

**RISQUES BIOLOGIQUES POUR LA SANTE
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
ENQUETE 2021/2**

Sciensano/Immunohistochimie/13-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
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				

Une version provisoire de ce rapport a été transmise aux membres du groupe de travail EEQ le : 12/01/2022.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du groupe de travail EEQ du : 25/01/2022.

Autorisation de diffusion de rapport: Par Vanessa Ghislain, coordinateur d'enquête, le 26/01/2022.

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	4
1.5. Formulaire de réponse	4
2. Relecture	5
2.1. Critères généraux	5
2.2. Critères spécifiques	5
2.3. Evaluation finale	5
3. Résultats	6
3.1. Participation à l'EEQ	6
3.2. Aperçu des résultats	6
3.3. Résultats par anticorps	7
4. Discussion des résultats	7
5. Images	9

1. Introduction

Ce document comprend un résumé ainsi qu'une discussion des résultats de l'évaluation externe de la qualité (EEQ) Immunohistochimie 2021/2 – CD117 et un résumé des commentaires individuels et des recommandations.

1.1. OBJECTIF DE L'EEQ

Cette EEQ avait pour objectif d'évaluer la qualité de la coloration immunohistochimique CD117 (c-kit).

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 une coupe de paraffine non colorée 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).

Le bloc utilisé dans cette enquête était le même bloc que celui utilisé dans l'EEQ précédente, puisque il s'agissait d'une réévaluation générale pour le paramètre CD117 de l'enquête 2021/1. Cette décision a été approuvée par le groupe de travail EEQ le 20/09/2021.

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

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



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 coupe renferme une information identique) et stables jusqu'à la fin de la période d'analyse. NordiQC a également coloré la coupe (anticorps monoclonal de lapin YR145) (cfr. le point 5).

1.4. DEMANDE

Il était demandé de réaliser la coloration CD117, selon les procédures habituelles du laboratoire. **Les laboratoires utilisant plusieurs protocoles étaient invités à se référer au contenu des coupes (voir ci-dessus) et/ou à utiliser le protocole le plus sensible.** Le laboratoire pouvait ajouter sa propre coupe de contrôle (témoin externe).

Il était précisé que le traitement de l'échantillon devait être le même que celui des échantillons des patients, c.-à-d. que l'échantillon devait être intégré 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 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 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

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

2.3. 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 60/69 (87%). 4 laboratoires ont indiqué sous-traiter ce test.

Région	Nombre de laboratoires ayant reçu des coupes (inscrits)	Nombre de laboratoires ayant renvoyé une coupe CD117
Région Flamande	41	39
Région Bruxelloise	10	6
Région Wallonne	16	14
Sociétés pharm.	2	1
Total	69	60

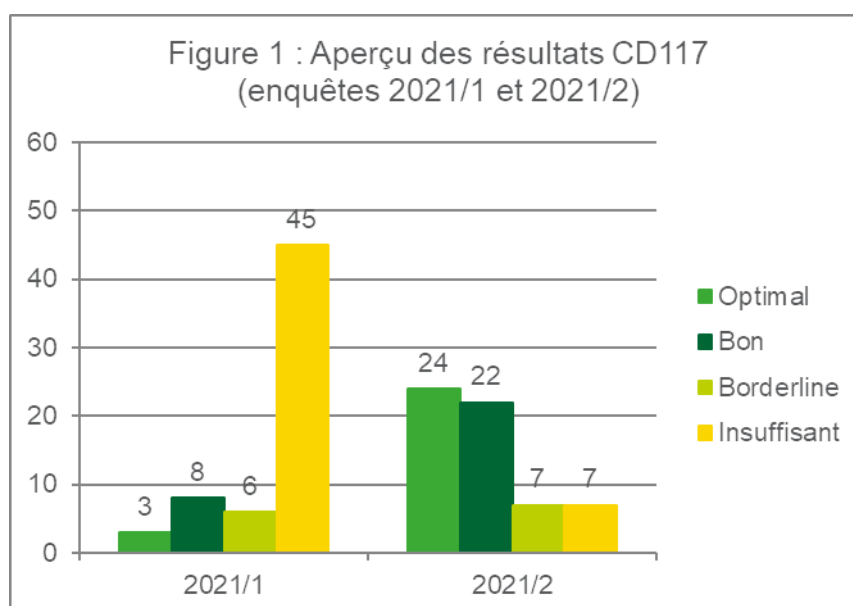
3.2. APERÇU DES RÉSULTATS

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

Evaluation finale	CD117
Optimal	24 (40%)
Bon	22 (37%)
Borderline	7 (11.5%)
Insuffisant	7 (11.5%)
Total	60*

(*) Un laboratoire a demandé et renvoyé une deuxième coupe (2 méthodes).

La figure ci-dessous présente les résultats de CD117 des enquêtes d'immunohistochimie 2021/1 et 2021/2.



3.3. RÉSULTATS PAR ANTICORPS

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 = 35)							
Polyclonal	30 [§]	Dako/Agilent Technologies	6	13	6	5	63%
ml YR145	2	Cell Marque/Ventana/Roche	2	0	0	0	2/2
ml EP10	1	Epitomics	0	0	0	1	0/1
	1	Leica / Novocastra	1	0	0	0	1/1
Non rapporté	1	Dako/Agilent Technologies	0	1	0	0	1/1
Anticorps prêts à l'emploi (n = 25)							
ml EP10	20	Cell Marque/Ventana/Roche	12	7	1	0	95%
	2	Leica / Novocastra	1	1	0	0	2/2
ml YR145	2	Cell Marque/Ventana/Roche	2	0	0	0	2/2
ml 9.7	1	Cell Marque/Ventana/Roche	0	0	0	1	0/1

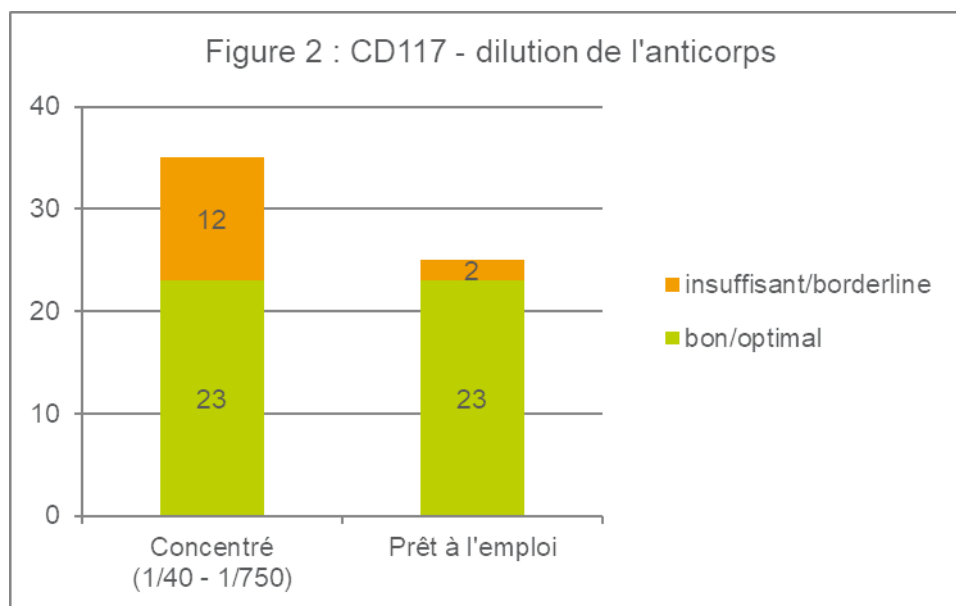
(*) optimal/bon

ml = anticorps monoclonal de lapin

(§) Un laboratoire a effectué la coloration 2 fois avec un protocole différent, mais avec le même anticorps. Ainsi, l'anticorps polyclonal a été utilisé par 29 laboratoires.

4. Discussion des résultats

- La coloration CD117 a été de qualité optimale ou bonne pour 46/60 participants/méthodes (77%) (voir figure 1).
- La coloration a été réalisée par automate par tous les laboratoires.
- Une coupe de contrôle a été ajoutée par 35/59 participants (59%).
- Un anticorps concentré a été utilisé par 35/60 laboratoires/méthodes (58%), un anticorps prêt à l'emploi par 25/60 laboratoires (42%) (voir figure 2).



- Les anticorps les plus souvent utilisés sont l'anticorps polyclonal A4502 (29/59 laboratoires soit 49%) et le clone EP10 (20/59 laboratoires soit 34%). Le clone 9.7, qui a été remplacé par Roche par le clone EP10 est encore utilisé par un laboratoire.
- Parmi les laboratoires qui ont obtenu un résultat borderline ou insuffisant dans l'EEQ 2021/1, 32 ont modifié leur protocole :

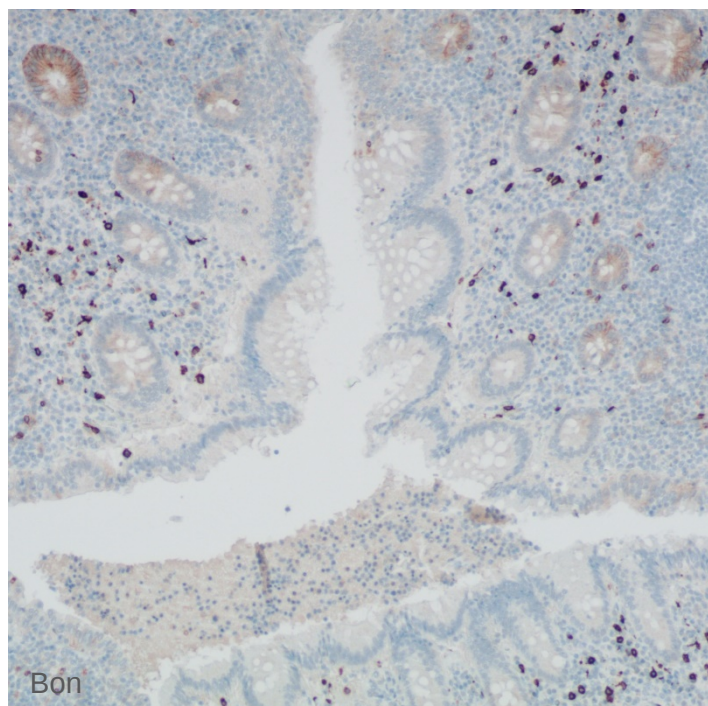
Modification	N	Optimal	Bon	Border-line	Insuf-fisant	Accep-table*
Clone	11	7	4	0	0	100%
Uniquement la dilution (anticorps concentré)	5	2	2	1	0	80%
Uniquement le temps d'incubation de l'AC [§]	2	2	0	0	0	2/2
Uniquement la température d'incubation de l'AC	2	1	1	0	0	2/2
Uniquement le prétraitement	2	1	1	0	0	2/2
Uniquement la détection	1	0	1	0	0	1/1
Uniquement l'amplification (ajoutée ou supprimée)	3	2	1	0	0	3/3
Combinaison de la dilution et/ou le temps d'incubation et/ou la temp. d'incubation et/ou le prétraitement et/ou la détection et/ou l'amplification	6	0	2	1	3	33%

(*) optimal/bon

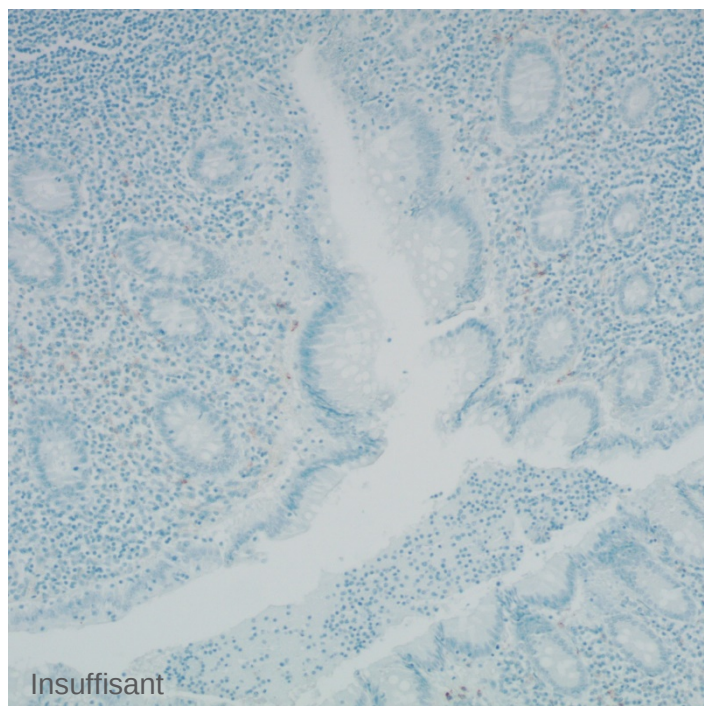
(§) anticorps

- Un résultat borderline correspond dans 5/7 cas à une coloration insuffisante de la tumeur germinale et dans 2/7 cas à une coloration globale trop faible.
- Un résultat insuffisant correspond dans tous les cas (7/7) à une coloration insuffisante de plusieurs tissus.
- Un prétraitement thermique, de préférence à haut pH, est essentiel. Dans cette enquête, 3 laboratoires n'ont appliqué aucun prétraitement, ils ont tous obtenu un résultat insuffisant.
- 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.

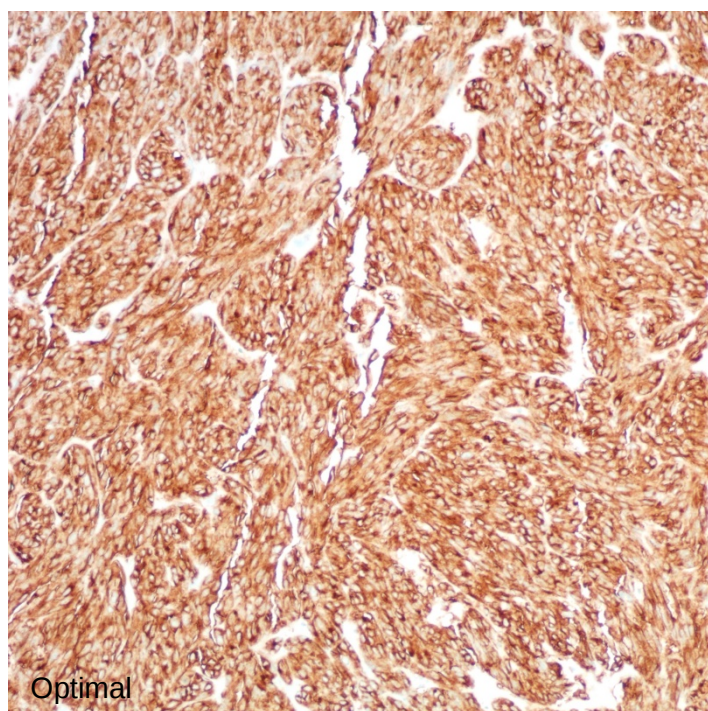
5. Images



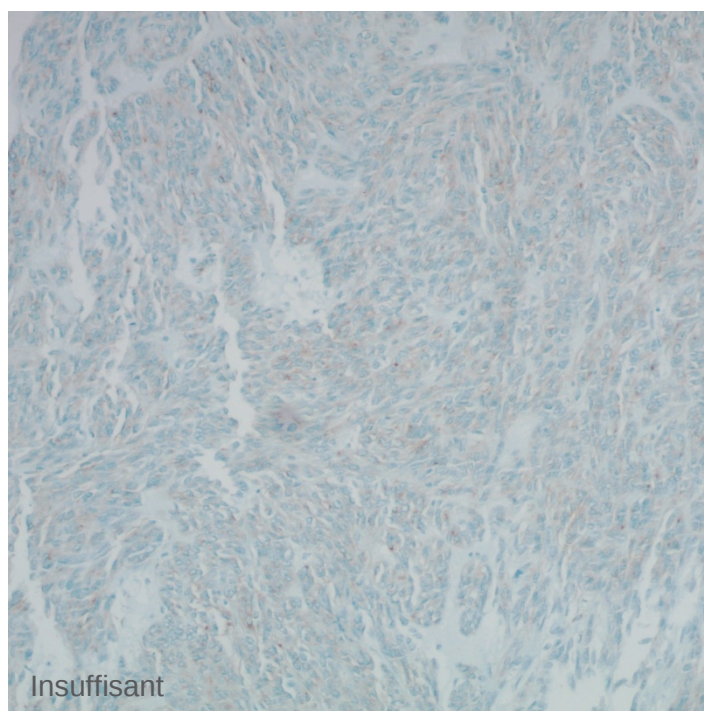
Appendice : coloration faible à modérée des cellules épithéliales dispersées de la zone basale des cryptes ; coloration forte des mastocytes ; score « bon » au lieu d' « optimal » en raison de la présence d'un bruit de fond



Appendice : aucune coloration de l'épithélium et des mastocytes

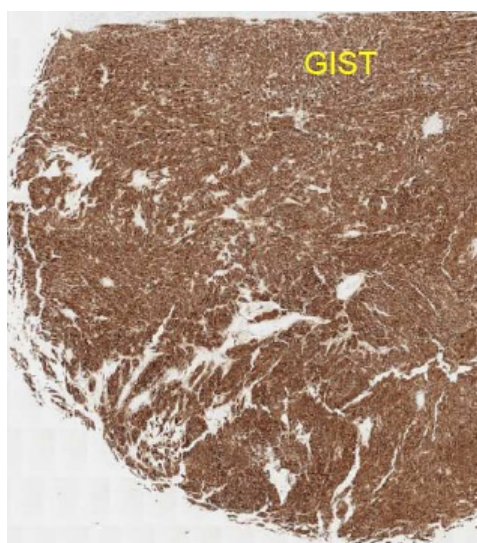


GIST : coloration forte des cellules néoplasiques

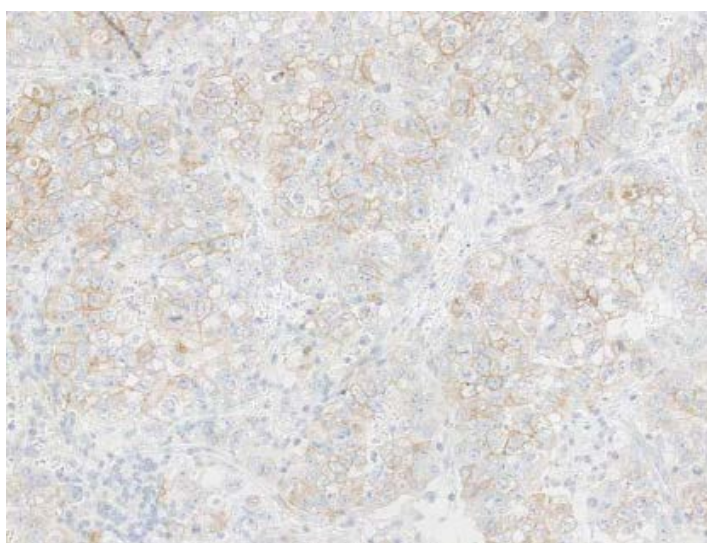


GIST : aucune coloration des cellules néoplasiques (protocole sans prétraitement)

Coloration CD117 réalisée par NordiQC (anticorps monoclonal de lapin YR145) :



GIST



Tumeur germinale

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.