

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

**COMMISSION D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE  
GROUPE DE TRAVAIL EEQ**

**EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE  
DES ANALYSES D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE**

**RAPPORT GLOBAL DEFINITIF  
IMMUNOHISTOCHIMIE – HER2/PR  
ENQUETE 2022/3**

**Sciensano/Immunohistochimie/16-FR**

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

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

## GROUPE DE TRAVAIL EEQ

Sciensano					
Secrétariat		TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
Vanessa Ghislain	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	<a href="mailto:Vanessa.Ghislain@sciensano.be">Vanessa.Ghislain@sciensano.be</a>		
Membres groupe de travail EEQ	Institution				
Gabriela Beniuga	IPG Gosselies				
Cecile Colpaert	ZNK Turnhout				
Bart De Wiest	OLV Aalst				
Caroline Fervaille	CHU UCL Namur				
Bart Lelie	AZ-ZENO Knokke-Heist				
Herwig Van Dijck	UZ Antwerpen				

Une version provisoire (draft) de ce rapport a été transmise aux membres du groupe de travail EEQ le : 12/12/2022.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du groupe de travail EEQ du : /.

**Autorisation du rapport** : par Vanessa Ghislain, coordinateur d'enquête

**Date de publication** : 21/12/2022

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:  
<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires/eeq-immunohistochimie>

## TABLE DE MATIERES

<b>1. Introduction</b> .....	<b>4</b>
1.1. Objectif de l'EEQ .....	4
1.2. Activités sous-traitées .....	4
1.3. Matériel de l'EEQ .....	4
1.4. Demande .....	4
1.5. Formulaire de réponse .....	5
<b>2. Relecture</b> .....	<b>5</b>
2.1. Critères généraux .....	5
2.2. Critères spécifiques par épitope .....	5
2.2.1. HER2 .....	5
2.2.2. RP .....	6
2.3. Évaluation finale .....	6
2.3.1. HER2 .....	6
2.3.2. RP .....	6
<b>3. Résultats</b> .....	<b>7</b>
3.1. Participation à l'EEQ .....	7
3.2. Aperçu des résultats .....	7
3.3. Résultats par anticorps .....	8
3.3.1. HER2 .....	8
3.3.2. RP .....	8
3.4. Résultats de l'interprétation HER2 .....	8
3.4.1. Score biopsie 1 .....	8
3.4.2. Score biopsie 2 .....	9
3.4.3. Score biopsie 3 .....	9
3.4.4. Score biopsie 4 .....	10
3.4.5. Score biopsie 5 .....	10
3.4.6. Guidelines utilisées pour l'interprétation des résultats .....	10
<b>4. Discussion des résultats</b> .....	<b>11</b>
4.1. HER2 .....	11
4.2. RP .....	11
4.3. Interprétation HER2 .....	12
<b>5. Images</b> .....	<b>14</b>

# 1. Introduction

Ce document comprend un résumé ainsi qu'une discussion des résultats de l'évaluation externe de la qualité (EEQ) Immunohistochimie 2022/3 (HER2/PR) et un résumé des commentaires individuels et des recommandations.

## 1.1. OBJECTIF DE L'EEQ

Cette EEQ avait pour objectif d'évaluer la qualité des colorations immunohistochimiques HER2 et PR (RP, récepteur de progestérone).

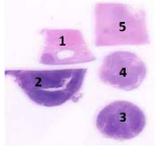
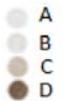
## 1.2. ACTIVITÉS SOUS-TRAITÉES

Le matériel tissulaire a été fourni par le laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital OLV d'Alost.

## 1.3. MATÉRIEL DE L'EEQ

Le matériel transmis comportait 2 coupes de paraffine non colorées avec 1) des biopsies au trépan provenant des pièces opératoires et 2) des lignées cellulaires (« FFPE »). Les biopsies comportaient des tissus normaux ainsi que des tumeurs cliniquement pertinentes. Les biopsies ont montré différents niveaux d'expression de protéines (forte, modérée, faible, aucune expression).

Les blocs multitissulaires ont été libérés par le groupe de travail EEQ le 12/09/2022. L'évaluation du bloc multitissulaire HER2 était basée sur des colorations IHC avec les anticorps de Ventana/Roche (clone 4B5) et Dako/Agilent (anticorps polyclonal) et sur une hybridation in situ (SISH).

	HER2	RP
Biopsies	 <ul style="list-style-type: none"> <li>1) Carcinome mammaire</li> <li>2) Carcinome mammaire</li> <li>3) Carcinome mammaire</li> <li>4) Carcinome mammaire</li> <li>5) Carcinome mammaire</li> </ul>	 <ul style="list-style-type: none"> <li>1) Col utérin</li> <li>2) Amygdale</li> <li>3) Carcinome mammaire</li> <li>4) Carcinome mammaire</li> <li>5) Carcinome mammaire</li> </ul>
Lignées cellulaires	 <ul style="list-style-type: none"> <li>A) Carcinome mammaire</li> <li>B) Carcinome mammaire</li> <li>C) Carcinome gastrique</li> <li>D) Carcinome mammaire</li> </ul>	 <ul style="list-style-type: none"> <li>A) Carcinome canalaire</li> <li>B) Carcinome mammaire</li> <li>C) Carcinome canalaire</li> <li>D) Carcinome canalaire</li> </ul>

L'homogénéité des échantillons a été testée par le laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital OLV d'Alost. L'homogénéité a été vérifiée par contrôle microscopique de la coloration immunohistochimique à plusieurs niveaux (effectuée toutes les 30 coupes). Les échantillons ont été considérés comme homogènes (au sens où chaque entité de 2 coupes renferme une information identique) et stables jusqu'à la fin de la période d'analyse.

## 1.4. DEMANDE

Il était demandé de réaliser les colorations HER2 et RP, selon les procédures habituelles du laboratoire. Le laboratoire pouvait ajouter sa propre coupe de contrôle (témoin externe) ; par contre, le témoin HER2 devait être envoyé. Il était précisé que le traitement des échantillons devait être le même que celui des échantillons des patients, c.-à-d. qu'ils devaient être intégrés dans le circuit habituel des échantillons des patients.

Il était également demandé d'enregistrer le score HER2 pour chacune des biopsies. Aucune interprétation n'était demandée pour RP.

## 1.5. FORMULAIRE DE RÉPONSE

Il a été demandé de remplir un formulaire de réponse concernant les méthodes utilisées. Ce formulaire a été établi par le coordinateur d'enquête et a été joint aux lames.

## 2. Relecture

L'évaluation des lames a été réalisée conjointement et simultanément par 2 pathologistes et par le coordinateur d'enquête, Vanessa Ghislain (Sciensano). Dans ce but, les évaluateurs se sont réunis à la date du 9 novembre 2022 à l'hôpital universitaire de Gand. Pour plus d'anonymat, les lames des laboratoires n'étaient pas identifiées par leur numéro de participant (QMLxxx), mais par un numéro aléatoire uniquement connu du coordinateur EEQ. Cette structure administrative et scientifique garantit la qualité et l'anonymat des résultats.

Pour le test HER2, les témoins ont également été évalués (voir ci-dessous). Les scores rapportés pour l'interprétation des biopsies HER2 ont été évalués mais n'ont pas été pris en compte dans le résultat final.

### 2.1. CRITÈRES GÉNÉRAUX

Globalement, l'évaluation est basée sur :

- **la spécificité** : un signal suffisant et spécifique doit être présent ;
- **le bruit de fond** : en principe, une coloration immunohistochimique ne doit pas générer de bruit de fond aspécifique ;
- **la morphologie** : la coloration doit modifier le moins possible la morphologie.

### 2.2. CRITÈRES SPÉCIFIQUES PAR ÉPITOPE

#### 2.2.1. HER2

Biopsies et lignées cellulaires :

			IHC	ISH (ratio)
Biopsies*	1. Carcinome mammaire 2. Carcinome mammaire 3. Carcinome mammaire 4. Carcinome mammaire 5. Carcinome mammaire		1) 2+ 2) 0 3) 1-2+ 4) 3+ 5) 1-2+	1) Amplified (2.50) 2) Not amplified (0.90) 3) Not amplified (1.09) 4) Amplified (9.52) 5) Not amplified (1.30)
Lignées cellulaires	A. Carcinome mammaire B. Carcinome mammaire C. Carcinome gastrique D. Carcinome mammaire		A) 0 B) 1+ C) 2+ D) 3+	A) Not amplified B) Not amplified C) Equivocal D) Amplified

(\*) Colorations réalisées cf. le point 1.3 ; scoring selon les guidelines ASCO/CAP 2018.

Evaluation du tissu de contrôle du laboratoire :

Tissu de contrôle présent ?	Conforme aux directives* ?	Directives*
Oui / Non	Conforme / Pas conforme	Des contrôles journaliers fortement positifs (3+) et négatifs (1+ et/ou 0) doivent être utilisés. Des contrôles faiblement positifs (2+) sont fortement recommandés.

- (\*) - Directive Pratique pour les laboratoires d'anatomie pathologique agréés, version 2.1, 12/10/2022  
 - Update of the Belgian guidelines for HER2 testing in breast cancer  
 Lambein K., Guiot Y., Galant C., Salgado R., Colpaert C.  
 Belg J Med Oncol 2014;8(4):109-15

### 2.2.2. RP

#### Biopsies :

- 1) **Col utérin** : coloration nucléaire modérée à forte de la majorité des cellules épithéliales cylindriques et de la majorité des cellules stromales (à l'exception des cellules endothéliales et lymphoïdes) ; au minimum une coloration nucléaire faible de l'épithélium squameux basal
- 2) **Amygdale** : aucune coloration nucléaire
- 3) **Carcinome mammaire** : coloration nucléaire modérée à forte d'environ 30% des cellules tumorales
- 4) **Carcinome mammaire** : coloration nucléaire modérée à forte de plus de 90% des cellules tumorales
- 5) **Carcinome mammaire** : aucune coloration nucléaire des cellules tumorales

#### Lignées cellulaires :

- A) **Carcinome canalaire** : négatif
- B) **Carcinome mammaire** : faiblement positif/positif
- C) **Carcinome canalaire** : positif/fortement positif
- D) **Carcinome canalaire** : fortement positif

## 2.3. ÉVALUATION FINALE

### 2.3.1. HER2

- **Optimal** : la coloration de la biopsie 1 correspond avec un score 2+ ; la coloration de la biopsie 3 correspond avec un score 1+ ou 2+ ; absence de coloration cytoplasmique (ou présence d'une coloration cytoplasmique faible) interférant avec l'interprétation de la coloration membranaire
- **Bon** : coloration faussement positive (par ex. la coloration sur la biopsie 2 correspond avec un score 2+) ou la coloration de la biopsie 4 correspond avec un score 2+ ou en moyenne, coloration membranaire passable mais peu intense ou présence d'une coloration cytoplasmique interférant avec l'interprétation de la coloration membranaire ou contre-coloration insuffisante
- **Borderline** : une des lignées cellulaires est faussement négative ; une optimisation de la méthode est nécessaire
- **Insuffisant** : la coloration de la biopsie 1 ou de la biopsie 4 correspond avec un score 0 ou 1+ ; une optimisation de la méthode est nécessaire et urgente

### 2.3.2. RP

- **Optimal** : la coloration correspond avec les critères décrits ci-dessus (voir 2.2.2.)
- **Bon** : en moyenne, coloration peu intense (p. ex.  $\geq 10\%$  de positivité sur les biopsies 3 et 4 mais en proportion trop faible ou coloration trop peu intense par rapport à la coupe de référence) ou coloration cytoplasmique ou contre-coloration insuffisante
- **Borderline** : coloration faussement positive sur l'endothélium du col utérin ou coloration nucléaire de  $\geq 10\%$  des cellules B des centres germinatifs de l'amygdale ou coloration insuffisante sur une biopsie mammaire (p. ex.  $\geq 1\%$  et  $< 10\%$  de positivité sur les biopsies 3 ou 4) ou coloration cytoplasmique interférant avec l'interprétation ; une optimisation de la méthode est nécessaire
- **Insuffisant** : coloration faussement négative ou faussement positive sur une biopsie mammaire (c.-à-d.  $< 1\%$  de positivité sur les biopsies 3 ou 4 ou  $\geq 1\%$  de positivité sur la biopsie 5) ; une optimisation de la méthode est nécessaire et urgente

## 3. Résultats

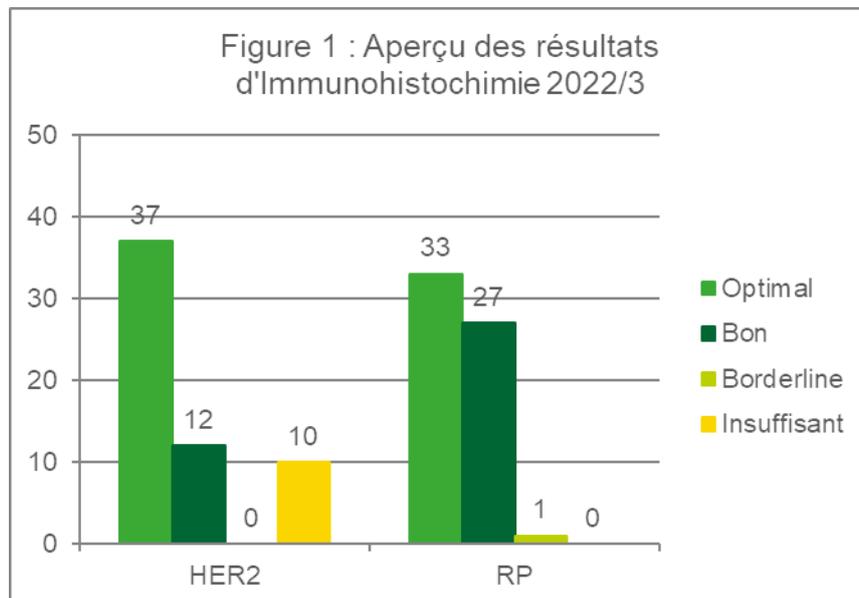
### 3.1. PARTICIPATION À L'EEQ

Le taux de participation a été de 61/63 (97%).

Région	Nombre de laboratoires ayant reçu des coupes (inscrits)	Nombre de laboratoires ayant renvoyé une coupe HER2	Nombre de laboratoires ayant renvoyé une coupe RP
Région Flamande	39	37	39
Région Bruxelloise	9	8	8
Région Wallonne	15	14	14
Sociétés pharm.	0	0	0
Total	63	59	61

### 3.2. APERÇU DES RÉSULTATS

Evaluation finale	HER2	RP
Optimal	37 (63%)	33 (54%)
Bon	12 (20%)	27 (44%)
Borderline	0	1 (2%)
Insuffisant	10 (17%)	0
Total	59	61



### 3.3. RÉSULTATS PAR ANTICORPS

#### 3.3.1. HER2

HER2							
Clone	N	Fournisseur	Optimal	Bon	Border-line	Insuffisant	Acceptable*
<b>Anticorps concentrés (n = 18)</b>							
Polyclonal	18	Dako/Agilent Technologies	11	4	0	3	83%
<b>Anticorps prêts à l'emploi (n = 41)</b>							
ml 4B5	34	Cell Marque/Ventana/Roche	21	6	0	7	79%
ml DG44 (HercepTest)	6	Dako/Agilent Technologies	5	1	0	0	100%
ms CB11	1	Leica / Novocastra	0	1	0	0	1/1

(\*) optimal/bon

ms = anticorps monoclonal de souris

ml = anticorps monoclonal de lapin

#### 3.3.2. RP

RP							
Clone	N	Fournisseur	Optimal	Bon	Border-line	Insuffisant	Acceptable*
<b>Anticorps concentrés (n = 4)</b>							
ms PgR 1294	2	Dako/Agilent Technologies	1	1	0	0	2/2
ms 16	1	Leica/Novocastra	0	1	0	0	1/1
ms 16 + SAN27	1	Leica/Novocastra	1	0	0	0	1/1
<b>Anticorps prêts à l'emploi (n = 57)</b>							
ml 1E2	34	Cell Marque/Ventana/Roche	9	24	1	0	97%
ms PgR 1294	15	Dako/Agilent Technologies	14	1	0	0	100%
ms PgR 636	6	Dako/Agilent Technologies	6	0	0	0	100%
ms 16	2	Leica/Novocastra	2	0	0	0	2/2

(\*) optimal/bon

ms = anticorps monoclonal de souris

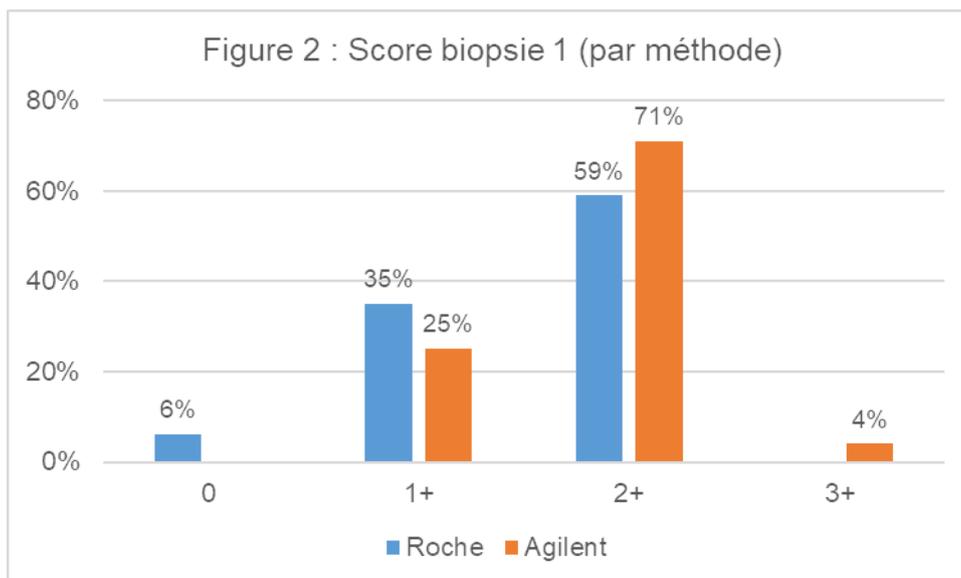
ml = anticorps monoclonal de lapin

### 3.4. RÉSULTATS DE L'INTERPRÉTATION HER2

#### 3.4.1. Score biopsie 1

Le résultat attendu pour cette biopsie était un **score 2+**.

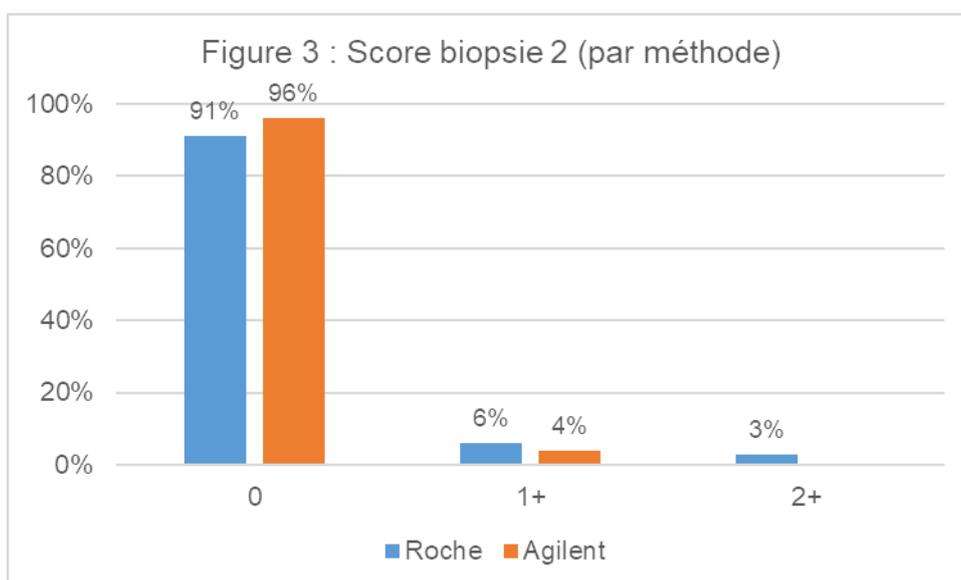
Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	2	0	0
1+	12	6	0
2+	20	17	1
3+	0	1	0



### 3.4.2. Score biopsie 2

Le résultat attendu pour cette biopsie était un **score 0**.

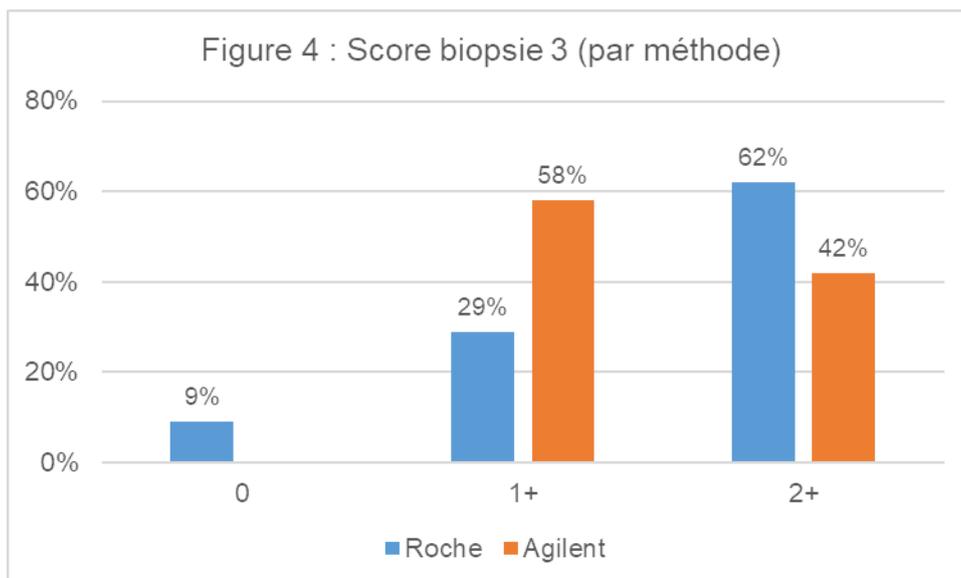
Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	31	23	0
1+	2	1	1
2+	1	0	0
3+	0	0	0



### 3.4.3. Score biopsie 3

Le résultat attendu pour cette biopsie était un **score 1-2+**.

Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	3	0	0
1+	10	14	0
2+	21	10	1
3+	0	0	0



### 3.4.4. Score biopsie 4

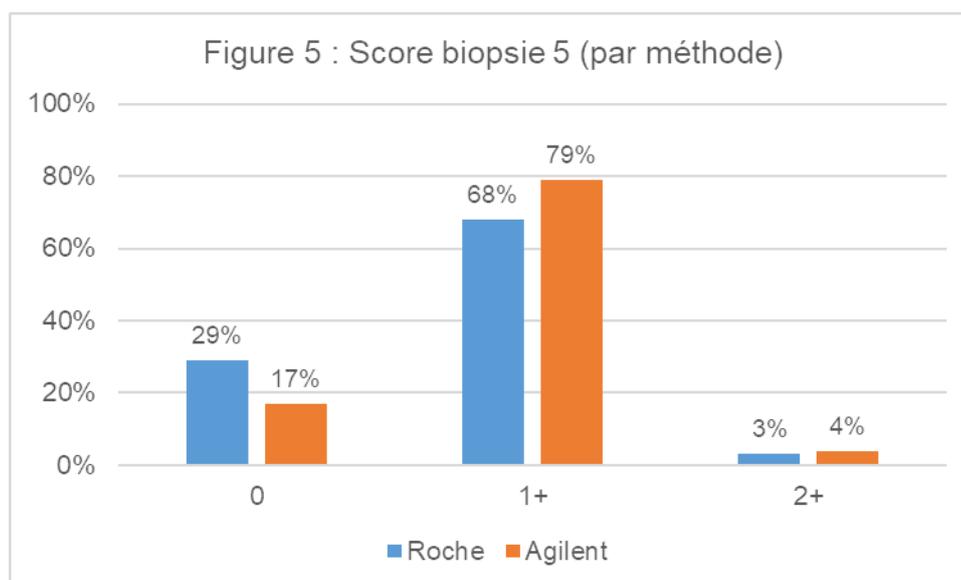
Le résultat attendu pour cette biopsie était un **score 3+**.

Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	0	0	0
1+	0	0	0
2+	0	0	0
3+	34	24	1

### 3.4.5. Score biopsie 5

Le résultat attendu pour cette biopsie était un **score 1-2+**.

Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	10	4	1
1+	23	19	0
2+	1	1	0
3+	0	0	0



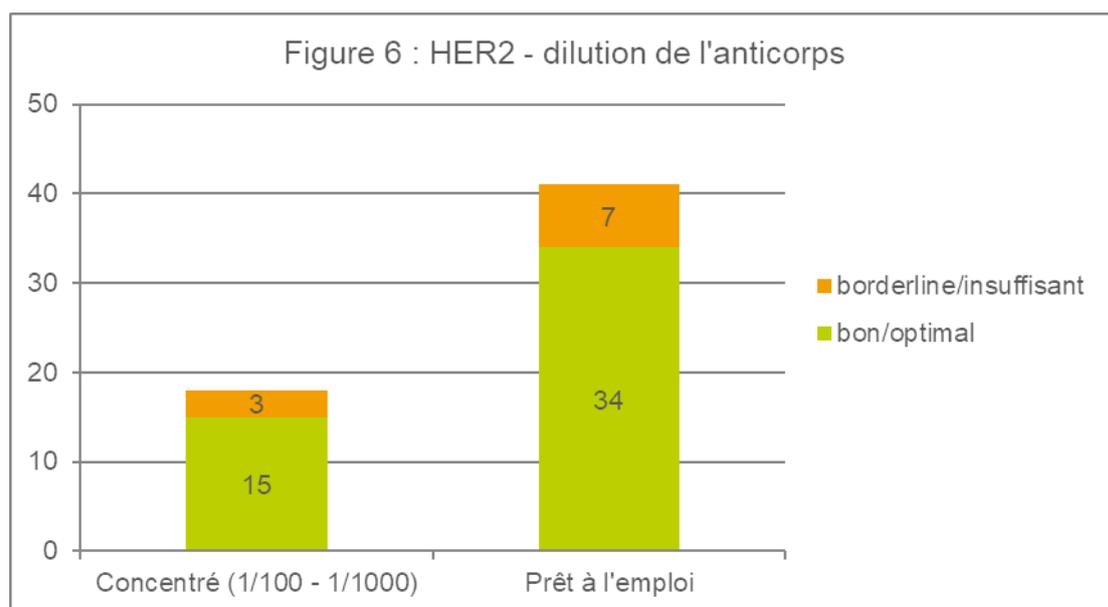
### 3.4.6. Guidelines utilisées pour l'interprétation des résultats

Réponses	N
ASCO/CAP Guidelines 2018	56
Belgian Guidelines 2014	2
Non rapporté	1

## 4. Discussion des résultats

### 4.1. HER2

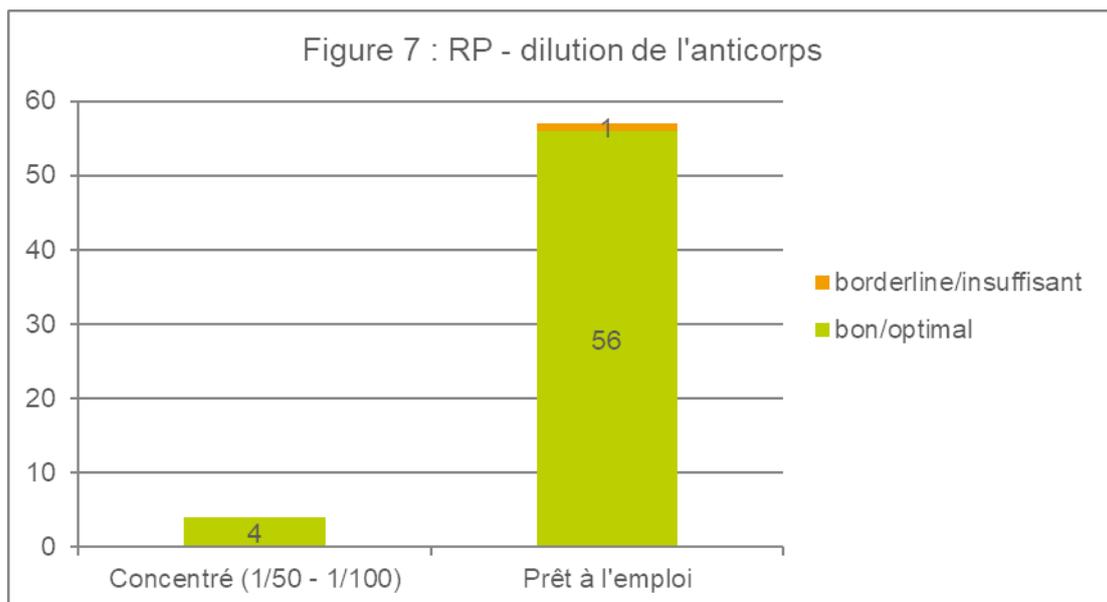
- La coloration HER2 a été de qualité optimale ou bonne pour 49/59 participants (83%) (voir figure 1).
- La coloration a été réalisée par automate par tous les laboratoires.
- Une coupe de contrôle a été ajoutée par 57/59 participants (97%). La coupe de contrôle était conforme dans 96% des cas (55/57).
- Les anticorps les plus souvent utilisés sont le clone 4B5 (34/59 laboratoires soit 58%) et l'anticorps polyclonal A0485 (18/59 laboratoires soit 31%).
- Un anticorps concentré a été utilisé par 18/59 laboratoires (31%), un anticorps prêt à l'emploi par 41/59 laboratoires (69%) (voir figure 6).



- Un résultat insuffisant correspond dans tous les cas (10/10) à une coloration faussement négative pour la biopsie 1 (2+/amplified).

### 4.2. RP

- La coloration RP a été de qualité optimale ou bonne pour 60/61 participants (98%) (voir figure 1).
- La coloration a été réalisée par automate par tous les laboratoires.
- Une coupe de contrôle a été ajoutée par 40/61 participants (66%).
- Les clones les plus souvent utilisés sont le 1E2 (34/61 laboratoires soit 56%), le PgR 1294 (17/61 laboratoires soit 28%) et le PgR 636 (6/61 laboratoires soit 10%).
- Un anticorps concentré a été utilisé par 4/61 laboratoires (7%), un anticorps prêt à l'emploi par 57/61 laboratoires (93%) (voir figure 6).



- Un laboratoire a obtenu un résultat borderline, à cause d'un marquage insuffisant sur la biopsie mammaire 3.
- Une remarque récurrente concerne une coloration passable mais trop peu intense sur la biopsie mammaire 3 ; cela a conféré à 27 laboratoires un score de « bon » au lieu d' « optimal ». L'anticorps prêt à l'emploi 1E2 de Roche semble être particulièrement sujet à ce problème.
- Le tissu de contrôle positif recommandé par NordiQC est le col utérin, notamment pour l'évaluation de la sensibilité de la coloration RP. La majorité de l'épithélium cylindrique et des cellules stromales doivent présenter une coloration modérée à forte, avec une coloration cytoplasmique minimale. L'épithélium squameux basal doit présenter au minimum une coloration faible (une expression RP plus faible dans l'épithélium squameux du col utérin chez la femme ménopausée est possible). Aucune coloration ne doit être observée dans les cellules endothéliales et lymphoïdes. L'amygdale peut être utilisée comme contrôle négatif : aucune coloration nucléaire ne doit être observée.

#### 4.3. INTERPRÉTATION HER2

- L'interprétation consensuelle des participants (indiquée en gras dans le tableau ci-dessous) correspondait au résultat attendu pour chacune des biopsies :

Réponses	Biopsie 1	Biopsie 2	Biopsie 3	Biopsie 4	Biopsie 5
<b>Résultat attendu</b>	<b>2+/A*</b>	<b>0/NA*</b>	<b>1-2+/NA</b>	<b>3+/A</b>	<b>1-2+/NA</b>
<b>0</b>	3%	<b>91.5%</b>	5%	-	25.5%
<b>1+</b>	31%	7%	41%	-	<b>71%</b>
<b>2+</b>	<b>64%</b>	1.5%	<b>54%</b>	-	3.5%
<b>3+</b>	2%	-	-	<b>100%</b>	-

(\*) NA = non amplifié, A = amplifié

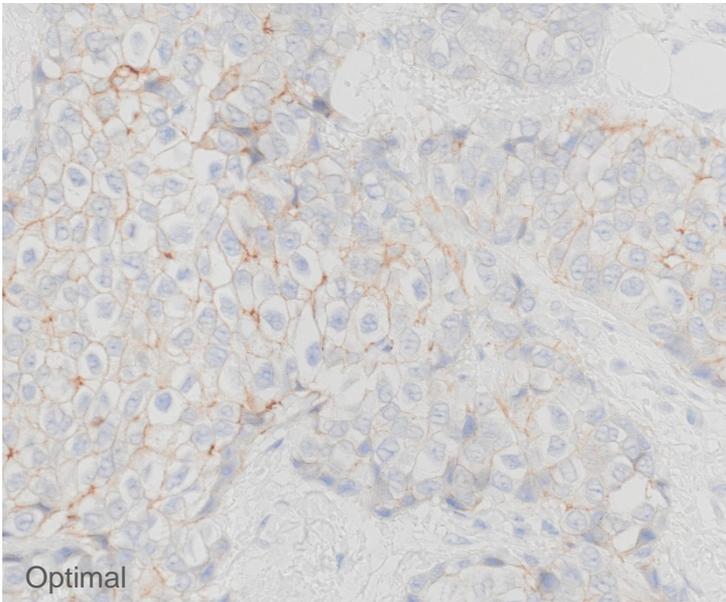
- Dans cette enquête, pour chaque biopsie, les résultats IHC et ISH sont concordants entre eux et nous n'avons pas constaté de surinterprétation dans les IHC. C'est-à-dire qu'aucune des 3 biopsies non amplifiées de cette enquête n'a été marquée et/ou interprétée comme un résultat 3+ par un laboratoire. Cependant, il reste encore obligatoire de réaliser une vérification ISH sur les biopsies scorées 3+. En effet, si la confirmation ISH des biopsies 3+ est supprimée, celles-ci sont immédiatement considérées comme HER2 positives avec le risque de surinterprétation de la tumeur et de traitement inutile du patient.
- 10 laboratoires ont rapporté une interprétation erronée 1+ pour la biopsie 1 (2+/amplifiée), alors que la coloration était techniquement correcte et conforme au score attendu 2+. La

coloration a été évaluée comme « optimale » ou « bonne », mais les participants ont reçu un commentaire dans leur rapport individuel.

- En ce qui concerne les 10 autres laboratoires ayant interprété la biopsie 1 comme 1+ ou 0, la coloration n'était en effet techniquement pas correcte. Ces colorations ont été évaluées comme "insuffisantes".

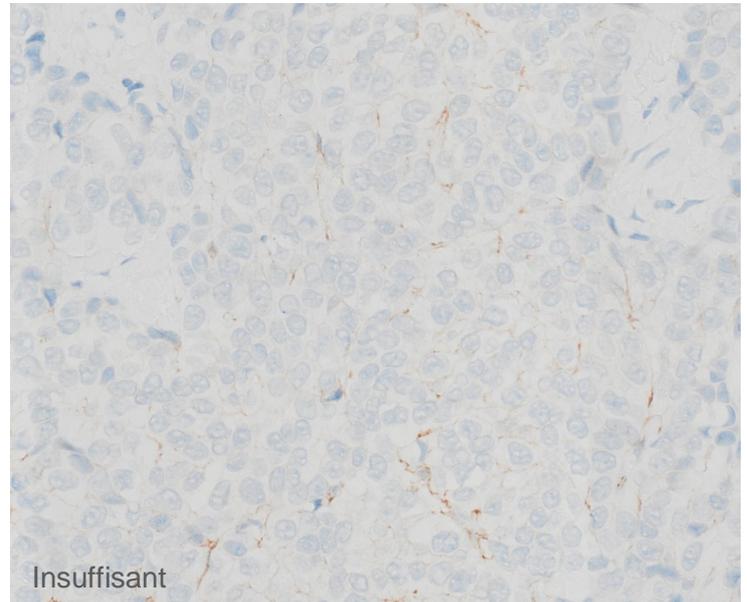
## 5. Images

### HER2



Optimal

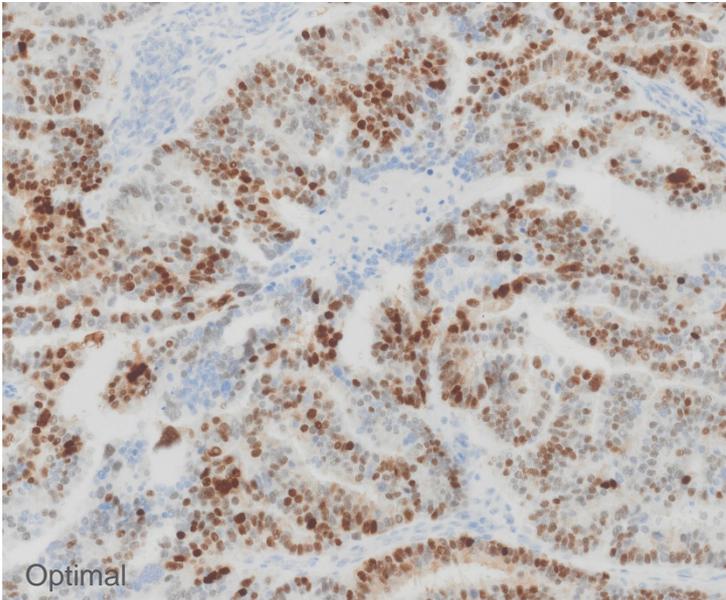
**Biopsie 1 (2+/amplified)**



Insuffisant

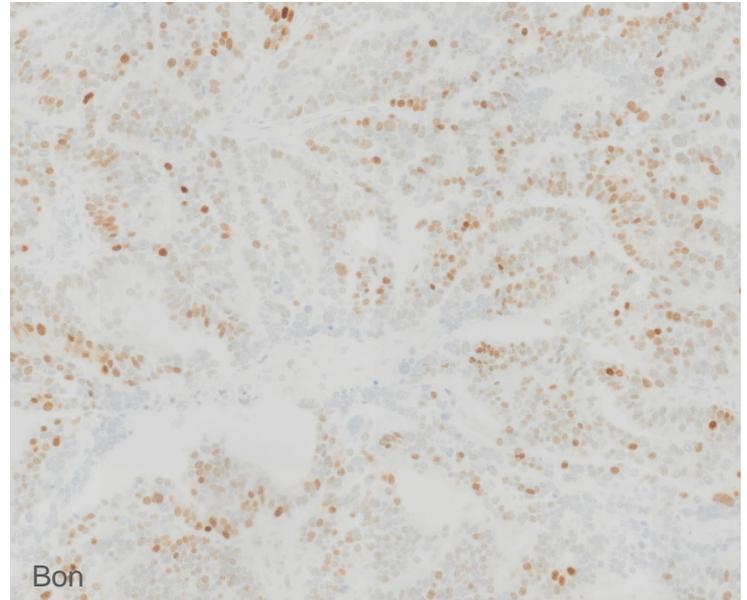
**Biopsie 1 (2+/amplified)** : coloration faussement négative car ne correspond pas à un score 2+

### RP



Optimal

**Biopsie 3** : coloration nucléaire modérée à forte d'environ 30% ces cellules tumorales



Bon

**Biopsie 3** : coloration passable mais trop peu intense

---

FIN

---

© Sciensano, Bruxelles 2022.

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.