

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

EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE*

RAPPORT GLOBAL DEFINITIF

Biologie moléculaire

Examens de génétique

Gène de fusion ALK

ENQUÊTE 2024/6

Version corrigée

* AR 03/12/1999

* AR 05/12/2011

Sciensano/ Biologie moléculaire-Examens génétique- amplification du gène ALK/8/FR-vc

Risques biologiques pour la santé
Qualité des laboratoires
Rue Juliette Wytsman 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.sciensano.be

COMITE D'EXPERTS

Sciensano					
Secrétariat		Tél:	02/642.55.21	Fax:	02/642.56.45
		E-mail	ql_secretariat@sciensano.be		
Joséphine Lantoine	Coordinateur	Tél:	02/642 53 94		
		E-mail:	Josephine.lantoine@sciensano.be		
Bernard China	Coordinateur remplaçant	Tél:	02/642 52 08		
		E-mail:	bernard.china@sciensano.be		
Vanessa Ghislain	Coordinateur remplaçant	Tél:	02/642 53 85		
		E-mail:	Vanessa.ghislain@sciensano.be		
Experts	Institution				
Ina Benoy	Rode Kruis				
Elke Boone	AZ Delta				
Barbara Depreter	AZ Delta				
Evelien Heylen	ZNA				
Marie LeMercier	UZA				
Patrick Pauwels	UZA				
Freya Vaeyens	UZ Brussel				
Jacques Van Huysse	AZ Sint Jan Brugge				

Un draft de ce rapport a été transmise aux experts le 5/12/2024.

Les experts ont été invités à envoyer leurs remarques via e-mail.

Les résultats de ce rapport a été discuté lors de la réunion du Comité d'experts du 19/11/2024.

Responsabilités :

Le Comité d'experts a été consulté pour avis au sujet du contenu du rapport global, de l'interprétation des résultats, des critères d'évaluation et de l'organisation des prochaines évaluations. La responsabilité du choix des échantillons utilisés et de la conception finale de l'enquête EEQ est portée par le service Qualité des laboratoires de Sciensano.

Une version corrigée du rapport a été rédigée pour les raisons suivantes: identification d'une erreur au niveau du nombre de participants indiqué et dès lors une erreur au niveau des % pour chaque réponse pour les deux groupes de participants.

Réponse de participant adaptée suite à l'identification d'une erreur lors de la rédaction du rapport.

Les modifications suivantes sont indiquées en jaune sur les pages : 6/7/9 :

- % de participants adaptés pour les groupes PCR et FISH (tableau p 6/7)
- Nombre total de participants adaptés pour le groupe FISH(tableau p7)
- Ajout de la réponse d'un participants pour le groupe FISH (tableau p7)
- Réponse du participant 6bis adaptée (tableau p9)

Ce rapport remplace la version précédente du rapport du 08/01/2025

Autorisation du rapport : par Joséphine Lantoine, coordinateur

Date de publication : 12/02/2025

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

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

TABLE DES MATIERES

1	ECHANTILLON	5
2	PARTICIPATION	5
3	RÉSULTATS	6
3.1	Résultats par échantillon	6
3.2	Résultats par laboratoire	8
3.2.1	Cas F00209731	8
3.2.2	Cas F10002933	10
3.3	Commentaires	11
3.3.1	Cas F00209731	11
3.3.2	Cas F10002933	11
4	MÉTHODES UTILISÉES	11
5	CONCLUSIONS SUR LES PERFORMANCES DES LABORATOIRES	11
	INTERPRETATION DU RAPPORT INDIVIDUEL	12

1 Echantillon

a. Descriptif

Les échantillons sont des coupes FFPE de 4 µm d'épaisseur provenant de biopsies de carcinomes pulmonaires. Ils proviennent de la biobanque Discovery Life Science (3509 Elgin St, Suite 300 Houston, TX 77004-USA).

Les échantillons sont accompagnés des données cliniques relatives à chaque patient : âge, sexe, race, site de la tumeur, type de tumeur, données pathologiques, indications sur le traitement reçu par le patient (si disponible) ainsi que le statut mutationnel du gène ALK confirmé par analyse moléculaire.

b. Cas cliniques

Cas clinique F00209731 : Femme de 64 ans présentant un carcinome du poumon à composante ADC faiblement différencié au niveau du poumon gauche pour lequel aucune mutation driver n'est trouvée (avec NGS ou autre technique moléculaire). La tumeur est de stade III-B (TNM=T3N2M0). Parmi les 9 ganglions lymphatiques examinés, 1 d'entre eux présente des métastases.

Cas clinique F10002933: Homme de 67 ans présentant un carcinome du poumon à composante ADC au niveau du poumon droit pour lequel aucune mutation driver n'est trouvée (avec NGS ou autre technique moléculaire). La tumeur est de stade III-B (TNM= pT4pN2M0). Parmi les 37 ganglions lymphatiques examinés, 10 d'entre eux présentent des métastases.

c. Homogénéité

Afin de garantir l'homogénéité de la tumeur, une coloration HE a été demandée à la bio banque. Cette coloration est réalisée sur 1 lames en début, milieu et fin de bloc. Une évaluation du contenu tumoral est effectué par un pathologiste au sein de la firme afin d'établir le pourcentage tumoral en début, milieu et fin du bloc :

- F00209731

Slide # 1: 80% de cellules tumorales
Slide # 61: 80% de cellules tumorales
Slide # 113: 60% de cellules tumorales
Slide # 123: 30% de cellules tumorales

- F10002933

Slide # 1: 70% de cellules tumorales
Slide # 87: 50% de cellules tumorales
Slide # 165: 45% de cellules tumorales
Slide # 175: 45% de cellules tumorales

2 Participation

11 laboratoires étaient inscrits à l'enquête. La distribution des laboratoires s'effectue comme suit :



Chart 1 : Distribution des laboratoires inscrits par spécialités

Un laboratoire d'anatomie pathologique inscrit n'a pas participé à l'enquête et n'a à ce jour pas fourni de raison quant à cette non-participation. Celui-ci était inscrit pour la technique PCR.

2 laboratoires n'ont pas été évalués pour cette enquête car ils ont utilisé une technique de type NGS hors cette enquête est destinée aux laboratoires utilisant des techniques de type PCR ou FISH (cet aspect était clairement spécifié sur le formulaire d'inscription).

3 Résultats

Les laboratoires ont reçu 3 lames FFPE pour 2 cas cliniques différents. Il leur était demandé de détecter la présence d'une fusion du gène ALK par des méthodes moléculaires de type PCR et/ou FISH.

Il était également demandé aux laboratoires la méthode utilisée pour la détection de la mutation ainsi que la classification biologique donnée suite la présence ou non du gène de fusion. Cette classification n'étant pas évaluée car régie par les guidelines NGS du Compermed.

3.1 Résultats par échantillon

A. Groupe PCR (1/2)

Echantillon	Résultats attendus	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
F00209731	Présence d'un gène de fusion ALK (<i>EML4::ALK</i>)	<i>EML4::ALK</i> Transcript A NM_01906.3 t(2;2) exon A:exon 6 Transcript B NM_004304.4 exon B:exon 20 *	1 (50)
F10002933	ALK WT	ALK WT	1 (50)

* Ce laboratoire a aussi utilisé la technique RNA sequencing.

La classification biologique a été demandée aux participants mais n'a pas été scorée. En effet, cela réfère aux guidelines NGS du Compermed (BELAC 2-405-NGS R4-2023) et sont donc plus spécifique aux utilisateurs de techniques de type RNA-sequencing.

Echantillon	Classification biologique attendue	Classification biologique encodée	Nombre de laboratoires (%)
F00209731	Pathogénique	Pathogénique	1(50)

B. Groupe FISH (/8)

Echantillon	Résultats attendus	Résultats encodés	Nombre de laboratoires (%)
<u>F00209731</u>	Présence d'un gène de fusion ALK (<i>EML4::ALK</i>)	Réarrangement ALK	6 (67)
		Non déterminé	1 (11)
		Non contributif-problème technique	1 (11)
<u>F10002933</u>	ALK WT	ALK WT	8 (100)

Echantillon	% noyaux positifs (si déterminé)	Nombre laboratoires
<u>F00209731</u>	82	1
	75 (single read signal)	1
	46	1
	40	1
	28	1
	20	1
	NA	1
	NA (problème technique)	1
<u>F10002933</u>	2	1
	0	4
	NA	1
	NA (problème technique)	1

La classification biologique a été demandée aux participants mais n'a pas été scorée. En effet, cela réfère aux guidelines NGS du Compermed (BELAC 2-405-NGS R4-2023) et sont donc plus spécifique aux utilisateurs de techniques de type RNA-sequencing. Il s'agit ici d'une question à titre éducationnel.

Echantillon	Classification biologique attendue	Classification biologique encodée	Nombre de laboratoires (%)
<u>F00209731</u>	Pathogénique	NA/non mentionné	4(50)
		Pathogénique	4(50)

Les conclusions thérapeutiques éventuelles découlant de l'analyse effectuée ont été demandées tant au groupe FISH qu'au groupe PCR. Celles-ci n'ont pas été scorées et sont demandées à titre informatif.

Echantillon	Conclusions thérapeutiques encodées	Nombre de laboratoires (%)
F00209731	prédictif pour une réponse à la thérapie anti-ALK	3
	Éligible pour un traitement avec les inhibiteurs ALK	2
	Inhibiteurs ALK de 2ème génération comme 1ère ligne thérapeutique	1
	Éligible pour un traitement avec les inhibiteurs ALK et pronostic plus favorable	1
	NA (problème technique)	1
	Non mentionné	1

3.2 Résultats par laboratoire

3.2.1 Cas F00209731

Labo	Méthodologie utilisée		Résultats encodés			
	Méthode-Automate	Kit	Statut du gène ALK	% noyau positifs	Classification biologique	Score
1	RNAseq-Miseq-Illumina	Archer Lung Fusion plex + Integrated DNA technologies	Mutation <i>EML4::ALK</i> t(2;2) exons 6:20 + <i>EML4::ALK</i> t(2;2) exon 7::exon 20 présente	80%	pathogénique	Non évaluable car utilisation d'une technique NGS
2*	PCR-Idylla-Biocardis	Idylla GeneFusion Assay (RUO)-Biocardis	Mutation <i>EML4::ALK</i> [transcript A NM_01906.3 t(2;2) exon A:exon 6 Transcript B NM_004304.4 exon B:exon 20] présente	NA	pathogénique	réussi
3	FISH-Méthode manuelle	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK muté	20%	pathogénique	réussi
4	FISH-Méthode manuelle	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK muté	46%	pathogénique	réussi
5	FISH-Méthode manuelle	ALK IQFISH Break Apart-Agilent	non contributif-échec technique	NA	NA	non évalué

Méthodologie utilisée		Résultats encodés				
Labo	Méthode-Automate	Kit	Statut du gène ALK	% noyau positifs	Classification biologique	Score
6	RNAseq-Miseq-Illumina	Archer Lung Fusion plex-Integrated DNA technologies	Mutation <i>EML4::ALK</i> (exon7::exon20) présente	NA	pathogénique	Non évaluable car utilisation d'une technique NGS
6bis**	FISH-Bond III-Leica	Kreatech FISH probe ALK (2p23)Break-XL-Leica	Non déterminé hybridation insuffisante-non lisible	NA	NA	Non évalué
7	Aucun résultats encodés	Aucun résultats encodés	Aucun résultats encodés	Aucun résultats encodés	Aucun résultats encodés	Échec car aucun résultat envoyé sans raison valable
8	FISH-VP2000-Abbott	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	réarrangement du gène ALK	40%	pathogénique	réussi
9	FISH-Dako Omnis-Agilent	ALK IQFISH Break Apart-Agilent	positif	82%	non mentionnée	réussi
10	FISH-Manuele methode	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	réarrangement du gène ALK	28%	non mentionnée	réussi
11	FISH-VP2000-Abbott	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	réarrangement du gène ALK	75/100 (single read signal)	pathogénique	réussi

*Ce laboratoire a aussi utilisé une technique de type RNA sequencing.

**Ce laboratoire a participé avec deux techniques différentes. Celui-ci s'était initialement inscrit pour participer avec une technique PCR et une technique FISH. Néanmoins, il apparaît que pour la technique PCR celui-ci a utilisé une technique de type RNA-sequencing pour la détection de la fusion.

3.2.2 Cas F10002933

Méthodologie utilisée		Résultats encodés				
Labo	Méthode-Automate	Kit	Statut du gène ALK	% noyau positifs	Classification biologique	Score
1	RNAseq-Miseq-Illumina	Archer Lung Fusion plex + Integrated DNA technologies	ALK WT	NA	non mentionnée	Non évaluable car utilisation d'une technique NGS
2*	PCR-Idylla-Biocardis	Idylla GeneFusion Assay (RUO)-Biocardis	ALK WT	NA	NA	réussi
3	FISH-Méthode manuelle	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK WT	0	non mentionnée	réussi
4	FISH-Méthode manuelle	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK WT	0	non mentionnée	réussi
5	FISH-Méthode manuelle	ALK IQFISH Break Apart-Agilent	ALK WT	non mentionné	non mentionnée	réussi
6	RNAseq-Miseq-Illumina	Archer Lung Fusion plex-Integrated DNA technologies	Aucun réarrangement du gène ALK	NA	NA	Non évaluable car utilisation d'une technique NGS
6bis**	FISH-Bond III-Leica	Kreatech FISH probe ALK (2p23)Break-XL-Leica	Aucun réarrangement du gène ALK	NA	NA	réussi
7	Aucun résultats encodés	Aucun résultats encodés	Aucun résultats encodés	Aucun résultats encodés	Aucun résultats encodés	Échec car aucun résultat envoyé sans raison valable
8	FISH-VP2000-Abbott	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK WT	0	non mentionnée	réussi
9	FISH-Dako Omnis-Agilent	ALK IQFISH Break Apart-Agilent	Négatif	0	non mentionnée	réussi
10	FISH-Manuele methode	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	Aucun réarrangement du gène ALK	2%	non mentionnée	réussi
11	FISH-VP2000-Abbott	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK WT	niet vermeld	NVT	réussi

*Ce laboratoire a aussi utilisé une technique de type RNA sequencing.

****Ce laboratoire a participé avec deux techniques différentes. Celui-ci s'était initialement inscrit pour participer avec une technique PCR et une technique FISH.**

3.3 Commentaires

3.3.1 Cas F00209731

- 7 laboratoires sur 9 ont correctement répondu. 2 laboratoires n'ont pu répondre suite à des problèmes techniques. Ces derniers ont utilisé une méthode de type FISH.
- La moitié des laboratoires ont donné une classification biologique correcte selon les guidelines du Compermed.

3.3.2 Cas F10002933

- Tous les laboratoires ont correctement répondu.

Veillez noter que les 2 laboratoires ayant utilisé une technique de type RNA-sequencing ont obtenu les mêmes résultats que les utilisateurs de technique PCR et FISH évalués dans cette enquête.

4 Méthodes utilisées

A. PCR

Le kit le plus utilisée par les participants pour la détection d'une fusion du gène ALK est le kit Idylla GeneFusion assay de chez Biocartis couplé à l'utilisation de l'automate Idylla de chez Biocartis.

B. FISH



Chart 5 : Distribution des laboratoires par méthode-kit pour la détection d'une fusion du gène ALK avec des méthodes de type FISH

Le kit le plus utilisée par les participants pour la détection d'une fusion du gène ALK est le kit Vysis ALK break apart FISH de chez Abbott.

5 Conclusions sur les performances des laboratoires

Les performances des laboratoires de biologie clinique et d'anatomie pathologique sont très satisfaisantes.

Nous rappelons également aux laboratoires que selon notre politique interne et notre système qualité, nous ne pouvons modifier les résultats individuels après la clôture de l'enquête et ce de manière à modifier leur rapport individuel. Seul une erreur provenant de notre fait peut mener à une modification d'un rapport individuel et donc du score attribué au laboratoire.

INTERPRETATION DU RAPPORT INDIVIDUEL

En plus de ce rapport global, vous avez également accès à un rapport individuel qui vous a été envoyé par email.

Ci-dessous vous pouvez trouver les critères d'évaluations sur lesquels se basent l'évaluation que vous avez reçue dans votre rapport individuel :

Critères d'évaluation :

Le critère d'évaluation est la détection correcte de la présence d'un gène de fusion ALK dans l'échantillon correspondant. La classification biologique est demandée à titre éducationnel et n'est donc pas évaluée. En effet, cette classification est déterminée par les guidelines NGS du Compermed ; les laboratoires utilisant une technique de type NGS n'étant pas concernés par cette enquête.

La présence de la fusion est certifiée par une analyse NGS réalisée par la firme fournissant le bloc. Les participants utilisant une technique FISH sont évalués séparément des participants utilisant une technique PCR; le critère d'évaluation restant la détection correcte de l'échantillon fusionné.

Vous pouvez trouver plus de détails dans les brochures qui sont disponibles sur notre site web à l'adresse suivante:

[Santé clinique | EEQ biologie clinique | sciensano.be](#)

- Brochure d'information générale EEQ

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2025

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 d'experts ou du groupe de travail EEQ.