N° I0SLJ

Un Contrôle Inter-Laboratoires (CIL) national pour évaluer la robustesse du test Endopredict, signature génomique du cancer du sein RE+/HER2- réalisé en décentralisé

Jacqueline Lehmann-Che[1], Isabelle Soubeyran[2] , Catherine Miquel[3] , Magali Lacroix-Triki[4], Etienne Rouleau[4]

[1]APHP, Oncologie Moléculaire, Hôpital Saint Louis Paris , [2]Département de biopathologie, Institut Bergonié Bordeaux , [3]APHP, Service de Pathologie, Hôpital Saint Louis Paris, [4]Département de Biologie et Pathologie, Gustave Roussy, Villejuif

Remerciements aux centres participants

Contexte

Les signatures génomiques (SG) se sont imposées dans la prise en charge des patientes atteintes d'un cancer du sein précoce, récepteur aux oestrogènes positif et HER2 négatif (RE+/HER2-) et font maintenant partie intégrante du schéma de soin. Elles complètent les critères cliniques traditionnels pour évaluer le risque de récidive et guider les décisions thérapeutiques. Leur validité clinique repose non seulement sur l'efficacité à identifier des patientes à risque faible ou élevé mais dépend aussi de la robustesse du test utilisé. Parmi ces signatures, EndoPredict® (Myriad Genetics) repose sur **l'analyse d'expression de 12 gènes par qRT-PCR** sur tissu tumoral FFPE, combinée aux critères de taille pathologique de la tumeur (pT) et d'envahissement ganglionnaire vu par le pathologiste (pN) en un score de risque de rechute à 10 ans[1].

Cette analyse est effectuée de **façon décentralisée**[2] dans les laboratoires de biologie médicale ou de pathologie, souvent accrédités ISO 15189, avec une obligation de maitrise du processus et du résultat rendu. Ainsi, en l'absence d'Evaluation Externe de la Qualité (EEQ) disponible, nous avons mis en place un contrôle inter-laboratoires (CIL)[3] pour satisfaire aux exigences de la norme.

Méthodologie

- Sélection de 1 ou 2 cas de tumeur du sein RE+/HER2- par les pathologistes
- Réalisation de coupes FFPE de 10µm, contrôles de la cellularité tumorale par des HES intermédiaires et conditionnement
- Distribution des coupes à l'ensemble des plateformes participantes, accompagnées d'une prescription précisant le pT et pN pour le calcul du risque
- Recueil des données:
  - score moléculaire EP/ score combiné Epclin/ classe de risque et % de risque de rechute à 10 ans
  - 15 valeurs de CT des gènes du qRef (échantillon de référence fourni avec le kit, analysé sur chaque plaque de qRT-PCR), pour chaque centre, répartis sur la période entre 2 CIL
- Centralisation et exploitation des résultats au laboratoire d'oncologie moléculaire St Louis.
- Communication des résultats aux laboratoires participants et établissement d'un certificat de participation et de succès délivré sous l'égide de Gen&Tiss.

Résultats

Depuis 2017, 4 CIL ont été organisés et ont permis d'évaluer la reproductibilité inter-laboratoires du test pour un nombre croissant de laboratoires

Au total, **7 cas** ont été analysés, soit un total de **64 tests** sur l'ensemble des laboratoires

2017 n=6	2018 n=8	2020 n=9	2022 n=12
APHP-St Louis, Paris	APHP-St Louis, Paris	APHP -St Louis- Paris	APHP -St Louis- Paris
J Perrin, Clermont Ferrand	J Perrin, Clermont Ferrand	J Perrin, Clermont Ferrand	J Perrin – Clermont Ferrand
G Roussy, Villejuif	G Roussy - Villejuif	G Roussy - Ville juif	G Roussy - Ville juif
Imagénome, Montpellier	Imagénome- Montpellier	Imagénome- Montpellier	Imagénome- Montpellier
E. Marquis, Rennes	E. Marquis, Rennes	E. Marquis, Rennes	E. Marquis, Rennes
Institut Curie, Paris	/	/	/
	A. Lacassagne, Nice	A. Lacassagne, Nice	A. Lacassagne, Nice
	Institut Bergonié - Bordeaux	Institut Bergonié - Bordeaux	Institut Bergonié - Bordeaux
	GF Leclerc (CGFL), Dijon	GF Leclerc (CGFL), Dijon	GF Leclerc (CGFL), Dijon
		Institut de Cancérologie de l'Ouest (ICO) – St Herblain	Institut de Cancérologie de l'Ouest (ICO) – St Herblain
			Cerba- St Ouen
			Medipath
			Savoie Mont-Blanc Pathologie

Centres participants

	2017			2018						2020						2022					
	1			2			3			4			5			6			7		
	EP	Epclin	risque	EP	Epclin	risque	EP	Epclin	risque	EP	Epclin	risque	EP	Epclin	risque	EP	Epclin	risque	EP	Epclin	risque
moyenne	4,97	3,07	8,0%	6,21	3,09	8%	5,98	3,66	14%	7,81	3,88	17%	5,40	2,84	6%	8,42	4,04	19%	6,20	3,43	11%
écart type	0,24	0,05	0,60%	0,21	0,06	0,60%	0,21	0,05	0,70%	0,19	0,07	0,70%	0,17	0,05	0,50%	0,17	0,07	0,80%	0,11	0,04	0,40%
médiane	5,00	3,10	8,0%	6,25	3,10	8%	6,00	3,70	14%	7,80	3,90	16%	5,40	2,80	6%	8,35	4,00	19%	6,20	3,40	11%
extrêmes	4,6-5,2	3-3,1	7-9%	5,8-6,5	3,0-3,2	7-9%	5,7-6,3	3,6-3,7	13-15%	7,6-8,2	3,8-4	16-18%	5,1-5,7	2,8-2,9	6-7%	8,3-8,8	4,0-4,2	19-21%	6,1-6,4	3,4-3,5	11-12%

Résultats des CIL par cas (1 à 7) et par année: Score EP= score moléculaire issu de l'analyse par qRT-PCR,
Score Epclin = score moléculaire combiné aux paramètres pN et pT fournis, Risque de rechute à 10 ans calculé selon le score Epclin. Le risque est rendu sous forme d'un nombre entier
Seuil d'Epclin = 3,33. Epclin <3,33 = risque faible (< 10% de risque de rechute à 10 ans), Epclin ≥ 3,33 = risque élevé (≥ 10% de risque de rechute à 10 ans).

Aucune discordance de classe de risque n'a été observée, y compris pour des cas proches du seuil de positivité du test (3,33).
Les scores EP, EPclin et le pourcentage de risque présentent un écart-type moyen de 0,18 ; 0,05 et 0,6% respectivement .
Compte tenu du résultat uniquement rendu sous forme de nombre entier (arrondi) pour le risque de rechute, l'écart maximal entre 2 centres est de 2%.

Sur une période de 5 ans (2018-2022), incluant au minimum 8 plateformes et analysant des lots de qRef différents, les valeurs de CT du qRef sont stables et reproductibles sur les 11 gènes évalués et entrant dans le calcul de l'EP (le 12ème gène (HBB) évalue la contamination en ADN et n'entre pas dans le score EP). Sur un total de **435 analyses de qRef** colligées, les écart-types des valeurs de CT sont ≤ 0,5 (moyenne=0,38; [0,25-0,5]) pour 10 gènes sur les 11. Un seul gène (BIRC5), dont le CT moyen est le plus élevé, présente une dispersion plus importante avec un écart-type de 0,73.

n=435	BIRC5	OAZ1	DHCR7	IL6ST	MGP	CALM2	RBBP8	STC2	UBE2C	RPL37A	AZGP1
moyenne sur 5 ans	26,10	22,62	24,39	24,04	25,56	21,05	25,99	24,58	23,92	18,64	26,28
écart type sur 5 ans	0,73	0,48	0,50	0,37	0,39	0,25	0,28	0,31	0,39	0,43	0,38

Alignement des valeurs de CT du qRef par gène analysé, sur l'ensemble des plateformes participantes pour les 3 CIL 2018-2020 et 2022. En tête de colonne, le nom des gènes dont l'expression est quantifiée.

La quantification de l'expression de gènes sur ARN extrait de tissus FFPE est reproductible.
L'ensemble des données du CIL montre que le test décentralisé est robuste, dans le temps et quelque soit le centre effecteur expert formé au test.

Le CIL du test EndoPredict®, organisé à l'échelon national, permet de pallier au défaut d'EEQ national ou international et de satisfaire à l'exigence de la norme ISO 15189. C'est à notre connaissance la seule démarche d'assurance qualité menée sur une SG en France et en Europe.
Au-delà de l'intérêt normatif, ce CIL a permis de confirmer, dans le temps, la **robustesse du test** EndoPredict® réalisé de façon décentralisée. Ces éléments de fiabilité d'un test contribuent à l'intérêt clinique de tels outils, conditionnant aujourd'hui la prise en charge de patientes atteintes d'un cancer du sein précoce RE+/HER2- avec une possible désescalade thérapeutique.
Il serait souhaitable que de telles démarches se généralisent à toutes les signatures génomiques et qu'un EEQ européen soit mis à disposition.

1/ Filipits, M., et al. (2011). A new molecular predictor of distant recurrence in ER-positive, HER2-negative breast cancer adds independent information to conventional clinical risk factors. Clinical Cancer Research, 17(18), 6012-6020.
2/ Kronenwett, R., et al. (2012). Decentral gene expression analysis: Analytical validation of the Endopredict genomic multianalyte breast cancer prognosis test. BMC Cancer, 12(1), 456.
3/ Lehmann-Che J. et al (2018). First French Pilot Quality Assessment of the EndoPredict Test for Early Luminal Breast Carcinoma. Anticancer Res. 38(5):2909-2914.
Nous remercions la société Myriad Genetics pour l'accompagnement dans l'organisation répétée de ce CIL.