

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S  
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE en PATHOLOGISCHE ANATOMIE  
EXPERTENCOMITE**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE  
VOOR MOLECULAIRE BIOLOGIE ANALYSES**

**VOORLOPIG GLOBAAL RAPPORT**

**Genetische onderzoeken**

**Detectie *NPM::ALK fusiegen***

**ENQUETE 2023/6**

**Sciensano/Genetische onderzoeken-2-NL**

Biologische gezondheidsrisico's  
Kwaliteit van laboratoria  
J. Wytsmanstraat, 14  
1050 Brussel | België

[www.sciensano.be](http://www.sciensano.be)

<b>EXPERTENCOMITE</b>
-----------------------

<b>Sciensano</b>									
Secretariaat	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%; border-right: 1px solid black;">TEL:</td> <td style="width: 35%;">02/642.55.22</td> <td style="width: 15%; border-right: 1px solid black;">FAX:</td> <td style="width: 35%;">02/642.56.45</td> </tr> <tr> <td style="border-right: 1px solid black;">e-mail</td> <td colspan="3">ql_secretariat@sciensano.be</td> </tr> </table>	TEL:	02/642.55.22	FAX:	02/642.56.45	e-mail	ql_secretariat@sciensano.be		
TEL:	02/642.55.22	FAX:	02/642.56.45						
e-mail	ql_secretariat@sciensano.be								
Joséphine Lantoine	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%; border-right: 1px solid black;">TEL:</td> <td style="width: 85%;">02/642 53 94</td> </tr> <tr> <td style="border-right: 1px solid black;">e-mail:</td> <td><a href="mailto:Josephine.lantoine@sciensano.be">Josephine.lantoine@sciensano.be</a></td> </tr> </table>	TEL:	02/642 53 94	e-mail:	<a href="mailto:Josephine.lantoine@sciensano.be">Josephine.lantoine@sciensano.be</a>				
TEL:	02/642 53 94								
e-mail:	<a href="mailto:Josephine.lantoine@sciensano.be">Josephine.lantoine@sciensano.be</a>								
Bernard China	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%; border-right: 1px solid black;">TEL:</td> <td style="width: 85%;">02/642 52 08</td> </tr> <tr> <td style="border-right: 1px solid black;">e-mail:</td> <td><a href="mailto:bernard.china@sciensano.be">bernard.china@sciensano.be</a></td> </tr> </table>	TEL:	02/642 52 08	e-mail:	<a href="mailto:bernard.china@sciensano.be">bernard.china@sciensano.be</a>				
TEL:	02/642 52 08								
e-mail:	<a href="mailto:bernard.china@sciensano.be">bernard.china@sciensano.be</a>								
Vanessa Ghislain	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%; border-right: 1px solid black;">TEL:</td> <td style="width: 85%;">02/642 53 85</td> </tr> <tr> <td style="border-right: 1px solid black;">e-mail:</td> <td><a href="mailto:Vanessa.ghislain@sciensano.be">Vanessa.ghislain@sciensano.be</a></td> </tr> </table>	TEL:	02/642 53 85	e-mail:	<a href="mailto:Vanessa.ghislain@sciensano.be">Vanessa.ghislain@sciensano.be</a>				
TEL:	02/642 53 85								
e-mail:	<a href="mailto:Vanessa.ghislain@sciensano.be">Vanessa.ghislain@sciensano.be</a>								
Experten	Instelling								
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								

Een draft versie van dit rapport werd voorgelegd aan de experten op 30/11/2023.

Dit rapport werd niet besproken in de vergadering van het expertencomité. De experten werden uitgenodigd om hun opmerkingen via e-mail te versturen.

**Autorisatie van het rapport:** door Joséphine Lantoine, enquêtecoördinator

**Publicatiedatum : 13/12/2023**

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:  
<https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria>

# INHOUDSTAFEL

## TABLE DES MATIERES

<b>1</b>	<b>STALEN</b> .....	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>DEELNEMERS</b> .....	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>RESULTATEN</b> .....	<b>4</b>
<b>3.1</b>	<b>Resultaten per staal en per groep van gebruikte techniek</b> .....	<b>5</b>
3.1.1	Groep FISH.....	5
3.1.2	Groep PCR .....	5
<b>3.2</b>	<b>Resultaten per Laboratorium</b> .....	<b>5</b>
3.2.1	Groep FISH.....	5
3.2.2	Groep PCR .....	6
<b>3.3</b>	<b>Commentaren</b> .....	<b>6</b>
<b>4</b>	<b>GEBRUIKTE METHODOLOGIE</b> .....	<b>6</b>
<b>4.1</b>	<b>FISH</b> .....	<b>6</b>
<b>4.2</b>	<b>PCR</b> .....	<b>7</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSIES M.B.T. DE RESULTATEN VAN DE LABORATORIA</b> .....	<b>7</b>

## 1 Stalen

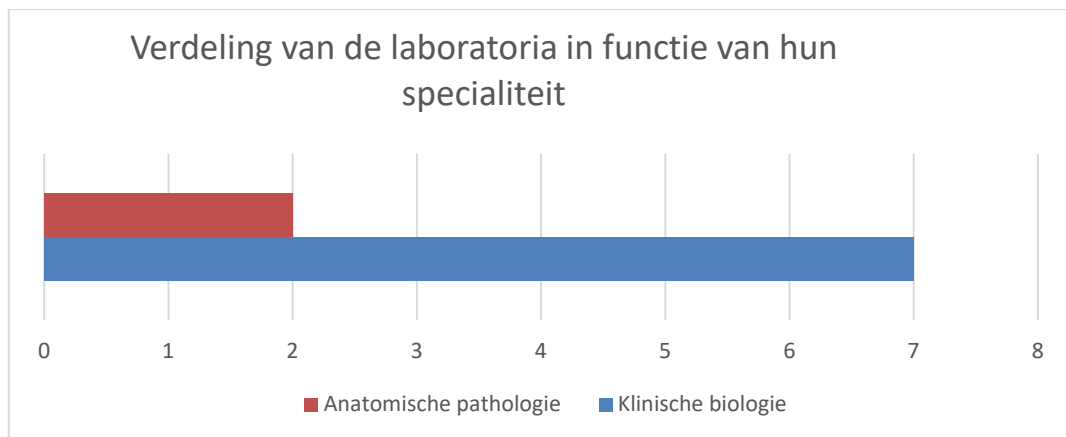
De NPM-ALK stalen werden geleverd door de firma Sanbio (Frontstraat 2-C, 5405 PB Uden, NL). De firma werkt met de firma Hystocyte (Neon Building Quorum Business Park Benton Lane, Newcastle upon Tyne NE12 8BU, UK). In het kader van deze enquêtes, werden 75 positief geladen glaasjes met twee 4 µm FFPE-coupes van cellijnen (borst adenocarcinoma of anaplastisch grootcellig lymfoom) geproduceerd. Elk glaasje bevat dus 2 spots, een Wild-Type spot en een spot met de mutatie (fusiegen *NPM::ALK*).

NPM-ALK-Klinische casus spot A: 65-jarige vrouw met een anaplastisch grootcellig lymfoom (ALCL). U ontvangt FFPE-coupes van een biopsie uitgevoerd om het sub-type van ALCL te bepalen d.m.v. ISH of PCR om de therapiekeuze te bepalen.

NPM-ALK-Klinische casus spot B: 30-jarige man met een anaplastisch grootcellig lymfoom (ALCL). U ontvangt FFPE-coupes van een biopsie uitgevoerd om het sub-type van ALCL te bepalen d.m.v. ISH of PCR om de therapiekeuze te bepalen.

## 2 Deelnemers

9 laboratoria waren voor deze enquête ingeschreven. De verdeling van de laboratoria is als volgt:



**Chart 1 : Verdeling van ingeschreven laboratoria per specialiteit**

Merk op dat 3 klinische biologie laboratoria zich uitschreven na ontvangst van de stalen. Omdat het hier om een foutieve inschrijving van de laboratoria gaat en bovendien om een laattijdige uitschrijving, hebben wij deze laboratoria niet uitgeschreven. Zij hebben een score "niet geslaagd" ontvangen als gevolg van deze laattijdige uitschrijving.

## 3 Resultaten

De laboratoria hebben 4 FFPE-coupes van 4µm dikte van cellijnen ontvangen. Elke coupe bevat twee spots zoals geïllustreerd hieronder. Elke spot komt overeen met een verschillende klinische casus.



### 3.1 Resultaten per staal en per groep van gebruikte techniek

#### 3.1.1 Groep FISH

Staal	Verwachte resultaten	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
<u>NPM-ALK-2023 SPOT A</u>	ALK-negatief	ALK-negatief	3 (100)
<u>NPM-ALK-2023 SPOT B</u>	ALK-positief	ALK-positief	3 (100)

#### 3.1.2 Groep PCR

Staal	Verwachte resultaten	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
<u>NPM-ALK-2023 SPOT A</u>	ALK-negatief	ALK-negatief	3 (100)
<u>NPM-ALK-2023 SPOT B</u>	ALK-positief	ALK-positief	3 (100)

### 3.2 Resultaten per Laboratorium

#### 3.2.1 Groep FISH

Lab.	Gebruikte methodes	Vastgestelde resultaten			
		SPOT A	% translocatie	SPOT B	% translocatie
1	Manuele detectie-Abbott-Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit	ALK-negatief	Niet vermeld	ALK-positief	55
2	Manuele detectie-Abbott-Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit	ALK-negatief	2	ALK-positief	40
3	Manuele detectie-Abbott-Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit	ALK-negatief	Niet vermeld	ALK-positief	92

Met een educatief doel, werden de therapeutische conclusies die mogelijk uit de analyse konden worden getrokken, opgevraagd bij de laboratoria. Deze conclusies zijn hieronder vermeld voor de laboratoria die op deze vraag beantwoord hebben.

Lab.	Therapeutische conclusies
1	Niet vermeld
2	Spot B: kans op respons ALK inhibitietherapie
3	Spot B: behandeling met anti-ALK van type tyrosine kinase → beter prognose

De % van translocatie werden niet geëvalueerd. De evaluatie van de deelnemers was gebaseerd op hun finale besluit. Ter informatie, hebben we de richtlijnen van de Abbott kit gebruikt om de ALK-status te bepalen hieronder vermeld:

- Een staal is negatief indien < 5 cellen op 50 (< 5/50 or < 10%) positief zijn.
- Een staal is positief indien > 25 cellen op 50 (> 25/50 or > 50%) positief zijn.
- Een staal is equivocal indien 5 tot 25 cellen (10 to 50%) positief zijn. In dit geval, wordt de coupe geëvalueerd door een andere « reader » die 50 additionele kernen kiest. De twee tellingen worden samengevoegd en een gemiddelde wordt berekend op 100 cellen (gemiddeld % van positieve cellen). Als het gemiddelde % < 15% (< 15/100) is, is het staal negatief. Als het gemiddelde %  $\geq$  15% ( $\geq$  15/100) is, is het staal positief.

### 3.2.2 Groep PCR

Lab.	Gebruikte methodes	Vastgestelde resultaten			
		SPOT A	% translocatie	SPOT B	% translocatie
1	Thermofischer Scientific-Veriti Inhouse PCR primers (Hernandez et al. Leuemia 1999)	ALK-negatief	NVT	ALK-positief	NVT
2	Inhouse method	ALK-negatief	NVT	ALK-positief	NVT
3	Biocartis-Idylla Biocartis-Idylla Genefusion assay	ALK-negatief	NVT	ALK-positief	NVT

Met een educatief doel, worden de therapeutische conclusies die de laboratoria uit de analyse kunnen trekken gevraagd. Deze conclusies zijn hieronder vermeld voor de laboratoria die op deze vraag geantwoord hebben.

Lab.	Therapeutische conclusies
1	Niet vermeld
2	Spot B : kan behandeld worden met ALK-inhibitoren
3	Spot B : predictief voor gevoeligheid voor TKI

### 3.3 Commentaren

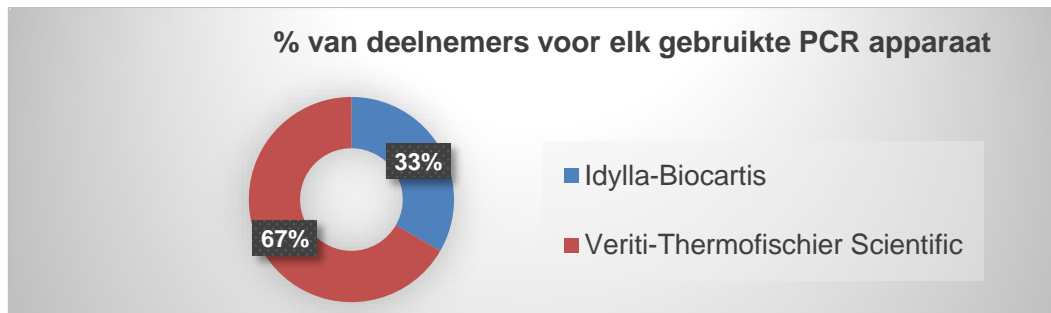
- Alle laboratoria die resultaten ingevuld hebben, behaalden een score “geslaagd” voor deze enquête.
- 3 klinische biologische laboratoria behaalden een score “niet geslaagd” als gevolg van hun laattijdige uitschrijving en dus door het ontbreken van resultaten.

## 4 Gebruikte methodologie

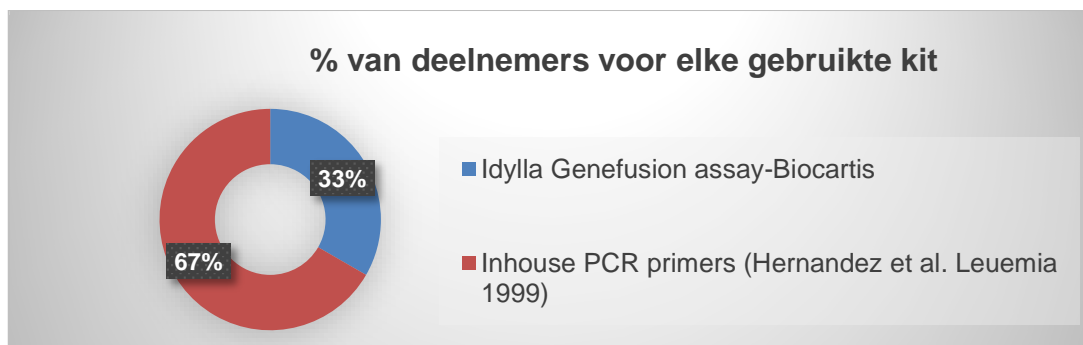
### 4.1 FISH

Onder de gebruikers van een FISH-methode voor de detectie van het NPM-ALK fusiegen, is een manuele detectie met de Vysis ALK break apart FISH probe van Abbott de meeste gebruikte methode.

## 4.2 PCR



**Chart 2 : Verdeling van ingeschreven laboratoria per gebruikt apparaat van PCR voor de detectie van het fusiegen *NPM::ALK*.**



**Chart 3 : Verdeling van ingeschreven laboratoria per gebruikte kit voor de detectie van het fusiegen *NPM::ALK*.**

## 5 Conclusies m.b.t. de resultaten van de laboratoria

De resultaten van de laboratoria voor de detectie van het fusiegen *NPM-ALK* zijn zeer bevredigend. Alle laboratoria hebben het *NPM::ALK* fusiegen gedetecteerd in de betreffende spot, zowel voor de PCR als voor de FISH gebruikers. We kunnen opmerken dat 3 klinische biologische laboratoria zich laattijdig hebben uitgeschreven (na ontvangst van de stalen).

.We herinneren de laboratoria eraan dat we een email sturen vóór het begin van de enquête, die hen toelaat ons op de hoogte te brengen van eventuele wijzigingen m.b.t. hun inschrijving/deelname. Daarom, in overeenstemming met ons beleid en om een billijke behandeling van deelnemers te garanderen, ontvangen de laboratoria die zich uitschreven na ontvangst van de stalen een score "niet geslaagd" als gevolg van hun laattijdige uitschrijving (indien de foutieve inschrijving een fout van het laboratorium is).

---

**EINDE**

---