

**EXPERTISE ET PRESTATIONS DE SERVICE
QUALITE DES LABORATOIRES**

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

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

**RAPPORT GLOBAL DEFINITIF
IMMUNOHISTOCHIMIE – CD117/S100/E-cadhérine
ENQUETE 2021/1**

Sciensano/Immunohistochimie/12-FR

Expertise et prestations de service
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
Vanessa Ghislain	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	Vanessa.Ghislain@sciensano.be		
Anne Marie Dierick	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642.53.95		
		e-mail:	AnneMarie.Dierick@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				

Une version provisoire de ce rapport a été transmise aux membres du groupe de travail EEQ le : 10/06/2021.

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

Autorisation de diffusion de rapport: Par Vanessa Ghislain, coordinateur d'enquête, le 17/06/2021.

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:
https://www.wiv-isp.be/QML/Anapath/external_quality/rapports/fr/rapports.htm

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	5
1.5. Formulaire de réponse	5
2. Relecture	5
2.1. Critères généraux	5
2.2. Critères spécifiques par épitope	5
2.2.1. CD117	5
2.2.2. S100	6
2.2.3. E-cadhérine	6
2.3. Evaluation finale	6
3. Résultats	7
3.1. Participation à l'EEQ	7
3.2. Aperçu des résultats	7
3.3. Résultats par anticorps	8
3.3.1. CD117	8
3.3.2. S100	8
3.3.3. E-cadhérine	9
4. Discussion des résultats	9
4.1. CD117	9
4.2. S100	10
4.3. E-cadhérine	11
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 2021/1 (CD117/S100/E-cadhérine) 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 CD117 (c-kit), S100 et E-cadhérine.

1.2. ACTIVITÉS SOUS-TRAITÉES

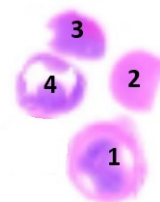
Le matériel tissulaire a été fourni par le laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital OLV d'Alost.

1.3. MATÉRIEL DE L'EEQ

Le matériel transmis comportait 3 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 08/02/2021.

La coupe **CD117 (c-kit)** comportait des biopsies avec :

1. Appendice
2. Léiomyome
3. Tumeur germinale du testicule
4. Tumeur stromale gastro-intestinale (GIST)



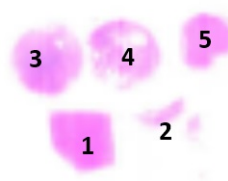
La coupe **S100** comportait des biopsies avec :

1. Appendice
2. Amygdale
3. Schwannome
4. Léiomyome
5. Mélanome
6. Mélanome



La coupe **E-cadhérine** comportait des biopsies avec :

1. Foie
2. Côlon
3. Carcinome mammaire canalaire
4. Carcinome mammaire canalaire
5. Carcinome mammaire lobulaire



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 3 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 CD117, S100 et E-cadhérine, selon les procédures habituelles du laboratoire. Le laboratoire pouvait ajouter son propre (coupe de) contrôle (témoin externe). 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.

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 3 pathologistes, dont 1 interne (le Dr. AM. Dierick, Sciensano) et 2 externes à Sciensano (le Dr. M. Luijckx et le Dr. W. Buffet) et par le coordinateur d'enquête, Vanessa Ghislain (Sciensano). Dans ce but, les évaluateurs se sont réunis à la date du 19 avril 2021 au laboratoire d'anatomie pathologique du GZA/ZNA à Anvers. 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.

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. CD117

1) Appendice :

- au minimum une coloration (essentiellement membranaire mais aussi cytoplasmique) modérée de la majorité des cellules de Cajal de la musculature
- coloration faible à modérée des cellules épithéliales dispersées de la zone basale des cryptes

2) Léiomyome :

- coloration (essentiellement membranaire) forte des mastocytes
- aucune coloration des cellules néoplasiques

3) Tumeur germinale du testicule : coloration (membranaire) modérée à forte de toutes les cellules néoplasiques

4) GIST : coloration forte de la majorité des cellules néoplasiques

Tous les tissus :

- coloration (essentiellement membranaire) forte des mastocytes
- coloration faible à modérée des structures endothéliales néo-vasculaires
- aucune coloration des cellules musculaires lisses

2.2.2. S100

1) **Appendice :**

- coloration (nucléaire et cytoplasmique) forte de la majorité des cellules de Schwann des fibres nerveuses périphériques et des cellules satellites gliales de la musculature et de la sous-muqueuse
- aucune coloration des cellules musculaires lisses et de l'épithélium cylindrique

2) **Amygdale :** aucune coloration de l'épithélium squameux

3) **Schwannome :** coloration (nucléaire et cytoplasmique) forte de la majorité des cellules néoplasiques

4) **Léiomyome :** aucune coloration des cellules néoplasiques

5) **Mélanome :** coloration (nucléaire et cytoplasmique) forte de la majorité des cellules néoplasiques

6) **Mélanome :** coloration (nucléaire et cytoplasmique) forte de la majorité des cellules néoplasiques

Tous les tissus :

- coloration (nucléaire et cytoplasmique) modérée à forte de la majorité des macrophages
- au minimum une coloration (nucléaire et cytoplasmique) faible à modérée de la majorité des adipocytes
- aucune coloration des autres types de cellules

2.2.3. E-cadhérine

1) **Foie :**

- coloration (membranaire) forte des cellules épithéliales des voies biliaires
- au minimum une coloration (membranaire) modérée des hépatocytes

2) **Côlon :**

- coloration (membranaire) forte de la majorité de l'épithélium cylindrique
- aucune coloration des cellules stromales (p. ex. lymphocytes et plasmocytes de la chorion (lamina propria) de la muqueuse, cellules musculaires lisses de la musculature muqueuse)

3) **Carcinome mammaire canalaire :** coloration (membranaire) modérée à forte de la majorité des cellules néoplasiques

4) **Carcinome mammaire canalaire :** coloration (membranaire) modérée à forte de la majorité des cellules néoplasiques

5) **Carcinome mammaire lobulaire :** aucune coloration (ou au plus une coloration faible localement) des cellules néoplasiques

Tous les tissus : aucune coloration des cellules stromales

2.3. ÉVALUATION FINALE

A chaque coloration a été attribuée une évaluation finale basée sur les critères* suivants :

- **Optimal :** coloration parfaite ou quasi parfaite pour tous les tissus
- **Bon :** coloration suffisante pour tous les tissus ; néanmoins, une optimisation de la méthode est possible pour améliorer la sensibilité et/ou le ratio signal-bruit de fond
- **Borderline :** coloration insuffisante, p. ex. coloration globale trop faible ou coloration faussement négative ou faussement positive pour un des tissus ; une optimisation de la méthode est nécessaire
- **Insuffisant :** coloration très insuffisante, p. ex. coloration faussement négative ou faussement positive pour plusieurs tissus ; une optimisation de la méthode est nécessaire et urgente

(*) Référence : www.nordiqc.org

3. Résultats

3.1. PARTICIPATION À L'EEQ

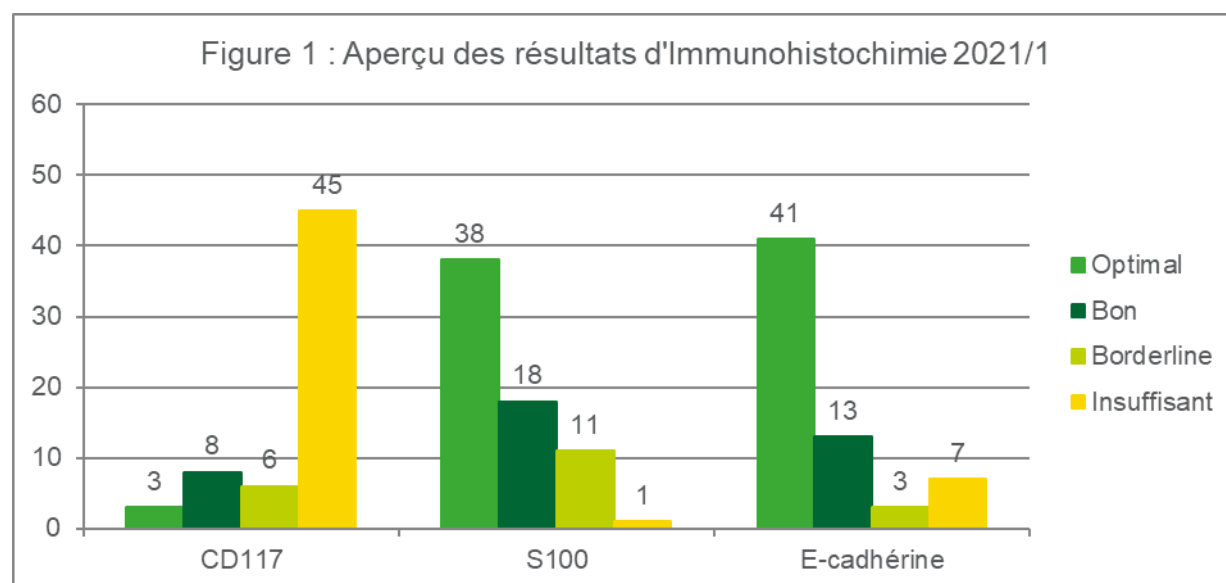
Le taux de participation a été de 69/70 (99%).

Région	Nombre de laboratoires ayant reçu des coupes (inscrits)	Nombre de laboratoires ayant renvoyé une coupe CD117	Nombre de laboratoires ayant renvoyé une coupe S100	Nombre de laboratoires ayant renvoyé une coupe E-cadhérine
Région Flamande	44	40	42	40
Région Bruxelloise	10	7	10	8
Région Wallonne	16	15	16	16
Sociétés pharm.	2	1	2	2
Total	72	63	70	66

3.2. APERÇU DES RÉSULTATS

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

Evaluation finale	CD117	S100	E-cadhérine
Optimal	3 (5%)	38 (56%)	41 (64%)
Bon	8 (13%)	18 (26.5%)	13 (20%)
Borderline	6 (9.5%)	11 (16%)	3 (5%)
Insuffisant	45 (72.5%)	1 (1.5%)	7 (11%)
Total	62	68	64



3.3. RÉSULTATS PAR ANTICORPS

3.3.1. CD117

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

CD117							
Clone	N	Fournisseur	Optimal	Bon	Border-line	Insuffisant	Acceptable*
Anticorps concentrés (n = 42)							
Polyclonal	37	Dako/Agilent Technologies	0	3	3	31	8%
ml YR145	2	Cell Marque/Ventana/Roche	0	1	0	1	1/2
	1	Immunologic	0	0	1	0	0/1
ml EP10	1	Epitomics	0	1	0	0	1/1
Non rapporté	1	Dako/Agilent Technologies	0	0	0	1	0/1
Anticorps prêts à l'emploi (n = 20)							
ml EP10	10	Cell Marque/Ventana/Roche	3	2	1	4	50%
	2	Leica / Novocastra	0	0	0	2	0/2
ml 9.7	7	Cell Marque/Ventana/Roche	0	0	1	6	0
Polyclonal	1	Cell Marque/Ventana/Roche	0	1	0	0	1/1

(*) optimal/bon

ml = anticorps monoclonal de lapin

3.3.2. S100

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

S100							
Clone	N	Fournisseur	Optimal	Bon	Border-line	Insuffisant	Acceptable*
Anticorps concentrés (n = 7)							
Polyclonal	6	Dako/Agilent Technologies	1	3	2	0	67%
	1	Leica / Novocastra	0	0	1	0	0/1
Anticorps prêts à l'emploi (n = 60)							
Polyclonal	32	Dako/Agilent Technologies	25	7	0	0	100%
	18	Cell Marque/Ventana/Roche	6	7	5	0	72%
	2	Leica / Novocastra	1	0	1	0	1/2
ms 4C4.9	8	Cell Marque/Ventana/Roche	5	1	1	1	75%
Prêt à l'emploi et ensuite dilué (n = 1)							
Polyclonal	1	Dako/Agilent Technologies	0	0	1	0	0/1

(*) optimal/bon

ms = anticorps monoclonal de souris

3.3.3. E-cadhérine

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

E-cadhérine							
Clone	N	Fournisseur	Optimal	Bon	Border-line	Insuffisant	Acceptable*
Anticorps concentrés (n = 11)							
ms NCH-38	9	Dako/Agilent Technologies	6	1	2	0	78%
ms 36B5	1	Leica / Novocastra	0	1	0	0	1/1
ml EP700Y	1	Thermo / Neomarkers	0	0	0	1	0/1
Anticorps prêts à l'emploi (n = 53)							
ms NCH-38	26	Dako/Agilent Technologies	25	1	0	0	100%
ms 36	19	Cell Marque/Ventana/Roche	10	9	0	0	100%
ml EP700Y	7	Cell Marque/Ventana/Roche	0	1	0	6	14%
ms 36B5	1	Leica / Novocastra	0	0	1	0	0/1

(*) optimal/bon

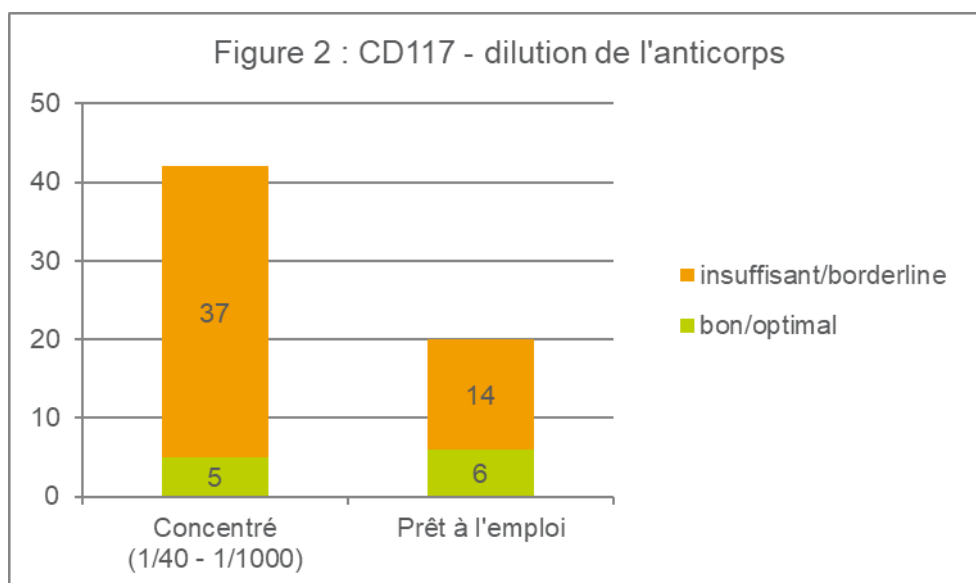
ms = anticorps monoclonal de souris

ml = anticorps monoclonal de lapin

4. Discussion des résultats

4.1. CD117

- La coloration CD117 a été de qualité optimale ou bonne pour 11/62 participants (18%) (voir figure 1).
- La coloration a été réalisée par automate par tous les laboratoires.
- Une coupe de contrôle a été ajoutée par 35/62 participants (56%).
- Les anticorps les plus souvent utilisés sont l'anticorps polyclonal A4502 (37/62 laboratoires soit 60%) et le clone EP10 (13/62 laboratoires soit 21%).
- Un anticorps concentré a été utilisé par 42/62 laboratoires (68%), un anticorps prêt à l'emploi par 20/62 laboratoires (32%) (voir figure 2).



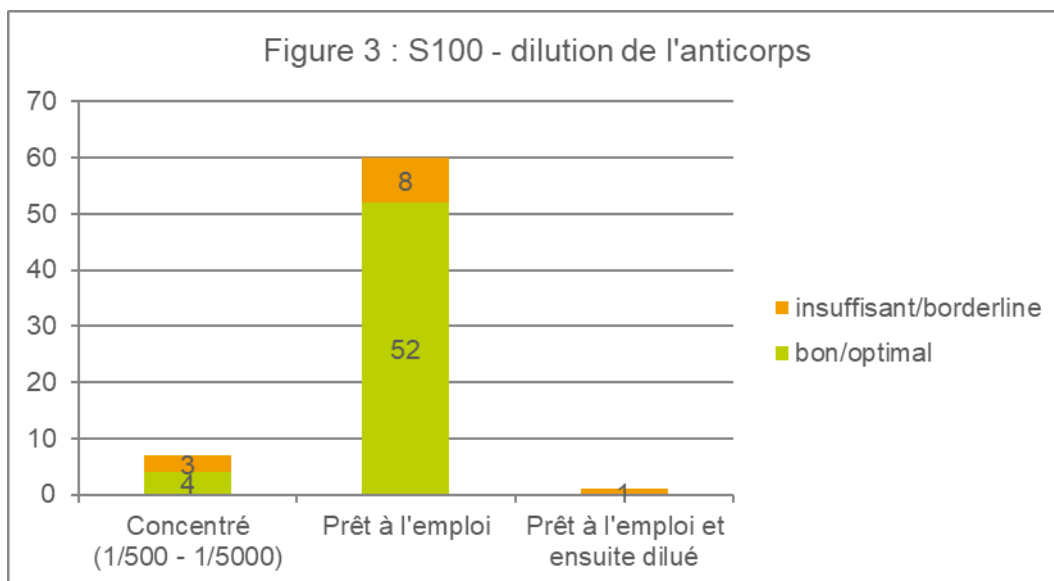
- Un résultat insuffisant correspond dans tous les cas (45/45) à (au moins) une coloration insuffisante des mastocytes du léiomyome et de la tumeur germinale.
- Comme le montre le tableau ci-dessous, la plupart des laboratoires n'ont eu aucun problème avec la coloration correcte de la tumeur stromale gastro-intestinale (expression élevée). Cependant, la validation du protocole avec uniquement un tissu exprimant fortement l'antigène peut conduire à un protocole insuffisamment sensible (voir le point 5 pour un exemple). Par conséquent, il est indispensable d'aussi valider le protocole pour un tissu exprimant faiblement l'antigène, p. ex. un appendice.

Tissu	Résultat attendu	Coloration satisfaisante
Appendice	Marquage (faible à modéré) de l'épithélium, marquage (au minimum modéré) des cellules de Cajal et marquage (fort) des mastocytes	33/62 participants (53%)
Léiomyome	Marquage fort des mastocytes	14/62 participants (23%)
Tumeur germinale	Marquage modéré à fort des cellules néoplasiques	15/62 participants (24%)
GIST	Marquage fort des cellules néoplasiques	56/62 participants (90%)

- 41/51 des résultats inadéquats (borderlines ou insuffisants) ont été obtenus avec l'anticorps concentré polyclonal A4502 (Dako/Agilent) et avec le clone prêt à l'emploi 9.7 (Ventana/Roche). L'utilisation de ces anticorps a également été décrite par NordiQC comme cause d'un résultat insuffisant (Assessment Run 56, 2019). En effet, Roche a abandonné le clone 9.7 et l'a remplacé par le clone EP10. De plus, NordiQC décrit également comme cause d'un résultat insuffisant : une concentration inappropriée de l'anticorps, un prétraitement inadéquat (type inapproprié, temps d'incubation trop court ou température d'incubation trop basse) ou un système de détection inapproprié. Par conséquent, nous souhaitons souligner l'importance de l'optimisation du protocole, p. ex. sur base des protocoles recommandés par NordiQC (<https://www.nordiqc.org/recommended.php>) et en concertation avec votre fournisseur d'anticorps.
- Le tissu de contrôle positif et négatif recommandé par NordiQC est l'appendice : les cellules de Cajal, les mastocytes et les structures néo-vasculaires doivent présenter une coloration très forte (la plus forte possible), alors qu'aucune coloration ne doit être observée dans les cellules musculaires lisses de la musculature et des vaisseaux.

4.2. S100

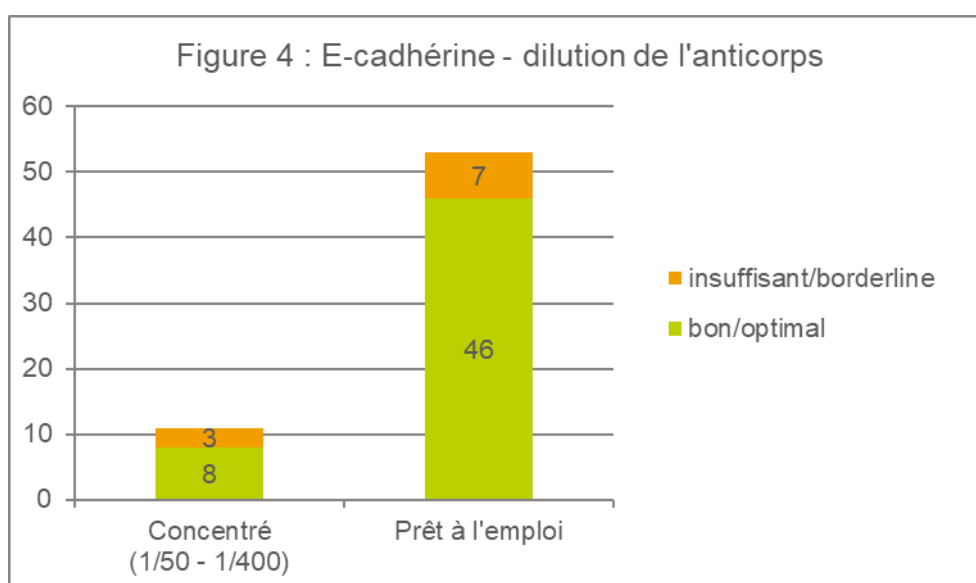
- La coloration S100 a été de qualité optimale ou bonne pour 56/68 participants (82%) (voir figure 1).
- La coloration a été réalisée par automate par tous les laboratoires.
- Une coupe de contrôle a été ajoutée par 38/68 participants (56%).
- Les anticorps les plus souvent utilisés sont les anticorps polyclonaux IR504/GA504 de Dako/Agilent Technologies (32/68 laboratoires soit 47%) et 760-2523 de Ventana/Roche (18/68 laboratoires soit 26%).
- Un anticorps concentré a été utilisé par 7/68 laboratoires (10%), un anticorps prêt à l'emploi par 60/68 laboratoires (88%) (voir figure 3). Un laboratoire a dilué un anticorps prêt à l'emploi (facteur de dilution 1/4).



- Un résultat borderline correspond dans 8/11 cas à une coloration globale trop faible. Les 3 autres cas présentaient un bruit de fond.
- Un laboratoire a obtenu un résultat insuffisant, à cause d'un marquage insuffisant des cellules de Schwann de l'appendice, de l'amygdale et des mélanomes.
- Le tissu de contrôle positif et négatif recommandé par NordiQC est l'appendice : les adipocytes et les cellules de Schwann des fibres nerveuses périphériques doivent présenter une coloration très forte (la plus forte possible), alors qu'aucune coloration ne doit être observée dans les cellules musculaires lisses et l'épithélium.

4.3. E-CADHERINE

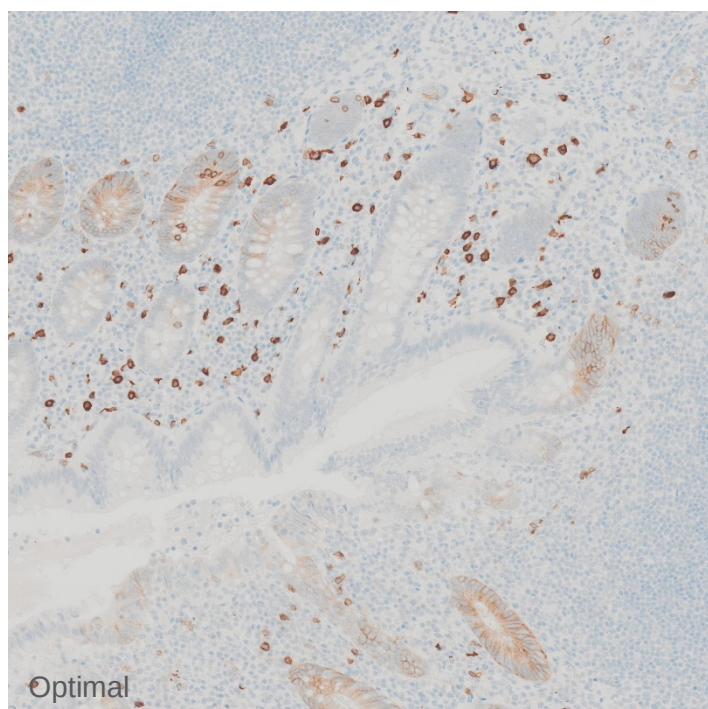
- La coloration E-cadhérine a été de qualité optimale ou bonne pour 54/64 participants (84%) (voir figure 1).
- La coloration a été réalisée par automate par tous les laboratoires.
- Une coupe de contrôle a été ajoutée par 35/64 participants (55%).
- Les clones les plus souvent utilisés sont le NCH-38 (35/64 laboratoires soit 55%) et le clone 36 (19/64 laboratoires soit 30%).
- Un anticorps concentré a été utilisé par 11/64 laboratoires (17%), un anticorps prêt à l'emploi par 53/64 laboratoires (83%) (voir figure 4).



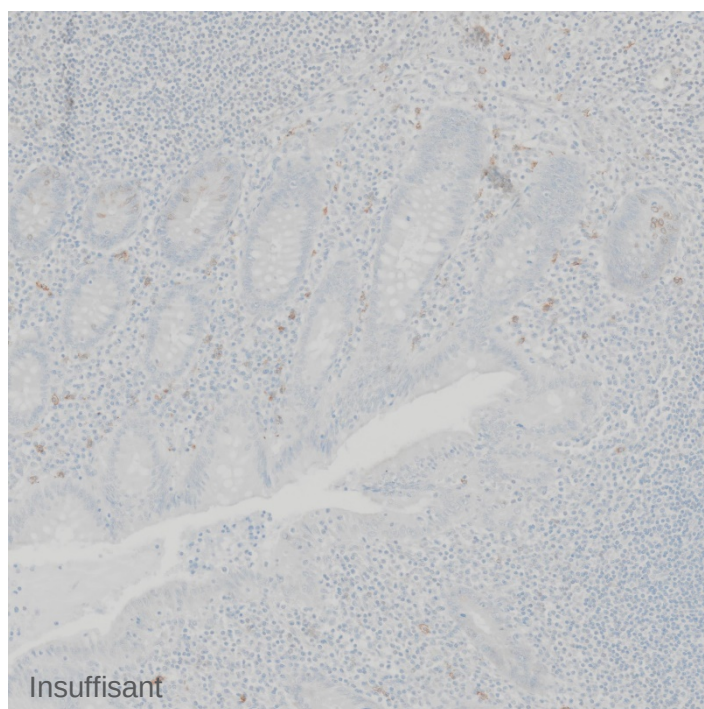
- Un résultat borderline correspond dans 2/3 cas à une coloration globale trop faible. Le troisième cas présentait un bruit de fond.
- Un résultat insuffisant correspond dans tous les cas (7/7) à un marquage faussement positif de (presque) tous les tissus, lié à l'utilisation du clone EP700Y. Ceci a également été rapporté par NordiQC (Assessment Run 53, 2018).
- Les tissus de contrôle recommandés par NordiQC sont le foie et le côlon. Au minimum une coloration modérée des hépatocytes du foie doit être présente ; les cellules épithéliales des voies biliaires doivent présenter une coloration forte. L'épithélium du côlon doit présenter une coloration forte ; aucune coloration ne doit être observée dans les cellules stromales p. ex. les lymphocytes, plasmocytes, cellules musculaires lisses ou cellules endothéliales.

5. Images

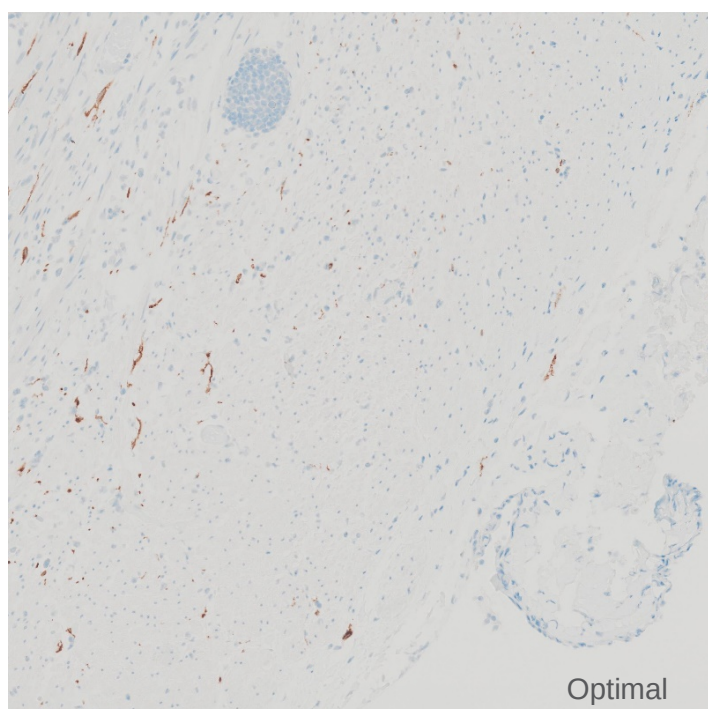
CD117



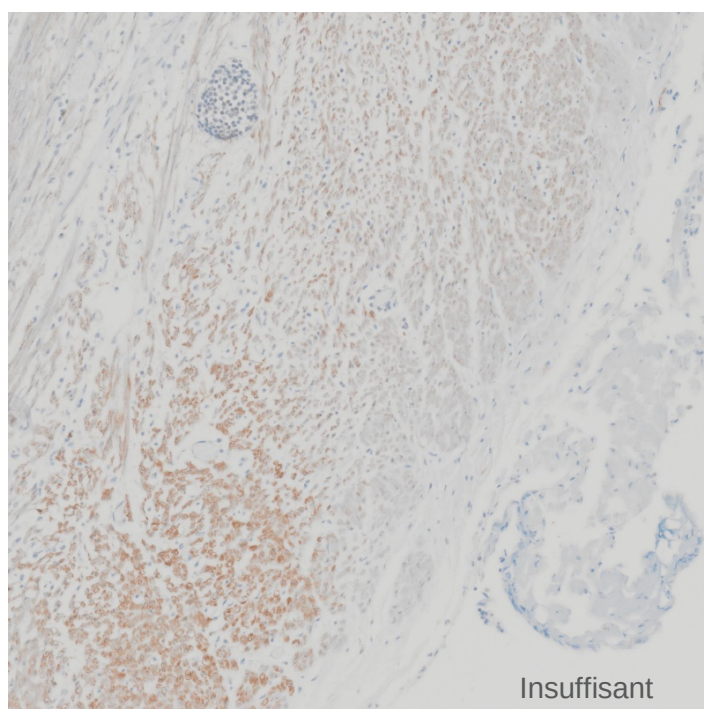
Appendice : coloration faible à modérée des cellules épithéliales dispersées de la zone basale des cryptes ; coloration forte des mastocytes



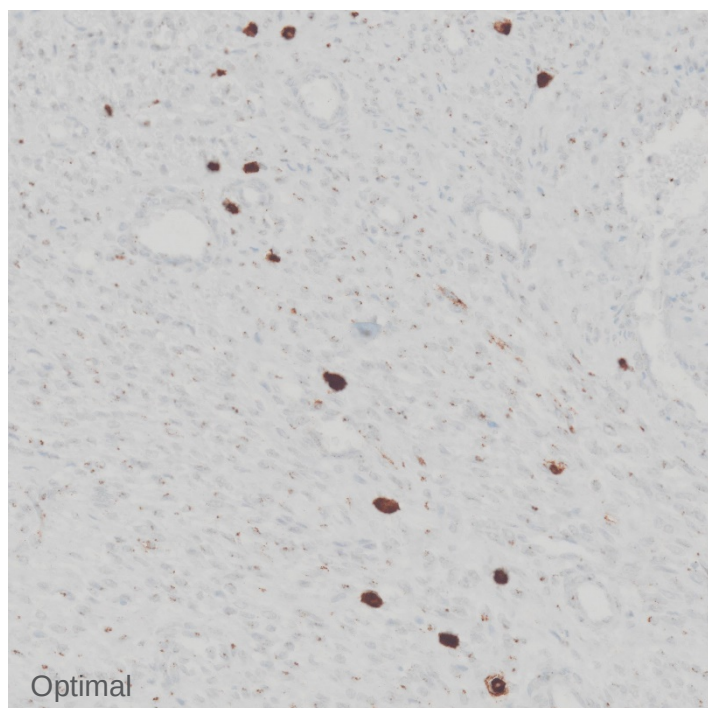
Appendice : aucune coloration de l'épithélium ; coloration trop faible des mastocytes



Appendice : au minimum une coloration modérée des cellules de Cajal de la musculuse ; aucune coloration des cellules musculaires lisses

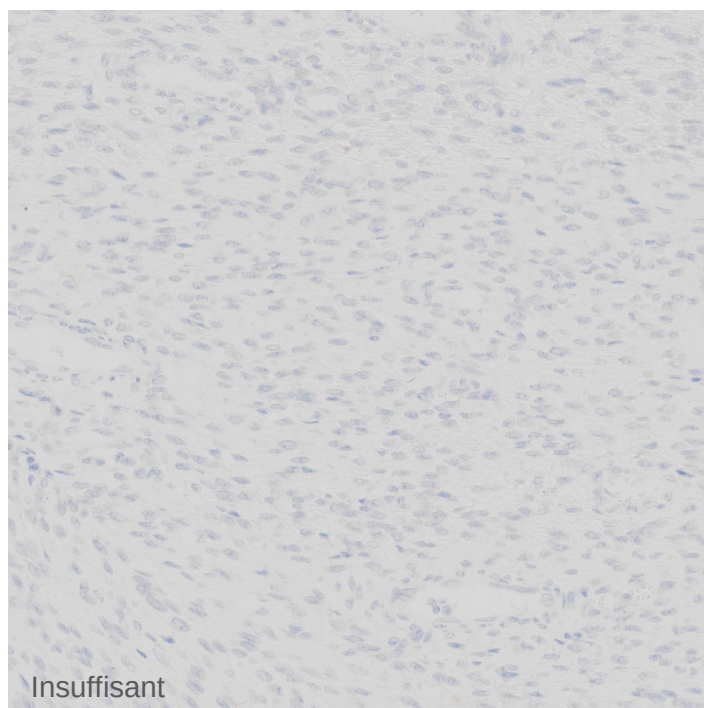


Appendice : aucune coloration des cellules de Cajal ; bruit de fond au niveau des cellules musculaires lisses



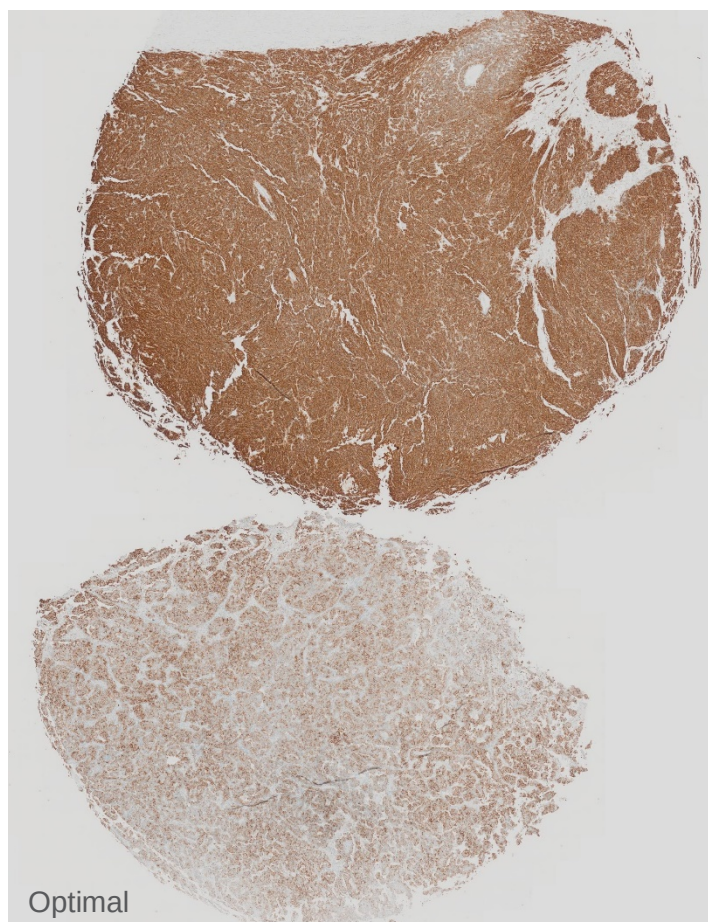
Optimal

Léiomyome : marquage fort des mastocytes



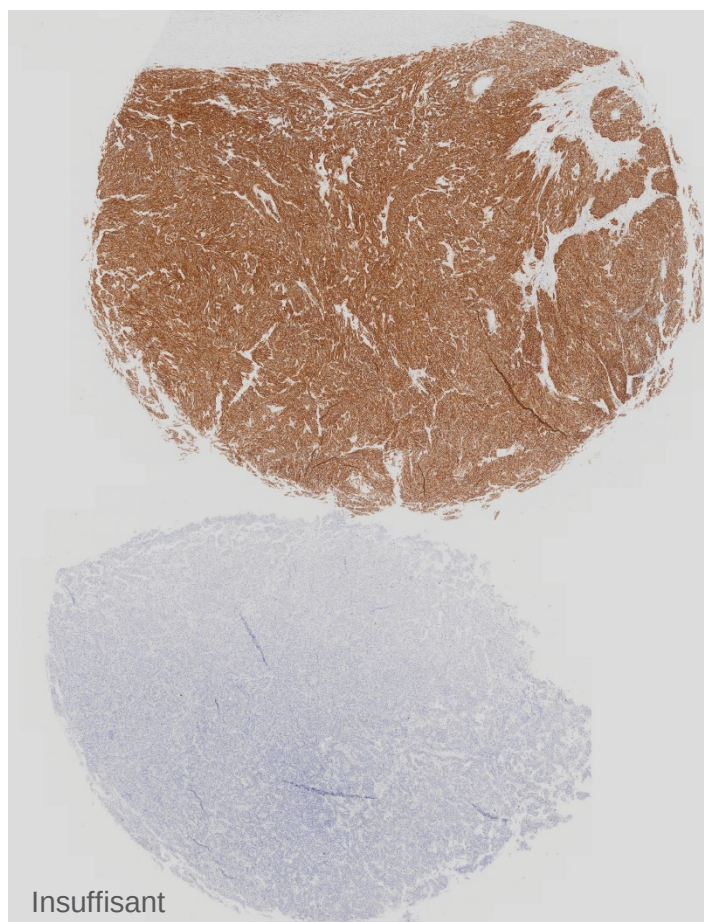
Insuffisant

Léiomyome : aucun marquage des mastocytes



Optimal

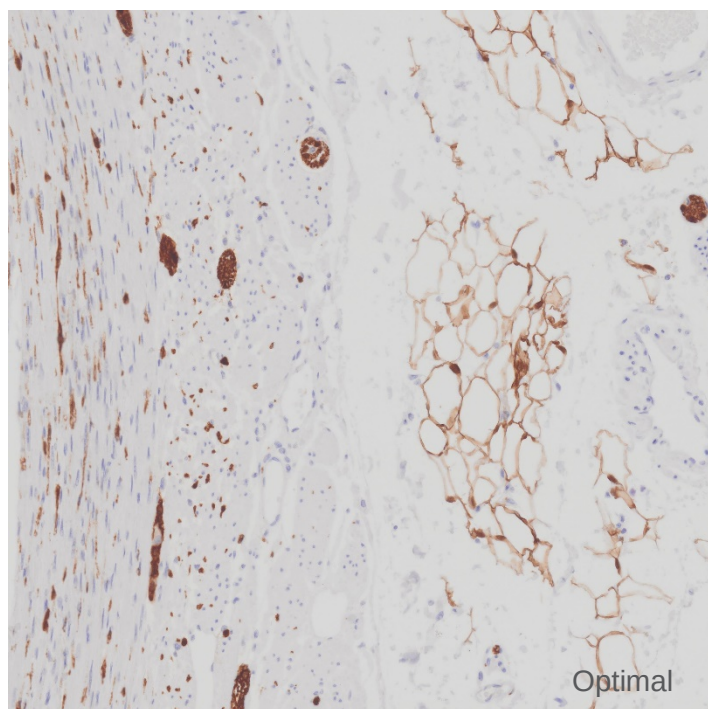
GIST et tumeur germinale : coloration forte des cellules néoplasiques du GIST (au-dessus) ; coloration modérée à forte des cellules néoplasiques de la tumeur germinale (en-dessous)



Insuffisant

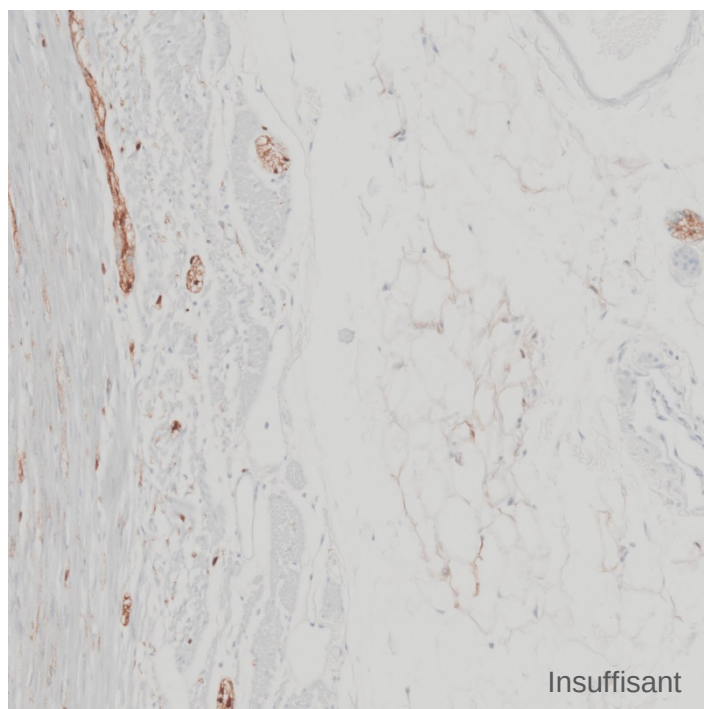
GIST et tumeur germinale : coloration forte des cellules néoplasiques du GIST (expression élevée !) (au-dessus) ; aucune coloration des cellules néoplasiques de la tumeur germinale (en-dessous)

S100



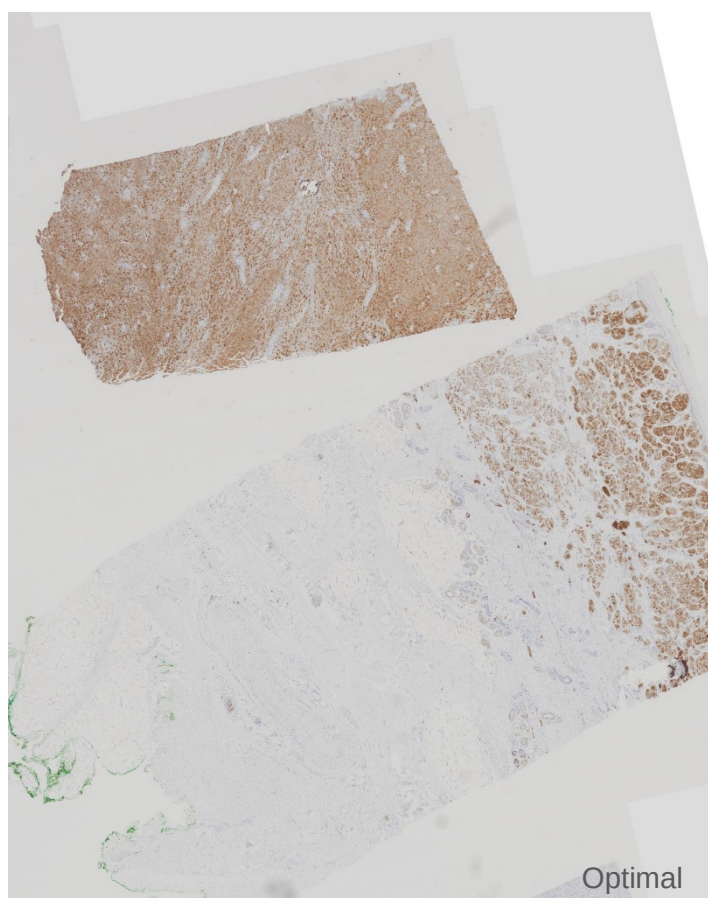
Optimal

Appendice : au minimum une coloration faible à modérée des adipocytes ; coloration forte des cellules de Schwann



Insuffisant

Appendice : coloration insuffisante des cellules de Schwann et des adipocytes



Optimal

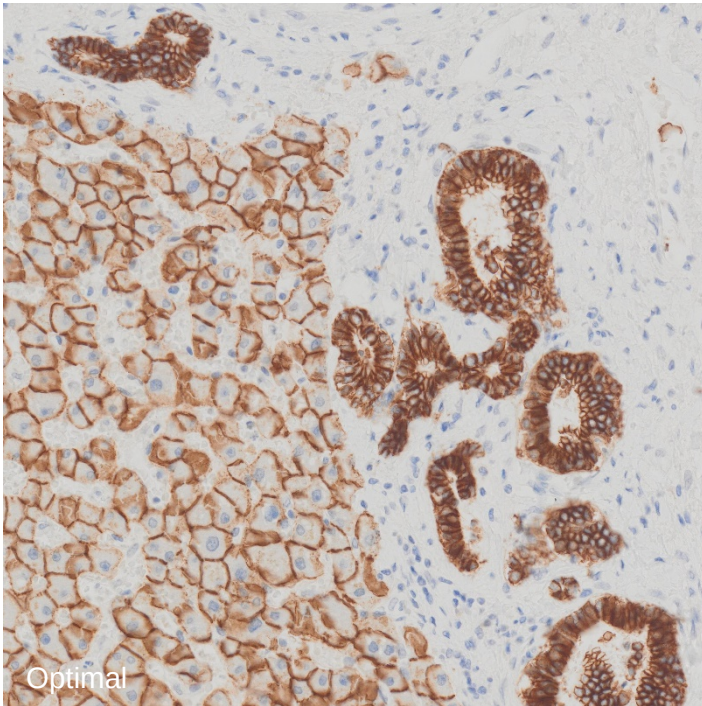
Mélanomes : coloration forte des cellules néoplasiques



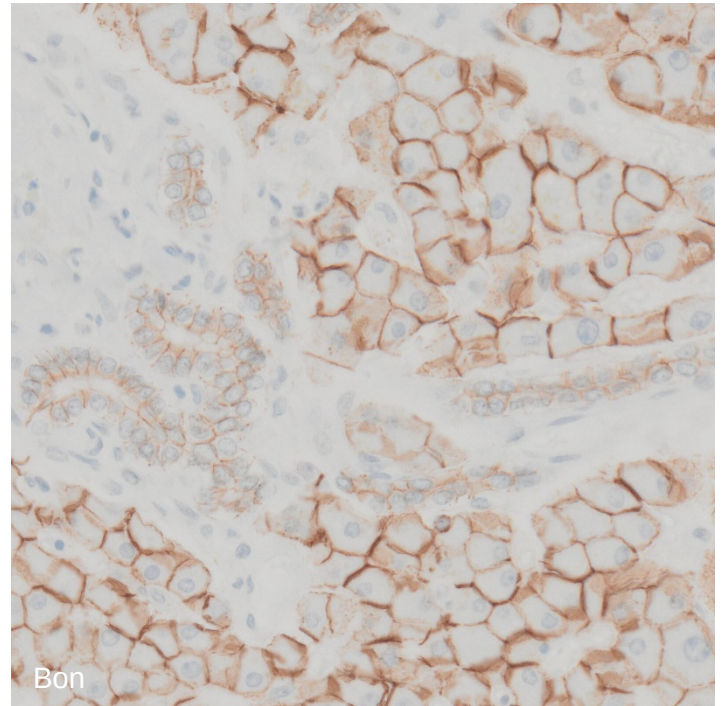
Borderline

Mélanomes : coloration globale trop faible

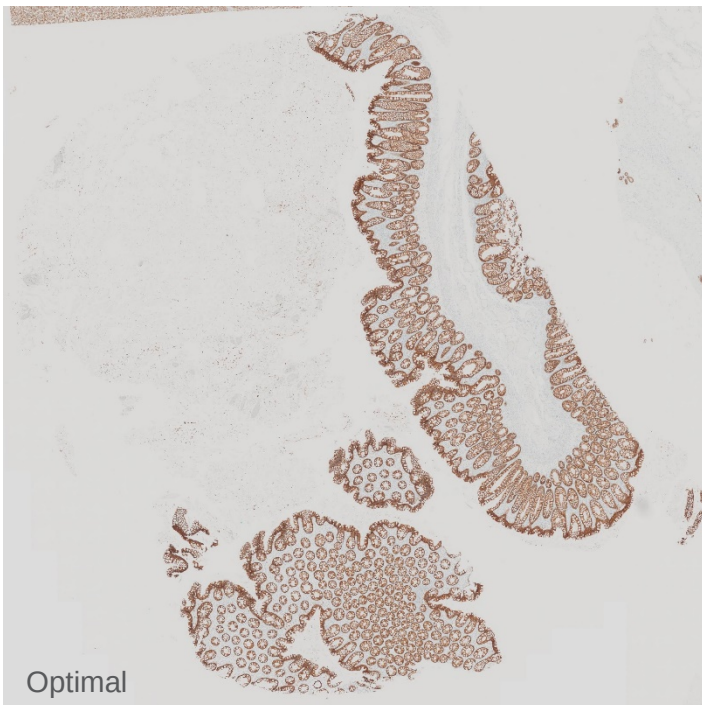
E-cadhérine



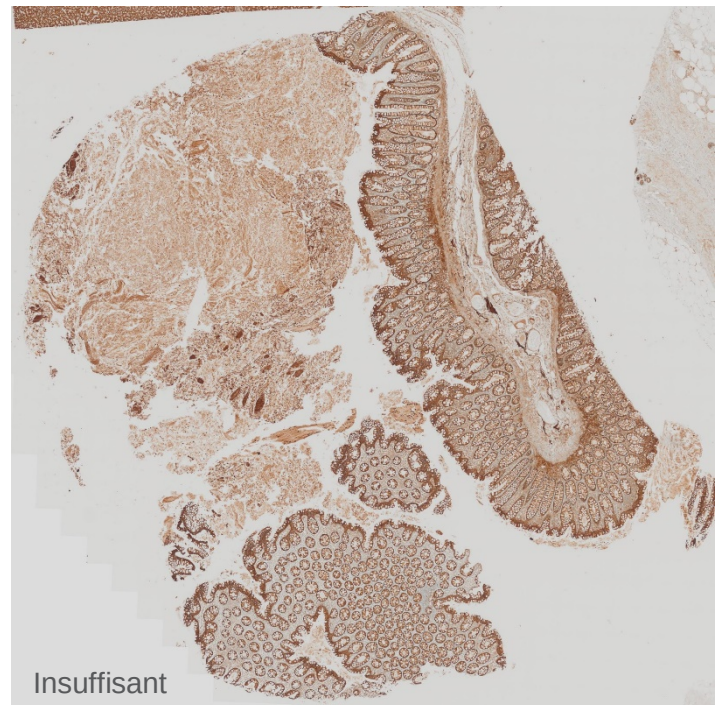
Foie : au minimum une coloration modérée des hépatocytes ; coloration forte des cellules épithéliales des voies biliaires ("gradient")



Foie : coloration peu intense des voies biliaires ; gradient entre les hépatocytes et les voies biliaires pas clair



Côlon : coloration forte de l'épithélium ; aucune coloration des cellules stromales



Côlon : coloration faussement positive des cellules stromales

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2021.

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.