

EEQ Analyses moléculaires sur ADN tumoral circulant

Campagne 2025

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

1. Principe

Les modules ADN tumoral circulants sont dédiés à l'évaluation de la recherche d'altérations dans des échantillons de plasma contenant de l'ADN humain provenant de lignées cellulaires.

Le module 2025-GAE est constitué de 4 échantillons pour la recherche des altérations du gène EGFR.

Le module 2025-GAA est constitué de 2 échantillons pour la recherche des altérations du gène KRAS et 2 échantillons pour la recherche de variants des gènes NRAS/BRAF.

Pour la campagne 2025, nous avons mis en place un nouveau procédé de production auprès d'un fournisseur certifié ISO 13485:2016, visant à améliorer la représentativité des échantillons, et garantissant la qualité ainsi que la traçabilité du matériel.

Chaque tube contient 2ml de plasma humain avec en moyenne 30ng/ml cfDNA.

Module	Identification des échantillons		Réponses obligatoires
Module 2025-GAE	25-ADN circulant-EGFR-01	1 tube (2 ml)	EGFR
Module 2025-GAE	25-ADN circulant-EGFR-02	1 tube (2 ml)	EGFR
Module 2025-GAE	25-ADN circulant-EGFR-03	1 tube (2 ml)	EGFR
Module 2025-GAE	25-ADN circulant-EGFR-04	1 tube (2 ml)	EGFR
Module 2025-GAA	25-ADN circulant-KRAS-01	1 tube (2 ml)	KRAS
Module 2025-GAA	25-ADN circulant-KRAS-02	1 tube (2 ml)	KRAS
Module 2025-GAA	25-ADN circulant-BRAF/NRAS-01	1 tube (2 ml)	NRAS/ BRAF
Module 2025-GAA	25-ADN circulant-BRAF/NRAS-02	1 tube (2 ml)	NRAS/ BRAF

Les échantillons sont expédiés à température ambiante. **A réception, vous pouvez procéder à l'extraction directement, ou conserver les échantillons à 4-8°C jusqu'à l'extraction.**

Il est important de ne pas les laisser à température ambiante si l'extraction n'est pas immédiate.

Points importants avant de commencer l'analyse :

- Il est recommandé de centrifuger brièvement les tubes afin d'éviter que du matériel ne soit retenu dans le couvercle.
- Afin d'obtenir une suspension bien homogène, veuillez pipeter 10 fois le contenu du tube de haut en bas. **Il ne faut pas vortexer le tube.**
- La taille des fragments d'ADN purifié dans le plasma humain est de 167 pb \pm 10 %.
- Bien que la présence et la fréquence de chaque mutation et/ou amplification aient été évaluées lors de la production du matériel à l'aide d'un test ddPCR, il peut toutefois exister des différences dans les fréquences alléliques observées en raison des caractéristiques spécifiques de chaque méthode d'analyse.

Après extraction de l'ADN, le laboratoire 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.**

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

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 dans la nouvelle plateforme Qualytest.

3. 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 thérapie 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.

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.

4. Demande de matériel supplémentaire

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

1. Non réception de l'envoi d'échantillons
2. Problème technique lors de l'analyse (ex : perte de matériel lors de l'extraction)

La situation n° 1 **est prioritaire** sur la situation n°2.

La demande doit être adressée par courrier électronique à 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 **15/02/2026**

5. Transmission des résultats

Les résultats doivent être soumis au plus tard le **09/03/2026** via la nouvelle plateforme Qualytest.

Dans le cas où vous n'auriez pas déjà participé à d'autres modules de la campagne 2025, les modalités de connexion à la nouvelle plateforme de saisie de résultats Qualytest vous seront envoyées par voie électronique.

Un guide d'utilisation est disponible en ligne depuis le site gen&tiss, vous pouvez y accéder via le lien : [Guide Utilisateur-Qualytest](#)

6. Notation

L'évaluation du laboratoire participant porte sur les résultats de génotypage ainsi que sur l'interprétation des résultats de génotypage.

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)**.

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 fausse 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)

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.

b. 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.

c. Certificat de participation

Un certificat individuel de participation sera émis pour chaque laboratoire participant.

Le résultat général pour chaque module 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.

7. 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.

8. 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