

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S  
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE\***

**DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT**

**Moleculaire biologie  
GENETISCHE ONDERZOEKEN**

**ALK fusiegen**

**ENQUÊTE 2024/6**

**Verbeterde versie**

\* KB 03/12/1999

\* KB 05/12/2011

**Siensano/Moleculaire biologie-Genetische onderzoeken-ALK/8/NL-**vv****

Biologische gezondheidsrisico's  
Kwaliteit van laboratoria  
Juliette Wytmanstraat 14  
1050 Brussel | België

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

<b>COMITE VAN EXPERTEN</b>
----------------------------

<b>Sciensano</b>					
Secretariaat		Tel:	02/642.55.22	Fax:	02/642.56.45
		E-mail	<a href="mailto:ql_secretariat@sciensano.be">ql_secretariat@sciensano.be</a>		
Joséphine Lantoine	Coördinator	Tel:	02/642 53 94		
		E-mail:	<a href="mailto:Josephine.lantoine@sciensano.be">Josephine.lantoine@sciensano.be</a>		
Bernard China	Vervanger coördinator	Tel:	02/642 52 08		
		E-mail:	<a href="mailto:bernard.china@sciensano.be">bernard.china@sciensano.be</a>		
Vanessa Ghislain	Vervanger coördinator	Tel:	02/642 53 85		
		E-mail:	<a href="mailto:Vanessa.ghislain@sciensano.be">Vanessa.ghislain@sciensano.be</a>		
<b>Experten</b>	<b>Instelling</b>				
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				

Een draft versie van dit rapport werd voorgelegd aan de experts op 05/12/2024.

De experts werden uitgenodigd om hun opmerkingen per e-mail te versturen.

De resultaten van deze rapport werd besproken in de vergadering van het Comité van experts van 19/11/2024.

**Verantwoordelijkheden:**

Het Comité van experts werd voor advies geraadpleegd over de inhoud van het globaal rapport, de interpretatie van de resultaten, de evaluatiecriteria en de organisatie van de volgende evaluaties. De verantwoordelijkheid voor de selectie van de gebruikte stalen en het definitieve ontwerp van de EKE-enquête wordt door de dienst Kwaliteit van laboratoria van Sciensano genomen.

Een verbeterde versie van het rapport werd opgesteld omwille van de volgende redenen: er was een fout vastgesteld in het aantal deelnemers en dus ook een fout in het % van deelnemers voor elk antwoord voor beide groepen van deelnemers.

Antwoord van een deelnemer veranderd door een fout tijdens de redactie van de rapport

De volgende wijzigingen zijn in het rapport in kleur aangebracht op de pagina's: 6/8

- % van deelnemers veranderd voor de groepen PCR en FISH (tabel p 6)
- Totaal aantal deelnemers veranderd voor de groep FISH (tabel p6)
- Antwoord van een deelnemer toegevoegd aan de groep FISH (tabel p6)
- Antwoord van de deelnemer 6bis veranderd (tabel p8)

Dit rapport vervangt de vorige versie van het rapport 08/01/2025.

**Autorisatie van het rapport** : door Joséphine Lantoiné, coördinator

**Publicatiedatum** : 12/02/2025

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

<https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria>

# INHOUDSTAFEL

<b>1</b>	<b>STALEN .....</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>DEELNEMERS.....</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>RESULTATEN.....</b>	<b>6</b>
<b>3.1</b>	<b>Resultaten per staal .....</b>	<b>6</b>
<b>3.2</b>	<b>Resultaten per Laboratorium.....</b>	<b>8</b>
3.2.1	Casus F00209731.....	8
3.2.2	Casus F10002933.....	9
<b>3.3</b>	<b>Commentaren .....</b>	<b>10</b>
3.3.1	Casus F00209731.....	10
3.3.2	Casus F10002933.....	10
<b>4</b>	<b>GEBRUIKTE METHODES .....</b>	<b>11</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSIES OVER DE RESULTATEN VAN DE LABORATORIA .....</b>	<b>11</b>
	<b>INTERPRETATIE VAN HET INDIVIDUELE RAPPORT .....</b>	<b>12</b>

## 1 Stalen

### a. Beschrijving

De stalen zijn 4 µm FFPE-coupees van longcarcinoom biopsieën. Het zijn patiënten stalen van de biobank Discovery Life Science (3509 Elgin St, Suite 300 Houston, TX 77004-USA).

De stalen waren vergezeld van de klinische gegevens van de patiënten: leeftijd, geslacht, ras, lokalisatie van de tumor, type van de tumor, pathologische data, gegevens over welke behandeling de patiënt vooraf heeft gekregen (als beschikbaar) en de mutatie status van het gen ALK bevestigd door een moleculaire analyse.

### b. Klinische casussen

**Klinische casus F00209731:** 64-jarige vrouw met een weinig gedifferentieerd longcarcinoom ter hoogte van de linker long met een component ADC waarvoor geen driver mutatie werd gedetecteerd (met NGS of een andere moleculaire methode). Het stadium van de tumor is III-B (TNM= T3N2M0). In 1 van de 9 onderzochte lymfeklieren werden metastases gedetecteerd.

**Klinische casus F10002933:** 67-jarige man met een longcarcinoom ter hoogte van de rechter long met een component ADC waarvoor geen driver mutatie werd gedetecteerd (met NGS of een andere moleculaire methode). Het stadium van de tumor is III-B (TNM=pT4pN2M0). In 10 van de 37 onderzochte lymfeklieren werden metastases gedetecteerd.

### c. Homogeniteit

Om de homogeniteit van de tumor te garanderen, hebben we gevraagd aan de biobank om een H&E kleuring uit te voeren. Dit werd gedaan op de eerste slide, op een slide in het midden en op de laatste slide. Een evaluatie van de tumor content werd uitgevoerd door een patholoog van de biobank om het tumor percentage in het begin, midden en einde van het blokje te bevestigen :

- F00209731

Slide # 1: 80% tumorcellen

Slide # 61: 80% tumorcellen

Slide # 113: 60% tumorcellen

Slide # 123: 30% tumorcellen

- F10002933

Slide # 1: 70% tumorcellen

Slide # 87: 50% tumorcellen

Slide # 165: 45% tumorcellen

Slide # 175: 45% tumorcellen

## 2 Deelnemers

11 laboratoria waren voor deze enquête ingeschreven. De verdeling is als volgt:



Chart 1 : Verdeling van ingeschreven laboratoria per specialiteit

Een pathologische anatomie laboratorium dat was ingeschreven heeft niet geantwoord. Het heeft tot nu toe geen reden opgegeven. Het laboratorium was ingeschreven voor de PCR techniek.

2 Laboratoria hebben een NGS methode gebruikt. Deze worden niet geëvalueerd in deze enquête gezien het alleen voor PCR en FISH gebruikers was. Dit was duidelijk aangegeven op het antwoordformulier.

### 3 Resultaten

De laboratoria hebben 3 FFPE-coupees van twee verschillende klinische casussen ontvangen. We hebben aan de laboratoria gevraagd om de aanwezigheid van het ALK fusiegen met moleculaire methodes (PCR of FISH) op te sporen.

We hebben ook hun gebruikte methode gevraagd en de biologische classificatie volgens de aanwezigheid of afwezigheid van het fusiegen. Deze classificatie is niet gescoord want ze wordt bepaald door de NGS richtlijnen van de Compermed.

#### 3.1 Resultaten per staal

##### A. Groep PCR (2)

Staal	Verwachte resultaten	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
<b><u>F00209731</u></b>	Aanwezigheid van ALK fusiegen ( <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)
<b><u>F10002933</u></b>	ALK WT	ALK WT	1 (50)

\*Dit laboratorium heeft ook een RNA-sequencing methode gebruikt.

De biologische classificatie werd gevraagd aan de deelnemers maar werd niet gescoord. Inderdaad, behoort deze tot de NGS richtlijnen van de Compermed (BELAC 2-405-NGS R4-2023) en is meer specifiek voor de gebruikers van RNA-sequencing.

Staal	Verwachte biologische classificatie	Vastgestelde biologische classificatie	Aantal laboratoria (%)
<b><u>F00209731</u></b>	pathogenic	pathogenic	1(50)

##### B. Groep FISH (8)

Staal	Verwachte resultaten	Vastgestelde resultaten	Aantal laboratoria (%)
<b><u>F00209731</u></b>	Aanwezigheid van ALK fusiegen ( <i>EML4::ALK</i> )	ALK genherschikking	6 (67)
		Niet bepaald	1 (11)
		niet contributief-technisch probleem	1 (11)
<b><u>F10002933</u></b>	ALK WT	ALK WT	8 (100)

Staal	% positieve kernen (indien bepaald)	Aantal laboratoria
<b><u>F00209731</u></b>	82	1
	75 (single read signal)	1
	46	1
	40	1
	28	1
	20	1
	NVT	1
	NVT (technisch probleem)	1
<b><u>F10002933</u></b>	2	1
	0	4
	NVT	1
	NVT (technisch probleem)	1

De biologische classificatie werd gevraagd aan de deelnemers maar werd niet gescoord. Inderdaad, behoort deze tot de NGS richtlijnen van de Compermed (BELAC 2-405-NGS R4-2023) en is meer specifiek voor de gebruikers van RNA-sequencing.

Staal	Verwachte biologische classificatie	Vastgestelde biologische classificatie	Aantal laboratoria (%)
<b><u>F00209731</u></b>	pathogenic	Niet vermeld/NVT	4 (50)
		pathogenic	4 (50)

De eventuele therapeutische conclusies volgend uit van de uitgevoerde analyse werden gevraagd aan de groep FISH en aan de groep PCR. Deze werden niet gescoord en zijn gevraagd ter informatie.

Staal	Vasgestelde therapeutische conclusies	Aantal laboratoria (%)
<b><u>F00209731</u></b>	predictief voor respons op anti-ALK therapie	3
	komen in aanmerking voor behandeling met ALK inhibitoren	2
	ALK inhibitoren van 2de generatie als 1 <sup>e</sup> thereputische lijn	1
	komen in aanmerking voor behandeling met ALK inhibitoren en gunstiger prognose	1
	NVT (technich probleem)	1
	Niet vermeld	1

## 3.2 Resultaten per Laboratorium

### 3.2.1 Casus F00209731

Labo	Gebruikte methodologie		Vastgestelde resultaten			
	Methode-Automaat	Kit	Status van ALK gen	% positieve kernen	Biologische classificatie	Score
1	RNAseq-Miseq-Illumina	Archer Lung Fusion plex + Integrated DNA technologies	Mutatie <i>EML4::ALK</i> t(2;2) exons 6:20 + <i>EML4::ALK</i> t(2;2) exon 7::exon 20 aanwezig	80%	pathogenic	Niet evalueerbaar door het gebruik van NGS
2*	PCR-Idylla-Biocartis	Idylla GeneFusion Assay (RUO)-Biocartis	Mutatie <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] aanwezig	NVT	pathogenic	geslaagd
3	FISH-Méthode manuelle	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK gemuteerd	20%	pathogenic	geslaagd
4	FISH-Méthode manuelle	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK gemuteerd	46%	pathogenic	geslaagd
5	FISH-Méthode manuelle	ALK IQFISH Break Apart-Agilent	Niet contributief-technisch probleem	NVT	NVT	Niet geevalueerd
6	RNAseq-Miseq-Illumina	Archer Lung Fusion plex-Integrated DNA technologies	Mutatie <i>EML4::ALK</i> (exon7::exon20) aanwezig	NVT	pathogenic	Niet evalueerbaar door het gebruik van NGS
6bis**	FISH-Bond III-Leica	Kreatech FISH probe ALK (2p23)Break-XL-Leica	niet bepaald - onvoldoende hybridisatie efficiëntie/niet afleesbaar	NVT	NVT	Niet geevalueerd
7	Geen ingestuurd resultaten	Geen ingestuurd resultaten	Geen ingestuurd resultaten	Geen ingestuurde resultaten	Geen ingestuurde resultaten	Niet geslaagd wegens geen ingestuurde resultaten zonder reden



Gebruikte methodologie		Vastgestelde resultaten				
Labo	Methode-Automaat	Kit	Status van ALK gen	% positieve kernen	Biologische classificatie	Score
8	FISH-VP2000-Abbott	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK genherschikking	40%	pathogenic	geslaagd
9	FISH-Dako Omnis-Agilent	ALK IQFISH Break Apart-Agilent	positief	82%	niet vermeld	geslaagd
10	FISH-Manuele methode	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK genherschikking	28%	niet vermeld	geslaagd
11	FISH-VP2000-Abbott	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK genherschikking	75/100 (single read signal)	pathogenic	geslaagd

\*Dit laboratorium heeft ook een RNA sequencing methode gebruikt.

\*\*Dit laboratorium heeft twee keer deelgenomen met twee verschillende methoden (RNA-sequencing en FISH). Het was ingeschreven voor PCR en FISH maar het blijkt dat het een RNA sequencing methode gebruikt heeft in plaats van een PCR methode.

### 3.2.2 Casus F10002933

Gebruikte methodologie		Vastgestelde resultaten				
Labo	Methode-Automaat	Kit	Status van ALK gen	% positieve kernen	Biologische classificatie	Score
1	RNAseq-Miseq-Illumina	Archer Lung Fusion plex + Integrated DNA technologies	ALK WT	NVT	niet vermeld	Niet evalueerbaar door het gebruik van NGS
2*	PCR-Idylla-Biocardis	Idylla GeneFusion Assay (RUO)-Biocardis	ALK WT	NVT	NVT	geslaagd
3	FISH-Méthode manuelle	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK WT	0	niet vermeld	geslaagd
4	FISH-Méthode manuelle	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK WT	0	niet vermeld	geslaagd
5	FISH-Méthode manuelle	ALK IQFISH Break Apart-Agilent	ALK WT	niet vermeld	niet vermeld	geslaagd
6	RNAseq-Miseq-Illumina	Archer Lung Fusion plex-Integrated DNA technologies	geen ALK genherschikking	NVT	NVT	Niet evalueerbaar door het gebruik van NGS

Labo	Gebruikte methodologie		Vastgestelde resultaten			
	Methode-Automaat	Kit	Status van ALK gen	% positieve kernen	Biologische classificatie	Score
6bis**	FISH-Bond III-Leica	Kreatech FISH probe ALK (2p23)Break -XL-Leica	geen ALK genherschikking	NVT	NVT	geslaagd
7	Geen ingestuurd resultaten	Geen ingestuurd resultaten	Geen ingestuurd resultaten	Geen ingestuurd resultaten	Geen ingestuurd resultaten	Niet geslaagd wegens geen ingestuurde resultaten zonder reden
8	FISH-VP2000-Abbott	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK WT	0	niet vermeld	geslaagd
9	FISH-Dako Omnis-Agilent	ALK IQFISH Break Apart-Agilent	Negatief	0	niet vermeld	geslaagd
10	FISH-Manuele methode	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	geen ALK genherschikking	2%	niet vermeld	geslaagd
11	FISH-VP2000-Abbott	Vysis ALK break apart FISH-Abbott	ALK WT	niet vermeld	NVT	geslaagd

\*Dit laboratroyum heeft ook een RNA sequencing methode gebruikt.

\*\*Dit laboratorium heeft twee keer deelgenomen met twee verschillende methoden (RNA-sequencing en FISH).

### 3.3 Commentaren

#### 3.3.1 Casus F00209731

- 7/9 laboratoria hebben goed geantwoord en 2/9 hebben een technisch probleem gehad. Deze twee hebben een FISH methode gebruikt.
- De helft van de labo's heeft een correcte biologische classificatie vermeld volgens de Compermed richtlijnen.

#### 3.3.2 Casus F10002933

- Alle laboratoria hebben goed geantwoord.

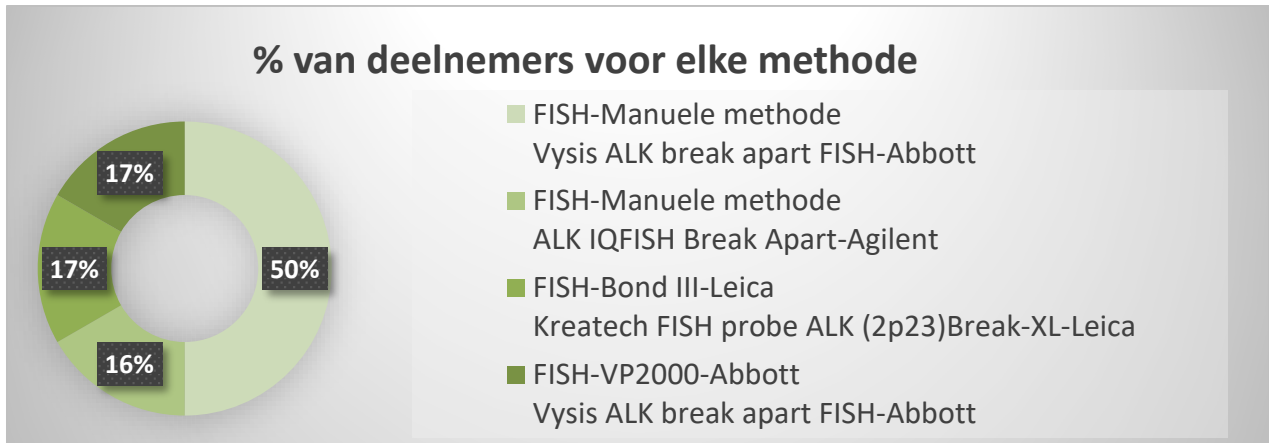
Houd er rekening mee dat de twee laboratoria die een NGS methode gebruikt hebben, hetzelfde antwoord bekomen hebben als de gebruikers van FISH of PCR.

## 4 Gebruikte methodes

### A. PCR

De meest gebruikte kit om de detectie van ALK fusiegen op te sporen is de kit Idylla GeneFusion assay van Biocartis gekoppeld aan het gebruik van de automaat Idylla van Biocartis.

### B. FISH



**Chart 3: Verdeling van laboratoria per gebruikte methode-kit voor de detectie van een fusie van het ALK gen door FISH methodes.**

De meest gebruikte kit om de detectie van ALK fusiegen op te sporen is de kit Vysis ALK break apart FISH van Abbott.

## 5 Conclusies over de resultaten van de laboratoria

De resultaten van de laboratoria voor klinische biologie en pathologische anatomie zijn zeer bevredigend.

We herinneren de laboratoria er ook aan dat we, volgens ons intern beleid en ons kwaliteitssysteem geen individuele resultaten mogen wijzigen na afsluiten van de EKE en dus ook geen individueel rapport wijzigen. Enkel een fout die aan ons te wijten is kan leiden tot een wijziging van het individueel rapport en dus tot een wijziging van de score van het laboratorium.

## INTERPRETATIE VAN HET INDIVIDUELE RAPPORT

Naast dit globale rapport, heeft u ook toegang tot een individueel rapport dat u per mail werd toegestuurd. Hieronder vindt u de evaluatie criteria waarop de evaluatie die u krijgt in uw individueel rapport gebaseerd is.

### **Evaluatie criteria**

Het evaluatiecriterium is de correcte detectie van de aanwezigheid van de fusiegen ALK in het overeenkomstig staal. De biologische classificatie is gevraagd met een educatief doel en werd dus niet gescoord. Inderdaad, deze classificatie behoort tot de NGS richtlijnen van de Compermed; de laboratoria die een NGS methode gebruiken zijn niet betrokken bij deze enquête.

De aanwezigheid van de mutatie is bevestigd door een NGS analyse uitgevoerd door de firma die ons de blok heeft gestuurd.

De deelnemers die een FISH methode gebruiken zijn afzonderlijk geëvalueerd van de laboratoria die een PCR methode gebruiken. De evaluatie criteria blijven dezelfde (correcte detectie van de gefusioneerd staal).

U kan meer details vinden in de brochures die beschikbaar zijn op onze website op het volgende adres:

[Klinische gezondheid | EKE klinische biologie | sciensano.be](#)

- Algemene informatiebrochure EKE

---

**EINDE**

---