

RISQUES BIOLOGIQUES POUR LA SANTE  
QUALITE DES LABORATOIRES

EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE\*

**RAPPORT GLOBAL DEFINITIF  
IMMUNOHISTOCHIMIE – HER2/PR  
ENQUETE 2024/3**

\* AR 05/12/2011

**Sciensano/Immunohistochimie/22/FR**

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

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

## GROUPE DE TRAVAIL EEQ

Sciensano					
Secrétariat		Tél:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
		E-mail:	ql_secretariat@sciensano.be		
Vanessa Ghislain	Coordinateur	Tél:	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	AZORG 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 08/01/2025.

Les membres du groupe de travail ont été invités à envoyer leurs remarques via e-mail.

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

**Autorisation du rapport :** par Vanessa Ghislain, coordinateur

**Date de publication :** 22/01/2025

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 .....	4
<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 .....	5
2.3. Évaluation finale .....	6
2.3.1. HER2 .....	6
2.3.2. RP .....	6
<b>3. Résultats</b> .....	<b>6</b>
3.1. Participation à l'EEQ .....	6
3.2. Aperçu des méthodes .....	7
3.3. Aperçu des résultats .....	7
3.4. Résultats par anticorps .....	7
3.4.1. HER2 .....	7
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 .....	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 2024/3 (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).



## 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 des 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 27/09/2024. 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	PR
<ol 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></ol> 	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Amygdale normale</li><li>2. Col utérin normal</li><li>3. Carcinome mammaire</li><li>4. Carcinome mammaire</li><li>5. Carcinome mammaire</li></ol> 

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 25 coupes). Les échantillons ont été considérés comme homogènes (au sens où chaque entité de 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 le coordinateur d'enquête, Vanessa Ghislain (Sciensano). Dans ce but, les évaluateurs se sont réunis à la date du 25 novembre 2024. 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 résultat attendu*#	ISH* (ratio)
1. Carcinome mammaire		1) 3+	1) Amplified
2. Carcinome mammaire		2) 2+	2) Amplified (3.48)
3. Carcinome mammaire		3) 1+ (§)	3) Not amplified
4. Carcinome mammaire		4) 0	4) Not amplified
5. Carcinome mammaire		5) 2+ (§)	5) Not amplified (1.0)

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

(#) Le résultat attendu est le score consensuel du groupe de travail EEQ.

(§) Le score (résultat) est réussi si le marquage correspond à un score 1+ ou 2+.

#### 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) **Amygdale** : aucune coloration nucléaire
- 2) **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 de la majorité des cellules squameuses de l'épithélium basal
- 3) **Carcinome mammaire** : coloration nucléaire modérée à forte dans au moins 10% à 50% des cellules tumorales
- 4) **Carcinome mammaire** : aucune coloration des cellules tumorales

5) **Carcinome mammaire** : coloration nucléaire modérée à forte de 100% des cellules tumorales

## 2.3. ÉVALUATION FINALE

A chaque coloration a été attribuée une évaluation finale basée sur les critères suivants (référence : [www.nordiqc.com](http://www.nordiqc.com)).

### 2.3.1. HER2

- **Optimal** : la coloration de la biopsie 2 correspond à un score 2+ ou 3+ ; la coloration de la biopsie 5 correspond à un score 1+ ou 2+ ; absence de coloration cytoplasmique
- **Bon** : la coloration de la biopsie 1 correspond à un score 2+ ou en moyenne, coloration membranaire passable mais peu intense ou contre-coloration insuffisante ou présence d'une coloration cytoplasmique faible ne pas interférant avec l'interprétation de la coloration membranaire
- **Borderline** : la coloration de la biopsie 4 correspond à un score 2+ ou présence d'une coloration cytoplasmique interférant avec l'interprétation de la coloration membranaire ; une optimisation de la méthode est nécessaire
- **Insuffisant** : la coloration des tumeurs SISH positives (biopsies 1 et 2) correspond à un score 0 ou 1+ (coloration faussement négative) ou la coloration des tumeurs SISH négatives (biopsies 3, 4 et 5) correspond à un score 3+ (coloration faussement positive) ; 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 les biopsies 3 et 5 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 ne pas interférant avec l'interprétation ou contre-coloration insuffisante
- **Borderline** : coloration faussement positive sur l'endothélium du col utérin ou coloration nucléaire de  $\geq 10\%$  des cellules B des centre germinatifs de l'amygdale ou coloration insuffisante sur une biopsie mammaire (p. ex.  $\geq 1\%$  et  $< 10\%$  de positivité sur les biopsies 3 ou 5) 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 et 5 ou  $\geq 1\%$  de positivité sur la biopsie 4) ; une optimisation de la méthode est nécessaire et urgente

## 3. Résultats

### 3.1. PARTICIPATION À L'EEQ

Le taux de participation a été de 57/60 (95%) pour HER2 et de 59/60 (98%) pour RP.

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	14	14
Total	60	57	59

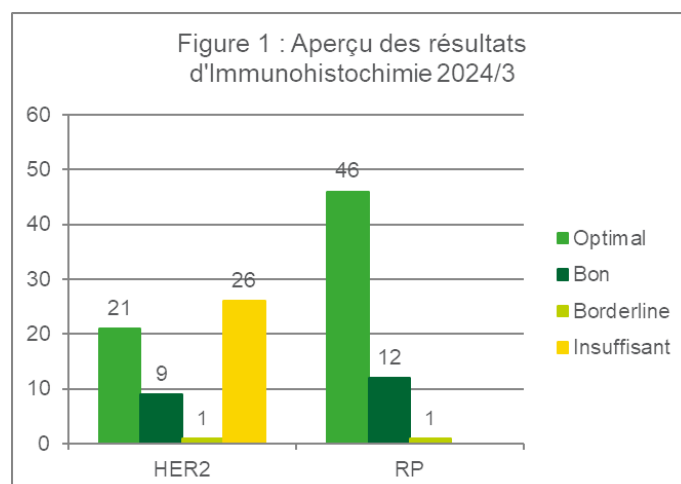
## 3.2. APERÇU DES MÉTHODES

Les colorations ont été réalisées par automate par tous les laboratoires :

Réponses	HER2	RP
Ventana Ultra	31	29
Dako Omnis	17	19
Ventana Ultra Plus	4	6
Dako Autostainer	3	3
Leica Bond III	2	2
Total	57	59

## 3.3. APERÇU DES RÉSULTATS

Evaluation finale	HER2	RP
Optimal	21 (37%)	46 (78%)
Bon	9 (16%)	12 (20%)
Borderline	1 (1.5%)	1 (2%)
Insuffisant	26 (45.5%)	0
Total	57	59



## 3.4. RÉSULTATS PAR ANTICORPS

### 3.4.1. HER2

HER2							
Clone	N	Fournisseur	Optimal	Bon	Borderline	Insuffisant	Acceptable*
<b>Anticorps concentrés (n = 14)</b>							
Polyclonal	14	Dako/Agilent Technologies	2	3	1	8	36%
<b>Anticorps prêts à l'emploi (n = 43)</b>							
ml 4B5	33	Cell Marque/Ventana/Roche	13	4	0	16	52%
HercepTest	9	Dako/Agilent Technologies	6	2	0	1	89%
ms CB11	1	Leica/Novocastra	0	0	0	1	0/1

(\*) 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*
<b>Anticorps concentrés (n = 1)</b>							
ms 16+SAN27	1	Leica/Novocastra	1	0	0	0	1/1
<b>Anticorps prêts à l'emploi (n = 58)</b>							
ml 1E2	33	Cell Marque/Ventana/Roche	27	6	0	0	100%
ms PgR 1294	19	Dako/Agilent Technologies	14	5	0	0	100%
ms PgR 636	3	Dako/Agilent Technologies	2	1	0	0	100%
ms 16	3	Leica/Novocastra	2	0	1	0	67%

(\*) optimal/bon

ms = anticorps monoclonal de souris

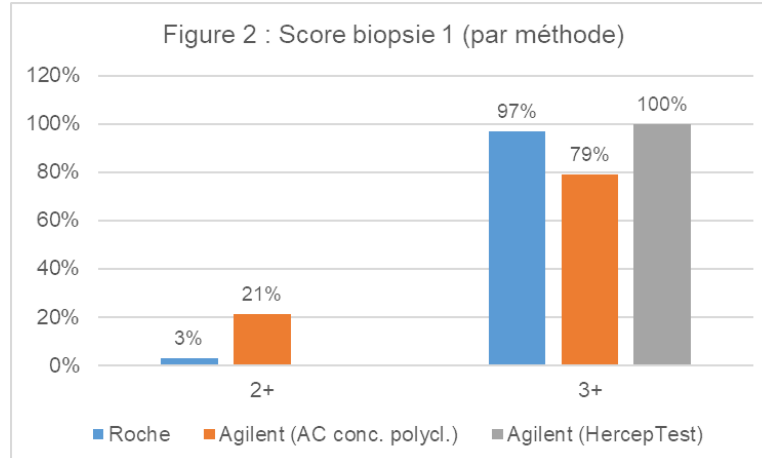
ml = anticorps monoclonal de lapin

## 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)
2+	1	3	0
3+	32	20	1

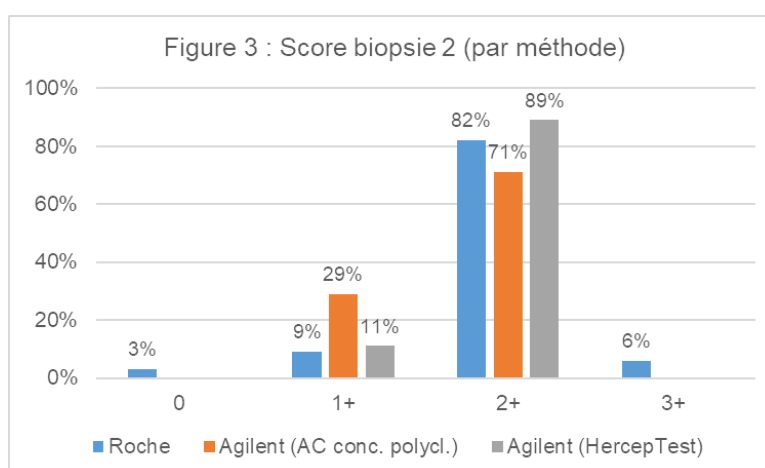




### 3.5.2. Score biopsie 2

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

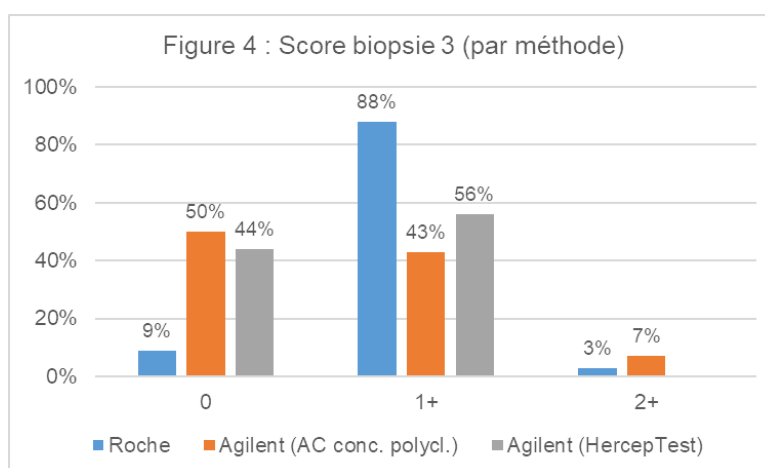
Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	1	0	0
1+	3	5	1
2+	27	18	0
3+	2	0	0



### 3.5.3. Score biopsie 3

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

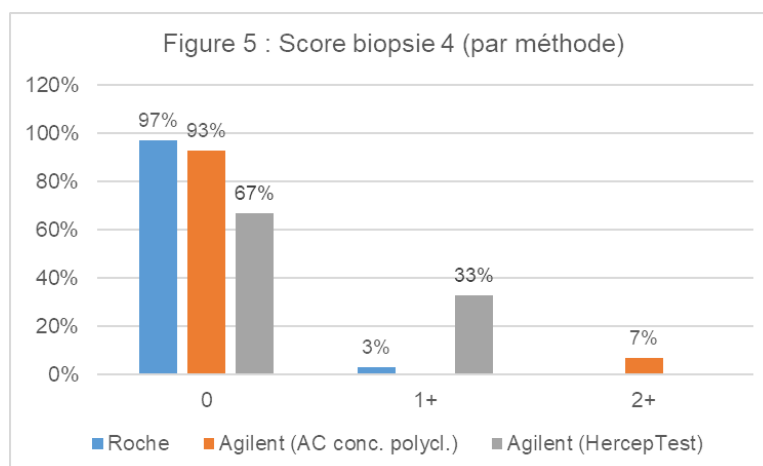
Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	3	11	0
1+	29	11	1
2+	1	1	0



### 3.5.4. Score biopsie 4

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

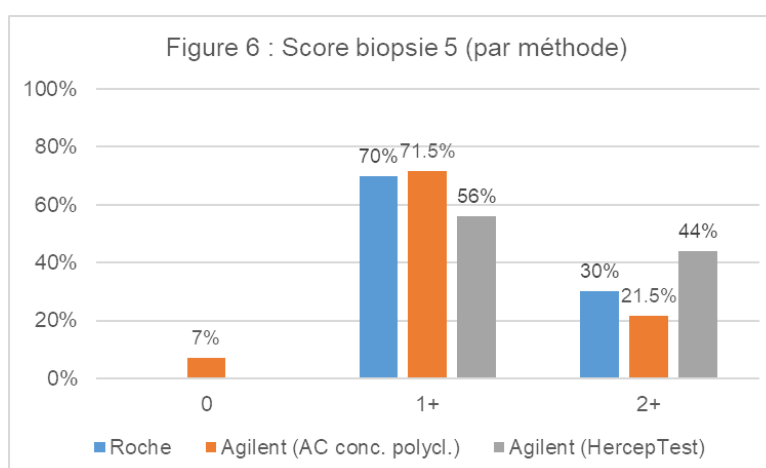
Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	32	19	1
1+	1	3	0
2+	0	1	0



### 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	1	0
1+	23	15	0
2+	10	7	1



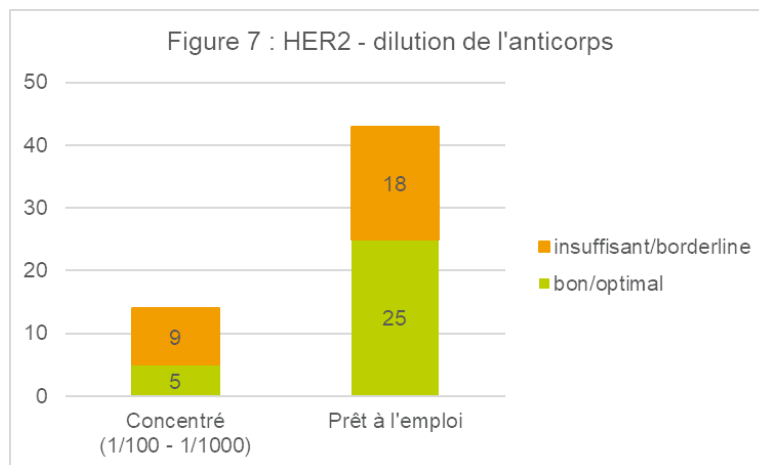
### 3.5.6. Guidelines utilisées pour l'interprétation des résultats

Réponses	N
ASCO/CAP Guidelines 2018 / update 2023	54
ASCO/CAP Guidelines + UK	1
Belgian Guidelines 2014	2

## 4. Discussion des résultats

### 4.1. HER2

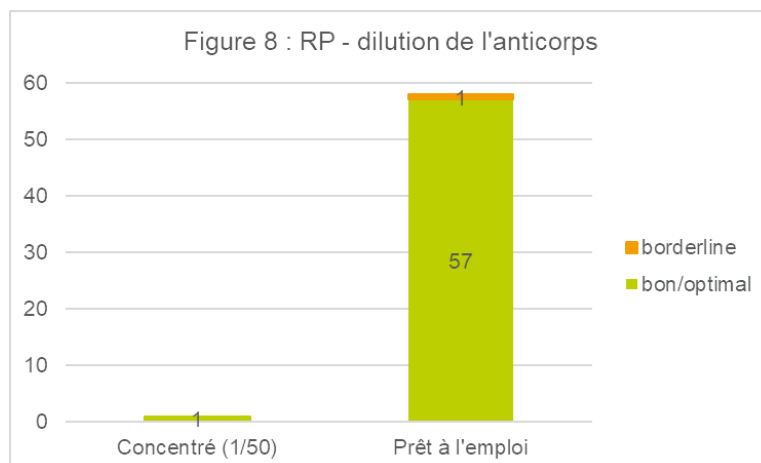
- La coloration HER2 a été de qualité optimale ou bonne pour 30/57 participants (53%) (voir figure 1).
- Une coupe de contrôle a été ajoutée par 55/57 participants (96%). La coupe de contrôle était conforme dans 95% des cas (52/55).
- Les anticorps les plus souvent utilisés sont le clone 4B5 (33/57 laboratoires soit 58%) et l'anticorps polyclonal A0485 (14/57 laboratoires soit 25%).
- Un anticorps concentré a été utilisé par 14/57 laboratoires (25%), un anticorps prêt à l'emploi par 43/57 laboratoires (75%) (voir figure 7).



- Un laboratoire a obtenu un résultat borderline, dû à la présence d'un bruit de fond cytoplasmique interférant avec l'interprétation de la coloration membranaire.
- Un résultat insuffisant correspond dans tous les cas (26/26) à une coloration faussement négative pour la biopsie 2 (2+/amplified). Cela signifie la présence d'un marquage membranaire incomplet (p. ex. basolatéral) et/ou d'un marquage complet de moins de 10% des cellules tumorales. Parmi ces 26 laboratoires, 16 laboratoires ont attribué à cette biopsie un score 2+ et un laboratoire un score 3+. Cela signifie que, dans la pratique clinique, une ISH aurait été réalisée et l'amplification aurait été détectée. Cependant, la coloration a été évaluée comme « insuffisant » car, dans cette EEQ, seule la qualité technique de la coloration est prise en compte et non l'interprétation des participants (voir également 4.3).

### 4.2. RP

- La coloration RP a été de qualité optimale ou bonne pour 58/59 participants (98%) (voir figure 1).
- Une coupe de contrôle a été ajoutée par 43/59 participants (73%).
- Les clones les plus souvent utilisés sont le 1E2 (33/59 laboratoires soit 56%) et le PgR 1294 (19/59 laboratoires soit 32%).
- Un anticorps concentré a été utilisé par 1/59 laboratoires (2%), un anticorps prêt à l'emploi par 58/59 laboratoires (98%) (voir figure 8).



- Un laboratoire a obtenu un résultat borderline, dû à la présence d'un bruit de fond cytoplasmique important sur quasi toutes les biopsies.
- 12 laboratoires ont obtenu un résultat de « bon ». Ce résultat correspond dans 11/12 cas à la présence d'un léger bruit de fond cytoplasmique. Il est important de signaler que pour 6 laboratoires, ce bruit de fond a également été constaté dans les macrophages de l'amygdale et/ou 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, 3 et 4, mais pas pour la biopsie 5 :

Réponses	Biopsie 1	Biopsie 2	Biopsie 3	Biopsie 4	Biopsie 5
<b>Résultat attendu</b>	<b>3+/A*</b>	<b>2+/A</b>	<b>1+/NA*</b>	<b>0/NA</b>	<b>2+/NA</b>
<b>0</b>	-	1.5%	24.5%	<b>91%</b>	2%
<b>1+</b>	-	16%	<b>72%</b>	7%	66.5%
<b>2+</b>	7%	<b>79%</b>	3.5%	2%	<b>31.5%</b>
<b>3+</b>	<b>93%</b>	3.5%	-	-	-

(\*) A = amplifié, NA = non amplifié

- Bien qu'il existe encore des différences significatives entre les résultats obtenus avec les différents anticorps (p. ex. pour la biopsie 3), l'interprétation consensuelle pour la biopsie 5 (score 1+) est sans ambiguïté et différente du résultat attendu (score 2+). Cependant, comme cette biopsie n'est pas amplifiée, les deux scores 1+ et 2+ sont acceptables.
- 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.

- Un laboratoire a rapporté une interprétation erronée 1+ pour la biopsie 2 (2+/amplifiée), alors que la coloration était techniquement correcte et conforme au score attendu 2+. La coloration a été évaluée comme « optimale », mais le laboratoire a reçu un commentaire dans son rapport individuel.
- En ce qui concerne les 9 autres laboratoires ayant interprété la biopsie 2 comme 1+ ou 0, la coloration n'était en effet techniquement pas correcte. Ces colorations ont été évaluées comme « insuffisantes ».
- **L'interprétation consensuelle des experts**, c.-à-d. les scores attribués par les experts, basés sur les coupes colorées des participants, sont repris dans le tableau ci-dessous :

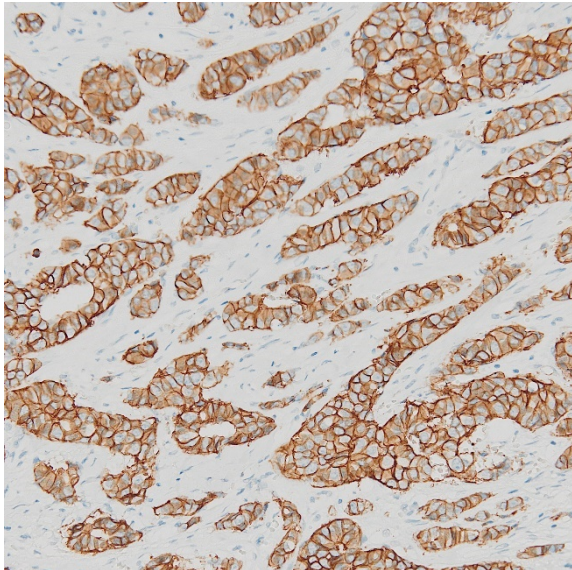
Réponses	Biopsie 1	Biopsie 2	Biopsie 3	Biopsie 4	Biopsie 5
Résultat attendu	3+/A*	2+/A	1+/NA*	0/NA	2+/NA
0	-	-	25%	98%	7%
1+	-	46%	75%	2%	70%
2+	26%	54%	-	-	23%
3+	63%	-	-	-	-

(\*) A = amplifié, NA = non amplifié

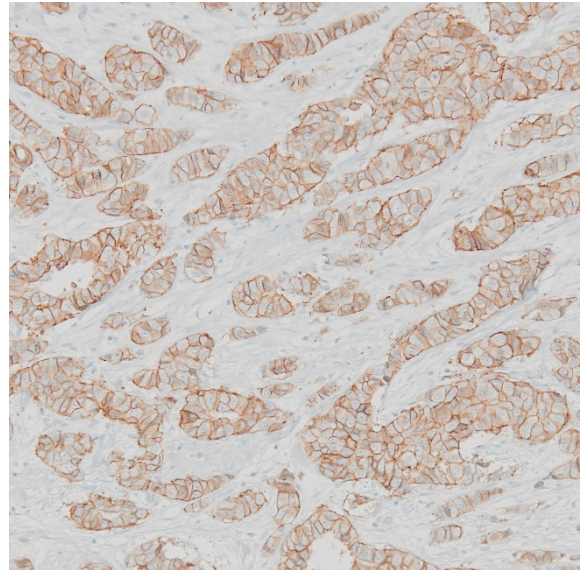
- Nous observons une différence significative entre les scores des experts et ceux des participants, principalement pour les biopsies 1 et 2.

## 5. Images

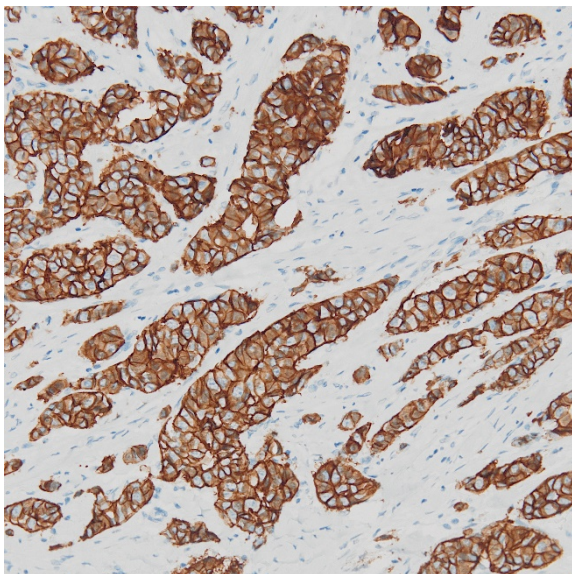
### HER2



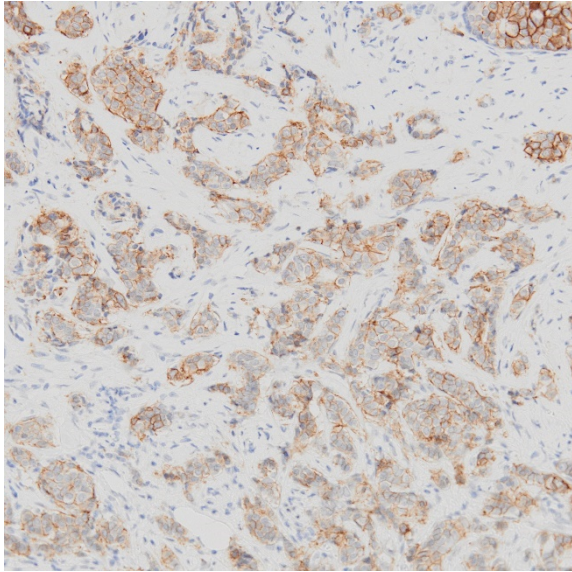
**Biopsie 1 (3+/amplified)** : score 3+, marquage correct



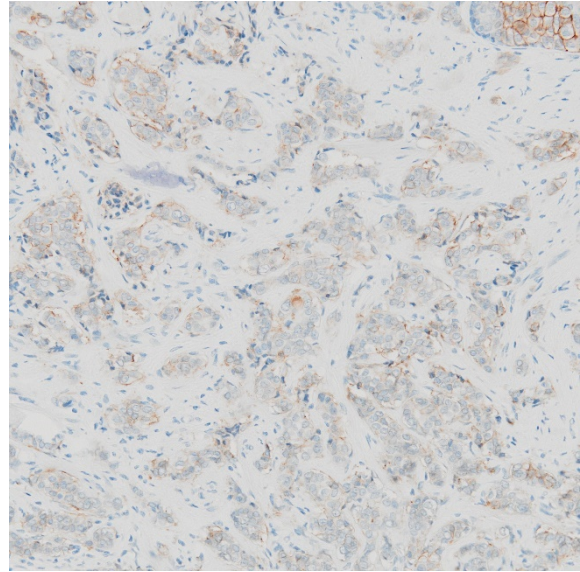
**Biopsie 1 (3+/amplified) – bon** : la coloration correspond techniquement à un score 2+



**Biopsie 1 (3+/amplified)** : score 3+, marquage (intensité) optimal(e)

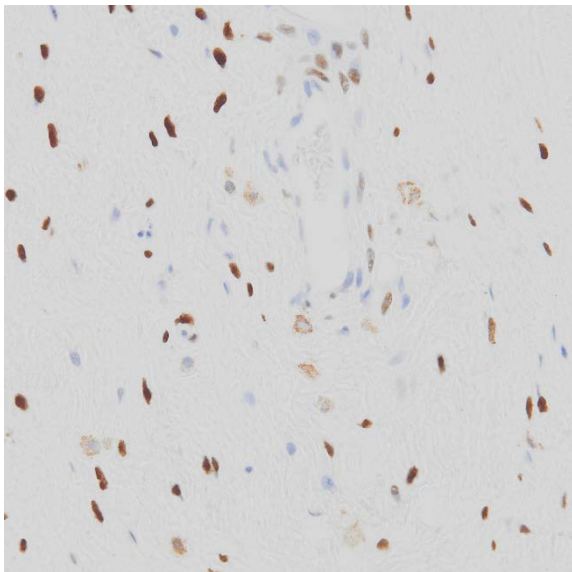


**Biopsie 2 (2+/amplified)** : score 2+,  
marquage correct



**Biopsie 2 (2+/amplified) – insuffisant** : la  
coloration correspond techniquement à un  
score 1+

## RP



**Col utérin – bon** : marquage correct des  
cellules stromales, cependant présence d'un  
bruit de fond cytoplasmique sur les  
macrophages

---

**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.