

**RISQUES BIOLOGIQUES POUR LA SANTE
QUALITE DES LABORATOIRES**

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE et D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE
COMITE DES EXPERTS**

**EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE
DES ANALYSES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE**

RAPPORT GLOBAL PROVISOIRE

Examens de génétique

Détection gène de fusion *NPM::ALK*

ENQUETE 2023/6

Sciensano/Examens génétique-2-FR

Risques biologiques pour la santé
Qualité des laboratoires
Rue J. Wytsman, 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.sciensano.be

| |
|---------------------------|
| COMITE DES EXPERTS |
|---------------------------|

| Sciensano | | | | | |
|--------------------|-----------------------------------|---------|--------------------------------------------------------------------------------------|------|--------------|
| Secrétariat | | TEL: | 02/642.55.21 | FAX: | 02/642.56.45 |
| | | e-mail | ql_secretariat@sciensano.be | | |
| Joséphine Lantoine | Coordinateur d'enquête | TEL: | 02/642 53 94 | | |
| | | e-mail: | Josephine.lantoine@sciensano.be | | |
| Bernard China | Coordinateur d'enquête remplaçant | TEL: | 02/642 52 08 | | |
| | | e-mail: | bernard.china@sciensano.be | | |
| Vanessa Ghislain | Coordinateur d'enquête remplaçant | TEL: | 02/642 53 85 | | |
| | | e-mail: | Vanessa.ghislain@sciensano.be | | |
| Experts | Institution | | | | |
| Barbara Denys | UZGENT | | | | |
| Evelien Heylen | ZNA | | | | |
| Frédéric Lambert | CHU LIEGE | | | | |
| Brigitte Maes | Jessa Ziekenhuis | | | | |
| Freya Vaeyens | UZ Brussel | | | | |
| Jacques Van Huysse | AZ Sint Jan | | | | |
| Roberto Salgado | GZA | | | | |
| Patrick Pauwels | UZA | | | | |
| Pierre Heimann | LHUB | | | | |

Un draft de ce rapport a été transmis aux experts le 29/11/2023.

Ce rapport n'a pas été discuté lors de la réunion du comité des experts. Les experts ont été invités pour envoyer leurs remarques via e-mail.

Autorisation du rapport : par Joséphine Lantoine, coordinateur d'enquête

Date de publication : 13/12/2023

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires>

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES

| | | |
|------------|----------------------------------------------------------------|----------|
| 1 | ECHANTILLONS..... | 4 |
| 2 | PARTICIPATION..... | 4 |
| 3 | RÉSULTATS | 5 |
| 3.1 | Résultats par échantillon par technique utilisée | 5 |
| 3.1.1 | Groupe FISH..... | 5 |
| 3.1.2 | Groupe PCR | 5 |
| 3.2 | Résultats par laboratoire | 5 |
| 3.2.1 | Groupe FISH..... | 5 |
| 3.2.2 | Groupe PCR | 6 |
| 3.3 | Commentaires..... | 7 |
| 4 | MÉTHODOLOGIES UTILISÉES | 7 |
| 4.1 | Groupe FISH..... | 7 |
| 4.2 | Groupe PCR | 7 |
| 5 | CONCLUSIONS SUR LES PERFORMANCES DES LABORATOIRES | 7 |

1 Echantillons

La fabrication des échantillons NPM-ALK a été sous-traitée à la firme Sanbio (Frontstraat 2-C, 5405 PB Uden, NL) qui travaille avec la firme Histocyte (Neon Building Quorum Business Park Benton Lane, Newcastle upon Tyne NE12 8BU, UK). Dans le cadre de ces enquêtes, 75 lames en verre positivement chargées et présentant 2 coupes FFPE de 4 µm d'épaisseur réalisées à partir de lignées cellulaires (adénocarcinome du sein ou lymphome anaplasique à large cellules) nous ont été fournies pour chaque paramètre.

Chaque lame présente donc deux spots l'un Wild-type et l'autre présentant la mutation (gène de fusion *NPM::ALK*)

Cas clinique spot A : Femme de 65 ans présentant un lymphome anaplasique à grandes cellules. Vous recevez des coupes FFPE d'une biopsie effectuée chez le patient pour déterminer par FISH ou PCR le sous-type de LAGC en vue de guider le choix thérapeutique.

Cas clinique spot B : Homme de 30 ans présentant un lymphome anaplasique à grandes cellules. Vous recevez des coupes FFPE d'une biopsie effectuée chez le patient pour déterminer par FISH ou PCR le sous-type de LAGC en vue de guider le choix thérapeutique.

2 Participation

9 laboratoires se sont inscrits pour les enquêtes.

La distribution des participants s'effectue comme suit :

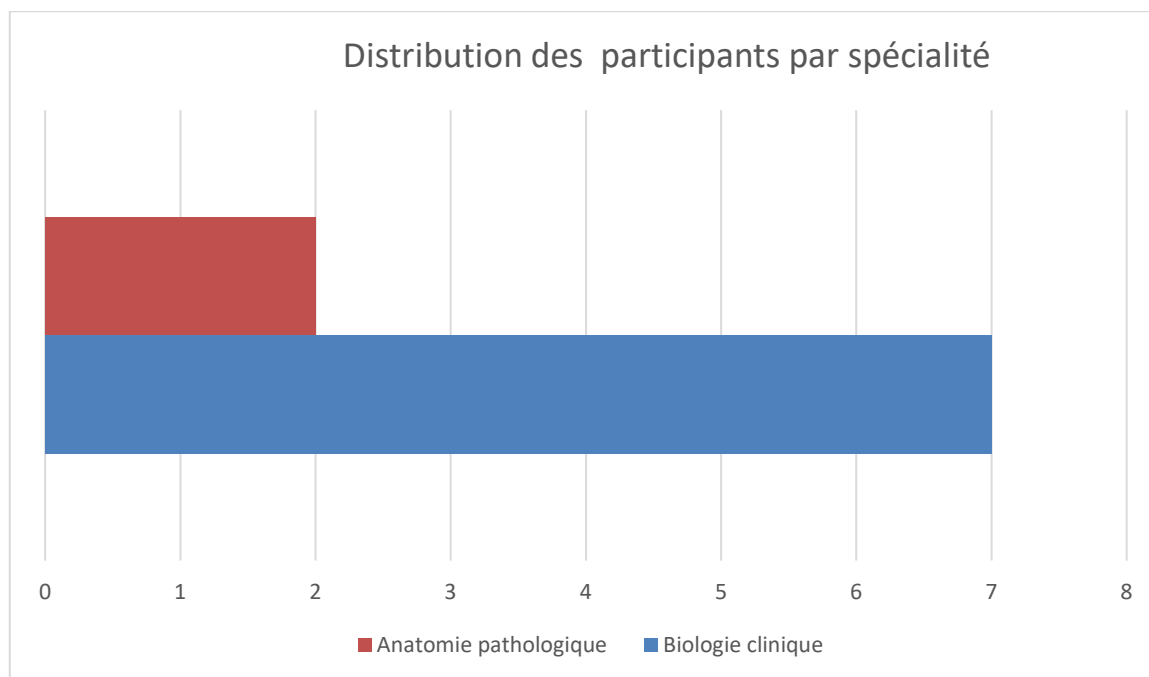


Chart 1 : Distribution des laboratoires inscrits par spécialités

Veillez noter que 3 laboratoires de biologie clinique se sont désinscrits après l'envoi des échantillons. Comme il s'agit d'une erreur d'inscription de la part des laboratoires et de plus d'une désinscription tardive, nous n'avons pas désinscrits ses laboratoires. Ceux-ci ont reçu un score « échec » suite à leur désinscription tardive.

3 Résultats

Les laboratoires ont reçu 4 coupes FFPE de 4 µm d'épaisseur réalisées à partir de lignées cellulaires. Chaque lame présente deux spots comme illustré ci-dessous. Chaque spot correspond à un cas clinique différent.



3.1 Résultats par échantillon par technique utilisée

3.1.1 Groupe FISH

| Echantillon | Résultats attendus | Résultats encodés | Nombre de laboratoires (%) |
|---------------------------|--------------------|-------------------|----------------------------|
| NPM-ALK 2023 SPOT A | ALK-négatif | ALK-négatif | 3 (100) |
| NPM-ALK 2023 SPOT B | ALK-positif | ALK-positif | 3 (100) |

3.1.2 Groupe PCR

| Echantillon | Résultats attendus | Résultats encodés | Nombre de laboratoires (%) |
|---------------------------|--------------------|-------------------|----------------------------|
| NPM-ALK 2023 SPOT A | ALK-négatif | ALK-négatif | 3 (100) |
| NPM-ALK 2023 SPOT B | ALK-positif | ALK-positif | 3 (100) |

3.2 Résultats par laboratoire

3.2.1 Groupe FISH

| Lab. | Méthodes utilisées | Résultats encodés | | | |
|------|-------------------------------------------------------------------|-------------------|-----------------|-------------|-----------------|
| | | SPOT A | % translocation | SPOT B | % translocation |
| 1 | Détection manuelle-Abbott-Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit | ALK-négatif | Non communiqué | ALK-positif | 55 |
| 2 | Détection manuelle-Abbott-Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit | ALK-négatif | 2 | ALK-positif | 40 |
| 3 | Détection manuelle-Abbott-Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit | ALK-négatif | Non communiqué | ALK-positif | 92 |

A titre éducatif, les conclusions thérapeutiques pouvant éventuellement être tirées de l'analyse ont été demandées aux laboratoires. Elles sont reprises dans le tableau ci-dessous pour les laboratoires les ayant communiquées :

| Lab. | Conclusions thérapeutiques |
|------|--------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Non communiqué |
| 2 | Spot B: Prédicatif pour une réponse à une thérapie inhibiteurs ALK |
| 3 | Spot B: Traitement anti-ALK de type tyrosine kinase → pronostic plus favorable |

Concernant le % de translocation, celui-ci n'a pas été évalué. Les participants ont été évalué sur base de la conclusion finale rendue. A titre informatif, vous trouverez ci-dessous les guidelines du kit Abbott utilisé par les participants pour déterminer le statut ALK :

- Un échantillon est considéré négatif si < 5 cellules sur 50 (< 5/50 or < 10%) sont positives.
- Un échantillon est considéré positif si > 25 cellules sur 50 (> 25/50 or > 50%) sont positives.
- Un échantillon est considéré équivoque si 5 à 25 cellules (10 to 50%) sont positives. Dans ce cas, la coupe est évaluée par un autre « lecteur » qui choisit 50 noyaux additionnels. Les deux comptages sont additionnés et une moyenne est calculée sur 100 cellules (% moyen de cellules positives). Si le % moyen de cellules positives est < 15% (< 15/100) alors l'échantillon est considéré comme négatif ; s'il est ≥ 15% (≥ 15/100) l'échantillon est alors considéré comme positif.

3.2.2 Groupe PCR

| | | Résultats encodés | | | |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-----------------|-------------|-----------------|
| Lab. | Méthodes utilisées | SPOT A | % translocation | SPOT B | % translocation |
| 1 | Thermofischer Scientific-Veriti Inhouse PCR primers (Hernandez et al. Leuemia 1999) | ALK-négatif | NA | ALK-positif | NA |
| 2 | Inhouse method | ALK-négatif | NA | ALK-positif | NA |
| 3 | Biocartis-Idylla Biocartis-Idylla Genefusion assay | ALK-négatif | NA | ALK-positif | NA |

A titre éducationnel, les conclusions thérapeutiques pouvant éventuellement être tirées de l'analyse ont été demandées aux laboratoires. Elles sont reprises dans le tableau ci-dessous pour les laboratoires les ayant communiquées :

| Lab. | Conclusions thérapeutiques |
|------|----------------------------------------------------------|
| 1 | Non communiqué |
| 2 | Spot B: peut être pris en charge par les inhibiteurs ALK |
| 3 | Spot B: prédictif d'une sensibilité aux TKIs |

3.3 Commentaires

- L'ensemble des laboratoires ayant encodés des résultats a obtenu un score de réussite à l'enquête.
- 3 laboratoires de biologie clinique ont quant à eux obtenu un score d'échec suite à leur désinscription tardive et au non encodage de résultats.

4 Méthodologies utilisées

4.1 Groupe FISH

Parmi les laboratoires ayant utilisé une méthode FISH pour la détection du gène de fusion *NPM::ALK*, la méthode manuelle avec une sonde Vysis ALK break apart FISH probe de chez Abbott est la plus utilisée.

4.2 Groupe PCR

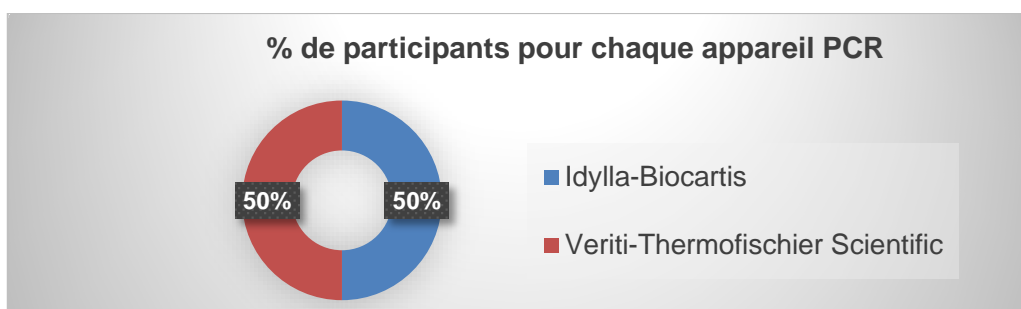


Chart 3 : Distribution des laboratoires par type d'appareil PCR utilisé pour la détection du gène de fusion *NPM::ALK*.

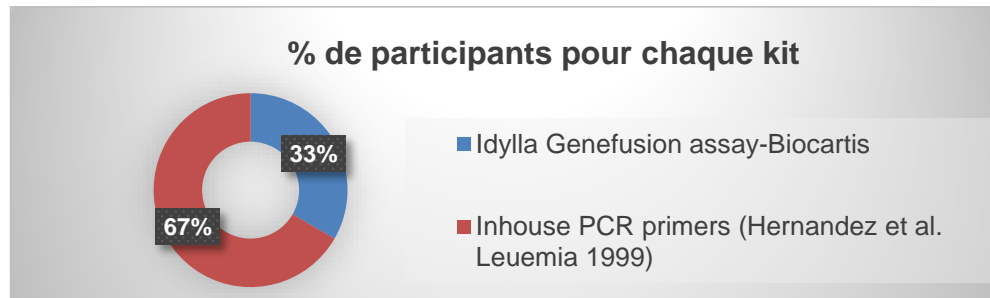


Chart 4 : Distribution des laboratoires par kit utilisé pour détection du gène de fusion *NPM::ALK*.

5 Conclusions sur les performances des laboratoires

Les performances des laboratoires pour la détection du gène de fusion *NPM-ALK* sont très satisfaisantes. L'ensemble des laboratoires participants a détecté la fusion du gène *NPM::ALK* dans le spot correspondant et ce autant pour les utilisateurs d'une technique FISH que PCR.

Nous pouvons noter que 3 laboratoires de biologie cliniques se sont désinscrits tardivement, c'est-à-dire après l'envoi des échantillons.

Nous rappelons aux laboratoires que nous envoyons un email aux participants avant le début de l'enquête, ce qui permet aux laboratoires de nous avertir en cas de changement dans leur participation.

Dès lors, selon notre politique et afin de garantir un traitement équitable pour les participants, les laboratoires se désinscrivant après l'envoi des échantillons reçoivent un score d'échec suite à leur désinscription tardive lorsque l'erreur d'inscription est due au laboratoire.

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2023.

Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de Sciensano. Les résultats individuels des laboratoires sont confidentiels. Ils ne sont transmis par Sciensano ni à des tiers, ni aux membres de la Commission, des comités des experts ou du groupe de travail EEQ.