

**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/ER  
ENQUETE 2023/1**

**Sciensano/Immunohistochimie/17-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
		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 : 18/04/2023.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du groupe de travail EEQ du : 25/04/2023.

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

**Date de publication :** 27/04/2023

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

## 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. RO .....	6
2.3. Évaluation finale .....	6
2.3.1. HER2 .....	6
2.3.2. RO .....	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. RO .....	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 .....	11
<b>4. Discussion des résultats</b> .....	<b>11</b>
4.1. HER2 .....	11
4.2. RO .....	11
4.3. Interprétation HER2 .....	12
<b>5. Images</b> .....	<b>13</b>

# 1. Introduction

Ce document comprend un résumé ainsi qu'une discussion des résultats de l'évaluation externe de la qualité (EEQ) Immunohistochimie 2023/1 (HER2/ER) 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 ER (RO, récepteur d'œstrogènes).

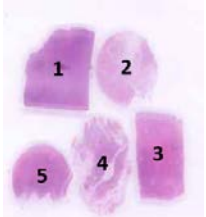
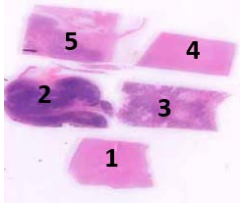
## 1.2. ACTIVITÉS SOUS-TRAITÉES

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 09/02/2023. 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		RO	
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 RO, 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 RO.

## 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 21 mars 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.

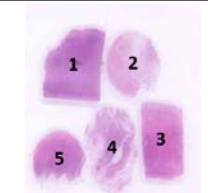
### 2.1. CRITÈRES GÉNÉRAUX

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 (9.53)
2. Carcinome mammaire		2) 0	2) Not amplified (1.11)
3. Carcinome mammaire		3) 1-2+	3) Not amplified (1.08)
4. Carcinome mammaire		4) 1-2+	4) Not amplified (0.84)
5. Carcinome mammaire		5) 2+	5) Amplified (2.20)

(\*) 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. RO

- 1) **Col utérin** : coloration nucléaire modérée à forte de la majorité de l'épithélium cylindrique, de l'épithélium squameux et des cellules stromales (à l'exception des cellules endothéliales et lymphoïdes)
- 2) **Amygdale** : au minimum une coloration faible à modérée des cellules folliculaires dendritiques dispersées/cellules T et de l'épithélium squameux
- 3) **Carcinome mammaire** : coloration nucléaire forte de plus de 90% des cellules tumorales
- 4) **Carcinome mammaire** : aucune coloration ou coloration nucléaire faible de moins de 1% des cellules tumorales
- 5) **Carcinome mammaire** : coloration nucléaire faible à modérée dans au moins 1% des cellules tumorales

## 2.3. ÉVALUATION FINALE

### 2.3.1. HER2

- **Optimal** : la coloration de la biopsie 5 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 (p. ex. la coloration sur la biopsie 2 correspond avec un score 2+) ou la coloration de la biopsie 1 correspond avec 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 avec un score 0 ou 1+ ; une optimisation de la méthode est nécessaire et urgente

### 2.3.2. RO

- **Optimal** : la coloration correspond avec les critères décrits ci-dessus (voir 2.2.2.)
- **Bon** : en moyenne, coloration peu intense (p. ex. coloration trop faible du col utérin ou de l'amygdale) ou coloration cytoplasmique ou contre-coloration insuffisante
- **Borderline** : coloration faussement positive sur l'endothélium du col utérin ou coloration cytoplasmique interférant avec l'interprétation ou coloration insuffisante de la biopsie mammaire 3 (c.-à-d.  $\geq 1\%$  et  $< 10\%$  de positivité) ou aucune coloration du col utérin ou de l'amygdale ; 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) ou surcoloration générale ; une optimisation de la méthode est nécessaire et urgente

## 3. Résultats

### 3.1. PARTICIPATION À L'EEQ

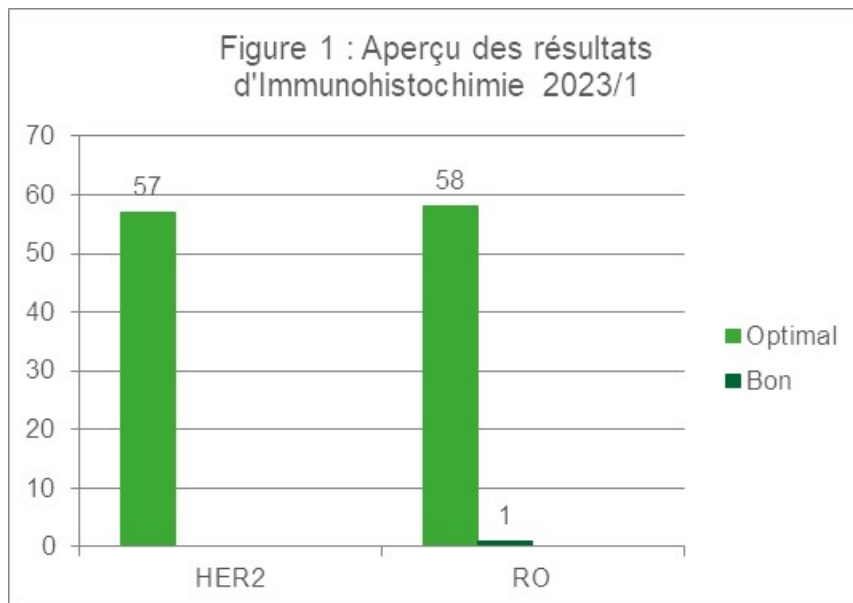
Le taux de participation a été de 60/61 (98%).

Région	Nombre de laboratoires ayant reçu des coupes (inscrits)	Nombre de laboratoires ayant renvoyé une coupe HER2	Nombre de laboratoires ayant renvoyé une coupe RO
Région Flamande	37	35	37
Région Bruxelloise	8	8	8
Région Wallonne	15	14	14
Sociétés pharm.	1	1	1
Total	61	58	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	HER2	RO
Optimal	57 (100%)	58 (98%)
Bon	0	1 (2%)
Borderline	0	0
Insuffisant	0	0
Total	57	59



### 3.3. RÉSULTATS PAR ANTICORPS

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

#### 3.3.1. HER2

HER2							
Clone	N	Fournisseur	Optimal	Bon	Border-line	Insuffisant	Acceptable*
<b>Anticorps concentrés (n = 17)</b>							
Polyclonal	17	Dako/Agilent Technologies	17	0	0	0	100%
<b>Anticorps prêts à l'emploi (n = 40)</b>							
ml 4B5	33	Cell Marque/Ventana/Roche	33	0	0	0	100%
ml DG44 (HercepTest)	6	Dako/Agilent Technologies	6	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

#### 3.3.2. RO

RO							
Clone	N	Fournisseur	Optimal	Bon	Border-line	Insuffisant	Acceptable*
<b>Anticorps concentrés (n = 1)</b>							
ml EP1	1	Dako/Agilent Technologies	1	0	0	0	1/1
<b>Anticorps prêts à l'emploi (n = 58)</b>							
ml SP1	35	Cell Marque/Ventana/Roche	34	1	0	0	100%
ml EP1	21	Dako/Agilent Technologies	21	0	0	0	100%
ms 6F11	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 3+**.

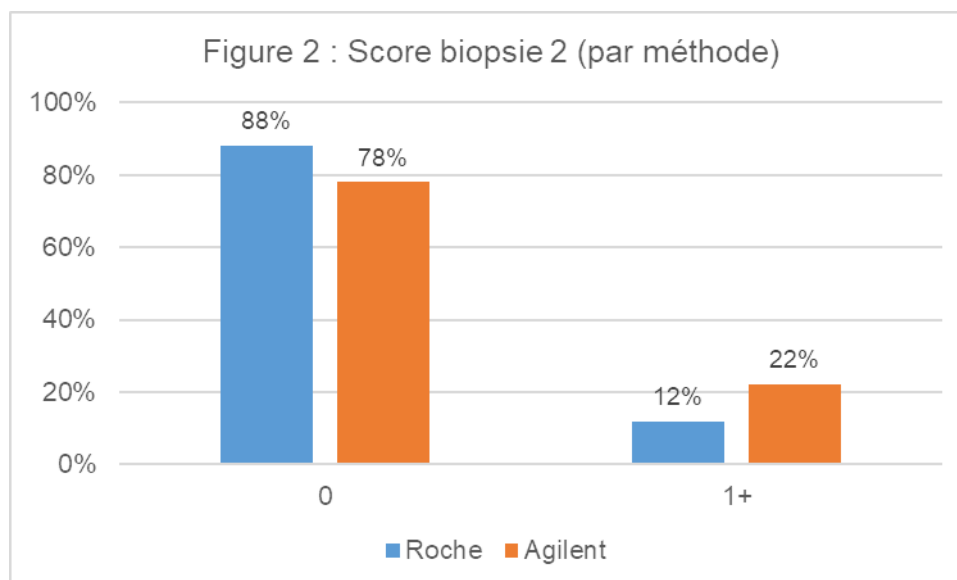
Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	0	0	0
1+	0	0	0
2+	0	0	0
3+	33	23	1



### 3.4.2. Score biopsie 2

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

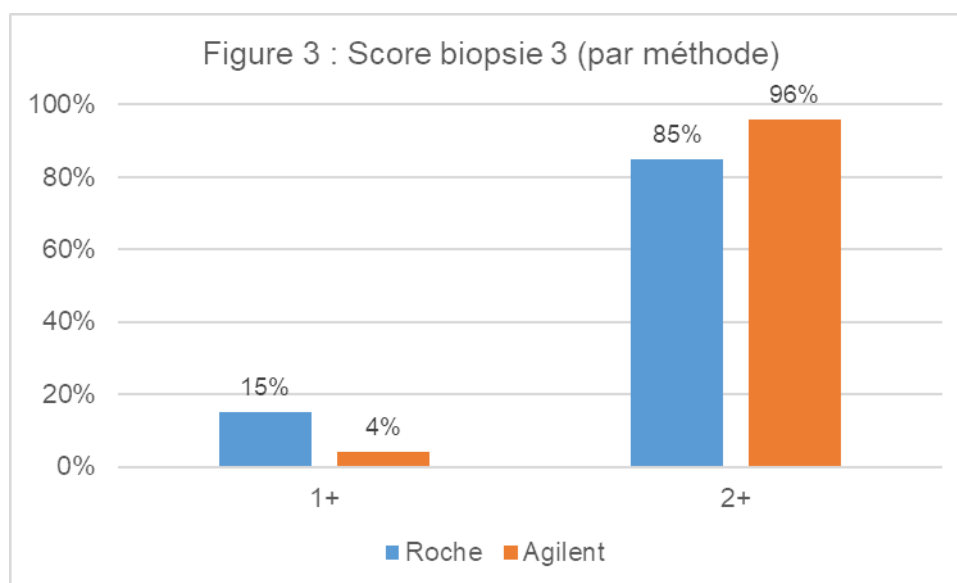
Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	29	18	1
1+	4	5	0
2+	0	0	0
3+	0	0	0



### 3.4.3. Score biopsie 3

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

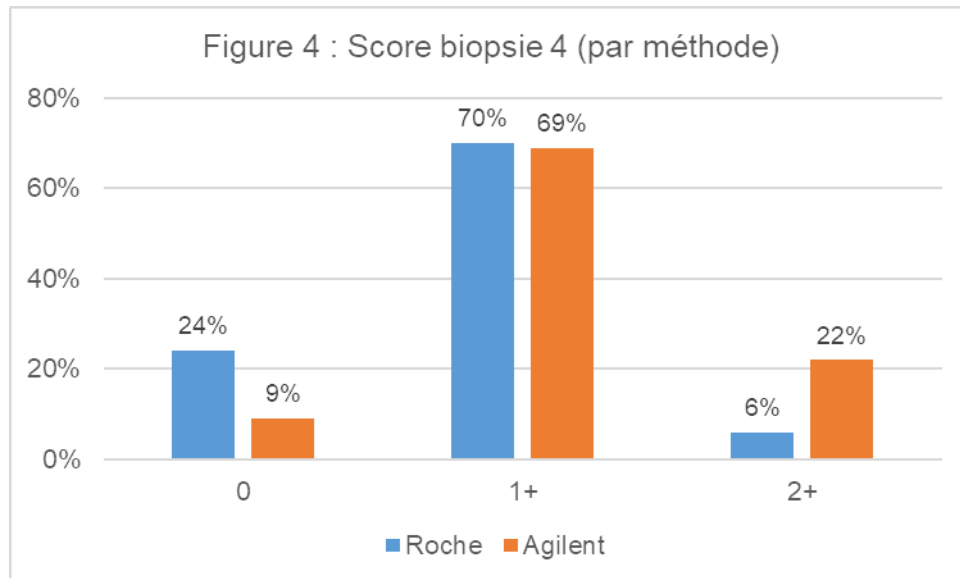
Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	0	0	0
1+	5	1	0
2+	28	22	1
3+	0	0	0



### 3.4.4. Score biopsie 4

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

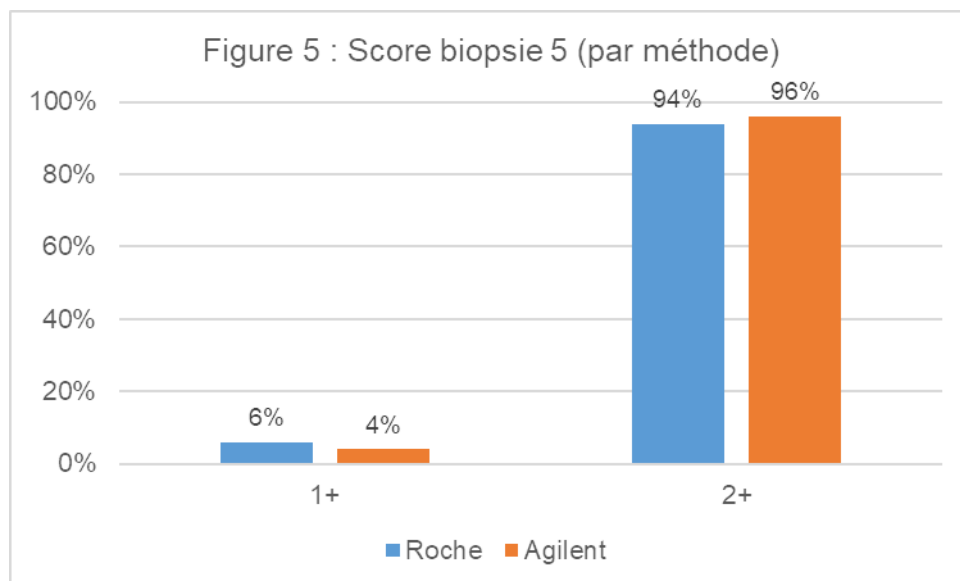
Réponses	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	8	2	0
1+	23	16	1
2+	2	5	0
3+	0	0	0



### 3.4.5. 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+	2	1	0
2+	31	22	1
3+	0	0	0



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

Réponses	N
ASCO/CAP Guidelines 2018	53
ASCO/CAP Guidelines 2018 – Belgian guidelines 2014	1
Belgian Guidelines 2014	3

## 4. Discussion des résultats

### 4.1. HER2

- La coloration HER2 a été de qualité optimale ou bonne pour 57/57 participants (100%) (voir figure 1).
- La coloration a été réalisée par automate par tous les laboratoires.
- Une coupe de contrôle a été ajoutée par 56/57 participants (98%). La coupe de contrôle était conforme dans 91% des cas (51/56).
- Les anticorps les plus souvent utilisés sont le clone 4B5 (33/57 laboratoires soit 58%) et l'anticorps polyclonal A0485 (17/57 laboratoires soit 30%).
- Un anticorps concentré a été utilisé par 17/57 laboratoires (30%), un anticorps prêt à l'emploi par 40/57 laboratoires (70%).

### 4.2. RO

- La coloration RO a été de qualité optimale ou bonne pour 59/59 participants (100%) (voir figure 1).
- La coloration a été réalisée par automate par tous les laboratoires.
- Une coupe de contrôle a été ajoutée par 45/59 participants (76%).
- Les clones les plus souvent utilisés sont le SP1 (35/59 laboratoires soit 59%) et le EP1 (22/59 laboratoires soit 37%).
- Un anticorps concentré a été utilisé par 1/59 laboratoire (2%), un anticorps prêt à l'emploi par 58/59 laboratoires (98%).
- Un laboratoire a obtenu un résultat « bon » à cause d'une coloration globale trop peu intense.
- Les tissus de contrôle recommandés par NordiQC sont le col utérin et l'amygdale. La majorité des cellules épithéliales de l'épithélium squameux et des glandes du col utérin doivent présenter une coloration modérée à forte, ainsi que la majorité des cellules stromales. Aucune coloration ne doit être observée dans les cellules endothéliales et lymphoïdes. L'amygdale peut être utilisée comme contrôle supplémentaire pour évaluer la sensibilité : au minimum une coloration faible à modérée des cellules dispersées des centres germinatifs (en général des cellules folliculaires dendritiques) et de l'épithélium squameux doit être présente. Aucune coloration ne doit être observée dans les cellules B des zones du manteau et des centres germinatifs.

### 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 :

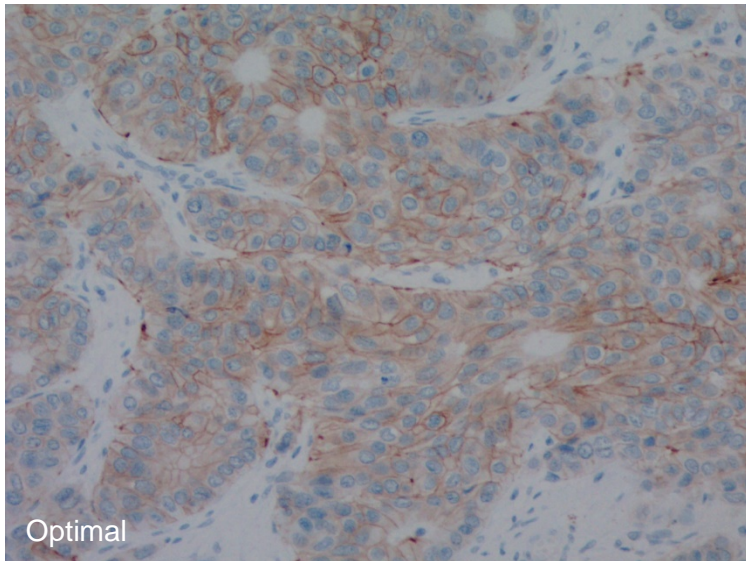
Réponses	Biopsie 1	Biopsie 2	Biopsie 3	Biopsie 4	Biopsie 5
Résultat attendu	3+/A*	0/NA*	1-2+/NA	1-2+/NA	2+/A
0	-	<b>84%</b>	-	18%	-
1+	-	16%	11%	<b>70%</b>	5%
2+	-	-	<b>89%</b>	12%	<b>95%</b>
3+	<b>100%</b>	-	-	-	-

(\*) A = amplifié, NA = non amplifié

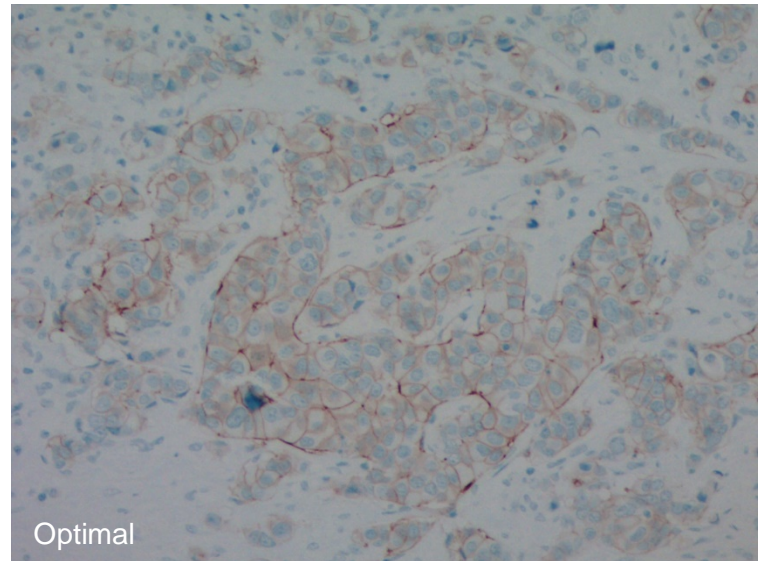
- Dans cette enquête, pour chaque biopsie, les résultats IHC et ISH sont concordants entre eux et nous n'avons pas constaté de surinterprétation dans les IHC. C'est-à-dire qu'aucune des 3 biopsies non amplifiées de cette enquête n'a été marquée et/ou interprétée comme un résultat 3+ par un laboratoire. 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.
- 3 laboratoires ont rapporté une interprétation erronée 1+ pour la biopsie 5 (2+/amplifiée), alors que la coloration était techniquement correcte et conforme au score attendu 2+. La coloration a été évaluée comme « optimale » mais les participants ont reçu un commentaire dans leur rapport individuel.

## 5. Images

### HER2

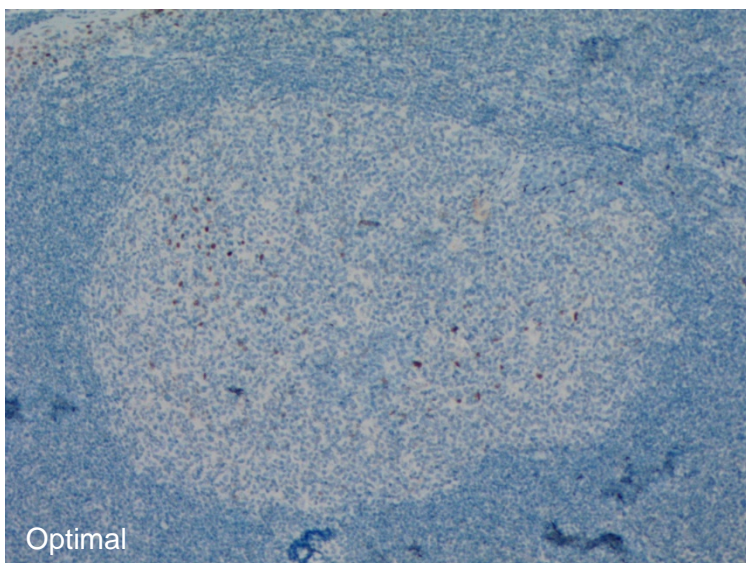


**Biopsie 3 (2+/not amplified)** : coloration optimale

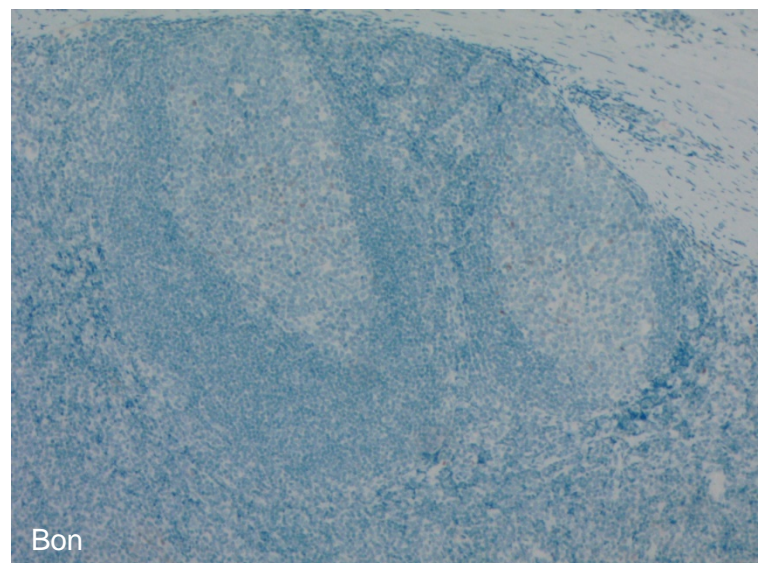


**Biopsie 5 (2+/amplified)** : coloration optimale, même laboratoire

### RO



**Amygdale** : expression faible ; au minimum une coloration faible à modérée des cellules dispersées et de l'épithélium squameux



**Amygdale** : coloration globale trop peu intense (sur toutes les biopsies)

---

**FIN**

---

© Sciensano, Bruxelles 2023.

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.