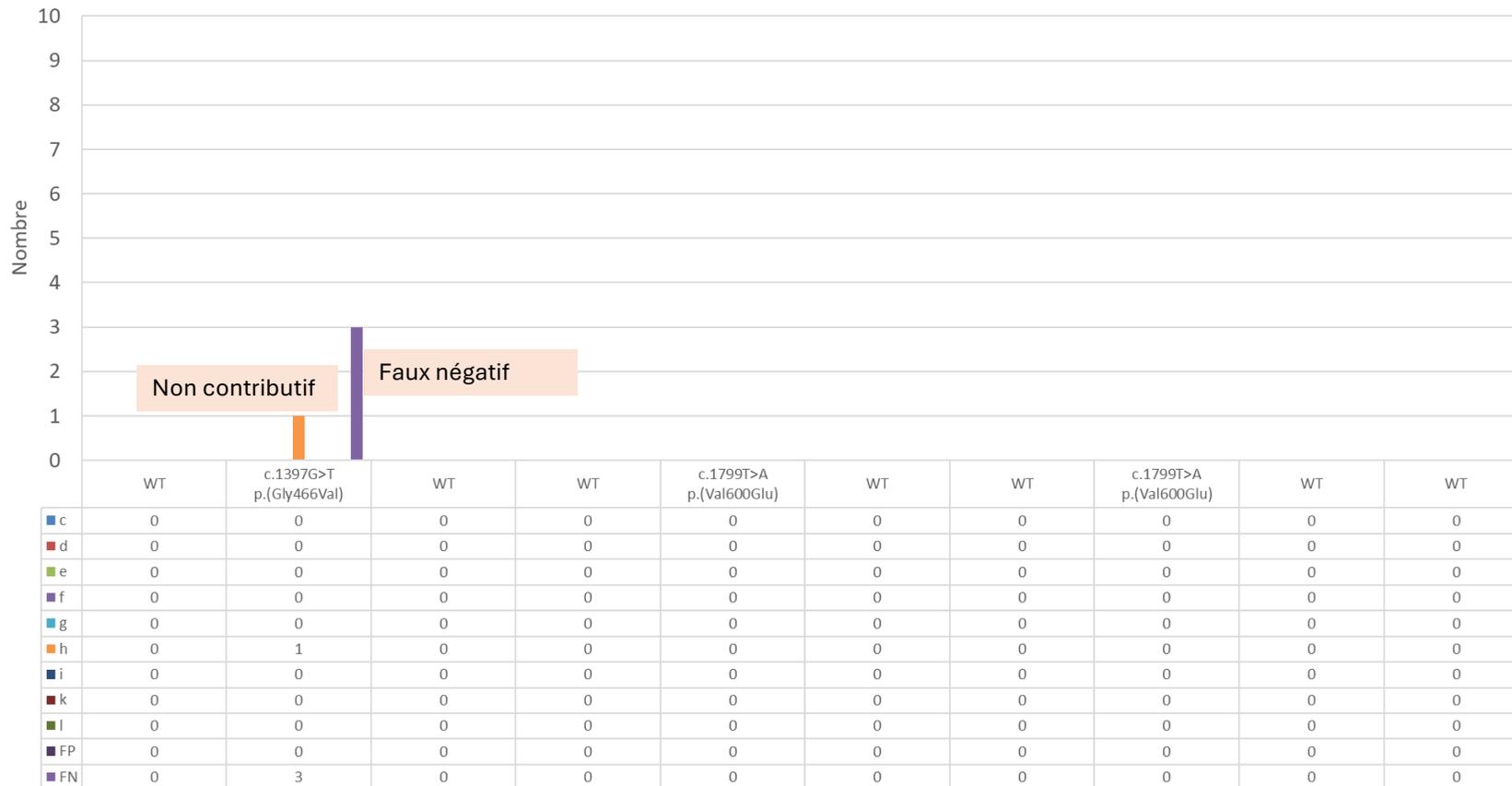
Résultats Multiparamétrique - NRAS



Echantillons:
 FP: 0
 FN: 0
 NC: 1

Educatif
 FP: 0
 FN: 0

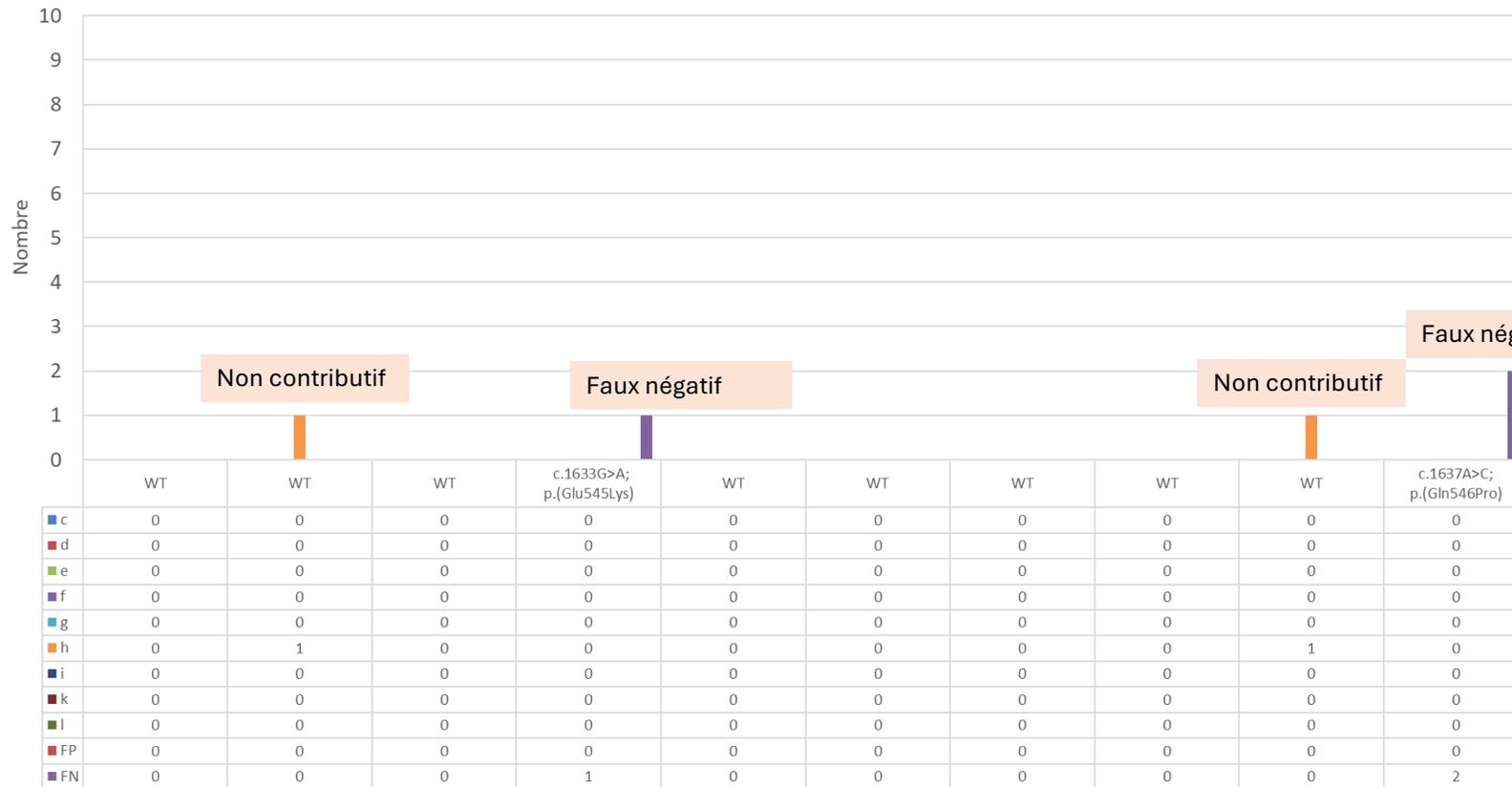
Résultats Multiparamétrique - BRAF



Echantillons:
 FP: 0
 FN: 3
 NC: 1

Educatif
 FP: 0
 FN: 0

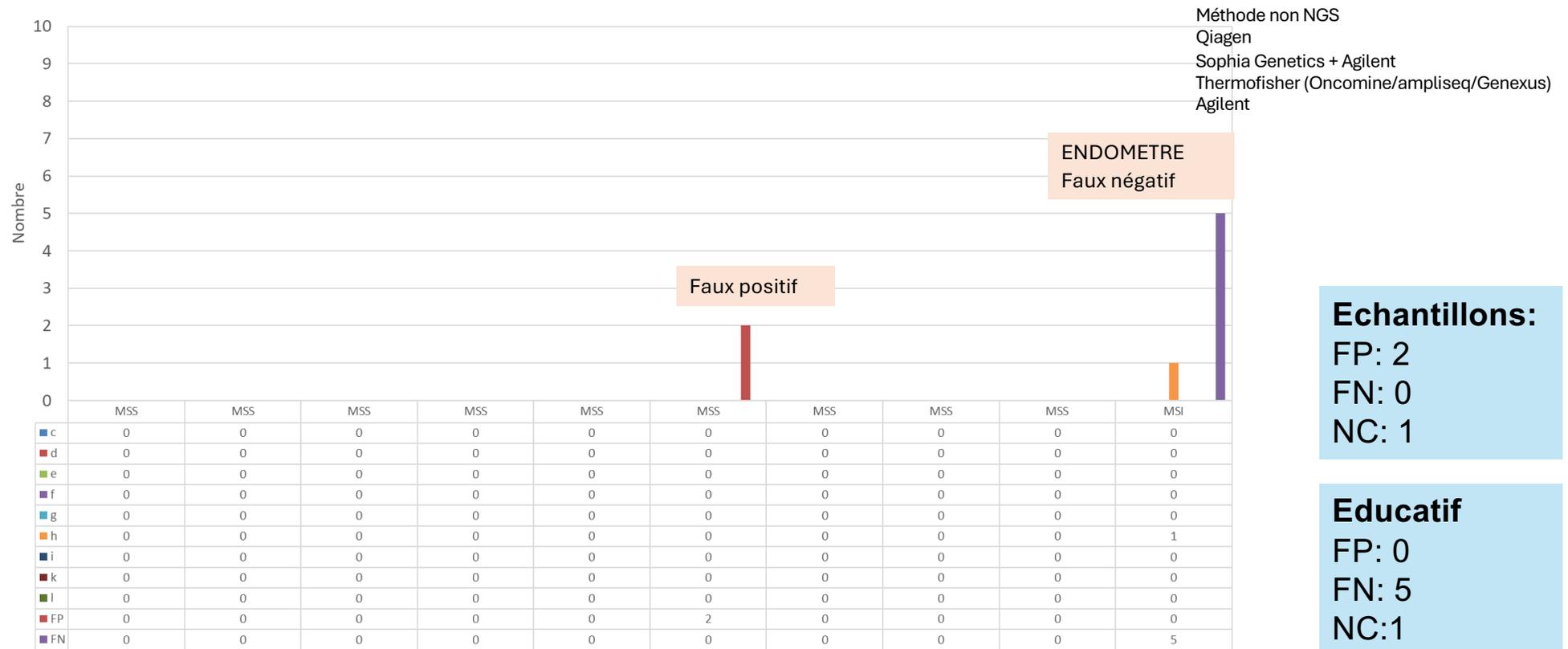
Résultats Multiparamétrique – PIK3CA



Echantillons:
 FP: 0
 FN: 1
 NC: 2

Educatif
 FP: 0
 FN: 2

Résultats Multiparamétrique – MSI



Conclusion - Génotypes Programme Multiparamétrique

Pour un total de **3101 analyses**:

Echecs 2024	Echecs 2023
11 EGFR (1 NC, 1 FN, 9 FP)	1 EGFR (1 NC)
2 KRAS (1 FN, 1 NC)	2 KRAS (1 FP, 1 NC)
1 NRAS (1 NC)	2 NRAS (1 FP, 1 NC)
4 BRAF (3 FN, 1 NC)	3 BRAF (1 FP, 1 FN, 1 NC)
5 PIK3CA (1 FN, 2NC)	32 PIK3CA (4 FP, 24 FN, 4 NC)
1 KIT (1 NC)	2 KIT (2 FP)
6 MSI (2 FP, 1 NC)	10 MSI (10 NC)

Taux d'erreur : 30/3101= 0,97%

Références:

Taux d'erreur 2023: 2,2%

Taux d'erreur 2021/2022: 0,77%

Taux d'erreur 2020: 0,58%

Nomenclature

9 participants avec des erreurs non significatives

Résultats globaux - Génotypes Programme Méthode ciblée

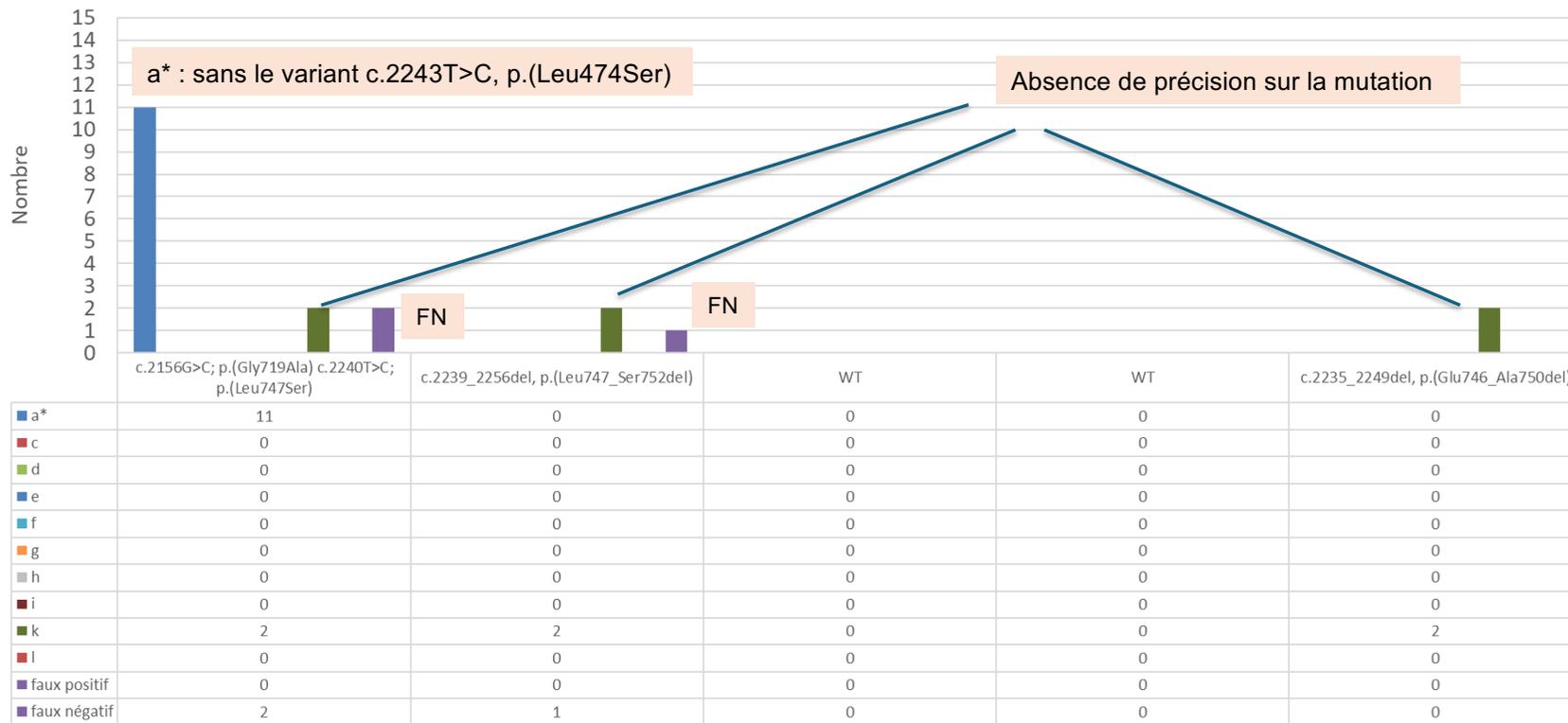
TEST	Nombre de participants ayant réussi	% Succès	Score moyen	Score min	Score max
<i>EGFR</i>	17 (n=22)	77%	93 %	60%	100%
<i>KRAS</i>	16 (n=22)	73%	88%	15%	100%
<i>NRAS</i>	15 (n=21)	71%	91%	60%	100%
<i>BRAF</i>	20 (n=23)	87%	95%	70%	100%
<i>MLH1</i>	32 (n=35)	91%	95%	25%	100%
Instabilité des microsatellites	43 (n=44)	98%	99,5%	80%	100%

À vérifier

Génotypes attendus - Programme Méthode ciblée - *EGFR*

Echantillon	Tissus	Cellularité	Statut <i>EGFR</i>
24-EGFR-01	Poumon	20%	c.2156G>C ; p.(Gly719Ala) c.2240T>C ; p.(Leu747Ser)* FA : 10%
24-EGFR-02	Poumon	50%	c.2239_2256del ; p.(Leu747_Ser752del) FA : 10%
24-EGFR-03	Poumon	50%	WT
24-EGFR-04	Poumon	50%	WT [Amplification EGFR]
24-EGFR-05	Poumon	20%	c.2235_2249del ; p.(Glu746_Ala750del) FA : 30%

Programme Méthode ciblée - EGFR

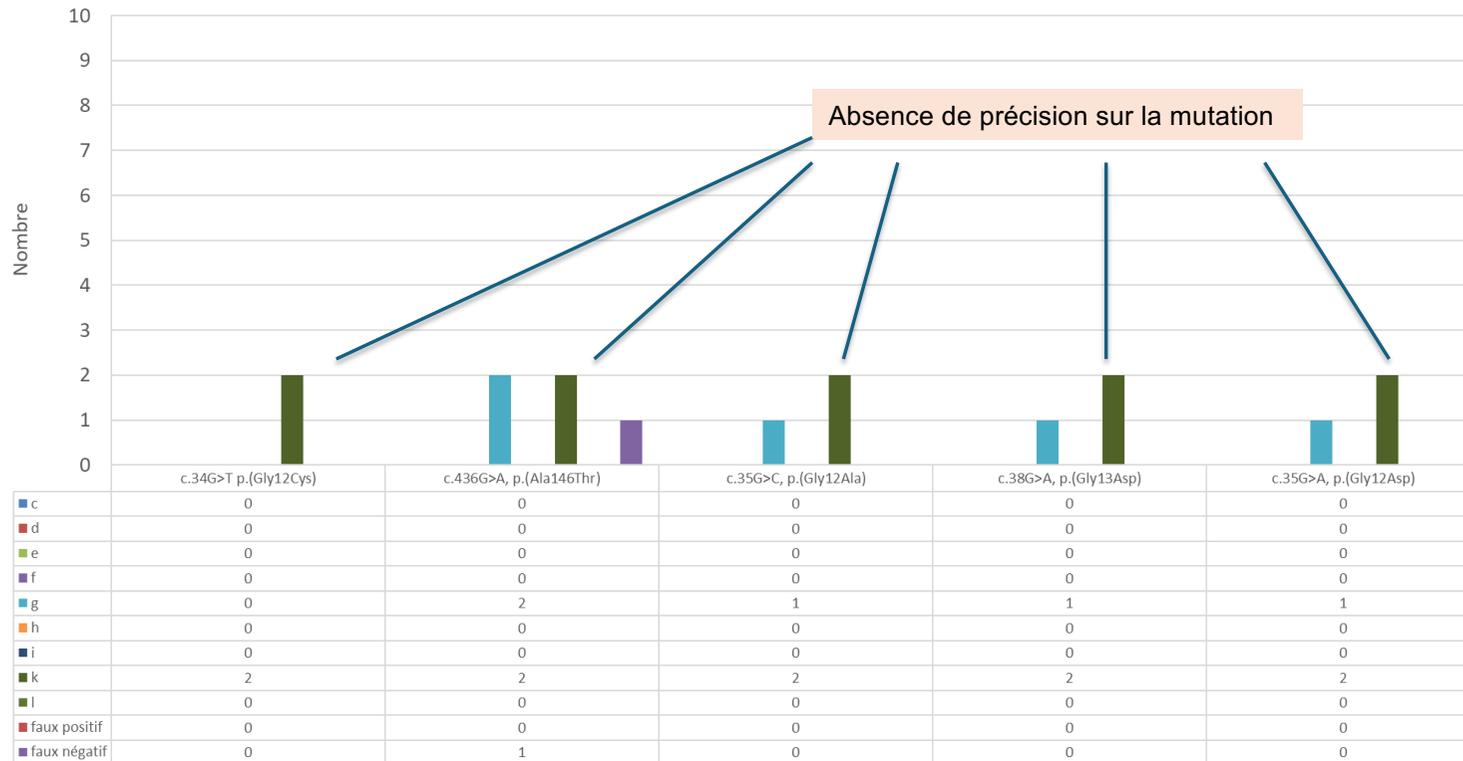


Echantillons:
 FP: 0
 FN: 3
 NC: 0

Génotypes attendus - Programme Méthode ciblée - *KRAS*

Echantillon	Tissus	Cellularité	Statut <i>KRAS</i>
24-KRAS-01	Poumon	40%	c.34G>T ; p.(Gly12Cys) FA : 20%
24-KRAS-02	Côlon	50%	c.436G>A ; p.(Ala146Thr) FA : 40%
24-KRAS-03	Côlon	20%	c.35G>C ; p.(Gly12Ala) FA : 15%
24-KRAS-04	Côlon	60%	c.38G>A ; p.(Gly13Asp) FA : 60%
24-KRAS-05	Poumon	10%	c.35G>A ; p.(Gly12Asp) FA : 10%

Programme Méthode ciblée - KRAS

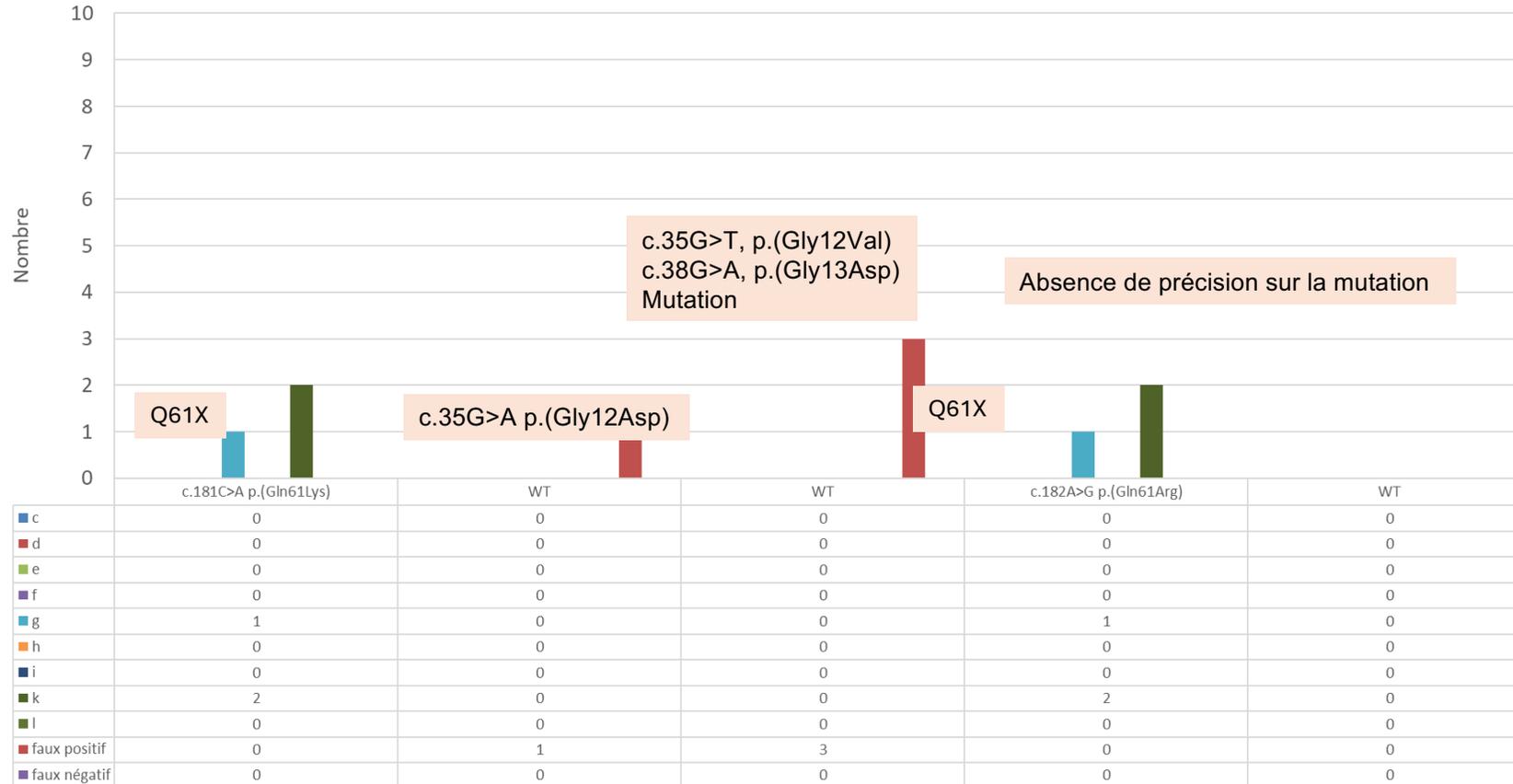


Echantillons:
 FP: 0
 FN: 1
 NC: 0

Génotypes attendus - Programme Méthode ciblée - *NRAS*

Echantillon	Tissus	Cellularité	Statut <i>NRAS</i>
24-NRAS-01	Poumon	50%	c.181C>A ; p.(Gln61Lys) FA : 15%
24-NRAS-02	Côlon	60%	WT
24-NRAS-03	Poumon	20%	WT
24-NRAS-04	Mélanome	60%	c.182A>G ; p.(Gln61Arg) FA : 35%
24-NRAS-05	Côlon	25%	WT

Programme Méthode ciblée - *NRAS*

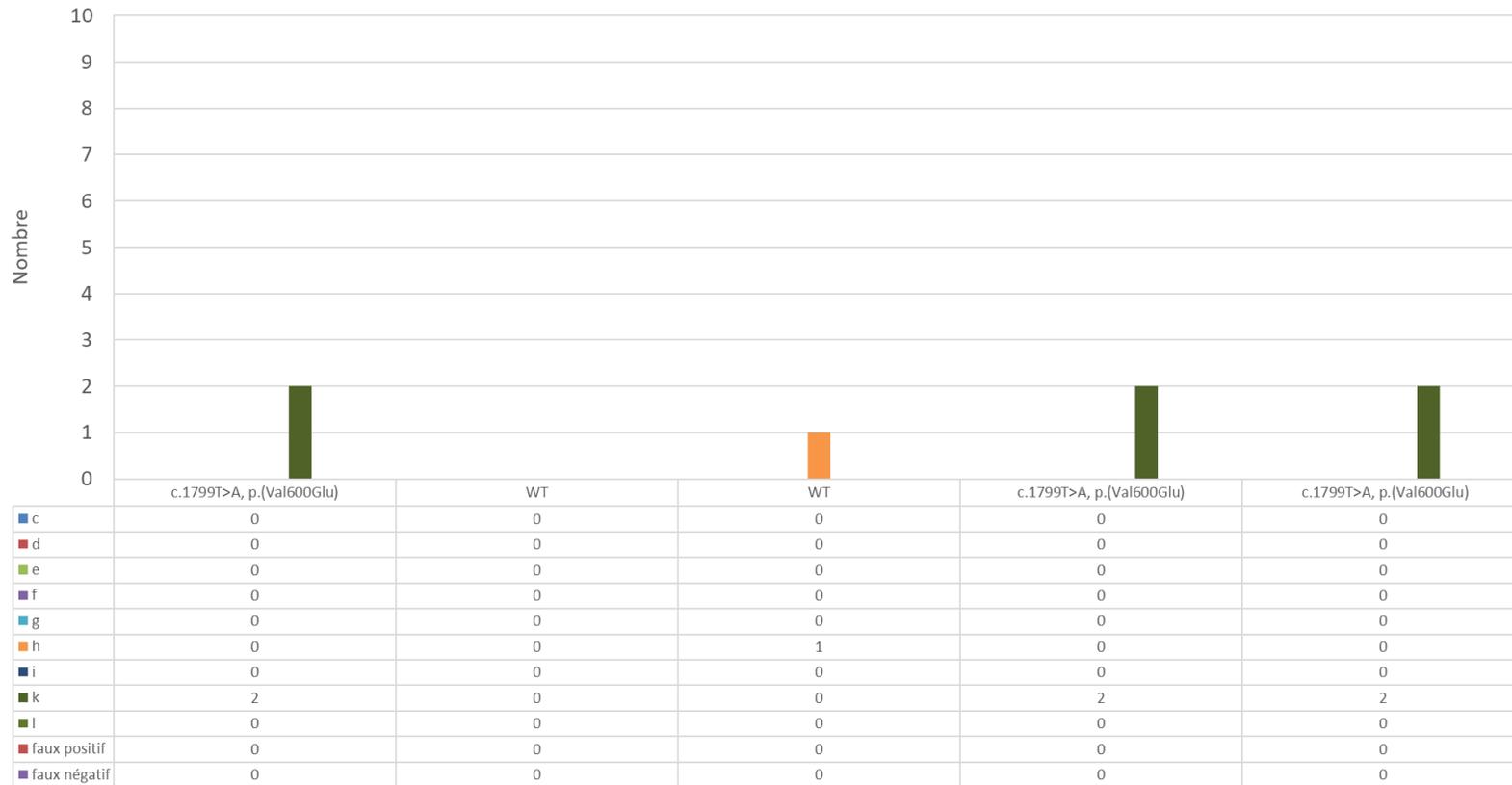


Echantillons:
 FP: 4
 FN: 0
 NC: 0

Génotypes attendus - Programme Méthode ciblée - *BRAF*

Echantillon	Tissus	Cellularité	Statut <i>BRAF</i>
24-BRAF-01	Côlon	30%	c.1799T>A ; p.(Val600Glu) FA : 15%
24-BRAF-02	Poumon	50%	WT
24-BRAF-03	Poumon	10%	WT
24-BRAF-04	Poumon	30%	c.1799T>A ; p.(Val600Glu) FA : 25%
24-BRAF-05	Mélanome	30%	c.1799T>A, p.(Val600Glu) FA : 30%

Programme Méthode ciblée - *BRAF*

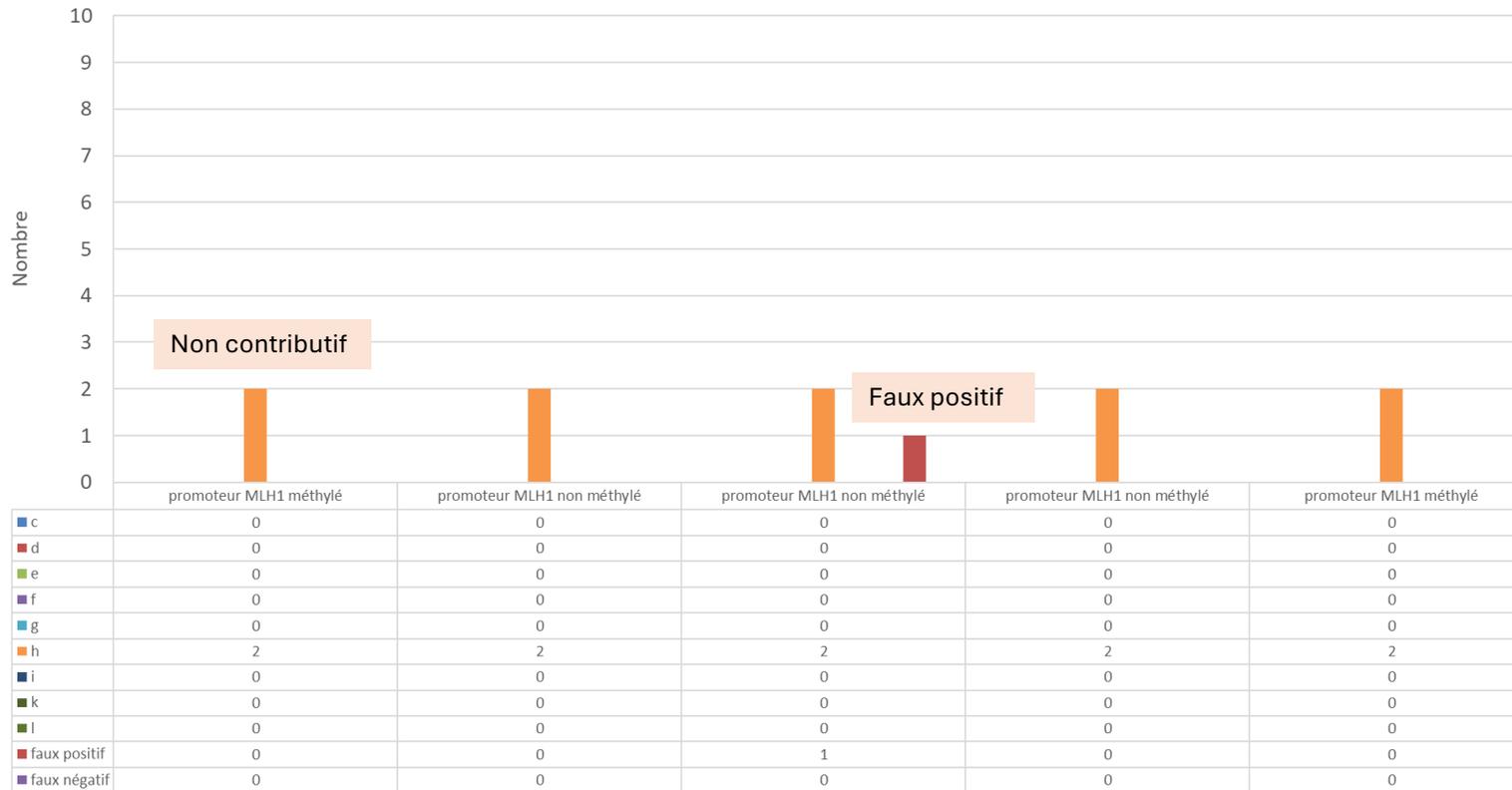


Echantillons:
 FP: 0
 FN: 0
 NC: 0

Génotypes attendus - Programme Méthode ciblée – MSI et méthylation *MLH1*

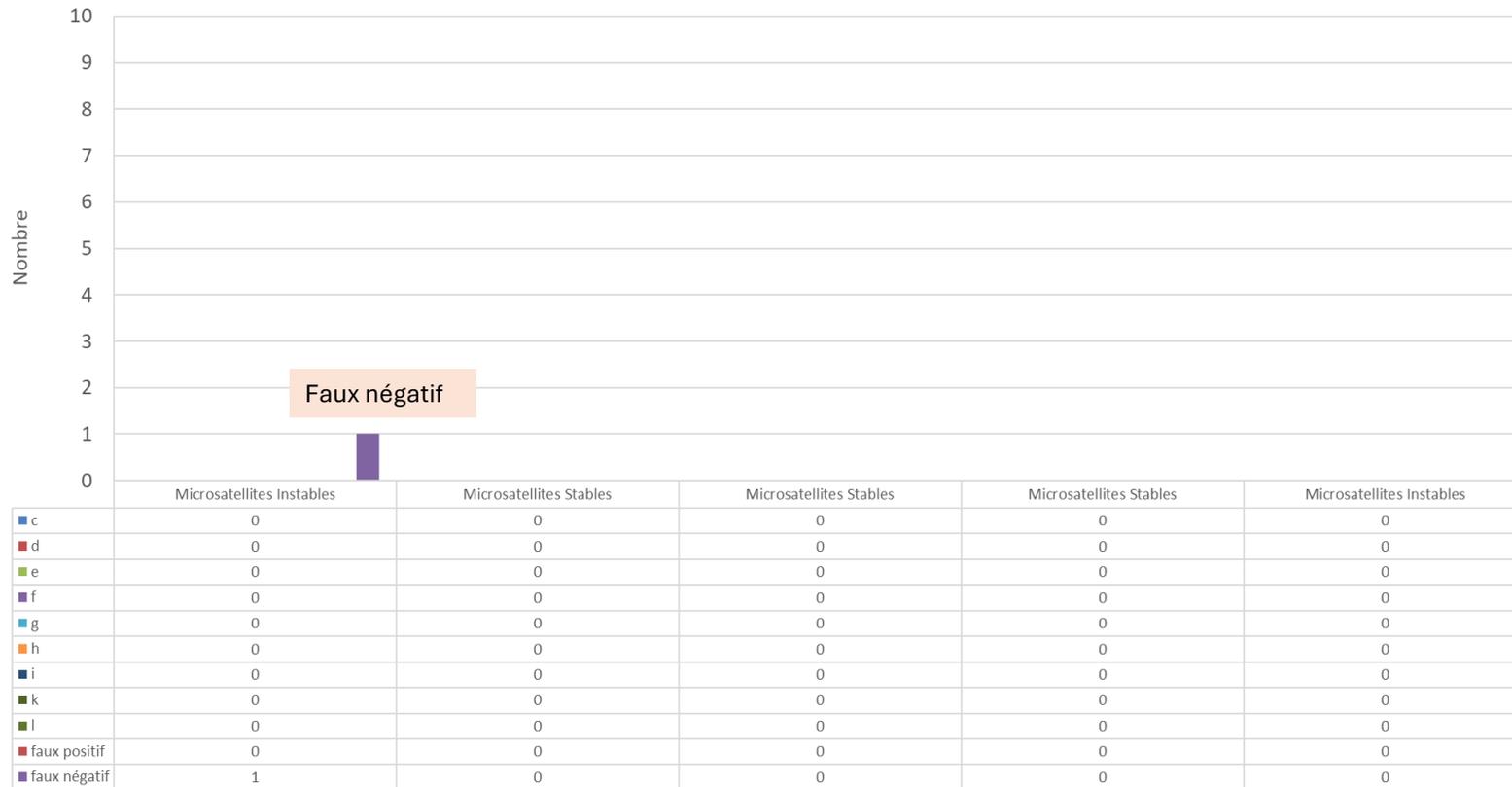
Echantillon	Tissus	Cellularité	Statut <i>MLH1</i>	Statut Microsatellites
24-MLH1/MSI-01	Endomètre	40%	Méthylé	Instable
24-MLH1/MSI-02	Côlon	40%	Non méthylé	Stable
24-MLH1/MSI-03	Côlon	50%	Non méthylé	Stable
24-MLH1/MSI-04	Poumon	80%	Non méthylé	Stable
24-MLH1/MSI-05	Endomètre	30%	Méthylé	Instable

Programme Méthode ciblée –méthylation *MLH1*



Echantillons:
 FP: 1
 FN: 0
 NC: 10

Programme Méthode ciblée – MSI



Echantillons:
 FP: 0
 FN: 1
 NC: 0

Conclusion - Génotypes Programme Méthode ciblée

Pour un total de **835 analyses**

Echecs 2024	Echecs 2023
3 EGFR (3 FN)	3 EGFR (1 FN, 2 FP)
1 KRAS (1 FN)	2 KRAS (1 FN, 1 FP)
4 NRAS (4 FP)	0 NRAS
0 BRAF (0)	6 BRAF (2 FN, 3 FP, 1 NC)
1 MSI(1 FN)	2 MSI (2 NC)
1 MLH1 (1 FP) + 10 NC?	6 MLH1 (1 FP, 5NC)

**Taux d'erreur : $10/835= 1,2\%$
 $20/835= 2,4\%$**

Taux d'erreur 2023 : 2,2%
Taux d'erreur 2021/2022: 2,6%
Taux d'erreur 2020: 1,7%

Résultats globaux - Génotypes Programme Ovaire

TEST	Nombre de participants ayant réussi (Echantillons 01-05)	% Succès	Score moyen	Score min	Score max	Nombre de participants ayant réussi Echantillon Educatif	% Succès Echantillon Educatif	Score moyen Echantillon Educatif
<i>BRCA1</i>	31 (n=37)	84%	96%	65%	100%	6 (n=37)	16%	27%
<i>BRCA2</i>	29 (n=37)	78%	95%	56%	100%	5 (n=37)	14%	56%
<i>TP53</i>	24 (n=30)	80%	94%	45%	100%	29 (n=30)	97%	98%
<i>GIS</i>	14 (n=20)	70%	90%	31%	100%	18 (n=19)	95%	96%

Génotypes attendus - Programme Ovaire

Echantillon	Cellularité	Statut <i>BRCA1</i>	Statut <i>BRCA2</i>	Statut <i>TP53</i>	Score <i>GIS</i>	Autres génotypes
24-BRCA-01	60%	c.181T>G ; p.(Cys61Gly) FA : 70%	WT	c.821T>C ; p.(Val274Ala) FA : 30%	Positif	WT
24-BRCA-02	30%	WT	WT	c.659A>G ; p.(Tyr220Cys) FA : 60%	Négatif	Amplification <i>CCNE1</i>
24-BRCA-03	70%	WT	WT	c.1024C>T ; p.(Arg342*) FA : 50%	Positif	<i>PPP2R1A</i> : c.1350G>A, p.(Trp450Ter) <i>RAD51C</i> : c.1026+5_1026+7del

Génotypes attendus - Génotypes Programme Ovaire

Echantillon	Cellularité	Statut <i>BRCA1</i>	Statut <i>BRCA-2</i>	Statut <i>TP53</i>	Score GIS	Autres génotypes
24-BRCA-04	50%	WT	Del Exon 16	c.833del ; p.(Pro278Leufs*67) FA : 50%	Positif	WT
24-BRCA-05	50%	c.3018_3021del ; p.(His1006Glnfs*17) FA : 70%	WT	c.574C>T ; p.(Gln192*) FA : 35%	Positif	<i>FANCA</i> , c.3551G>C, p.(Arg1184Pro)
24-BRCA-06 *	50%	Del Exon14	[c.9976A>T ; p.(Lys3326Ter)] *	c.856G>A ; p.(Glu286Lys) FA : 70%	Positif	WT

* Variant neutre/polymorphisme

* Echantillon à but éducatif, ne participant pas au score global de Génotype

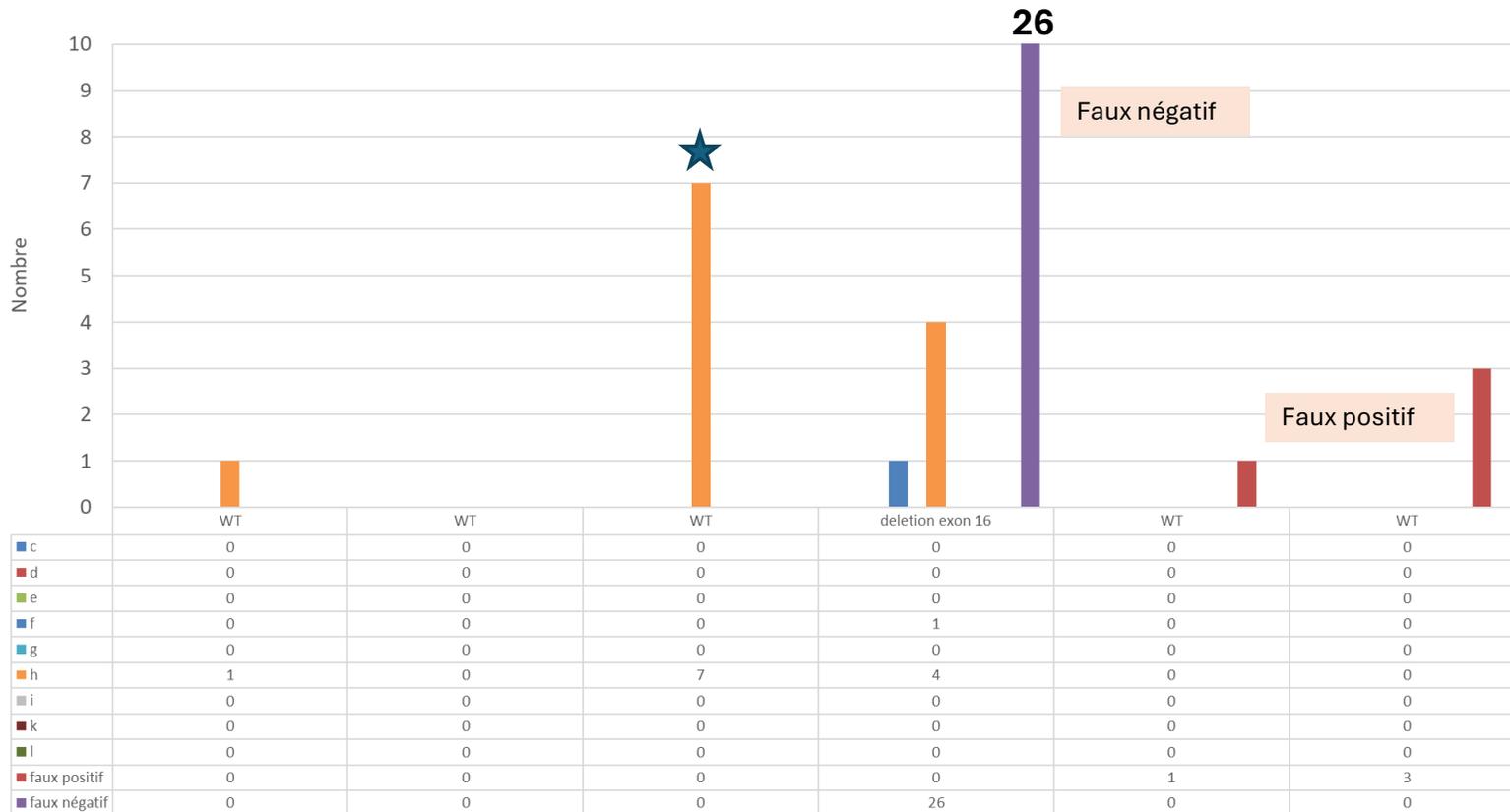
Résultats Programme Ovaire – BRCA1



Echantillons:
 FP: 0
 FN: 1
 NC: 8

Educatif
 FP: 0
 FN: 26

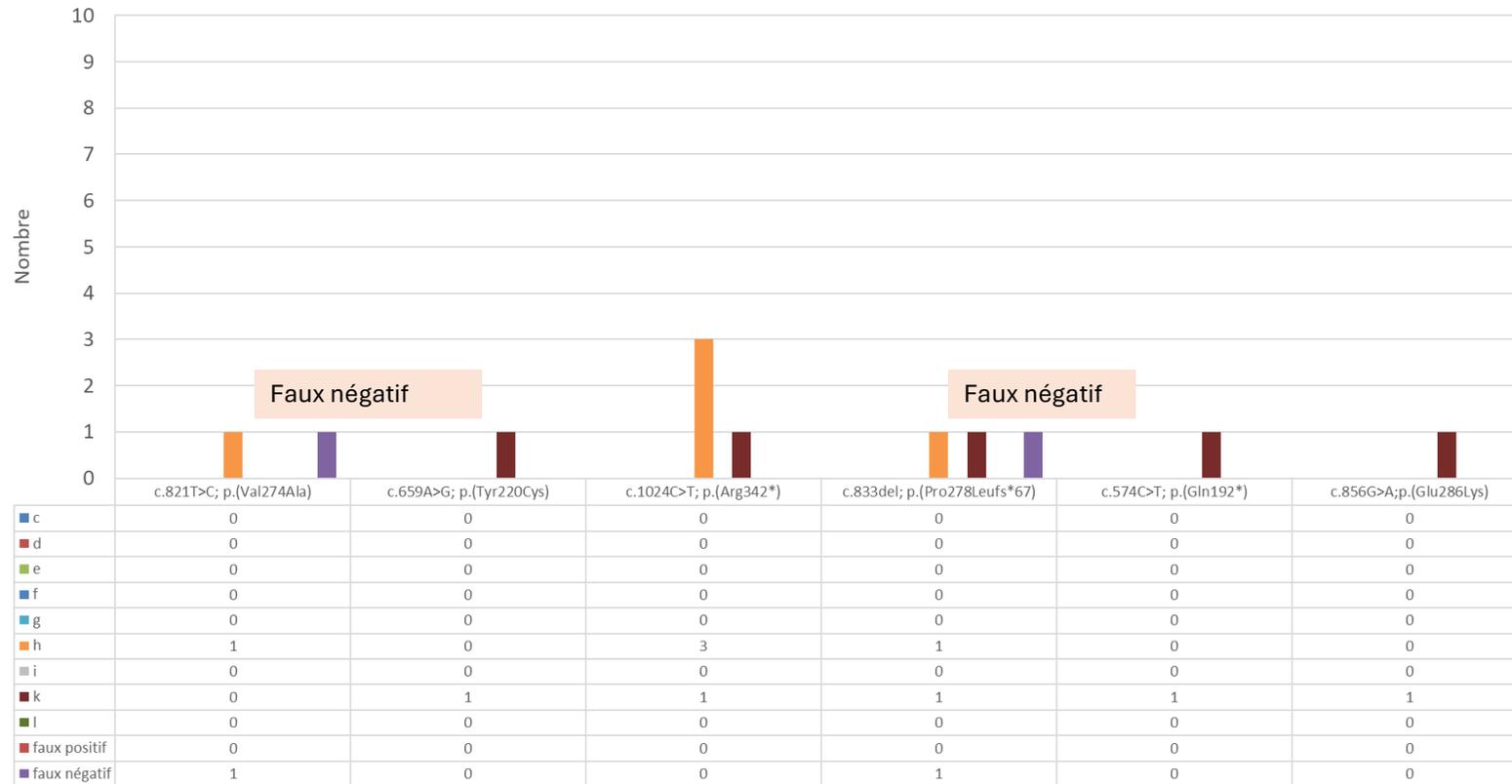
Résultats Programme Ovaire – BRCA2



Echantillons:
 FP: 1
 FN: 1
 NC: 12

Educatif
 FP: 3
 FN: 0

Résultats Programme Ovaire – TP53



Echantillons:
 FP: 0
 FN: 2
 NC: 5

Educatif
 FP: 0
 FN: 0

Résultats Programme Ovaire – GIS



Echantillons:
 FP: 0
 FN: 5
 NC: 5

Educatif
 FP: 10 (8)
 FN: 0

Discussion sur les résultats GIS

• Discordance du cas BRCA-2

GIS NEGATIF	POSITIF
SNParray	Sophia Genetics
SeqOne	Sophia Genetics
sWGS Curie	EXTERNE
Sophia Genetics	Sophia Genetics
EXTERNE	Giscar
sWGS Curie	Autre :: sWGS
sWGS Curie	EXTERNE
TSO500	Sophia Genetics
	SeqOne
	Sophia Genetics
	Sophia Genetics

• Résultats « Faux négatifs »

- Total de 5 résultats « Faux négatifs »
 - 3 pour échantillon 24-BRCA-01
 - 2 pour échantillon 24-BRCA-04
- Analysés sur:
 - Seqone: 2
 - Sophia Genetics: 1
 - Externe: 2

Grands réarrangements

14 participants ont détecté au moins un des RGT

Technique	Kit	Séquenceur	RGT ?
Sophia	SOPHiA Homologous Recombination Deficiency Solution (IVD)	NovaSeq (Illumina)	Autre :: Bioinfo + MLPA ou FISH ou EXOME
Sophia	HRS_sophiagenetics	MiSeq (Illumina)	Analyse bio-informatique
Sophia	Panel in house de 96 gènes (Sophia Genetics)	NextSeq (Illumina)	Analyse bio-informatique
Sophia	Sophia Genetics Panel GREAT	MiSeq (Illumina)	Analyse bio-informatique
Roche	Panel maison sondes Roche	NextSeq (Illumina)	Non
Roche	Roche	NextSeq (Illumina)	MLPA
Oncomine/Ampliseq	Ion AmpliSeq BRCA1 and BRCA2 Panel (RUO-IVD)	Ion S5 system (Life Technologies)	Non
Oncomine/Ampliseq	Oncomine BRCA Assay GX	Genexus	Autre :: NGS
Oncomine/Ampliseq	Ion AmpliSeq BRCA1 and BRCA2 Panel (RUO-IVD)	Ion S5 system (Life Technologies)	Analyse bio-informatique
Illumina	TSO500 HRD	NextSeqDx500	Non
Agilent	Sureselect XT HS	NextSeq (Illumina)	Non
Agilent	Autre :: Custom panel	NextSeq 1000	Non
Agilent	Agilent XT HS	NextSeq (Illumina)	Autre :: en cours
Agilent	Agilent XT HS	NextSeq (Illumina)	Analyse bio-informatique

Conclusion - Génotypes Programme Ovaire

Pour un total de :

- 483 analyses (BRCA1/2+TP53)
- 333 analyses (BRCA1/2)
- 74 analyses GIS

Taux d'erreur programme Ovaire : $30/483 = 6\%$
Taux d'erreur BRCA1/2 uniquement : $23/333 = 6,9\%$
Taux d'erreur GIS: $10/74 = 13,5\%$

Echecs 2024	Echecs 2023
9 BRCA1 (1 FN, 2(NC))	3 BRCA1 (1 FP, 2 NC)
14 BRCA2 (1 FP, 1 FN, 12 NC)	5 BRCA2 (3 FN, 2 NC)
7 TP53 (2 FN, 5 NC)	0 TP53 (3 FP inversion)
10 GIS (5 FN, 5 NC)	16 GIS (5 FP, 7 FN, 4 NC)

Références:

Taux d'erreur programme 2023: 1,6%
Taux d'erreur 2023 -BRCA1/2 uniquement: 2,2%
Taux d'erreur 2023 -GIS: $16/95 = 16,8\%$

Taux d'erreur programme 2022: 3,8%
Taux d'erreur 2022 -BRCA1/2 uniquement: 1,6%

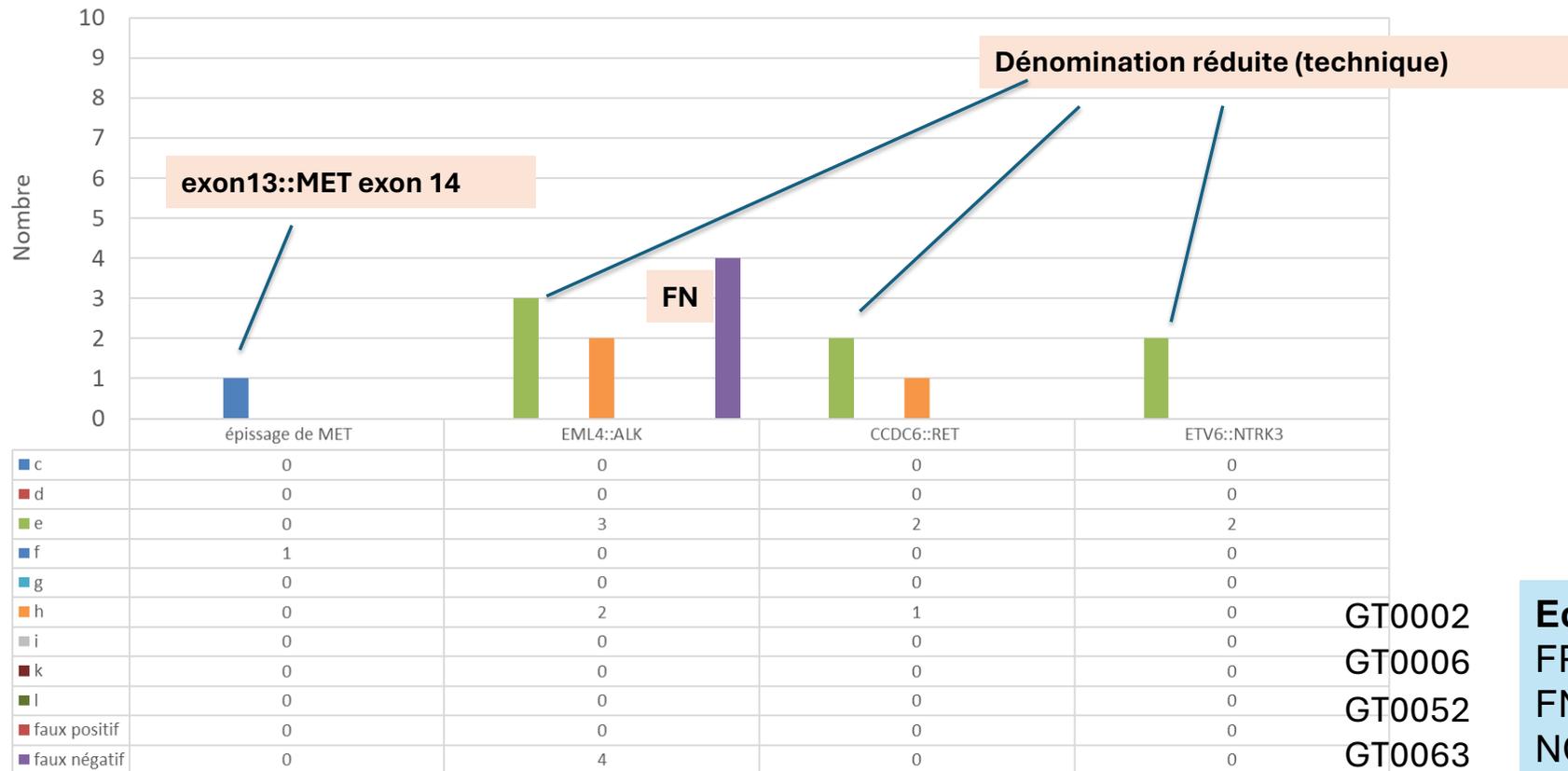
Résultats globaux - Génotypes Programme Fusion

TEST	Nombre de participants ayant réussi	% Succès	Score moyen
<i>MET</i>	44 (n=49)	88%	91 %
<i>ALK</i>			
<i>RET</i>			
<i>NTRK1/2/3</i>			
<i>ROS</i>			

Génotypes attendus - Programme Fusion

Echantillon	Tissus	Cellularité	Statut <i>ALK</i>	Statut <i>ROS</i>	Statut <i>NTRK1/2/3</i>	Statut <i>RET</i>	Statut <i>MET</i>
24-FUSION-01	Poumon	20%	WT	WT	WT	WT	épissage de l'exon 14
24-FUSION-02	Poumon	30%	<i>EML4::ALK</i>	WT	WT	WT	WT
24-FUSION-03	Thyroïde	50%	WT	WT	WT	<i>CCDC6::RET</i>	WT
24-FUSION-04	Poumon	80%	WT	WT	<i>ETV6::NTRK3</i>	WT	WT

Résultats Programme Fusion



Echantillons:
 FP: 0
 FN: 4
 NC: 3

Faux négatif EML4::ALK

- Vérification des méthodes

GT0002	Maxwell	ArcherDx	MiSeqDx (Illumina)	ArcherDx
GT0006	Maxwell	Agilent	NextSeq 550 (Illumina)	SeqOne
GT0052	Maxwell	ArcherDx	MiniSeq (Illumina)	ArcherDx
GT0063	Maxwell	SophiaGenetic	MiSeq (Illumina)	Sophia Genetics

- Niveau de coupe

GT0002	24
GT0023	25
GT0044	26
GT0037	27
GT0063	28
GT0017	30
GT0047	31
GT0054	32
GT0019	33
GT0026	34
GT0006	36
GT0052	37
GT0043	38
GT0050	39
GT0053	40

Conclusion - Génotypes Programme Fusion

	2024	2023	2022
Nombre d'erreurs	4 (4 FN)	5 (1 FN, 4 NC)	8 (4 FN, 4 NC)
Nombre d'analyses	196	200	182
Taux erreur	2%	2,5%	4,4%

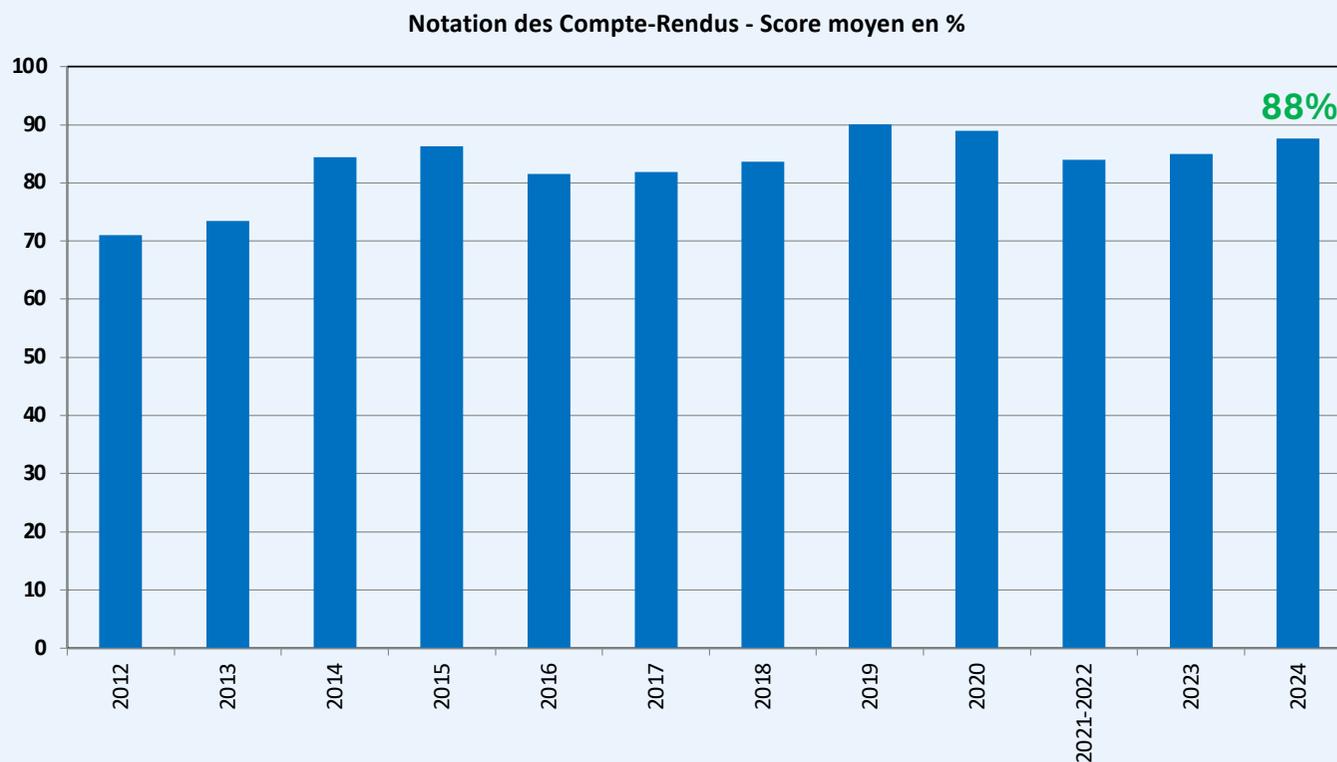
RESULTATS DES COMPTES-RENDUS



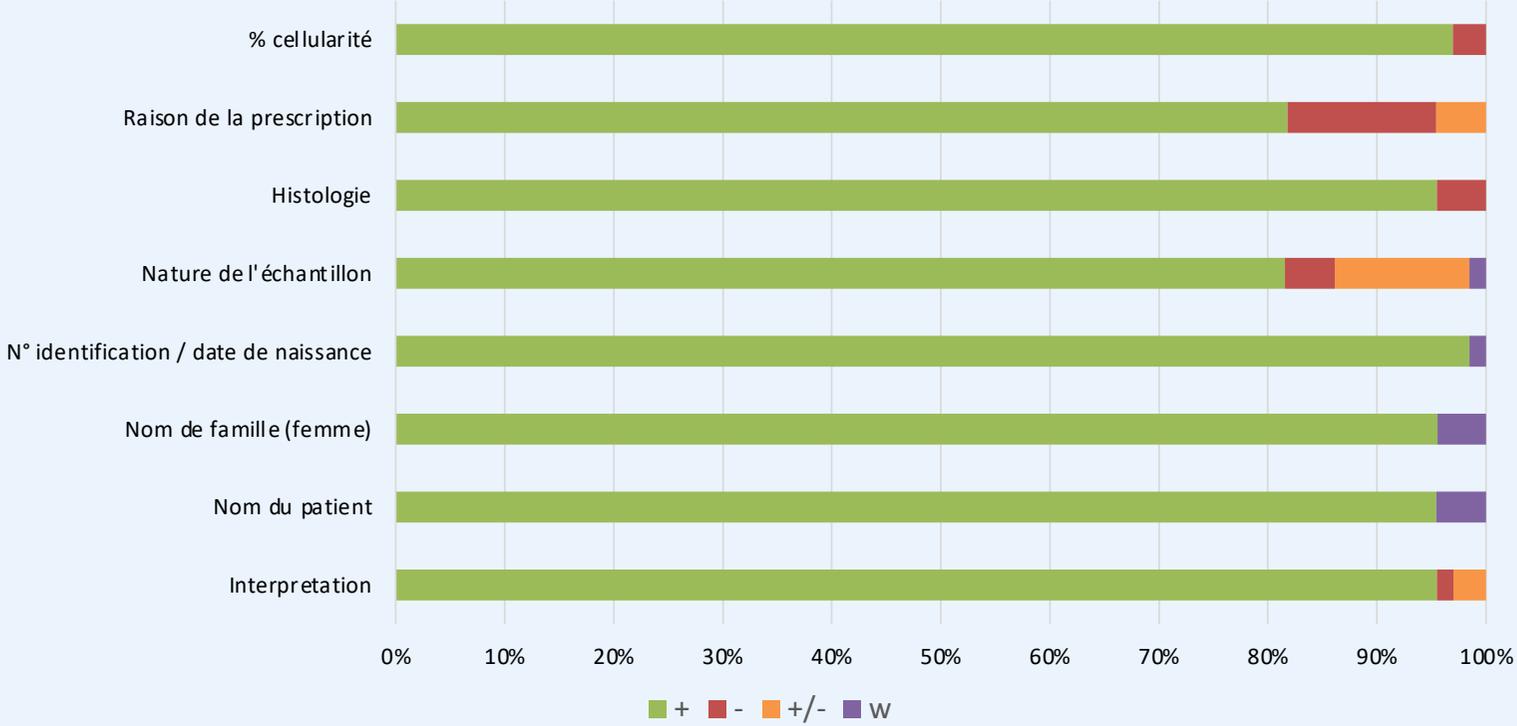
Résultats d'évaluation des comptes-rendus

Nbre de participants ayant obtenu plus de 80%	% Succès	Score moyen	Score min	Score max
53 (N=67)	79% ↑	88 % ↑	74%	100%

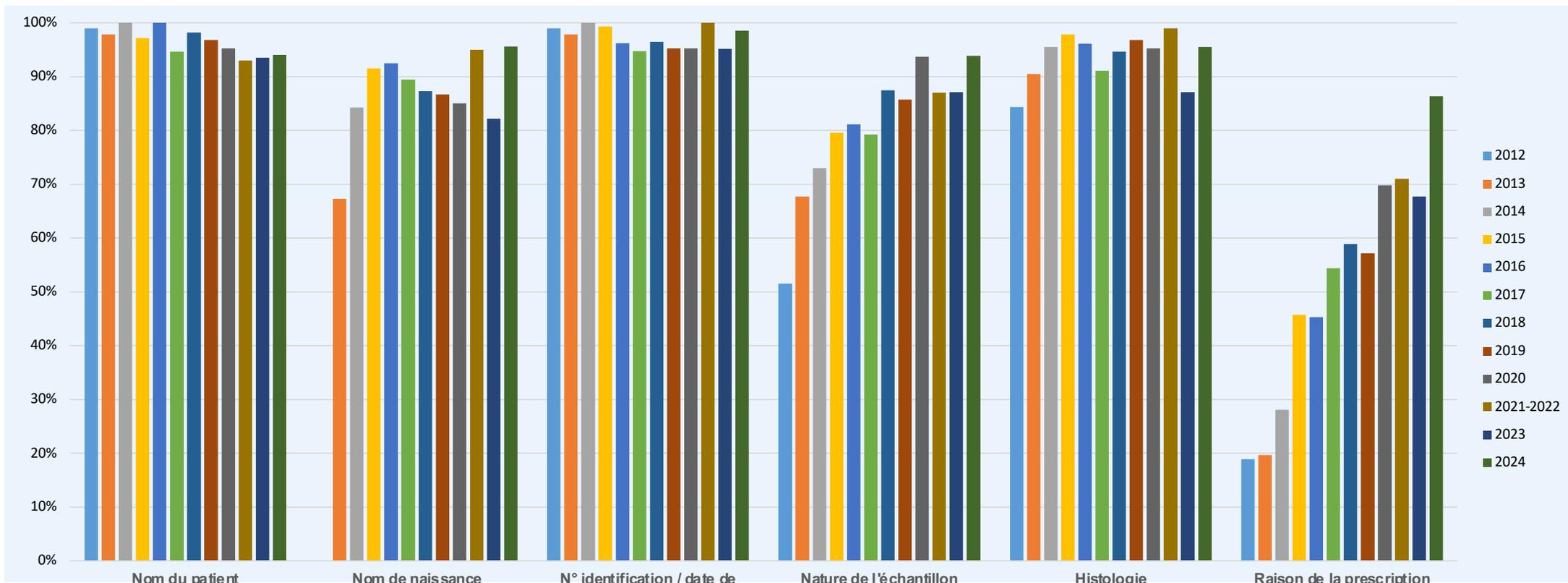
Évolution des résultats de comptes-rendus



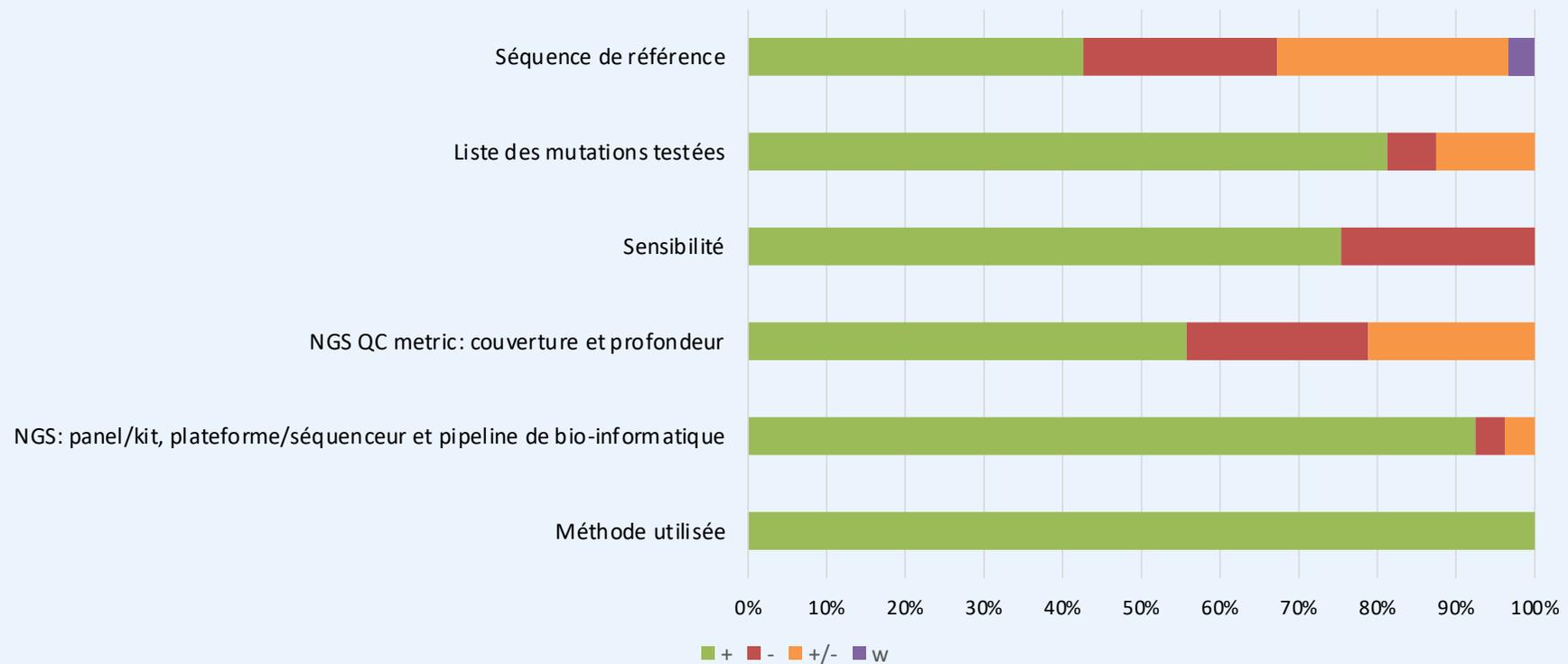
Résultats de comptes-rendus- Identification



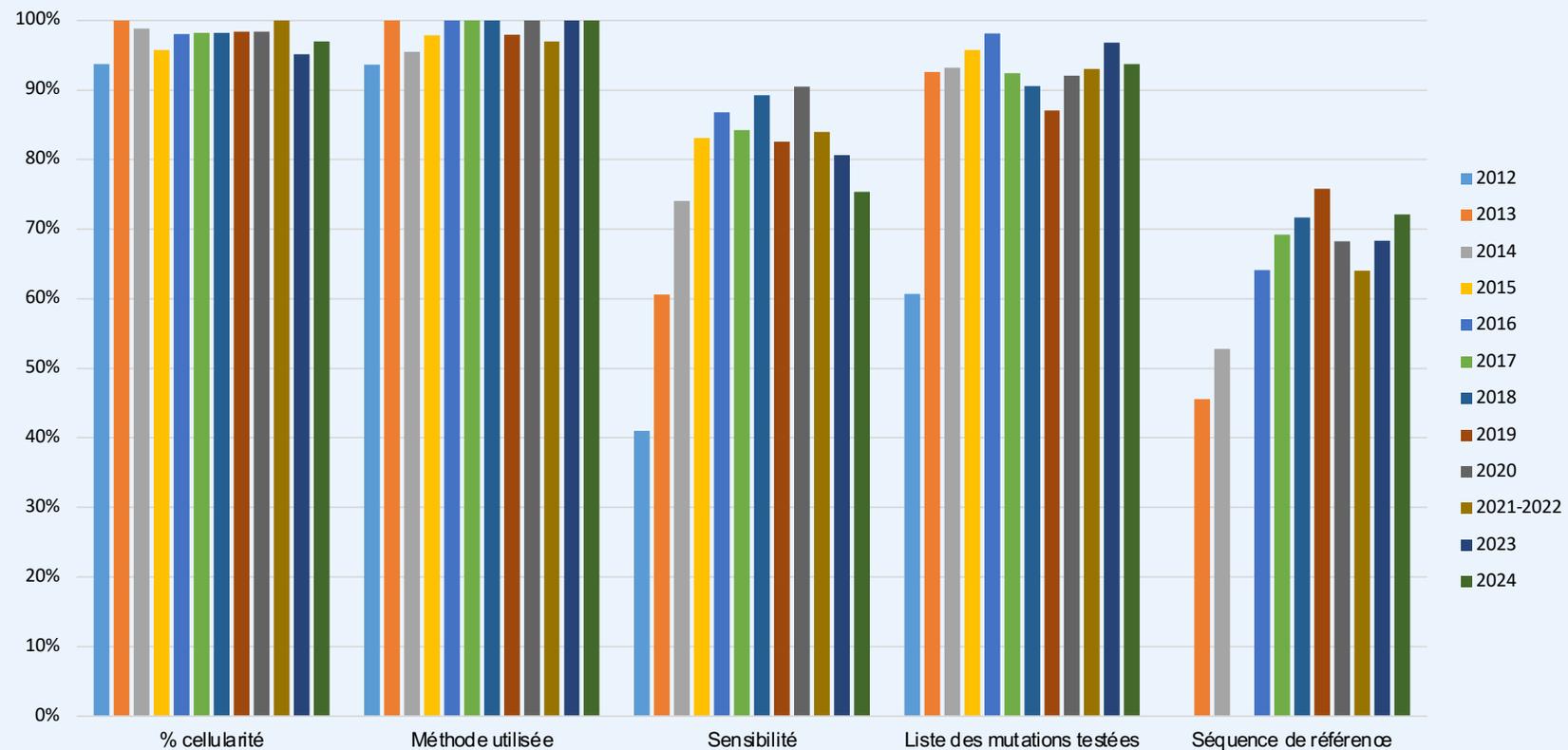
Évolution des Résultats de comptes-rendus- Identification



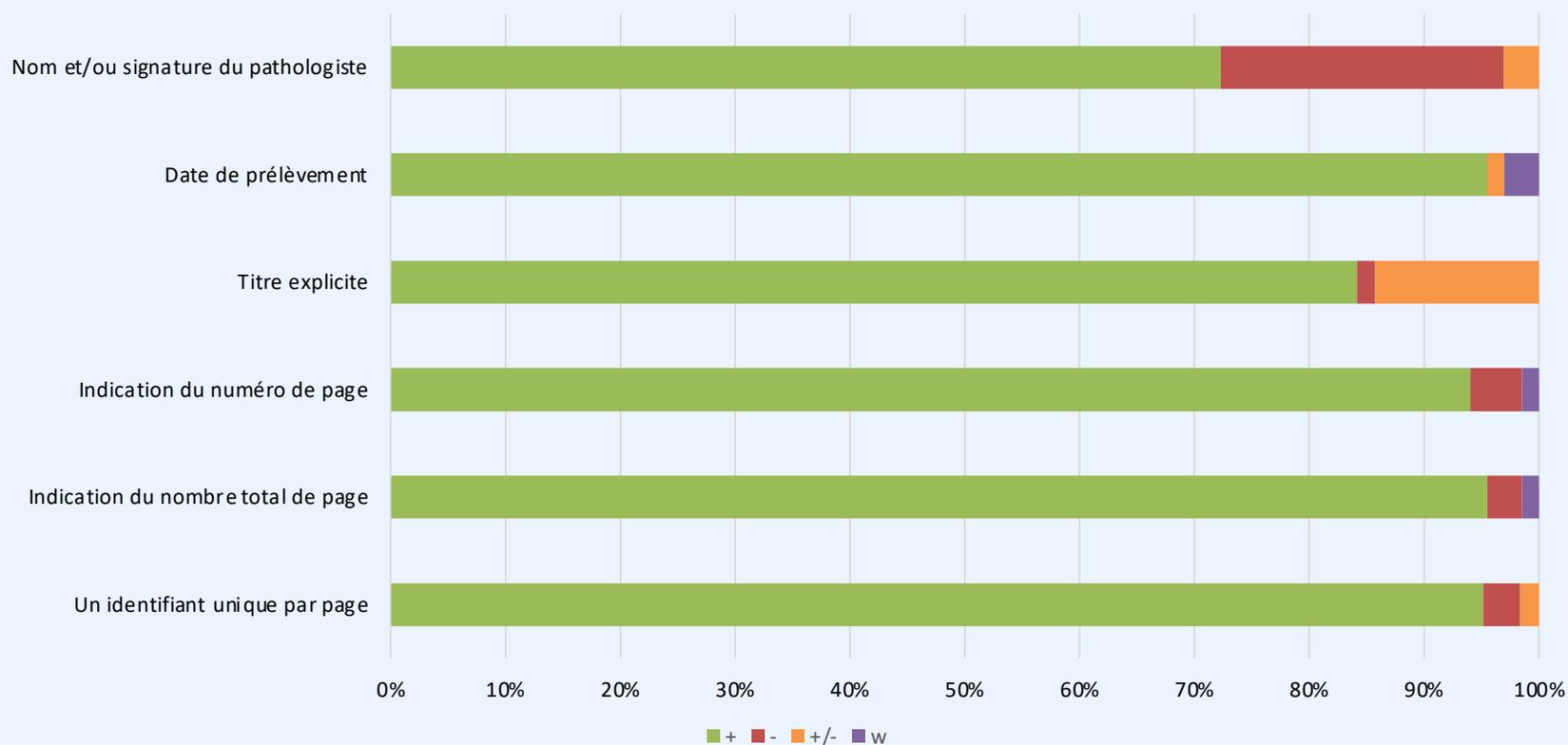
Résultats de comptes-rendus- Information sur les méthodes



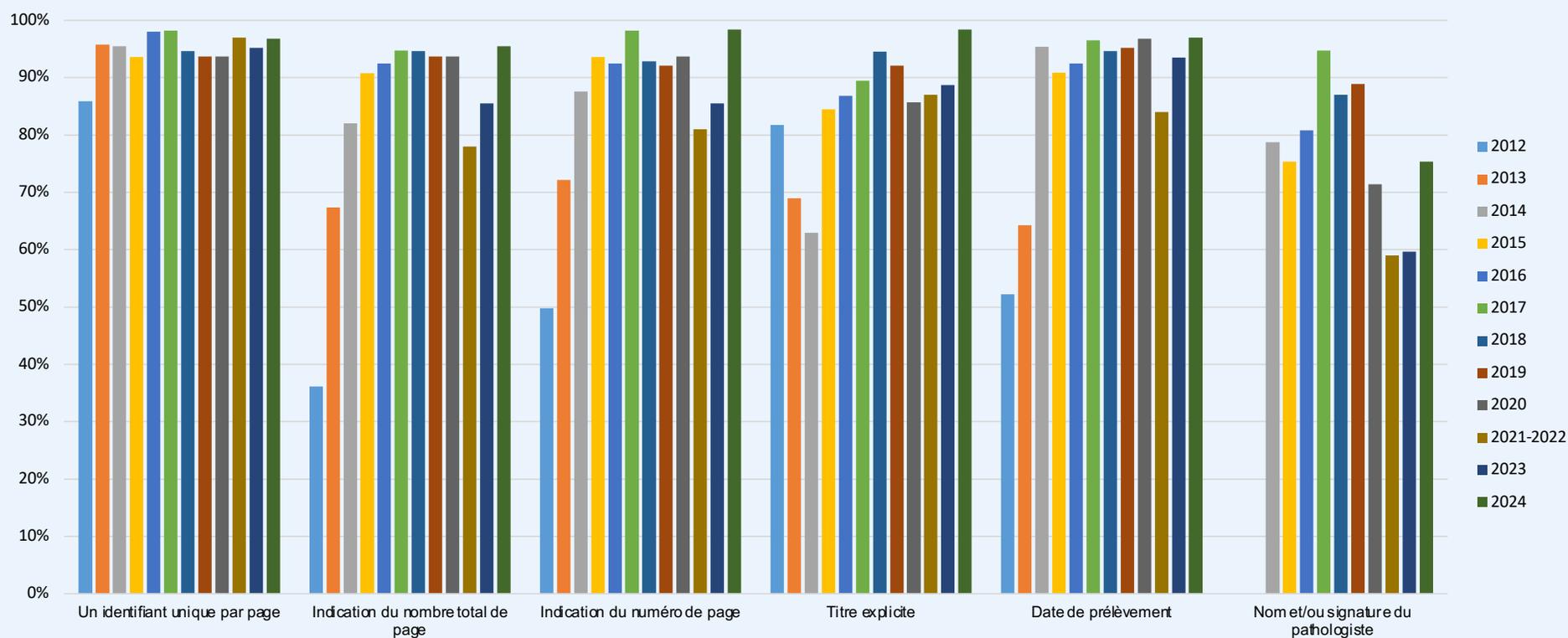
Évolution des résultats de comptes-rendus- Information sur les méthodes



Résultats de comptes-rendus- Information générales



Évolution des résultats de comptes-rendus- Information générales

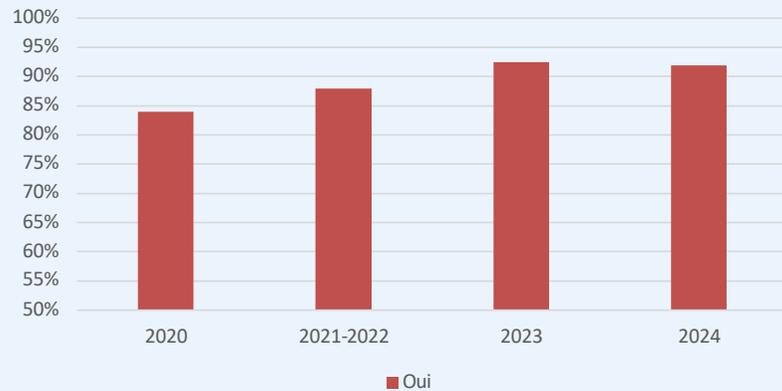


METHODES D'ANALYSE



Méthode extraction ADN tissus

Automatisation (n=62 en 2024)

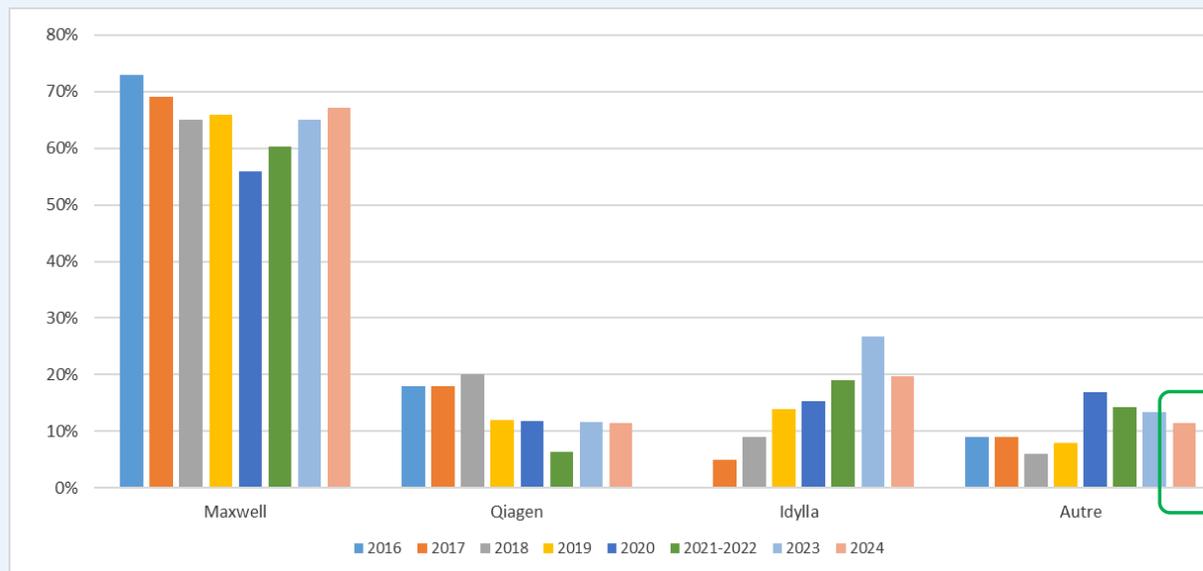


Techniques	2023	2024
Maxwell (Promega)	38	41
QIASymphony (Qiagen)	2	2
EZ2 (Qiagen)	2	2
IDEAL-32 (ID-Solutions)	2	1
Genexus™ ThermoFischer	1	1
HAMILTON STAR	1	1
Qiacube (Qiagen)	1	1
MagCore Plus II (RBC Bioscience)	1	1
BasePurifier	1	1
Macherey Nagel	1	3
Colonne Qiap DNA FFPE Tissue (Qiagen)	0	2

AS1720 Maxwell RSC DNA FFPE plus (Promega)	22
AS1450 Maxwell RSC DNA FFPE (Promega)	8
AS1350 Maxwell CSC DNA FFPE (IVD) (Promega)	3
AS1135 Maxwell 16 DNA FFPE plus (Promega)	2
AS1360 CSC RNA FFPE Maxwell (Promega) sans traitement DNAase	3

Méthode extraction ADN

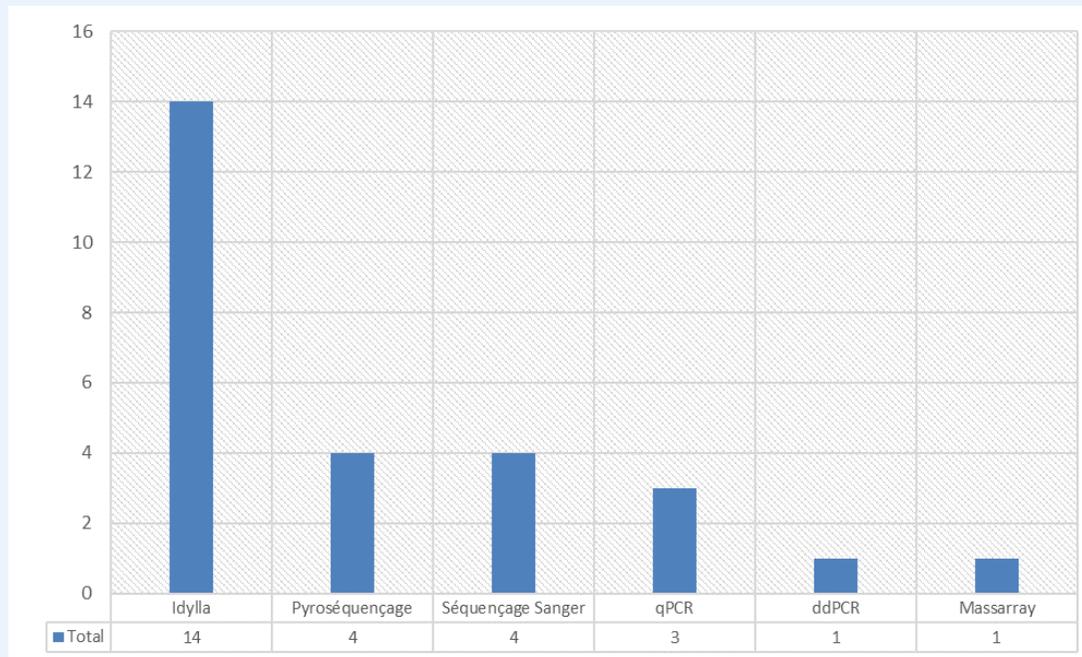
Programmes Multiparamétrique et méthode ciblée



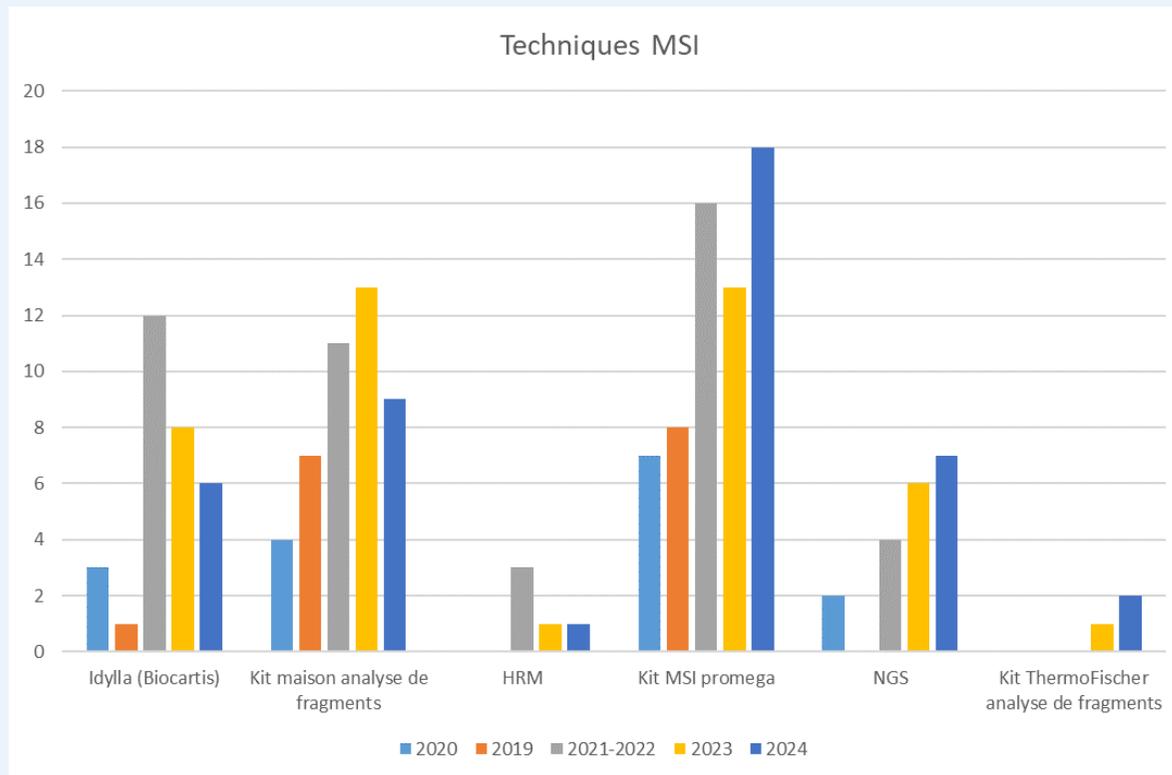
- NucleoMAG DNA FFPE (Macherey- Nagel) avec l'automate Ideal32 (IDVet)
- IDXTRACT-MAG-FFPENucleospin DNA FFPE XS (Macherey-Nagel)
- Genexus™ FFPE DNA and RNA Purification
- Manuel Kit Macherey Nagel Nucleospin DNA FFPE XS Nucleomag DNA FFPE (Macherey- Nagel), avec La machine ideal 31 (IDVet)
- Tianlong Pentabase

N=61 réponses – 12 Idylla – cas mixte M/Q : 4

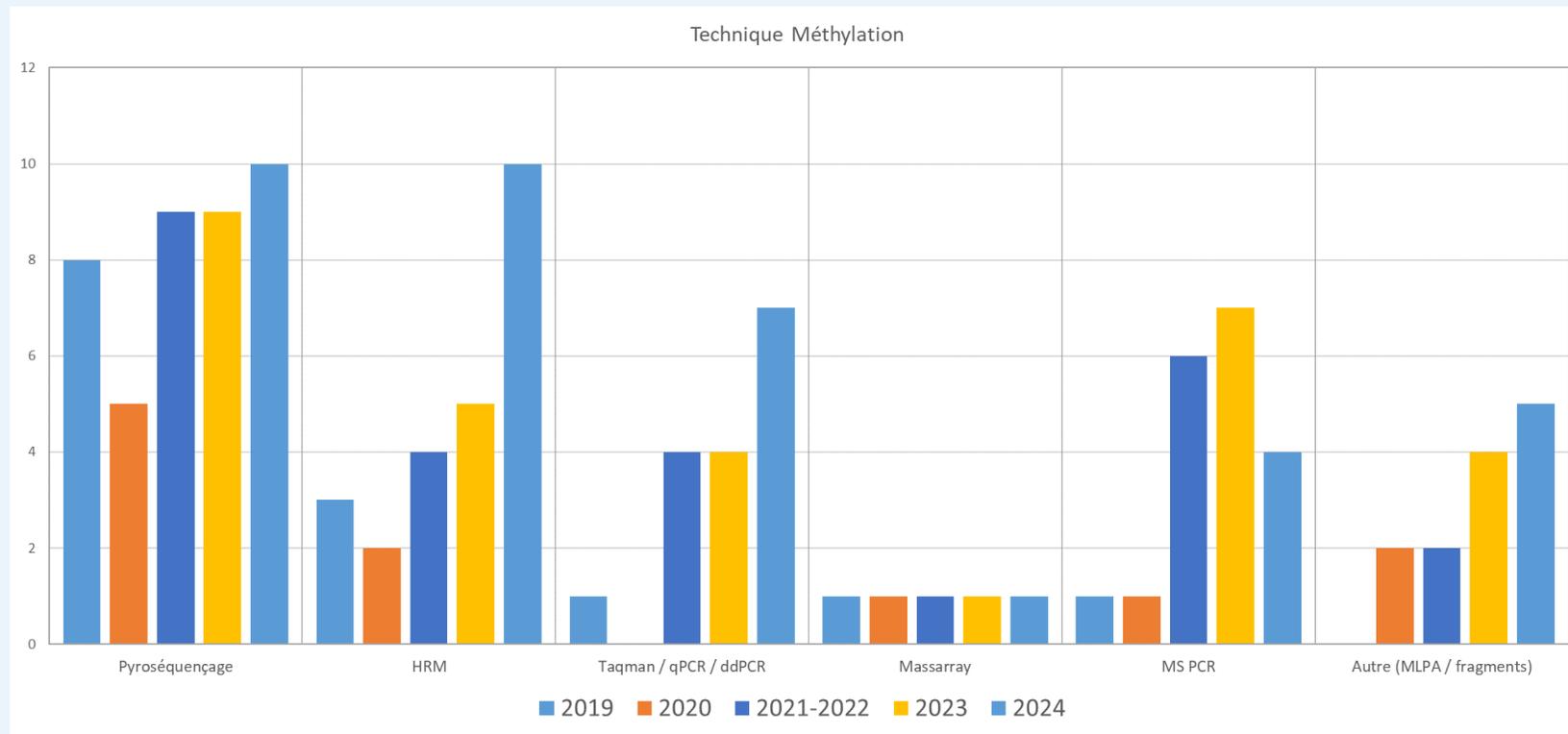
Méthode ciblée – autres gènes



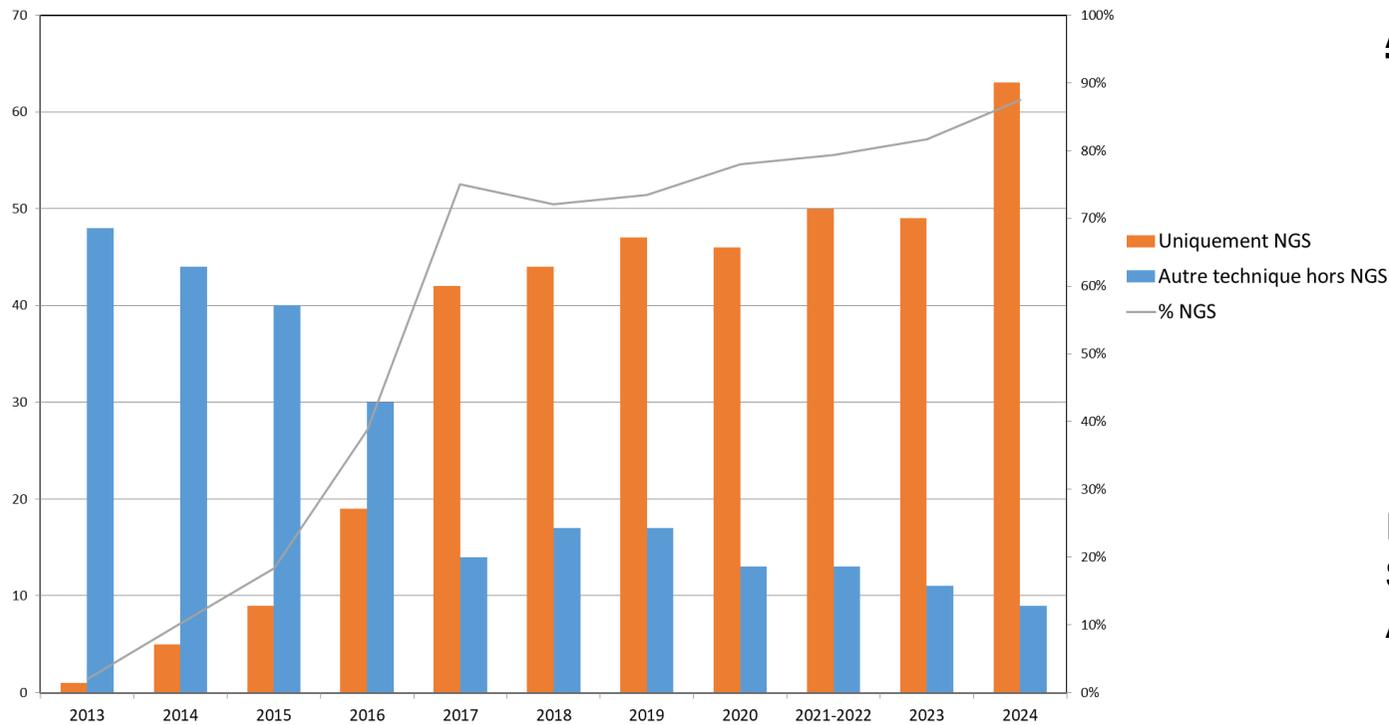
Méthode MSI



Méthode ciblée – Méthylation



NGS Tissus - ADN



Autres techniques hors NGS

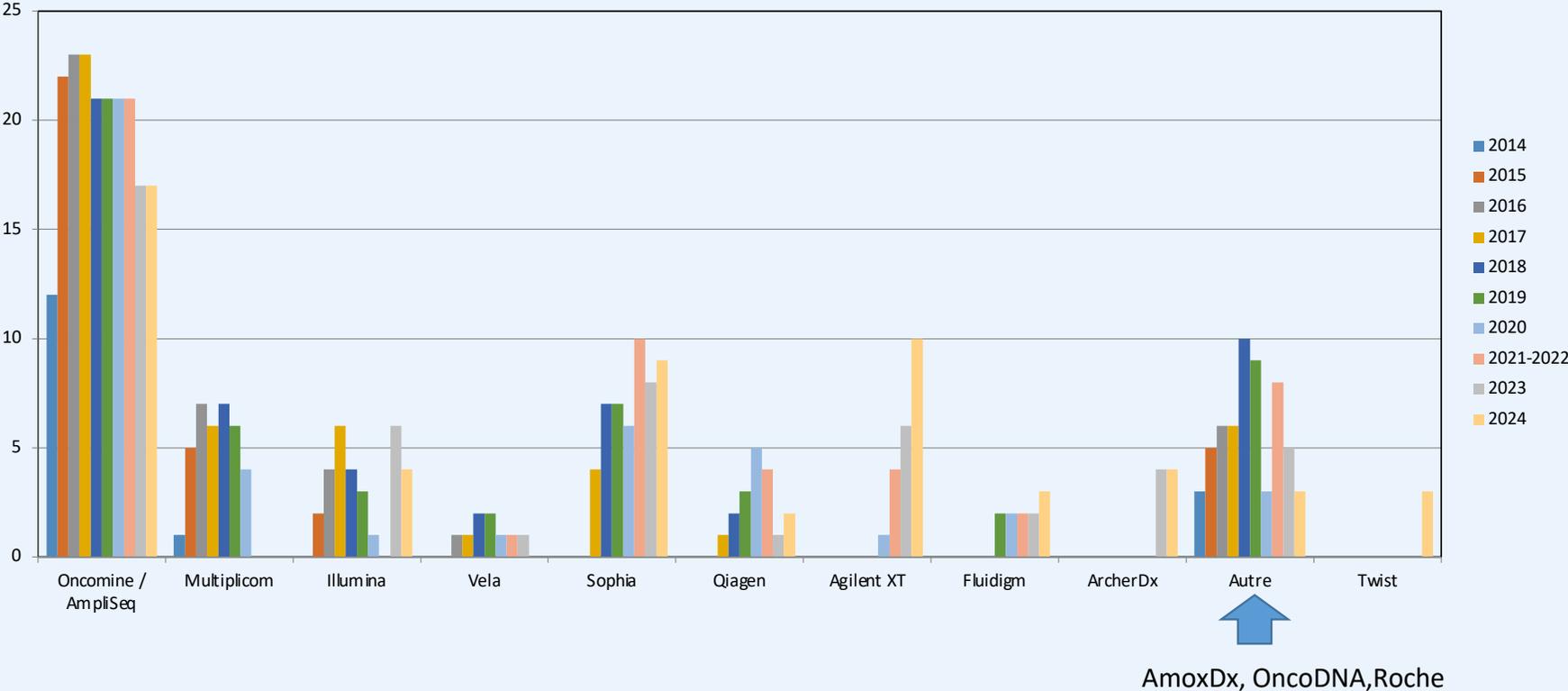
Idylla	14
qPCR - Taqman	6
Pyroséquençage	5
Séquençage Sanger	5
Mass-array	2
Analyse de fragment	2
Massarray	1

En combinaison NGS : 10

Sans NGS : 9

Alternativement : 16

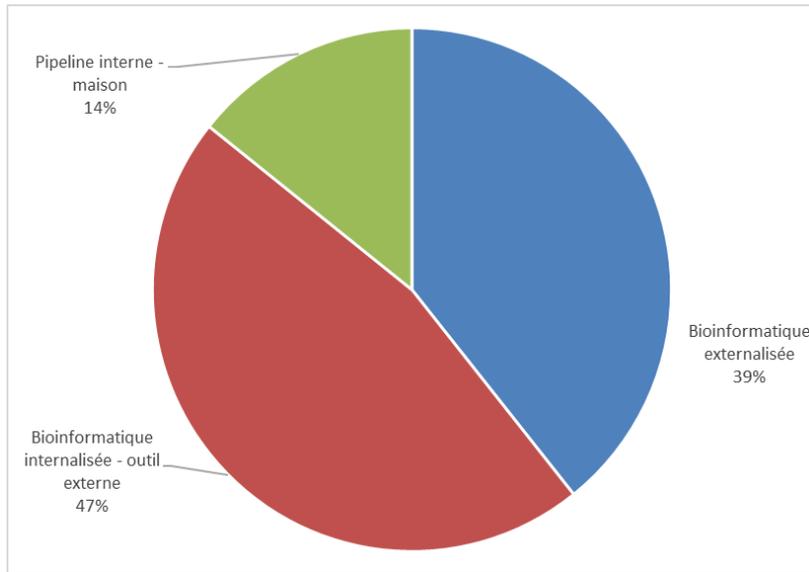
NGS ADN– Enrichissement hors Ovaire



Répartition des kits de préparation des bibliothèques

Agilent	9	Sophia	9
Capture SureSelect (Agilent)	9	custom STS sophia genetics	1
Archer	4	panel capture Custom Solid Tumor Solution (Sophia Genetics)	1
CTL FusionPlex (ArcherDx) custom	1	Panel capture maison de 96 gènes (Sophia Genetics)	1
FusionPlex lung v2+supplementary (Archer)	1	Panel CSTS (SOPHIA Genetics) , panel customisé (Agilent)	1
panel custom : VariantPlex (Archer®)	1	Solid Tumor Solution (Sophia Genetics)	1
VariantPlex CTL	1	SOPHIA Custom STS	1
Autre	6	Sophia Solid Tumor Solution (Bundle)	1
Custom Panel APHP	1	Sophia Solid Tumor Solution, SOPHIA GENETICS	1
Handle classic	1	STS custom Sophia Genetics	1
Jeu d'amorces maisons	2	Thermofisher	17
Méthode non NGS	1	Ampliseq Library PLUS (Illumina) / Custom panel - régions sélectionnées par le laboratoire (Life technologies)	1
Pncodeep	1	Ion Ampliseq Colon and Lung Cancer Panel (Life technologies)	3
Fluidigm	2	Ion Ampliseq Custom panel – régions sélectionnées par le laboratoire (Life Technologies)	6
Access Array System (Fluidigm)	2	Oncomine focus assay (Life Technologies)	1
Illumina	1	Oncomine precision assay	1
Ampliseq Cancer Hotspot panel V2 for Illumina	1	ONCOMINE Precision Assay GX	1
Qiagen	3	Oncomine Precision assay GX (Thermofisher)	1
Actionable Mutations panel (Qiagen)	1	Oncomine Precision Assay Thermofisher	1
QIAseq Targeted DNA	1	Oncomine Solid Tumour DNA kit (Life Technologies)	1
QIAseq targeted DNA custom panel (Qiagen)	1	Oncomine™ Precision Assay	1
Roche	1	Twist	3
roche	1	Kit Twist panel maison	1
		Panel custom Twist	1
		Twist Library Prep V2 / Capture V1	1

Pipeline bio-informatique ADN



48/56 en 2024 avec une solution commerciale (86%)

38/53 en 2023 avec une solution commerciale (72%)

27/51 en 2021-2022 avec une solution commerciale (52%)

Méthode NGS accréditée : 47% (26/55)

Bioinformatique externalisée
DNA Amplicon Workflow , Version 3.24.1.8 Illumina
Eufomatics
Life & Soft
OncoKDM/Mercury
CLC Genomics # QCII
Ion reporter / thermofisher
Seqone
SophiaGenetics
SophiaGenetics # Seqone
SophiaGenetics # Plateforme bioinformatique MOABI
SophiaGenetics
SophiaGenetics # BGW (Biomedical Genomics Workbench) Qiagen
Bioinformatique internalisée - outil externe
Ion reporter / thermofisher
Agena
ANDAS
ArcherDx
AdiVar et MiamS
Environnement STARK et Cutevariant
Oryci
Pipeline Genexus+Seqpilot
Torrent Suite Software (TSS version 5.18.1) associé à des plug-in développés localement.
CLC Genomics
Ion reporter / thermofisher
Ion reporter / thermofisher # custom
NextGene # Genexus Thermofisher
Ion reporter / thermofisher
Pipeline interne - maison
maison
pipeline développé en interne
pipeline interne maison
Pipeline Interne pICO
pipeline maison
Moabi
SophiaGenetics # Plateforme bioinformatique MOABI

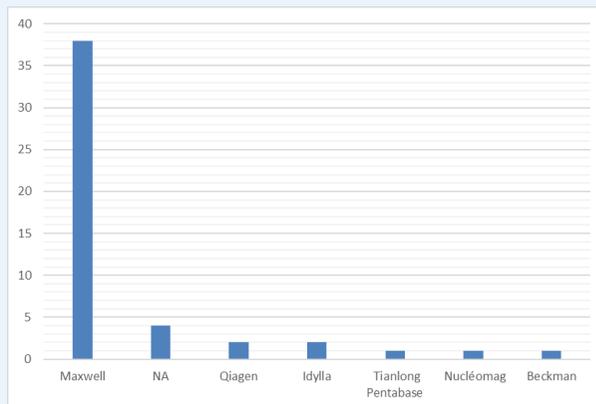
Rajouter méthodes NGS Multi

ANALYSE PROGRAMME FUSION



Pré-analytique Fusion - Cellularité et extraction

- **Evaluation de la cellularité tumorale (49/49)**
- **Cellularité minimale [0 à 20%]**
 - 5-15% : 18
 - 20% : 8
 - 30% : 3
 - **Aucun** : 20
- **Méthode d'extraction ARN ou ANT: 29/49 ARN – 2/49 ADN – 18/49 mixtes**



AS1450 Maxwell RSC DNA FFPE (Promega) - 6

AS1135 Maxwell 16 DNA FFPE plus (Promega)

AS1350 Maxwell CSC DNA FFPE (IVD) (Promega)

AS1720 Maxwell RSC DNA FFPE plus (Promega)

AS11440 Maxwell RSC RNA FFPE Kit (Promega) - 21

AS1360 Maxwell® CSC RNA FFPE Kit (Promega)

- **Répartition des principales méthodes utilisées (EEQ fusion)**

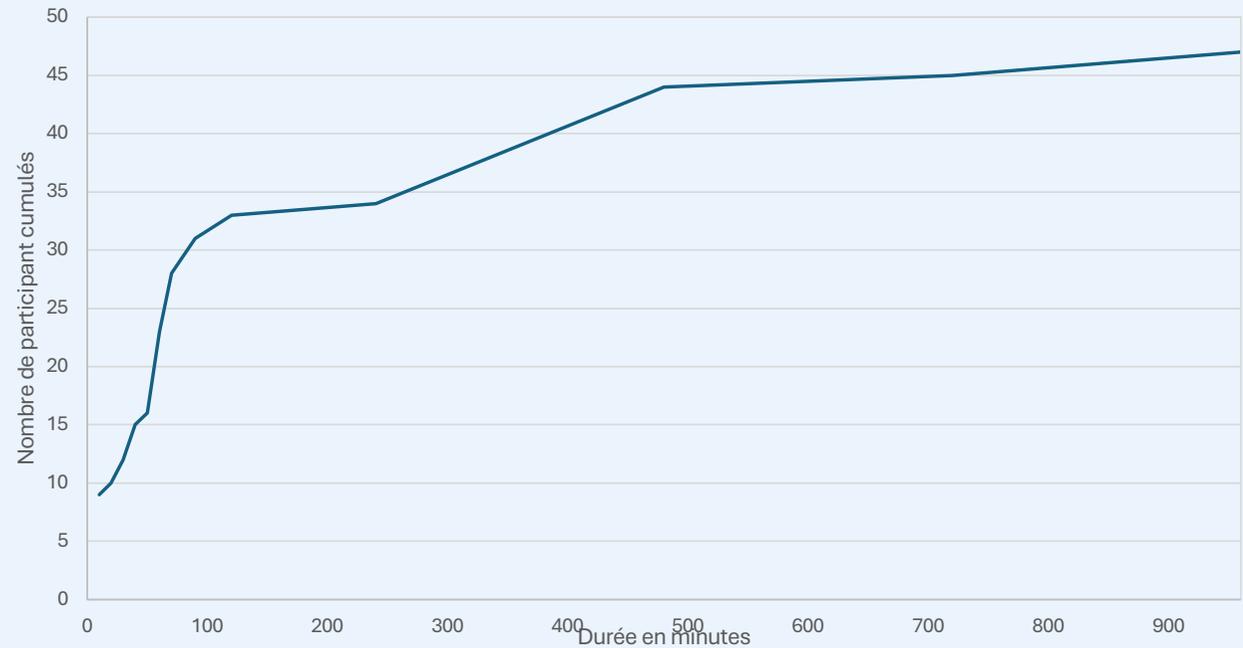
Pré-analytique Fusion - Cellularité et extraction

- **Majorité d'extraction automatisée (44/49)**

- Maxwell (Promega): 38
- Idylla (Biocartis): 2
- EZ2 (Qiagen): 2
- Autres (Beckman / Base Purifier): 2

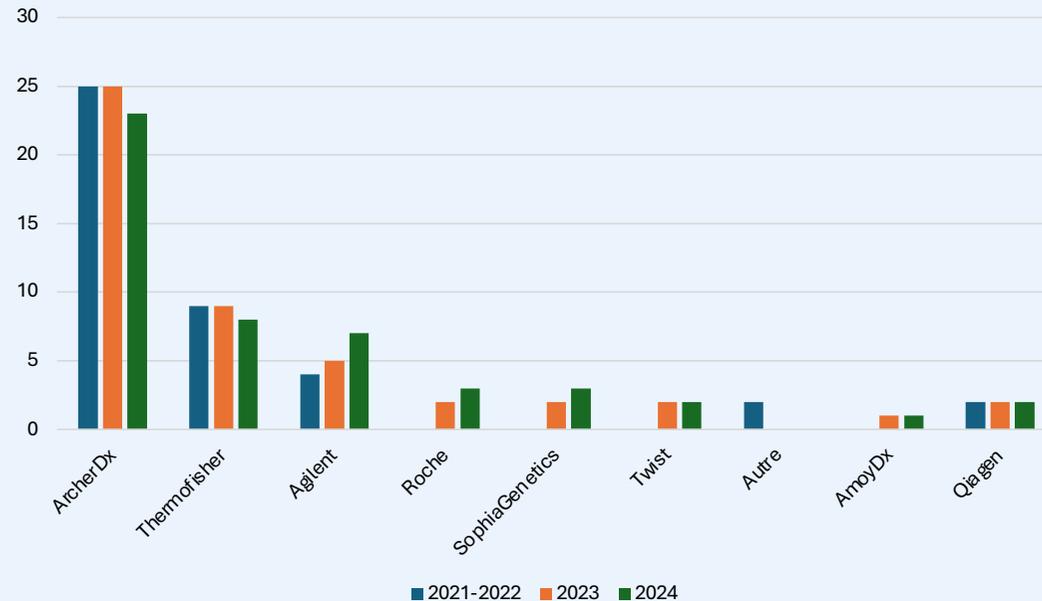
- **Durée de digestion protéinase K**

- Majorité < 60 minutes
- 13/49 : toute la nuit



Analytique FUSION- NGS Enrichissement

Méthode NGS uniquement (48/49) – Idylla



Confirmations non NGS

RT-PCR digitale - 1

FISH - 12

Kit commercial non NGS - 4

Pas d'autre méthode que le NGS - 32

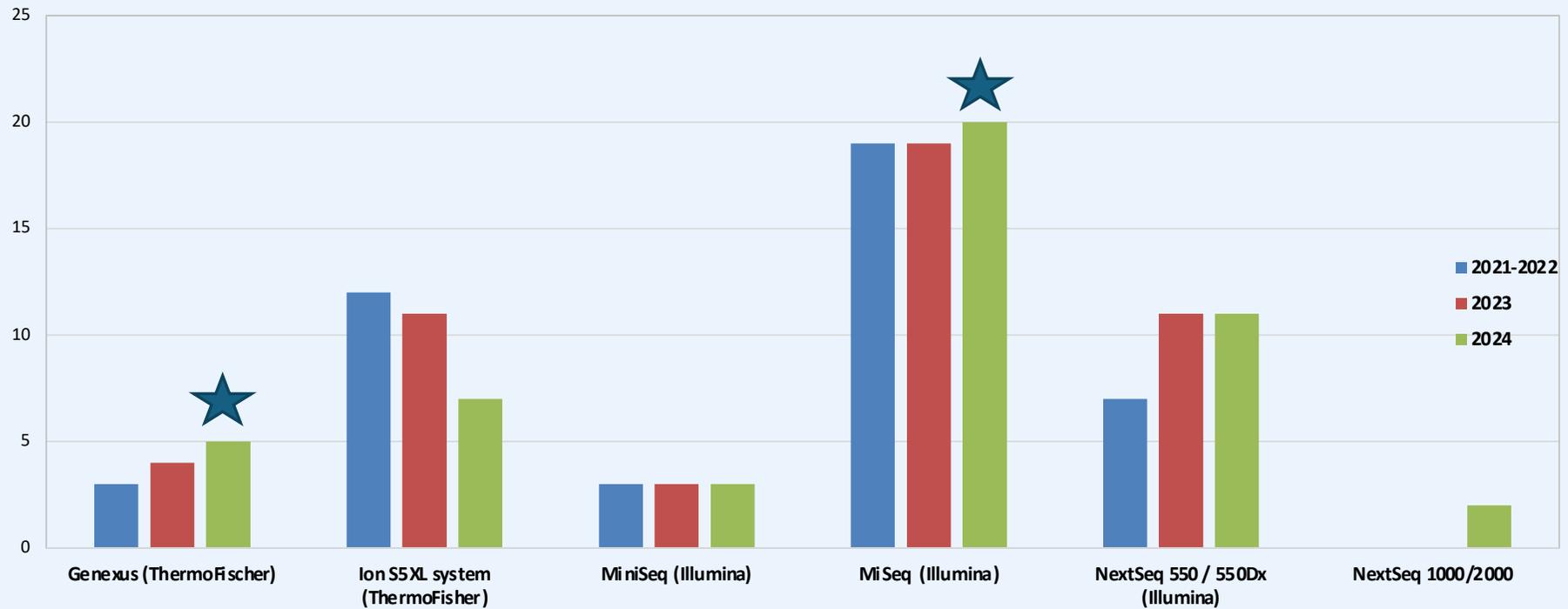
Analytique FUSION -Répartition des lits d'enrichissement



Agilent	7
Custom	7
Archer	22
CTL	4
Fusion Plex Lung	9
FusionPlex Pan Solid Tumor	9
Qiagen	2
Custom	1
QIAseq RNA Fusion XP	1
Sophia	3
Solid Tumor Solution	1
Custom	2
Twist	1
Custom	1
Thermofisher	8
Oncomine focus assay	3
Oncomine Precision Assay	5
Autre	5

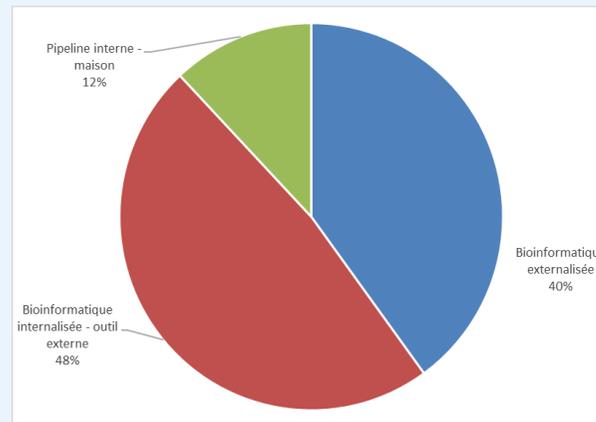
Capture SureSelect (Agilent)	7
Comprehensive Thyroid and Lung (CTL) Kit (Archer)	2
Comprehensive Thyroid and Lung (CTL) Kit (Archer) with added targets V7	1
custom Archer CTL+ , sarcome custom	1
Fusion Plex Lung V2 (ArcherDx)	1
FusionPlex lung (archer)	1
FusionPlex Lung (ArcherDx)	1
FusionPlex Lung v1	2
FusionPlex lung v2 + supplementary (Archer)	1
FusionPlex Lung v2 panel (Archer, IDT DNA), FusionPlex CTL panel (Archer, IDT DNA)	1
FusionPlex Pan Solid Tumor (Archer Dx)	1
Fusionplex Solid tumor panel (Archer)	7
FusionPlex® Lung v2 / FusionPlex® CTL / FusionPlex® Sarcoma v2 (Archer Dx)	1
HANDLE CLASSIC	1
Jeu d'amorces maisons	1
KAPA HyperPETE LC Fusion Panel	1
kit FusionPlexLung ArcherDx	1
Oncomine focus assay (ThermoFisher)	3
Oncomine precision assay	3
Oncomine Precision Assay (ThermoFisher)	1
Oncomine Precision Panel GX	1
panel archer DX V2 (pan tumor solides ou sarcoma ou lung)	1
QIAseq RNA Fusion XP PANEL, Solid Tumor JHS-002Z	1
Roche (XXX)	1
Roche et Twist	1
Sophia Custom RNAtarget Bundle Solution	1
Sophia custom STS plus	1
SOPHIA Solid Tumor Solution Plus	1
Twist custom panel	1
XP fusion (Qiagen)	1

Analytique FUSION -NGS Séquençage Fusion par MiSeq



Pipeline bio-informatique Fusion (n=49)

Bioinformatique internalisée	25
Archer VM	10
Autre	3
Genexus	1
Interne	6
na	2
Thermofisher local	3
Bioinformatique externalisée	24
ArcherDx	12
Thermofisher	3
SeqOne	6
Sophia Genetics	3



Pipeline de détection des variants

ponctuels

30/49 en 2024

25/50 en 2023

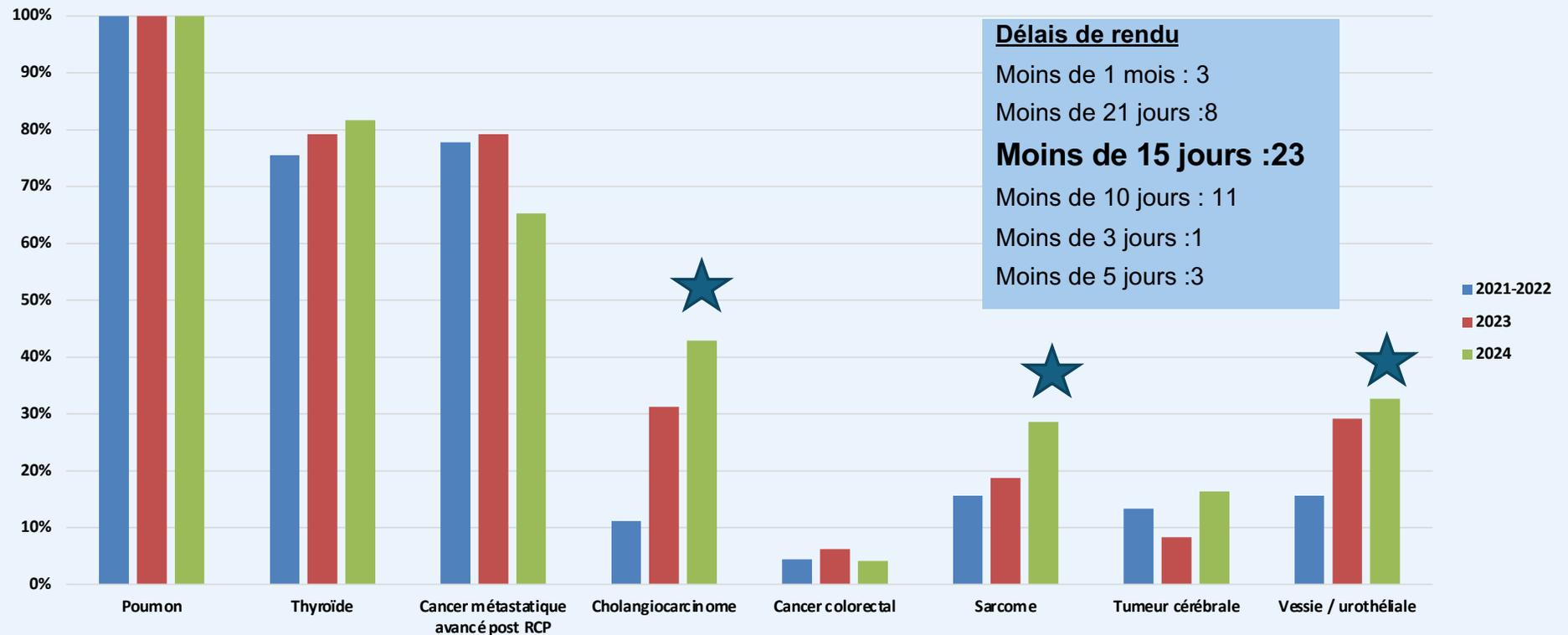
15/41 en 2022

15/30 ArcherDX

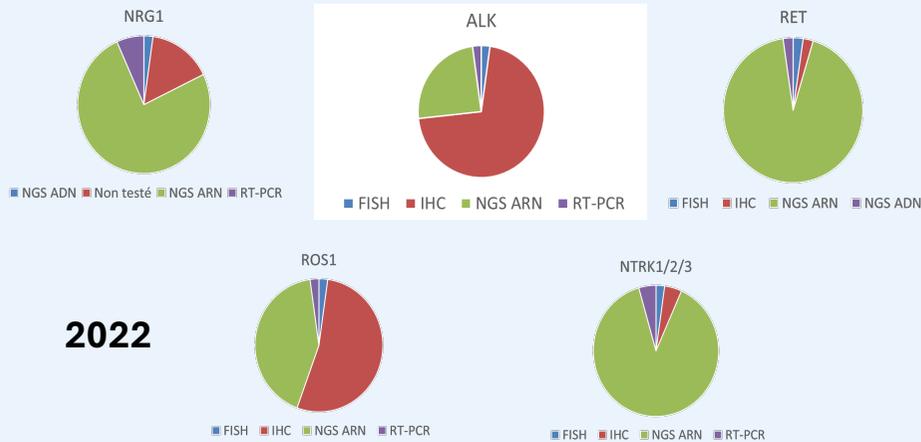
Pipeline : ARIBA

Arriba
Arriba # Autre :: CTAT et SpliceLauncher
Arriba # Autre :: SOPHIA
Arriba # Star-Fusion
Arriba # Star-Fusion # Autre :: Fusion inspector
Arriba # Star-Fusion # Autre :: Manta
Arriba # Star-Fusion # FusionCatcher # Autre :: SAMI
Arriba # Star-Fusion # FusionCatcher # Pizzly
Autre :: -Logiciel de demultiplexing et base calling: BaseCaller -Logiciel d'alignement de
Autre :: Algorithme propriétaire QIAGEN
Autre :: ANDAS
Autre :: Archer Analysis
Autre :: Archer analysis 7.2
Autre :: Archer Analysis Version: 7.3.2
Autre :: Archer fusion plex
Autre :: ArcherAnalysis
Autre :: ArcherDx
Autre :: CLC Genomics workbench (Qiagen)
Autre :: Genexus
Autre :: Idylla
Autre :: Ion Reporter
Autre :: LOGICIEL ARCHER
Autre :: logiciels Torrent Suite (ThermoFisher) version 5.18, Archer Analysis 6.2.1 et JBro
Autre :: Pipeline ILLIXG1S6_FPPE_CNV_NextSeq_2
Autre :: SEQONE
Autre :: Seqpilot
Autre :: SomaRNA
Autre :: STS_plus_v1 somatic
Autre :: Vm archer
Autre :: VM ArcherDx
Autre :: Archer analysis
Star-Fusion

Indications ARN

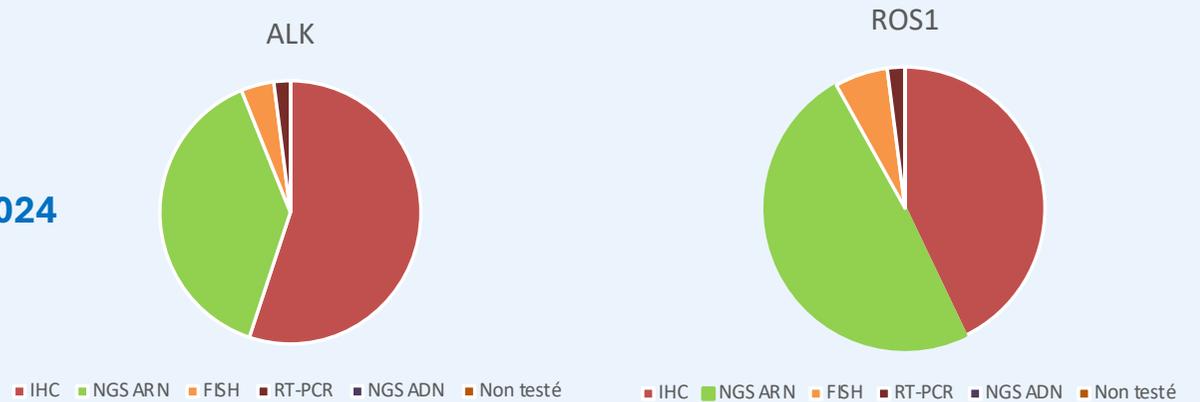


Strategie ARN



	<i>ALK</i>	<i>ROS1</i>	<i>NTRK1/2/3</i>	<i>RET</i>	<i>NRG1</i>
IHC	27	21	2	0	1
NGS ARN	19	24	45	44	39
FISH	2	3	0	1	0
RT-PCR	1	1	1	2	0
NGS ADN	0	0	1	2	0
Non testé	0	0	0	0	9

2024



ANALYSE PROGRAMME OVAIRE



Qualité nécessaire

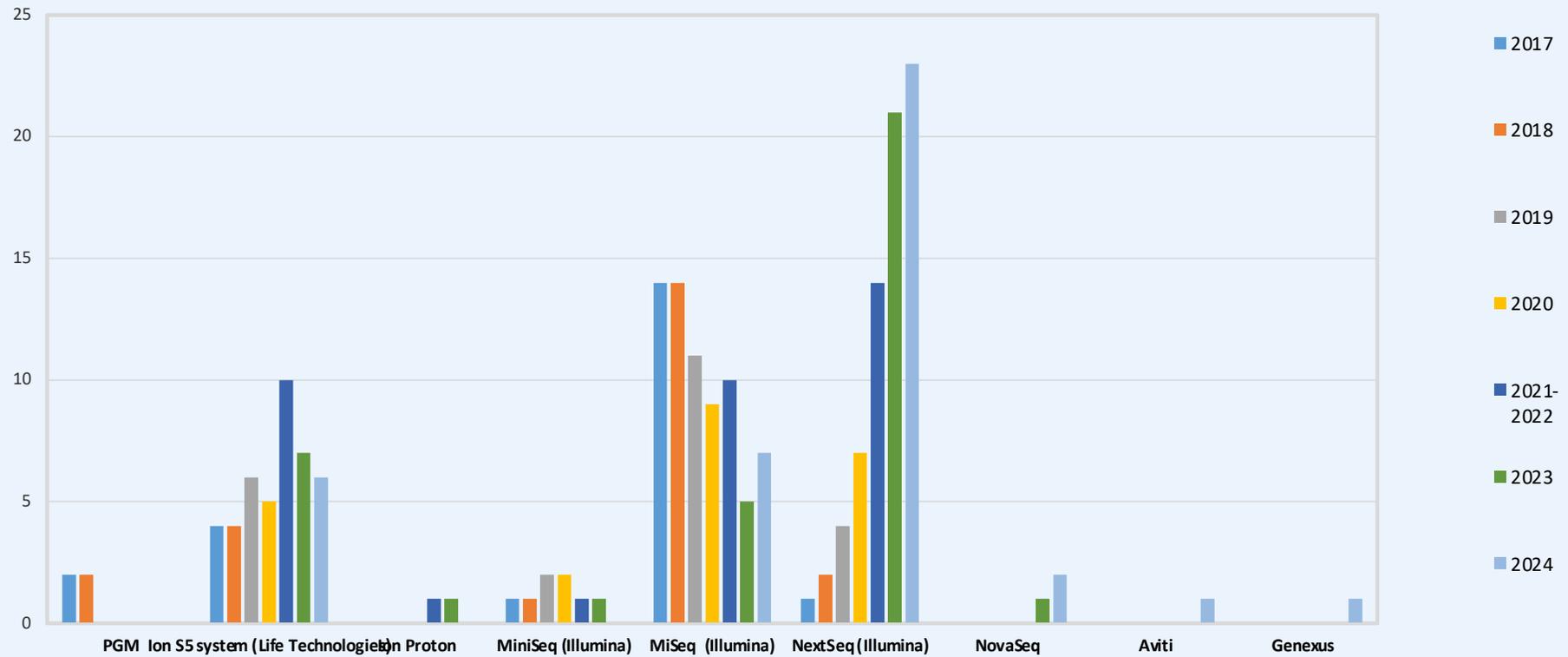
Détection de BRCA1/2 (n=40)

- Quantité d'ADN
 - <50ng: 33
 - >100ng: 4
 - aucune 3
- Cellularité tumorale
 - <15%: 18
 - 20%: 14
 - >30%; 2
 - Aucune : 6

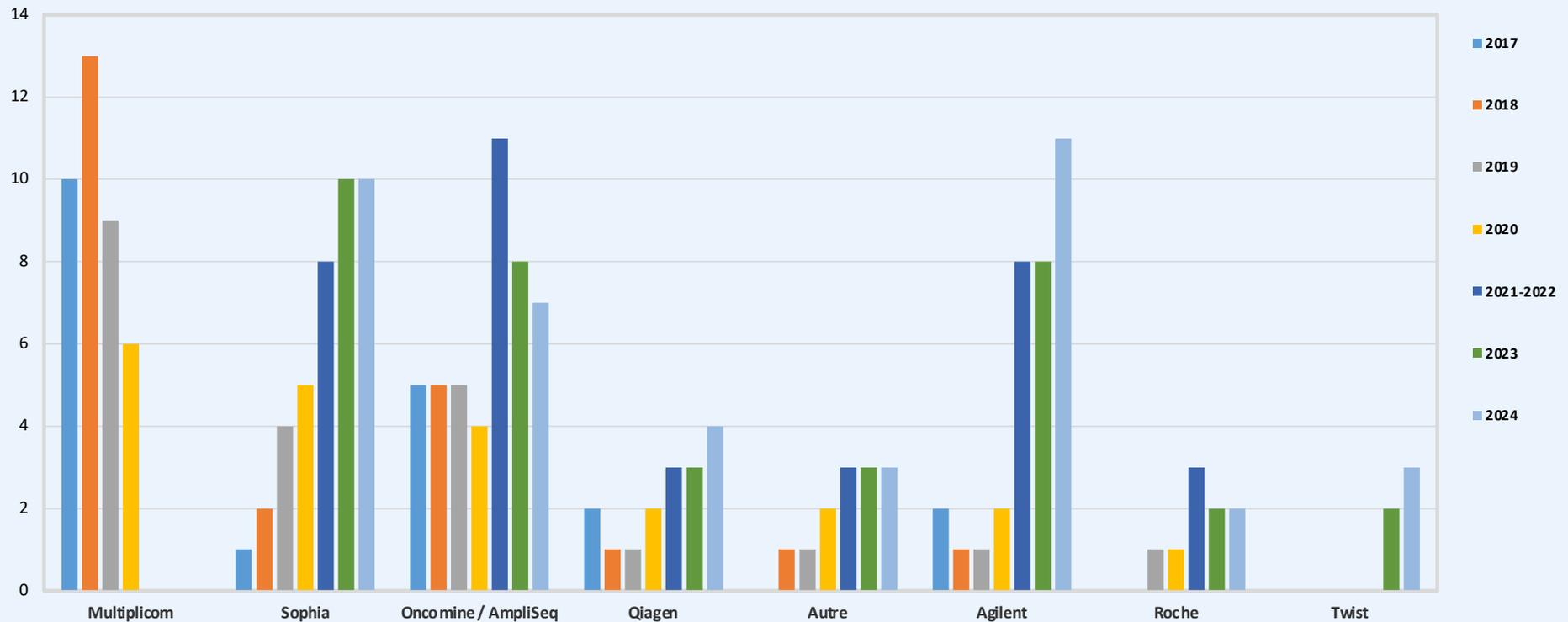
Détermination de GIS

- Quantité ADN
 - <50ng : 17
 - >100ng : 4
- Cellularité tumorale
 - 10% : 0
 - 20% :13
 - 30% :7
 - Aucune : 2
 - En fonction de TP53

Sequenciers Ovaire

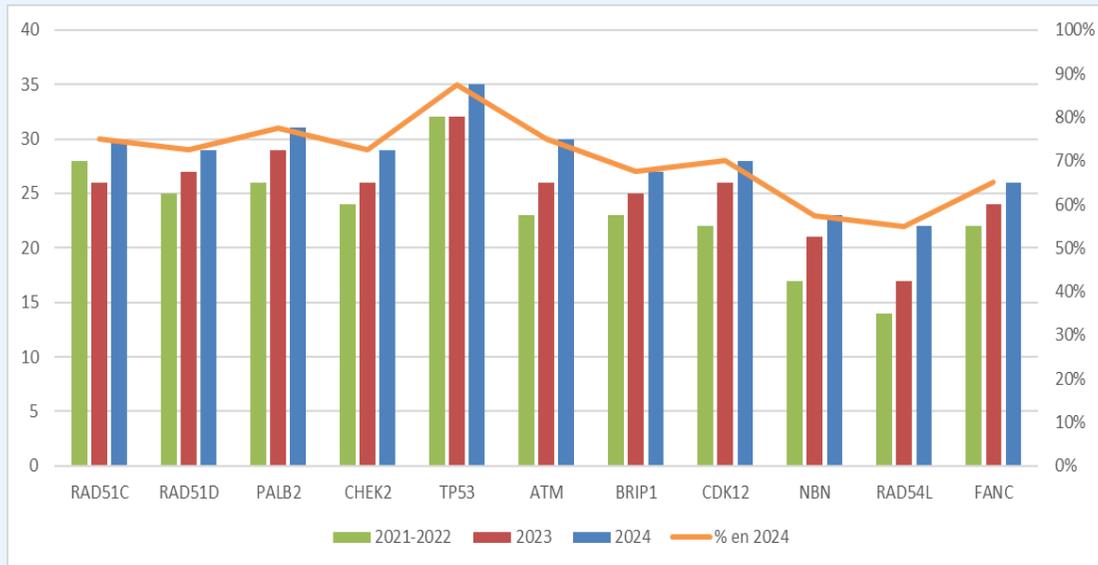


Sequenceurs Ovaire – technique enrichissement et sequenceurs



Caractéristiques des laboratoires

Panel de gènes – n=40



Quels sont les prochains cancers qui devront être analysés?

Sein / Pancréas / Prostate – >85%

16/23 en 2019

18/23 en 2020

33/36 en 2021

30/36 en 2023

34/40 en 2024

Autre : cholangiocarcinome et RCPM

Caractéristiques des laboratoires

Nature du laboratoire

Laboratoire de génétique somatique : 27

Laboratoire mixte: 13

Nombre de cas par run

Par 8 : 11

Par 16 : 17

Par 32 : 7

Par 48 : 3

Par plus : 2

Analyses techniques en place

Capacité à détecter les grands réarrangements: uniquement 40%

7/24 en 2018 - 7/23 en 2019 – 7/23 en 2020

13/36 en 2021 (bioinfo:10, MLPA:2, CGH 1)

18/36 en 2023 (bioinfo: 17;CGH:1)

16/40 en 2024 (bioinfo : 15; MLPA:1)

Rendu des autres gènes HRR dans le cancer de l'ovaire avec le score

2023 : 10 Oui – **22 Non** – 4 en fonction de la demande

2024 : 10 Oui - **24 Non** – 3 en fonction de la demande

Mise en place de la méthylation BRCA1

2023 : 3 Oui – 6 Prévu – 27 non

2024 : **5 Oui** – 10 Prévu – 25 non

Autres

Délais d'analyse

- Moins de 15 jours:19
- Moins de 21 jours:14
- Moins d'un mois: 4
- Un à deux mois: 3

Accès à la base Frog

- Non: 27
- Oui: 9
- Oui par l'intermédiaire d'un autre laboratoire: 4

Stratégie GIS

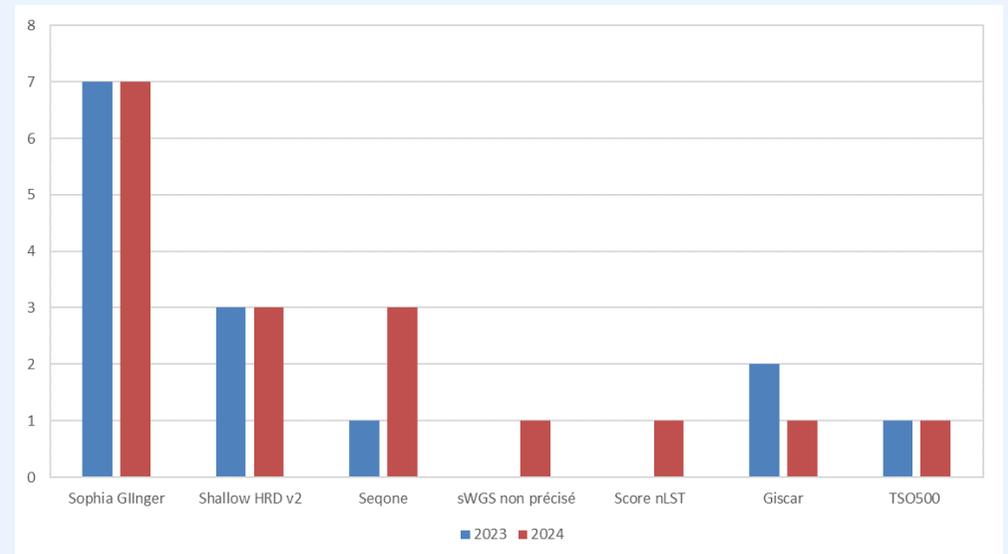
Déploiement du GIS en interne

➤ 17 Oui (+3 depuis 2023)

➤ 22 Non

- externalisées (2 Myriad)
- 19 autre laboratoire français)
- 1 score Oncotype (en plus)

Approches utilisées

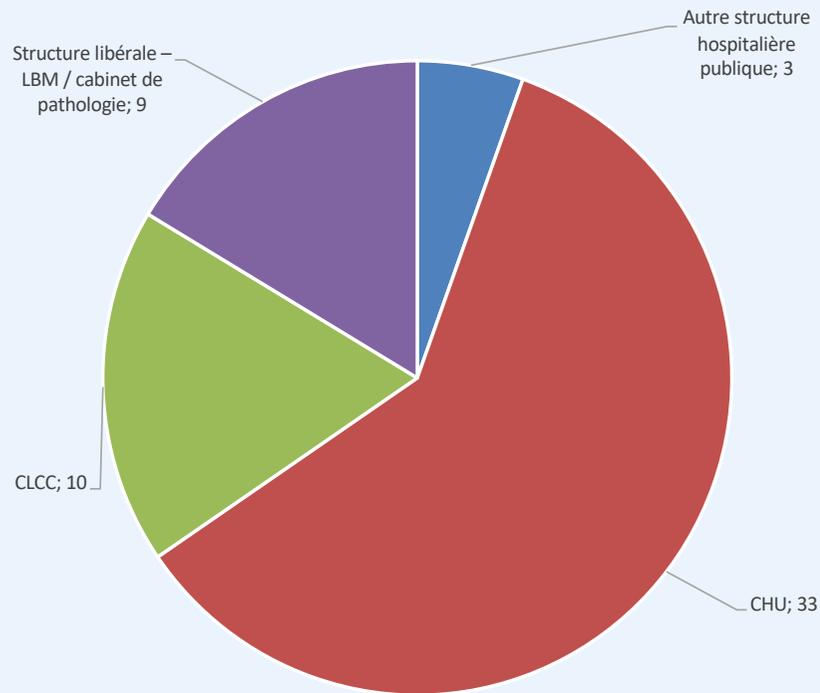


Répartition des techniques HRD sur 17 réponses en 2024

ACTIVITÉ DES LABORATOIRES



Organisation du laboratoire



Origine des prélèvements (n=55)

51 interne / externe

2 uniquement interne

2 uniquement externe

Recrutement

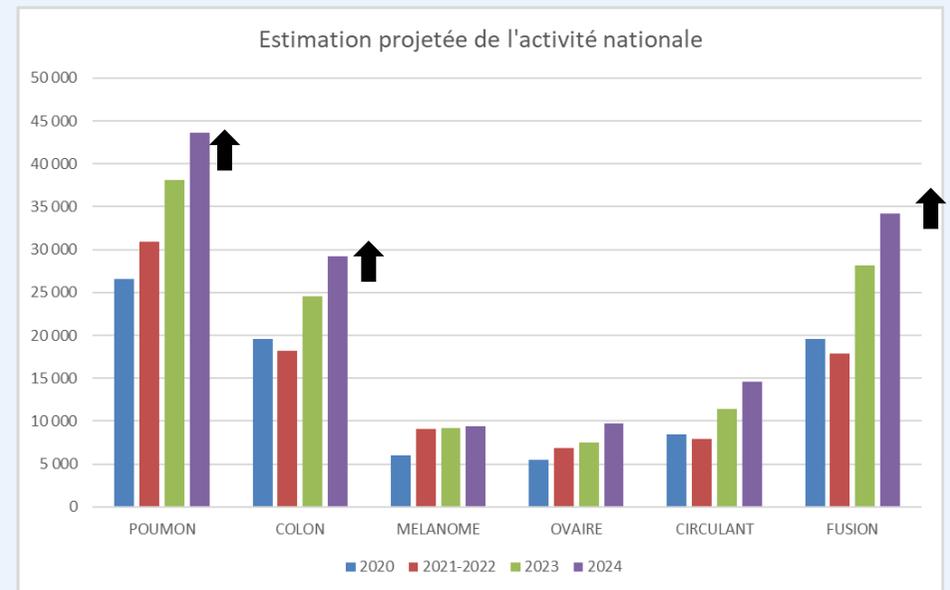
	Répartition	%
Proximité immédiate	24	45%
Départementale	27	51%
Régionale	34	64%
Nationale	15	28%
Internationale	3	6%

Evaluation des volumes d'activités

Estimation de l'activité hebdomadaire et extrapolation

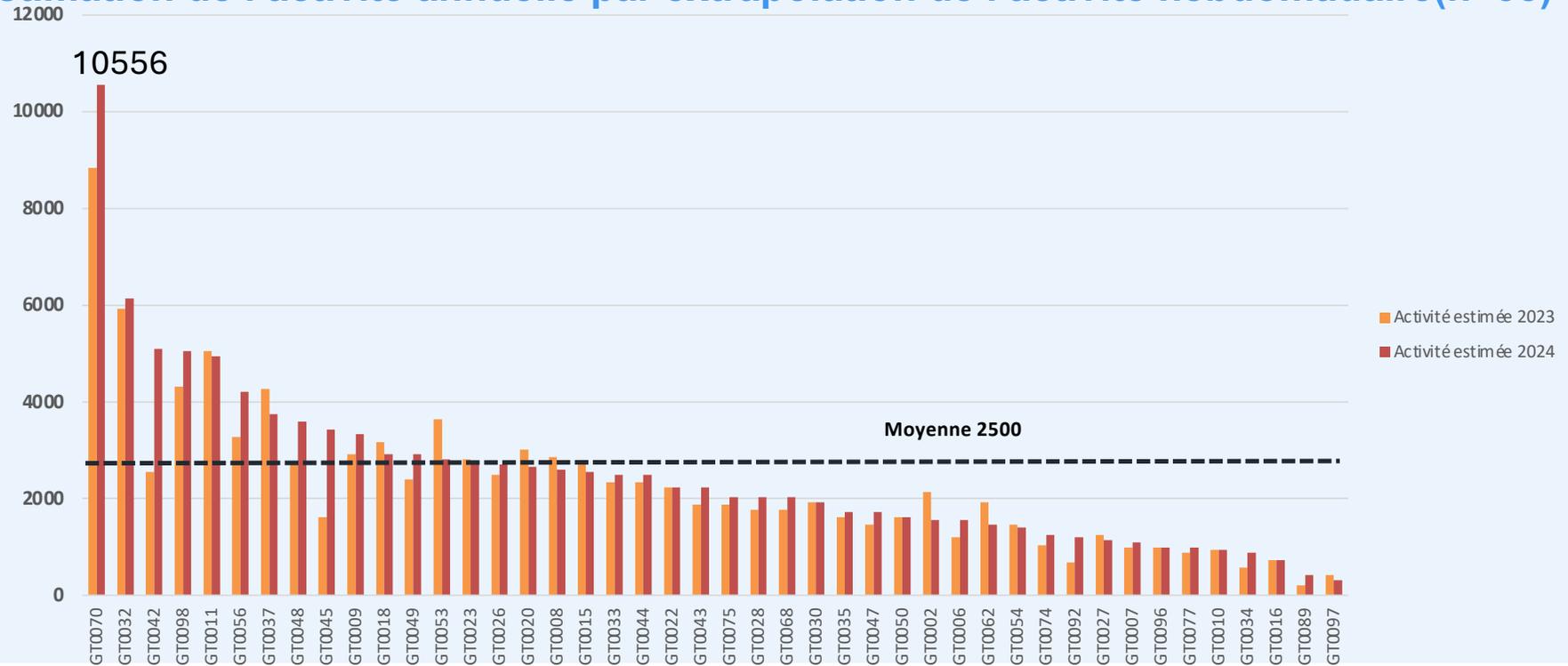
	Min.	Max.	Série par semaine	Moyenne par semaine	Extrapolation	
					2022	2023
POUMON	1	71	1	14	14	38 064
COLON	1	44	1	9	8	24 596
MELANOME	1	15	1	4	4	9 152
OVAIRE	1	15	1	4	3	7 488
CIRCULANT	1	25	1	6	4	11 440
FUSION	1	48	1	12	8	28 132

Estimation de l'activité hebdomadaire et extrapolation (pondération des non réponses pour 10 cas) – n=55



Evaluation des volumes d'activités

Estimation de l'activité annuelle par extrapolation de l'activité hebdomadaire(n=55)



Organisation des structures

Répartition des structures en fonction de leur type (n=55)

2024	Répartition	Préanalytique	Extraction ADN	Analytique	Post-analytique
Service de génétique somatique	21				
Service d'anatomie pathologique	8				
Plateforme commune technique	8				
Plusieurs structures	18				
	Service d'anatomie pathologique	17	1	0	3
	Service de génétique somatique	1	15	14	15
	Plateforme commune technique	0	2	4	0

RCP moléculaire

Réponses n=55 – 23 RCPM en 2024

Evolution des répondeurs +++

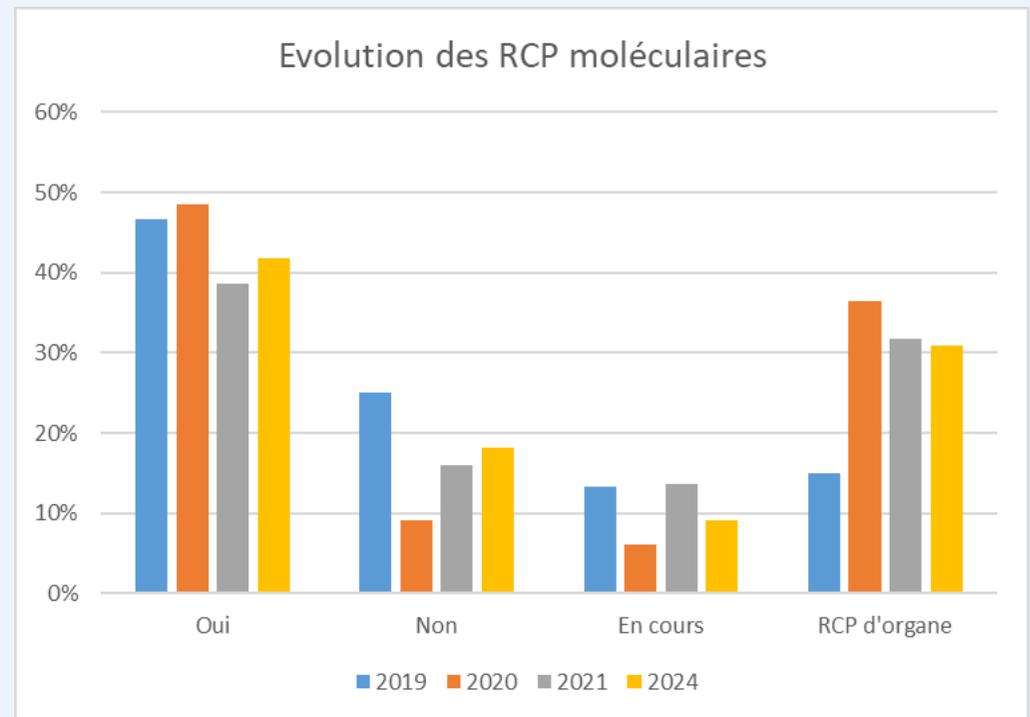
Régularité (n=23)

Trimestrielle 1

Mensuelle 6

Toutes les deux semaines 9

Une fois par semaine 7



gen&tiss

Contacts

Association Française d'Assurance Qualité en Anatomie Pathologique (AFAQAP)

Jean-Pierre Bellocq
+33 (0)3 88 12 81 41

Groupe Francophone de Cytogénomique Oncologique (GFCO)

Etienne Rouleau
+33 (0)1 42 11 44 08

