

**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 2023/3**

Sciensano/Immunohistochimie/19-FR

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

www.sciensano.be

GROUPE DE TRAVAIL EEQ

Sciensano					
Secrétariat		TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
		e-mail:	ql_secretariat@sciensano.be		
Vanessa Ghislain	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	Vanessa.Ghislain@sciensano.be		
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				

Un draft de ce rapport a été transmis aux membres du groupe de travail EEQ le : 20/12/2023.

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 : 10/01/2024

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

TABLE DE MATIERES

1. Introduction	4
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	4
2. Relecture	5
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
3. Résultats	7
3.1. Participation à l'EEQ	7
3.2. Aperçu des méthodes	7
3.3. Aperçu des résultats	7
3.4. Résultats par anticorps	8
3.4.1. HER2	8
3.4.2. RP	8
3.5. Résultats de l'interprétation HER2	8
3.5.1. Score biopsie 1	8
3.5.2. Score biopsie 2	9
3.5.3. Score biopsie 3	9
3.5.4. Score biopsie 4	10
3.5.5. Score biopsie 5	10
3.5.6. Guidelines utilisées pour l'interprétation des résultats	11
4. Discussion des résultats	11
4.1. HER2	11
4.2. RP	12
4.3. Interprétation HER2	12
5. Images	13

1. Introduction

Ce document comprend un résumé ainsi qu'une discussion des résultats de l'évaluation externe de la qualité (EEQ) Immunohistochimie 2023/3 (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).

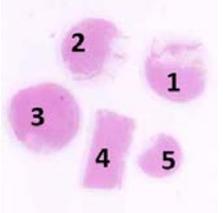
1.2. ACTIVITÉS SOUS-TRAITÉES

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 des biopsies au trépan provenant des pièces opératoires. 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 31/08/2023. 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). NordiQC a également coloré les coupes (Pathway de Roche et HercepTest d'Agilent).

HER2		RP	
1. Carcinome mammaire		1. Col utérin normal	
2. Carcinome mammaire			
3. Carcinome mammaire			
4. Carcinome mammaire			
5. Carcinome mammaire			

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 22 novembre 2023 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.

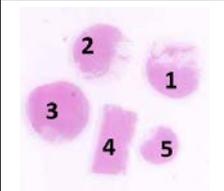
2.1. CRITÈRES GÉNÉRAUX

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		IHC*	ISH* (ratio)
1. Carcinome mammaire		1) 3+	1) Amplified (3.98)
2. Carcinome mammaire		2) 0	2) Not amplified (-)
3. Carcinome mammaire		3) 1-2+	3) Not amplified (1.18)
4. Carcinome mammaire		4) 1-2+	4) Not amplified (1.08)
5. Carcinome mammaire		5) 2+	5) Amplified (4.60)

(*) 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 2.2, 09/10/2023
 - 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

- 1) **Col utérin** : coloration nucléaire modérée à forte de la majorité des cellules épithéliales cylindriques (si présentes) et de la majorité des cellules stromales (à l'exception des cellules endothéliales et lymphoïdes) ; au minimum une coloration nucléaire faible des cellules squameuses de l'épithélium basal
- 2) **Amygdale** : aucune coloration nucléaire
- 3) **Carcinome mammaire** : au minimum une coloration nucléaire modérée de 30% (ou dans au moins 10%) des cellules tumorales
- 4) **Carcinome mammaire** : coloration nucléaire modérée à forte de 100% des cellules tumorales
- 5) **Carcinome mammaire** : aucune coloration (ou coloration de moins de 1%) nucléaire des cellules tumorales

2.3. ÉVALUATION FINALE

2.3.1. HER2

- **Optimal** : la coloration de la biopsie 5 correspond à un score 2+ ; la coloration de la biopsie 3 correspond à 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 (p. ex. la coloration sur la biopsie 2 correspond à un score 2+) ou la coloration de la biopsie 1 correspond à un score 2+ ou en moyenne, coloration membranaire passable mais peu intense ou contre-coloration insuffisante
- **Borderline** : présence d'une coloration cytoplasmique interférant avec l'interprétation de la coloration membranaire ; une optimisation de la méthode est nécessaire
- **Insuffisant** : la coloration de la biopsie 1 ou de la biopsie 5 correspond à un score 0 ou 1+ ; une optimisation de la méthode est nécessaire et urgente

2.3.2. RP

- **Optimal** : la coloration correspond aux critères décrits ci-dessus (voir 2.2.2.)
- **Bon** : en moyenne, coloration peu intense (p. ex. $\geq 10\%$ de positivité sur la biopsie 4 mais en proportion trop faible ou coloration trop peu intense par rapport à la coupe de référence) ou coloration faussement négative des cellules squameuses de l'épithélium basal du col utérin 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 59/61 (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	37	35	37
Région Bruxelloise	8	8	8
Région Wallonne	15	13	13
Sociétés pharm.	1	1	1
Total	61	57	59

3.2. APERÇU DES MÉTHODES

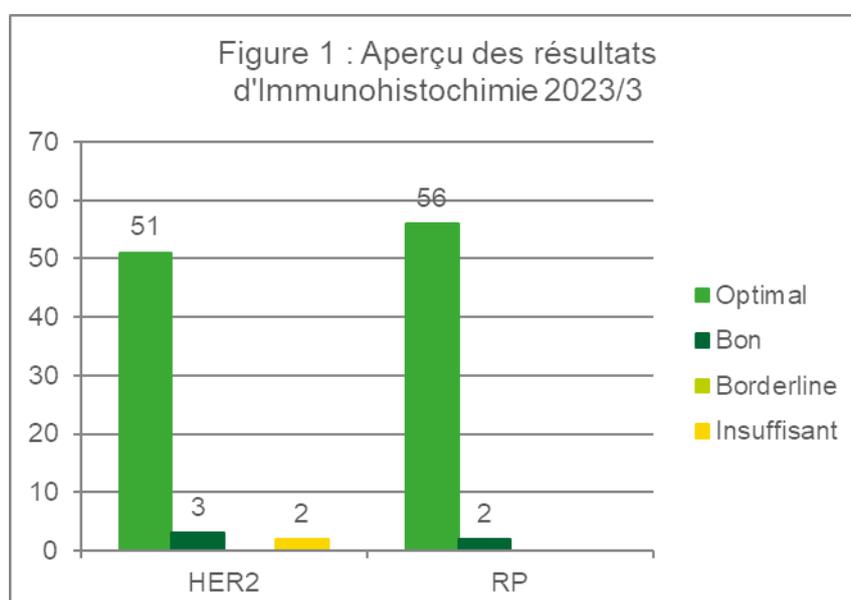
Les colorations ont été réalisées par automate par tous les laboratoires et sur le même type d'automate pour les deux paramètres :

Réponses	N
Ventana Ultra	34
Dako Omnis	18
Dako Autostainer	3
Leica Bond III	2
Total (laboratoires ayant réalisés la coloration HER2 et RP)	57

3.3. APERÇU DES RÉSULTATS

Les sociétés pharmaceutiques (fournisseurs des anticorps, voir également 3.1) n'ont pas été incorporées aux résultats.

Evaluation finale	HER2	RP
Optimal	51 (91%)	56 (97%)
Bon	3 (5%)	2 (3%)
Borderline	0	0
Insuffisant	2 (4%)	0
Total	56	58



3.4. RÉSULTATS PAR ANTICORPS

Les sociétés pharmaceutiques (fournisseurs des anticorps, voir également 3.1) n'ont pas été incorporées aux résultats.

3.4.1. HER2

HER2							
Clone	N	Fournisseur	Optimal	Bon	Border-line	Insuffisant	Acceptable*
Anticorps concentrés (n = 16)							
Polyclonal	16	Dako/Agilent Technologies	14	1	0	1	94%
Anticorps prêts à l'emploi (n = 40)							
ml 4B5	32	Cell Marque/Ventana/Roche	29	2	0	1	97%
ml DG44 (HercepTest)	7	Dako/Agilent Technologies	7	0	0	0	100%
ms CB11	1	Leica / Novocastra	1	0	0	0	1/1

(*) optimal/bon

ms = anticorps monoclonal de souris

ml = anticorps monoclonal de lapin

3.4.2. RP

RP							
Clone	N	Fournisseur	Optimal	Bon	Border-line	Insuffisant	Acceptable*
Anticorps concentrés (n = 4)							
ms PgR 1294	2	Dako/Agilent Technologies	2	0	0	0	2/2
ms 16	1	Leica/Novocastra	1	0	0	0	1/1
ms 16 + SAN27	1	Leica/Novocastra	1	0	0	0	1/1
Anticorps prêts à l'emploi (n = 54)							
ml 1E2	32	Cell Marque/Ventana/Roche	32	0	0	0	100%
ms PgR 1294	17	Dako/Agilent Technologies	15	2	0	0	100%
ms PgR 636	3	Dako/Agilent Technologies	3	0	0	0	100%
ms 16	2	Leica/Novocastra	2	0	0	0	2/2

(*) optimal/bon

ms = anticorps monoclonal de souris

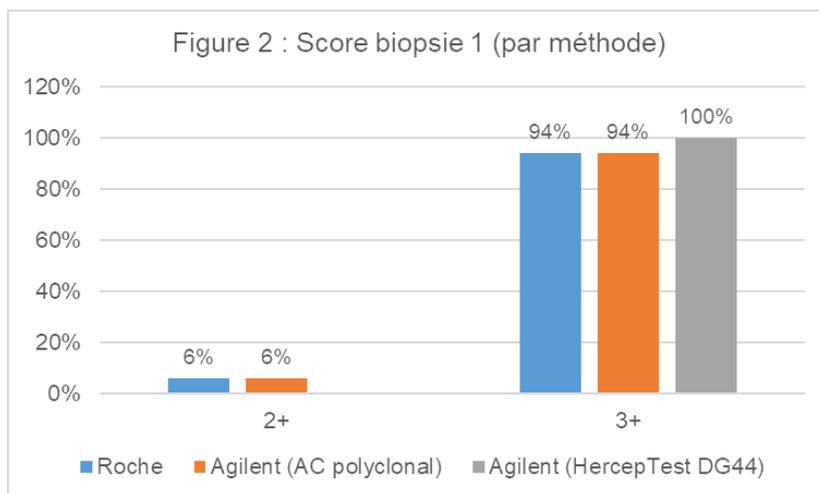
ml = anticorps monoclonal de lapin

3.5. RÉSULTATS DE L'INTERPRÉTATION HER2

3.5.1. Score biopsie 1

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

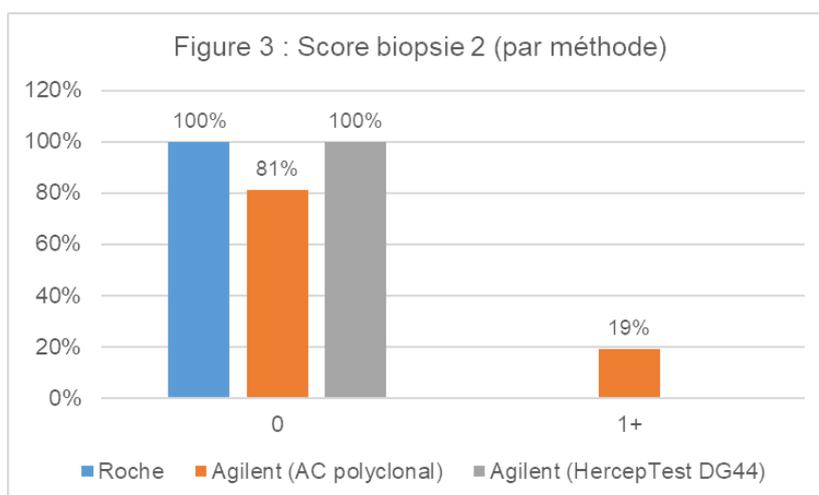
Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	0	0	0
1+	0	0	0
2+	2	1	0
3+	30	22	1



3.5.2. Score biopsie 2

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

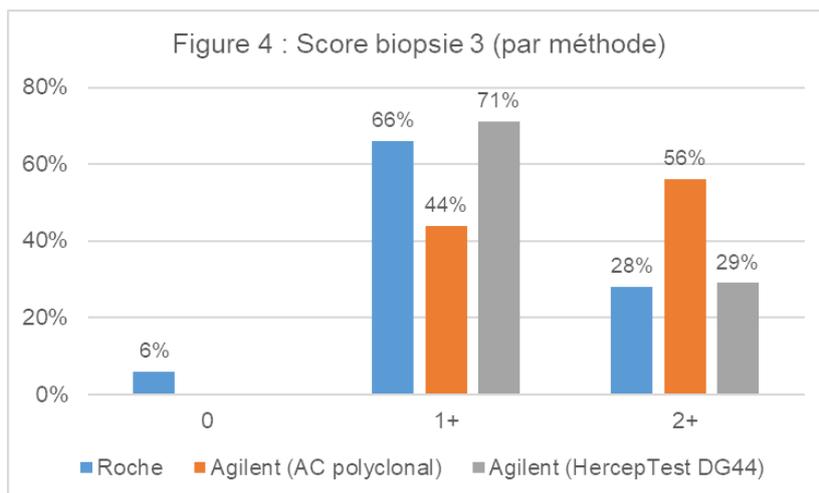
Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	32	20	1
1+	0	3	0
2+	0	0	0
3+	0	0	0



3.5.3. Score biopsie 3

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

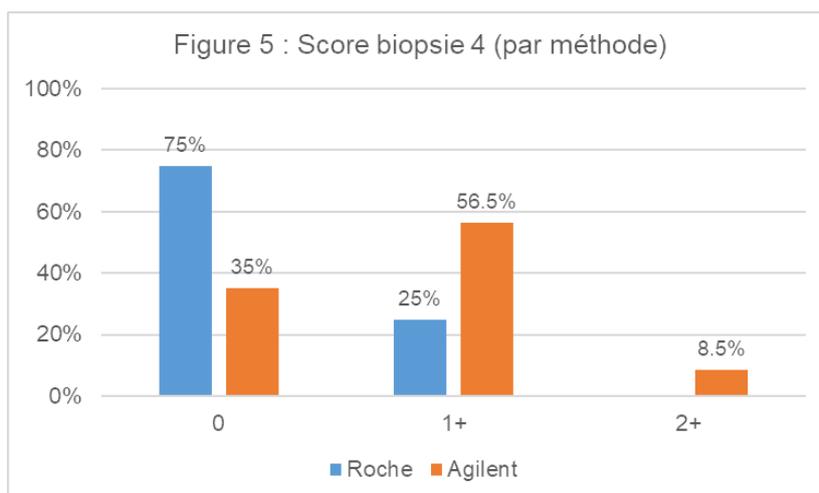
Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	2	0	0
1+	21	12	1
2+	9	11	0
3+	0	0	0



3.5.4. Score biopsie 4

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

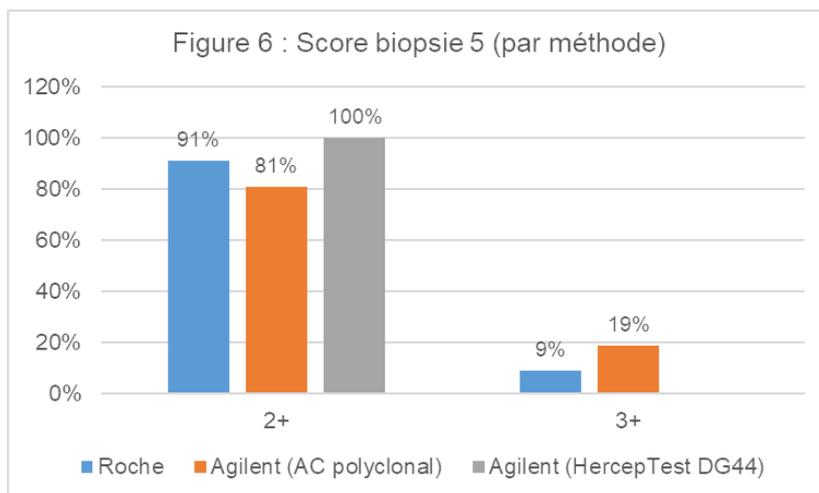
Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	24	8	1
1+	8	13	0
2+	0	2	0
3+	0	0	0



3.5.5. Score biopsie 5

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

Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	0	0	0
1+	0	0	0
2+	29	20	1
3+	3	3	0



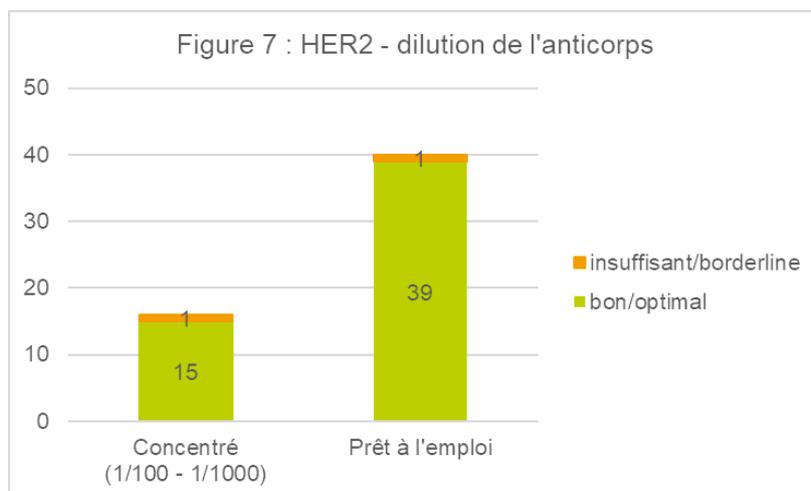
3.5.6. Guidelines utilisées pour l'interprétation des résultats

Réponses	N
ASCO/CAP Guidelines 2018	47
ASCO/CAP Guidelines 2018 – Belgian guidelines 2014	1
Belgian Guidelines 2014	7
British	1

4. Discussion des résultats

4.1. HER2

- La coloration HER2 a été de qualité optimale ou bonne pour 54/56 participants (96%) (voir figure 1).
- Une coupe de contrôle a été ajoutée par 55/56 participants (98%). La coupe de contrôle était conforme dans 89% des cas (49/55).
- Les anticorps les plus souvent utilisés sont le clone 4B5 (32/56 laboratoires soit 57%) et l'anticorps polyclonal A0485 (16/56 laboratoires soit 29%).
- Un anticorps concentré a été utilisé par 16/56 laboratoires (29%), un anticorps prêt à l'emploi par 40/56 laboratoires (71%) (voir figure 7).



- 2 laboratoires ont obtenu un résultat insuffisant comme le marquage de la biopsie 5 (2+/A) correspondait à un score de 1+.

- 2 laboratoires ont obtenu un résultat « bon » comme le marquage de la biopsie 1 (3+/A) correspondait à un score de 2+.

4.2. RP

- La coloration RP a été de qualité optimale ou bonne pour 58/58 participants (100%) (voir figure 1).
- Une coupe de contrôle a été ajoutée par 43/58 participants (74%).
- Les clones les plus souvent utilisés sont le 1E2 (32/58 laboratoires soit 55%) et le PgR 1294 (23/58 laboratoires soit 40%).
- Un anticorps concentré a été utilisé par 4/58 laboratoires (7%), un anticorps prêt à l'emploi par 54/58 laboratoires (93%).
- 2 laboratoires ont obtenu un résultat « bon » à cause d'une coloration faussement négative des cellules squameuses de l'épithélium basal du col utérin.
- 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 est biologiquement possible, par ex. chez la femme ménopausée. Par conséquent, la sélection appropriée d'un échantillon du col utérin présentant le profil de coloration décrit ci-dessus est nécessaire.** Aucune coloration ne doit être observée dans les cellules endothéliales et lymphoïdes du col utérin. L'amygdale peut être utilisée comme contrôle négatif : aucune coloration nucléaire ne doit être observée.

4.3. INTERPRÉTATION HER2

- L'interprétation consensuelle des participants correspondait au résultat attendu (indiqué en gras dans le tableau ci-dessous) pour les biopsies 1, 2 et 5, mais pas pour les biopsies 3 et 4 :

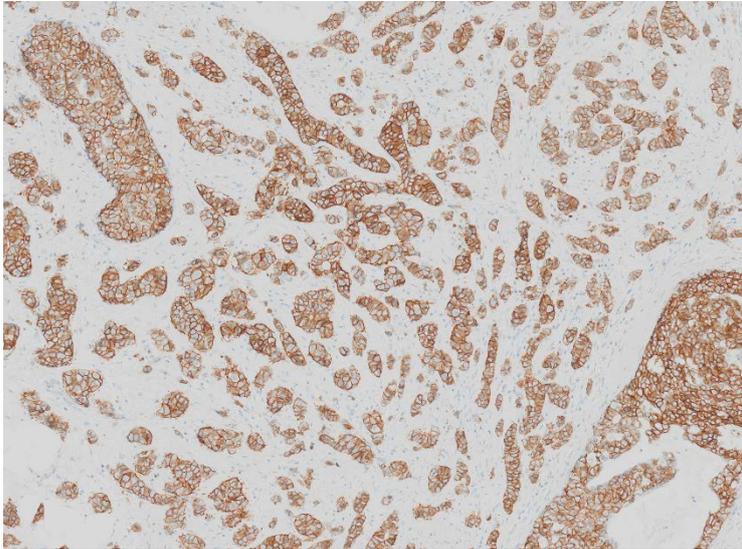
Réponses	Biopsie 1	Biopsie 2	Biopsie 3	Biopsie 4	Biopsie 5
Résultat attendu	3+/A*	0/NA*	1-2+/NA	1-2+/NA	2+/A
0	-	95%	3%	59%	-
1+	-	5%	61%	37.5%	-
2+	5%	-	36%	3.5%	89%
3+	95%	-	-	-	11%

(*) A = amplifié, NA = non amplifié

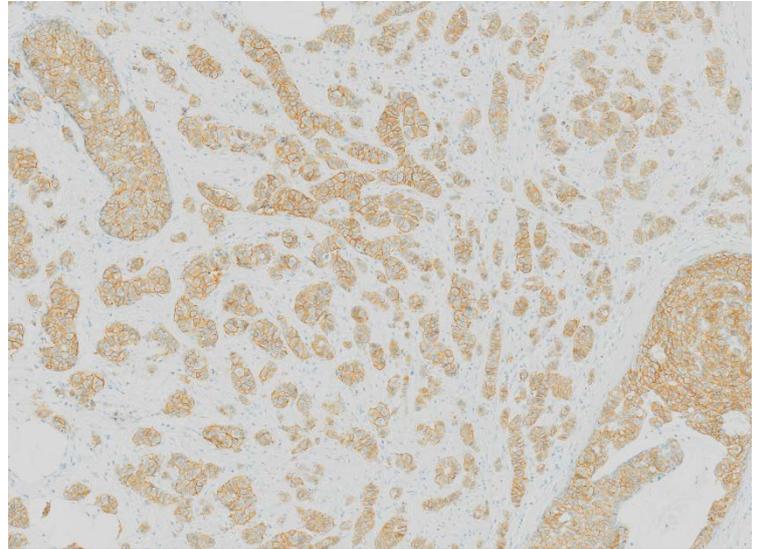
- L'absence de consensus pour les biopsies 3 et 4 est liée à la méthode utilisée (voir également les figures 4 et 5). En effet, il n'y a pas de consensus pour la biopsie 3 entre les résultats obtenus avec le même fournisseur et/ou anticorps ; pour la biopsie 4, il n'y a pas de consensus entre les 2 fournisseurs.
- 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.

5. Images

HER2

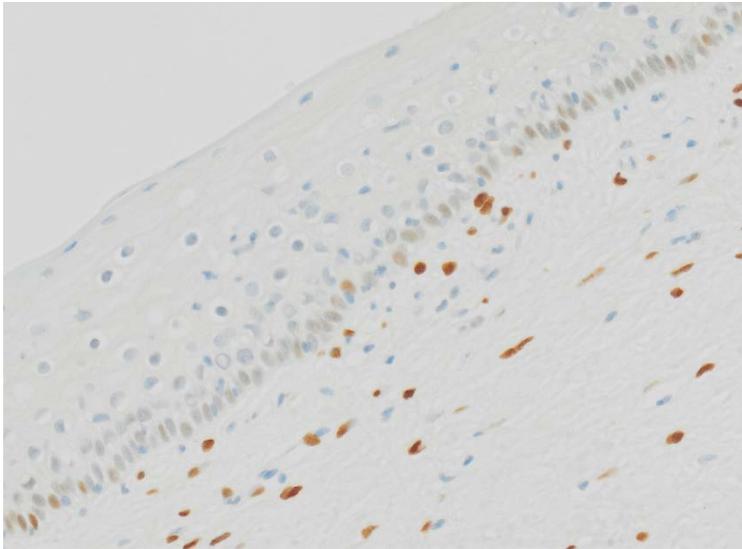


Biopsie 1 (3+/amplified) – optimal : coloration optimale ; marquage membranaire fort et complet de plus de 10% des cellules tumorales, observable à faible grossissement

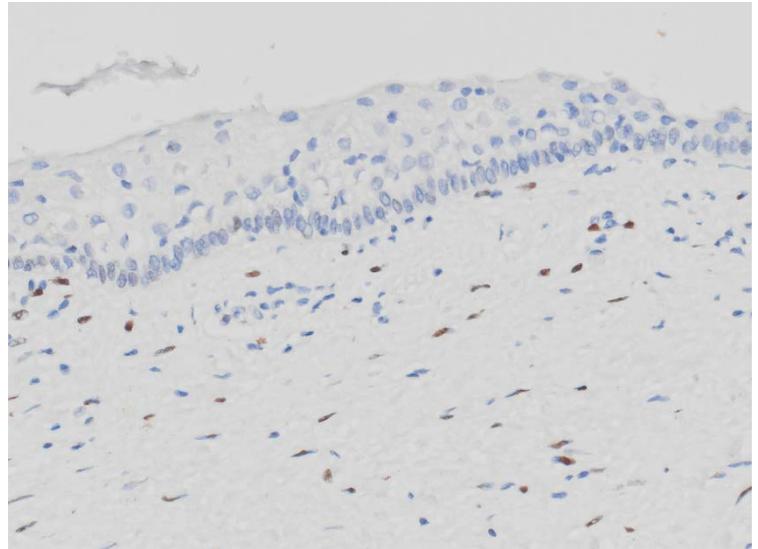


Biopsie 1 (3+/amplified) – bon : la coloration correspond techniquement à un score 2+ (marquage membranaire d'intensité trop faible), le laboratoire a quant à lui rapporté un score 3+

RP



Col utérin – optimal : expression faible ; au minimum une coloration nucléaire faible des cellules squameuses de l'épithélium basal



Col utérin – bon : coloration faussement négative des cellules squameuses de l'épithélium basal

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2024.

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.