



Recherche des mutations de la Calréticuline

CQ 21.1 : 33 LABORATOIRES PARTICIPANTS

Carole MAUTE

ECHANTILLONS

CQ 21.1

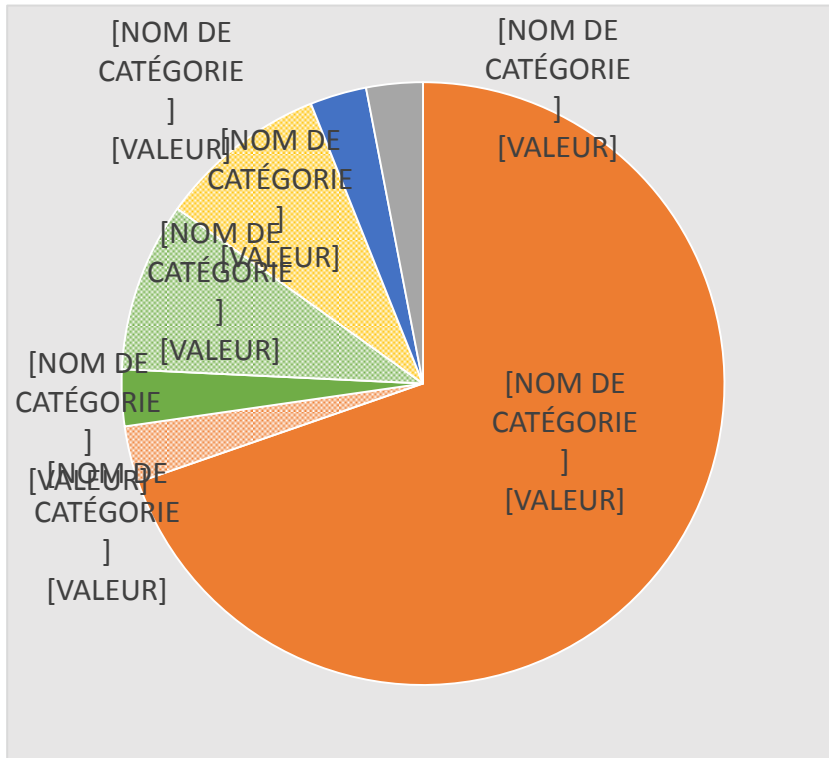
- **Campagne d'EEQ :**
 - 4 échantillons d'ADN de patients
 - CQ21.1 CAL A
 - CQ21.1 CAL B
 - CQ21.1 CAL C
 - CQ21.1 CAL D
- **Travaux à réaliser :**
 - 1) Doser les ADN
 - 2) Rechercher les mutations de la Calréticuline

METHODOLOGIE

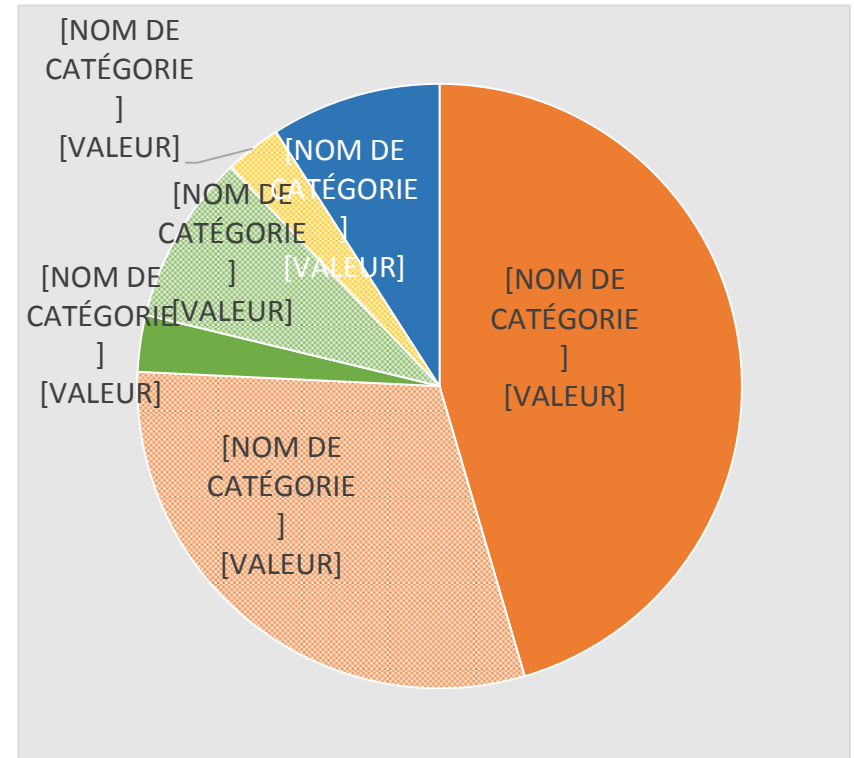
AF = Analyse de Fragments

S = Séquençage SANGER

CQ pilote



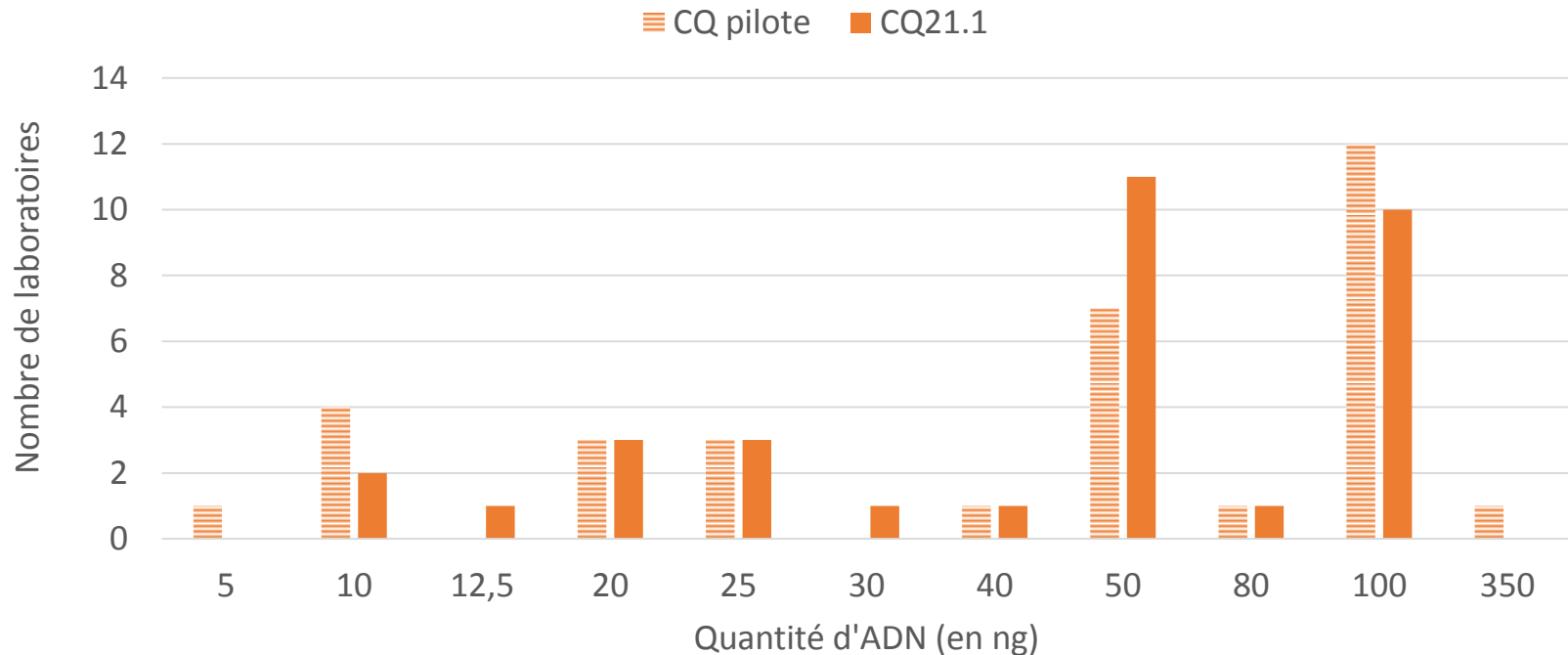
CQ 21.1



- La majorité des laboratoires réalisent l'analyse de CALR par **Analyse de fragments** (76%)
 - 45% font de l'**Analyse de fragments** seule (70% au CQ pilote)
 - 30% l'associent au séquençage SANGER (3% au CQ pilote)
- 3 Laboratoires font du **NGS** (1 seul lors du CQ pilote)

METHODOLOGIE

■ Quantité d'ADN utilisée (en ng)



Elle est variable d'un laboratoire à un autre (de 10 à 100 ng pour le CQ21.1)

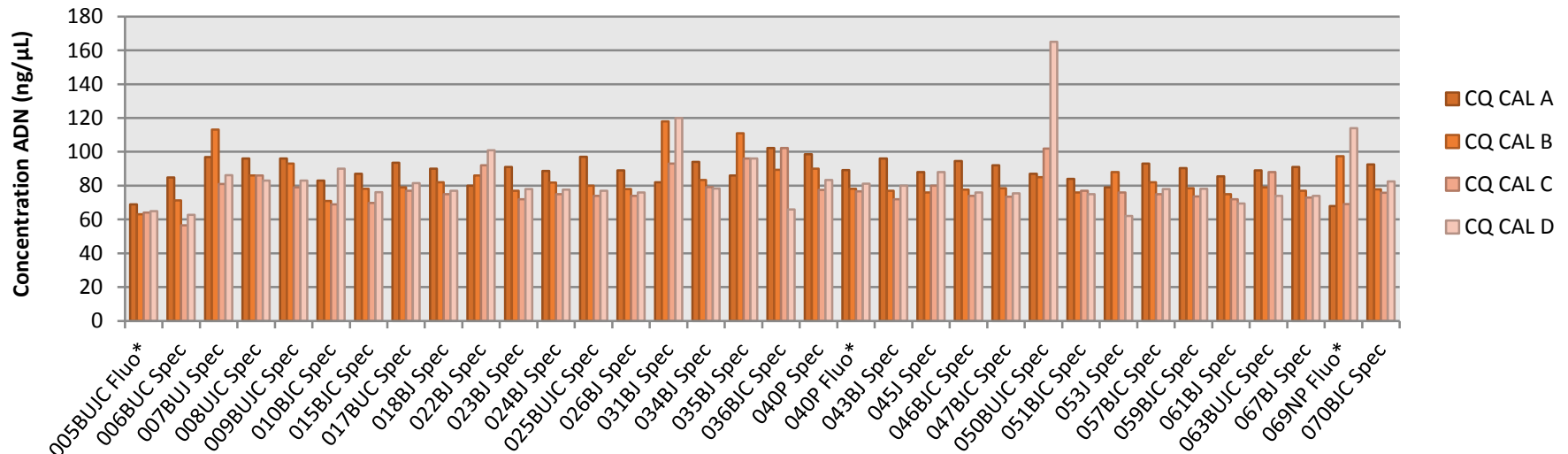
➔ **La majorité des laboratoires utilise 50 ou 100ng d'ADN**

58% pour le CQ pilote contre 64% pour le CQ21.1

RESULTATS

RESULTATS DOSAGE

→ Dosage par spectrophotométrie (N=31)

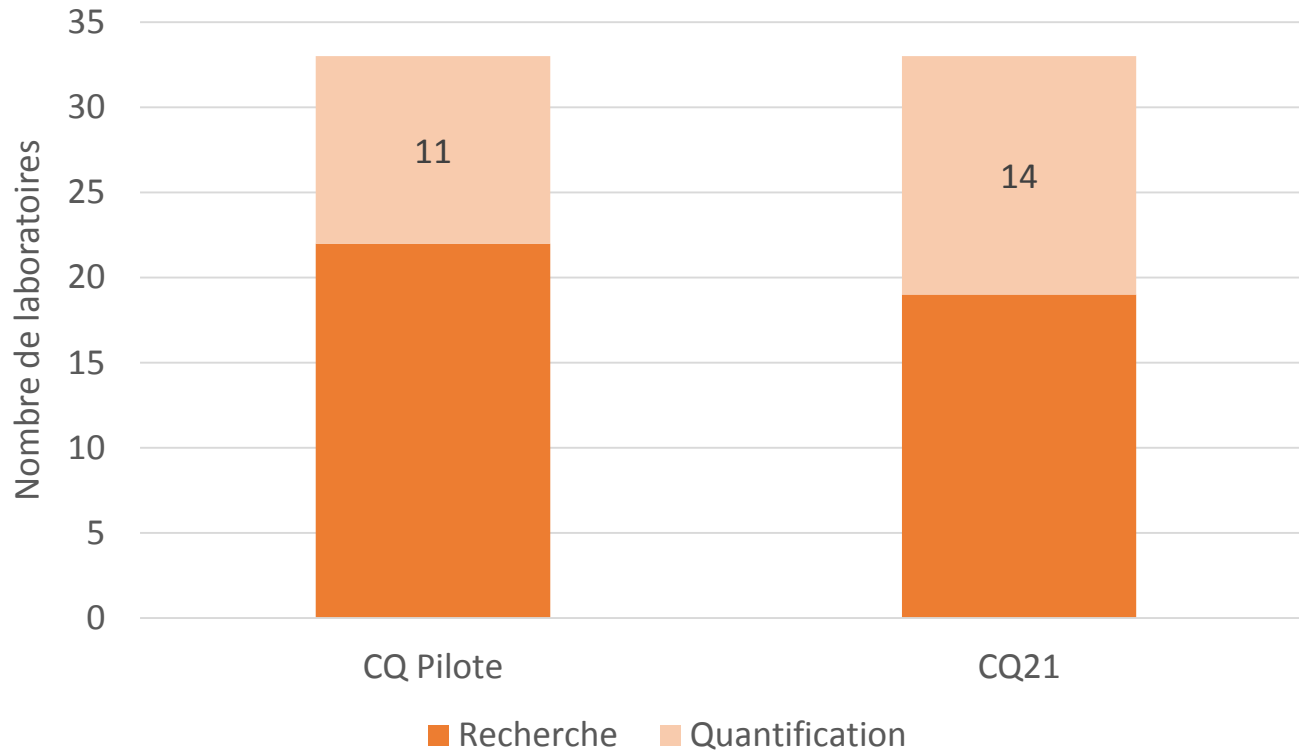


* Laboratoires non évalués

SPECTRO	CQ CAL A	CQ CAL B	CQ CAL C	CQ CAL D
MOYENNE	90,3	83,7	78,7	82,9
ECART TYPE	5,6	11,4	9,9	18,8
MIN	79,0	71,0	56,5	62,0
MAX	102,2	118,0	102,3	165,0
CV (%)	6,3	13,6	12,6	22,7

→ Dosage par fluorimétrie (N=3) non évalué, effectif trop faible

RESULTATS CQ21.1



➤ **42% des laboratoires quantifient les mutations contre 33% au CQ pilote.**

RESULTATS CQ21.1 CAL A

AF = Analyse de Fragments

S = Séquençage SANGER

■ Echantillon CQ21.1 CAL A (N=33)

□ Mutation de type 1 (délétion 52 pb)

- 100% des laboratoires voient une mutation
- 97% la qualifient correctement

Code	CQ CAL A
005BUJC - NGS	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
006BUC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
007BUJ - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
008UJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
009BUJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
010BJC - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
015BJC - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
017BUC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
018BJ - HRM+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
022BJ - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
023BJ - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
024BJ - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
025BUJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
026BJ - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
031BJ - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
034BJ - NGS	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
035BJ - NGS	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
036BJC - HRM+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
040P - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
043BJ - HRM+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
045J - HRM	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
046BJC - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
047BJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
050BUJC - S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
051BJC - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
053J - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
057BJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
059BJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
061BJ - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
063BUJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
067BJ - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
069NP - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
070BJC - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb

RESULTATS CQ21.1 CAL A

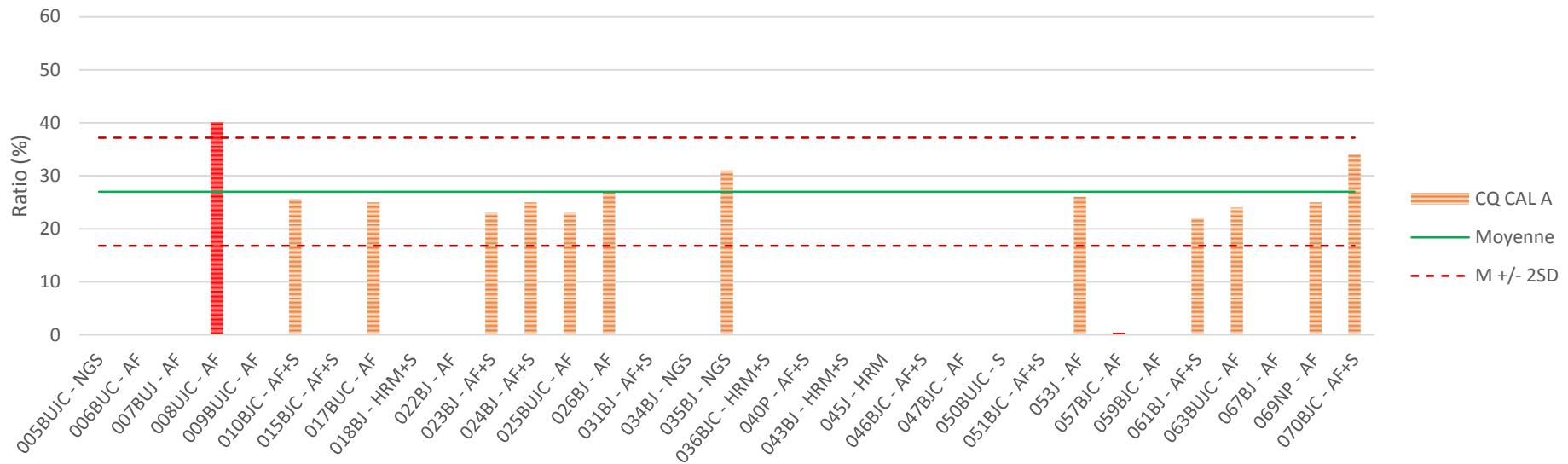
AF = Analyse de Fragments

S = Séquençage SANGER

■ Echantillon CQ21.1 CAL A (N=14)

□ Mutation de type 1 (délétion 52 pb)

- 86% des ratios rendus sont à ± 2 SD autour de la moyenne
- Moyenne Ratio = 27,0% (0,3 – 40,0)
- Ecart Type = 5,1



RESULTATS CQ21.1 CAL B

AF = Analyse de Fragments

S = Séquençage SANGER

■ Echantillon CQ21.1 CAL B (N=33)

□ Mutation de type 2 (insertion 5 pb)

- 100% des laboratoires voient une mutation
- 97% la qualifient correctement

Code	CQ CAL B
005BUJC - NGS	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
006BUC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
007BUJ - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
008UJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
009BUJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
010BJC - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
015BJC - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
017BUC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
018BJ - HRM+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
022BJ - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
023BJ - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
024BJ - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
025BUJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
026BJ - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
031BJ - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
034BJ - NGS	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
035BJ - NGS	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
036BJC - HRM+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
040P - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
043BJ - HRM+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
045J - HRM	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
046BJC - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
047BJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
050BUJC - S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
051BJC - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
053J - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
057BJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
059BJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
061BJ - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
063BUJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
067BJ - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
069NP - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
070BJC - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb

RESULTATS CQ21.1 CAL B

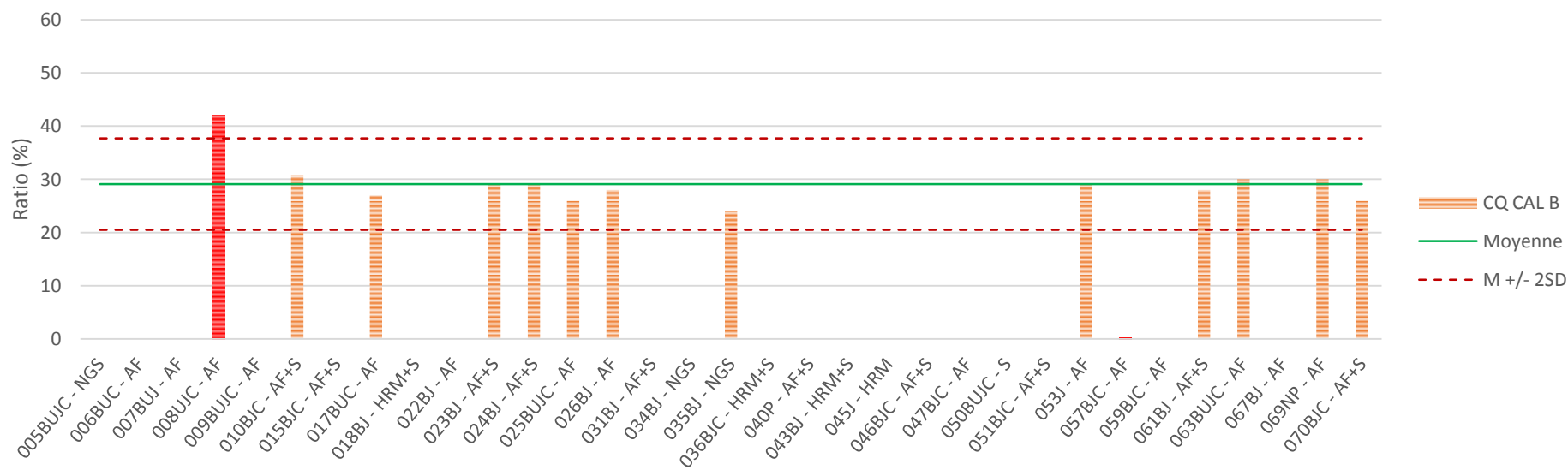
AF = Analyse de Fragments

S = Séquençage SANGER

■ Echantillon CQ21.1 CAL B (N=14)

☐ Mutation de type 2 (insertion 5 pb)

- 86% des ratios rendus sont à ± 2 SD autour de la moyenne
- Moyenne Ratio = 29,1% (0,3 – 42,0)
- Ecart Type = 4,3



RESULTATS CQ21.1 CAL C

AF = Analyse de Fragments

S = Séquençage SANGER

■ Echantillon CQ21.1 CAL C (N=33)

□ Mutation de type 1 (délétion 52 pb)

- 100% des laboratoires voient une mutation
- 100% la qualifient correctement

Code	CQ CAL C
005BUJC - NGS	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
006BUC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
007BUJ - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
008UJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
009BUJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
010BJC - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
015BJC - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
017BUC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
018BJ - HRM+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
022BJ - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
023BJ - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
024BJ - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
025BUJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
026BJ - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
031BJ - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
034BJ - NGS	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
035BJ - NGS	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
036BJC - HRM+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
040P - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
043BJ - HRM+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
045J - HRM	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
046BJC - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
047BJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
050BUJC - S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
051BJC - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
053J - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
057BJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
059BJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
061BJ - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
063BUJC - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
067BJ - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
069NP - AF	Mutation de type 1 : délétion 52 pb
070BJC - AF+S	Mutation de type 1 : délétion 52 pb

RESULTATS CQ21.1 CAL C

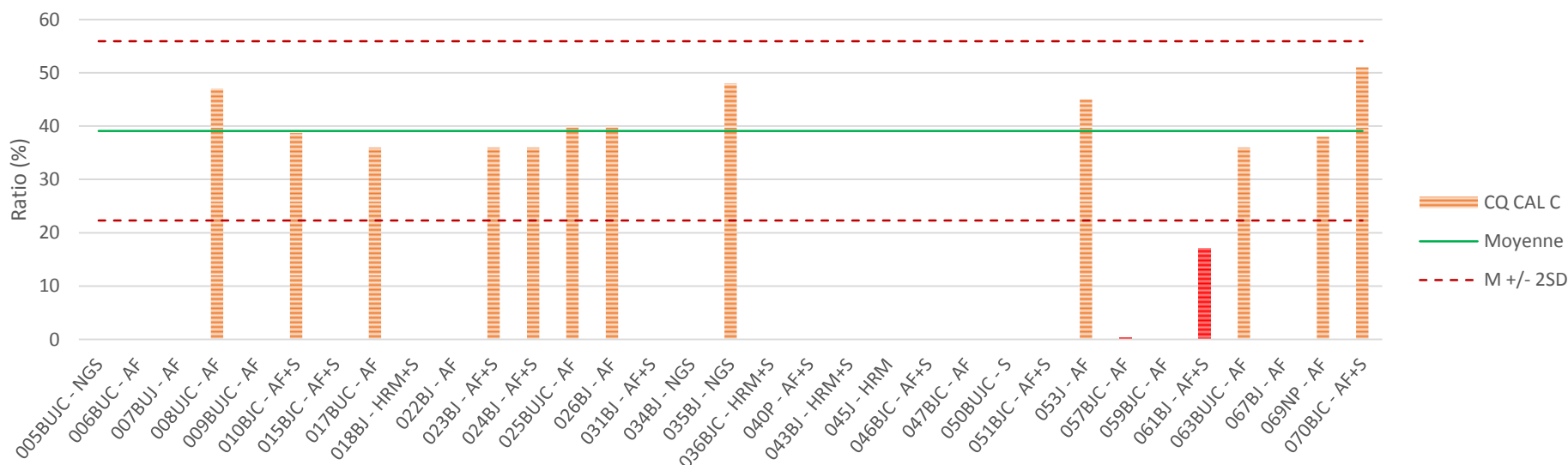
AF = Analyse de Fragments

S = Séquençage SANGER

■ Echantillon CQ21.1 CAL C (N=14)

☐ Mutation de type 1 (délétion 52 pb)

- **86% des ratios rendus sont à +/- 2 SD autour de la moyenne**
- **Moyenne Ratio = 39,1% (0,4 – 51,0)**
- **Ecart Type = 8,4**



RESULTATS CQ21.1 CAL D

AF = Analyse de Fragments

S = Séquençage SANGER

■ Echantillon CQ21.1 CAL D (N=33)

□ Mutation de type 2 (insertion 5 pb)

- 100% des laboratoires voient une mutation
- 91% la qualifient correctement

Code	CQ CAL D
005BUJC - NGS	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
006BUC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
007BUJ - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
008UJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
009BUJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
010BJC - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
015BJC - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
017BUC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
018BJ - HRM+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
022BJ - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
023BJ - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
024BJ - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
025BUJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
026BJ - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
031BJ - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
034BJ - NGS	Autre type de mutation
035BJ - NGS	Autre type de mutation
036BJC - HRM+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
040P - AF+S	Autre type de mutation
043BJ - HRM+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
045J - HRM	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
046BJC - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
047BJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
050BUJC - S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
051BJC - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
053J - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
057BJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
059BJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
061BJ - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
063BUJC - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
067BJ - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
069NP - AF	Mutation de type 2 : insertion 5 pb
070BJC - AF+S	Mutation de type 2 : insertion 5 pb

RESULTATS CQ21.1 CAL D

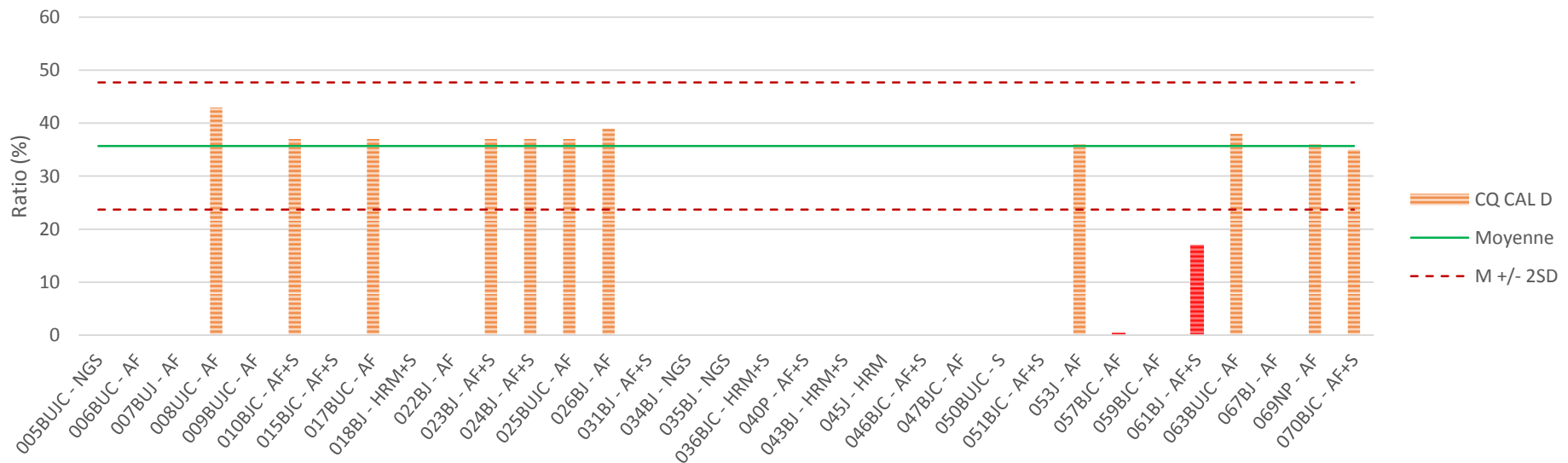
AF = Analyse de Fragments

S = Séquençage SANGER

■ Echantillon CQ21.1 CAL D (N=14)

□ Mutation de type 2 (insertion 5 pb)

- 86% des ratios rendus sont à ± 2 SD autour de la moyenne
- Moyenne Ratio = 35,7% (0,4 – 43,0)
- Ecart Type = 6,0



RESULTATS CQ21.1 CAL D

AF = Analyse de Fragments

S = Séquençage SANGER

■ Echantillon CQ21.1 CAL D (N=33)

☐ Mutation de type 2 (insertion 5 pb)

➤ Autres mutations rendues

Code labo	Méthode	Type de mutation	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa	Commentaires
034BJ	NGS	Autre type de mutation	c1154_1155insTTGTC	pK385Nfs*47	VAF à 32,2%
			c1154delinsTTTGTC	pK385Ifs*47	VAF à 6,3%
035BJ	NGS	Autre type de mutation	NM_004343.3(CALR_v001) c.1154_1155insTTGTC	NM_004343.3(CALR_v001) p.(Lys385Asnfs*47)	
			NM_004343.3(CALR_v001) c.1154delinsTTTGTC	NM_004343.3(CALR_v001) p.(Lys385Ilefs*47)	
040P	AF + SANGER	Autre type de mutation	c.1154delinsTTTGTC	p.Lys385Ilefs*47	

CONCLUSIONS

AF = Analyse de Fragments

S = Séquençage SANGER

[illegible]

CONCLUSIONS

AF = Analyse de Fragments

S = Séquençage SANGER

Résultats très satisfaisants

- Typage
 - ✓ 100% des mutations détectées contre 94% au CQ pilote
 - ✓ 100% des laboratoires typent la mutation contre 97% au CQ pilote
 - ✓ En moyenne, 96% des laboratoires rendent la bonne mutation contre 89% au CQ pilote
- Quantification
 - ✓ 86% des ratios rendus sont à +/- 2 SD autour de la moyenne pour les 4 échantillons

Prochains EEQ

- Ratios des échantillons
 - ✓ Actuellement, ratios entre 27 et 40%
 - Echantillons plus bas ?
 - Quel niveau ? (Seuil de détection, seuil clinique, ...)
- Le séquençage est-il indispensable aux rendus de résultats ?

Echantillons CQ21.1 CAL D

- C. 1154delinsTTTGTC vu par 4 laboratoires (dont 3 NGS) en plus de la mutation de type 2
- ➔ Ajouter dans le formulaire de rendu des résultats les options :
 - Type 1 + autre mutation
 - Type 2 + autre mutation

Le séquençage est-il indispensable aux rendus de résultats ?

- Séquençage des mutations atypiques

Prochains EEQ

- Echantillons avec des ratios (%) entre 10% et 20%
- Pas de notation pour la quantification de la mutation

BANQUES D'ÉCHANTILLONS

- **Format**
 - Échantillons d'ADN patients
- **But**
 - Avoir des échantillons EEQ proches de ceux analysés en routine
 - Anonymisation des échantillons envoyés lors des EEQ
- **Ressources**
 - Échantillons d'ADN provenant des laboratoires membres du GBMHHM
 - 45µg d'ADN à une concentration minimum de 100ng/µL
 - Possibilité d'envoyer du sang → Extraction faite sur la plateforme

Des volontaires pour alimenter la banque d'échantillons?