

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR PATHOLOGISCHE ANATOMIE
WERKGROEP EKE**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSES PATHOLOGISCHE ANATOMIE**

**DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT
IMMUNOHISTOCHEMIE – CD117
ENQUETE 2021/2**

Sciensano/Immunohistochemie/13-NL

Biologische gezondheidsrisico's
Kwaliteit van laboratoria
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.sciensano.be

WERKGROEP EKE

Sciensano					
Secretariaat		TEL:	02/642.55.22	FAX:	02/642.56.45
Vanessa Ghislain	Enquêtecoördinator	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	Vanessa.Ghislain@sciensano.be		
Leden werkgroep EKE	Instelling				
Gabriela Beniuga	IPG Gosselies				
Cecile Colpaert	ZNK Turnhout				
Bart De Wiest	OLV Aalst				
Caroline Fervaille	CHU UCL Namur				
Bart Lelie	AZ-ZENO Knokke-Heist				

Een voorlopige versie van dit rapport werd voorgelegd aan de leden van de werkgroep EKE op: 12/01/2022.

Dit rapport werd besproken in de vergadering van de werkgroep EKE van: 25/01/2022.

Autorisatie verspreiding rapport: Door Vanessa Ghislain, enquêtecoördinator, op 26/01/2022.

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:
https://www.wiv-isp.be/QML/Anapath/external_quality/rapports/_nl/rapporten.htm

INHOUDSTAFEL

1. Inleiding	4
1.1. Doel van de EKE	4
1.2. Uitbestede activiteiten.....	4
1.3. Materiaal van de EKE	4
1.4. Vraag	4
1.5. Antwoordformulier.....	4
2. Beoordeling	5
2.1. Algemene criteria.....	5
2.2. Specifieke criteria	5
2.3. Eindbeoordeling.....	5
3. Resultaten	6
3.1. Deelname aan de EKE	6
3.2. Overzicht van de resultaten	6
3.3. Resultaten per antilichaam	7
4. Bespreking van de resultaten	7
5. Beelden	9

1. Inleiding

Dit document bestaat uit een overzicht en een bespreking van de resultaten van de externe kwaliteitsevaluatie (EKE) Immunohistochemie 2021/2 – CD117 en een samenvatting van de individuele opmerkingen en aanbevelingen.

1.1. DOEL VAN DE EKE

Deze EKE had als doel de kwaliteit van de immunohistochemische kleuring CD117 (c-kit) te evalueren.

1.2. UITBESTEDE ACTIVITEITEN

Het weefselmateriaal is afkomstig van het laboratorium pathologische ontleedkunde van het OLV ziekenhuis te Aalst.

1.3. MATERIAAL VAN DE EKE

Het opgestuurde materiaal bestond uit een ongekleurde paraffinecoupe met punchbiopten afkomstig van operatiestukken. De biopten bestonden zowel uit normale weefsels als uit klinisch relevante tumoren en toonden een verschillend niveau van proteïne-expressie (hoog, gemiddeld, laag, geen expressie).

Het blokje gebruikt in deze enquête was hetzelfde als het blokje dat werd gebruikt in de vorige EKE, aangezien het ging om een algemene reassessment voor CD117 van de enquête 2021/1. Deze beslissing werd goedgekeurd door de werkgroep EKE op 20/09/2021.

De coupe voor **CD117 (c-kit)** bestond uit biopten met :

1. Appendix
2. Leiomyoom
3. Testis, kiemceltumor
4. Gastro-intestinale stromale tumor (GIST)



De homogeniteit van de stalen werd getest door het laboratorium pathologische ontleedkunde van het OLV ziekenhuis te Aalst. De homogeniteit werd nagegaan door microscopische controle van de immunohistochemische kleuring op meerdere niveaus (uitgevoerd elke 30 coupes). De stalen werden beschouwd als homogeen (in die zin dat elke coupe identieke informatie bevat) en stabiel tot het einde van de analyseperiode. De coupe werd bijkomend gekleurd door NordiQC (rabbit monoclonaal antilichaam YR145) (zie ook punt 5).

1.4. VRAAG

Er werd gevraagd om de coupe te kleuren voor CD117 volgens de standaardprocedures van het laboratorium. **Aan de laboratoria die meerdere protocollen gebruiken werd gevraagd om kennis te nemen van de inhoud van de coupes (zie hierboven) en/of om het meest sensitieve protocol te gebruiken.** Een eigen controlecoupe kon worden toegevoegd (controle extern aan het te testen weefsel).

Er werd gevraagd om het staal te behandelen zoals patiëntenstalen, d.w.z. dat het staal diende geïntegreerd te worden in de routine samen met patiëntenstalen.

1.5. ANTWOORDFORMULIER

Er werd gevraagd een antwoordformulier in te vullen betreffende de gebruikte technieken. Dit formulier werd opgesteld door de enquêtecoördinator en werd meegestuurd met de coupes.

2. Beoordeling

De evaluatie van de coupes werd gezamenlijk en simultaan uitgevoerd door 2 anatoom-pathologen en door de enquêtecoördinator, Vanessa Ghislain (Sciensano). De evaluatie vond plaats op 22 november 2021 in het laboratorium pathologie van GZA/ZNA in Antwerpen. Voor bijkomende anonimisatie werden de coupes niet geïdentificeerd aan de hand van hun deelnemersnummer (QMLxxx), maar d.m.v. een willekeurig nummer enkel gekend door de EKE coördinator. Deze administratieve en wetenschappelijke structuur garandeert de kwaliteit en de anonimiteit van de resultaten.

2.1. ALGEMENE CRITERIA

Algemeen is de beoordeling gebaseerd op :

- **de specificiteit** : er moet een voldoende en specifiek signaal aanwezig zijn;
- **de achtergrond** : in principe mag een immunohistochemische kleuring geen aspecifieke achtergrond genereren;
- **de morfologie** : de kleuring mag de morfologie zo weinig mogelijk wijzigen.

2.2. SPECIFIEKE CRITERIA

1) **Appendix** :

- minstens matige (overwegend membraire maar ook cytoplasmatische) aankleuring van bijna alle Cajal cellen in de muscularis propria
- zwakke tot matige aankleuring van verspreide epitheliale cellen in de basale zone van de crypten

2) **Leiomyoom** :

- sterke (overwegend membraire) aankleuring van mastcellen
- geen aankleuring in de neoplastische cellen

3) **Testis, kiemceltumor** : matig tot sterke (membraire) aankleuring van alle neoplastische cellen

4) **GIST** : sterke aankleuring van bijna alle neoplastische cellen

Alle weefsels :

- sterke (overwegend membraire) aankleuring van mastcellen
- zwakke tot matige aankleuring van neovasculaire endotheliale structuren
- geen aankleuring van de gladde spiercellen

2.3. EINDBEOORDELING

Elke kleuring kreeg een eindbeoordeling, gebaseerd op volgende criteria* :

- **Optimaal** : perfecte of quasi perfecte aankleuring in alle weefsels
- **Goed** : voldoende aankleuring in alle weefsels; niettemin is optimalisatie van het protocol mogelijk voor een betere sensitiviteit en/of signal-to-noise ratio
- **Borderline** : onvoldoende aankleuring, bv. algemeen te zwakke kleuring of een vals negatieve of vals positieve kleuring in één van de weefsels; optimalisatie van het protocol is nodig
- **Onvoldoende** : sterk onvoldoende aankleuring, bv. een vals negatieve of vals positieve kleuring in meerdere weefsels; optimalisatie van het protocol is dringend nodig

(*) Referentie : www.nordiqc.org

3. Resultaten

3.1. DEELNAME AAN DE EKE

Het deelnamepercentage bedroeg 60/69 (87%). 4 Laboratoria hebben aangegeven deze test uit te besteden.

Gewest	Aantal laboratoria dat stalen ontving (ingeschrevenen)	Aantal laboratoria dat een CD117 coupe terugstuurde
Vlaams gewest	41	39
Brussels gewest	10	6
Waals gewest	16	14
Farm. firma's	2	1
Totaal	69	60

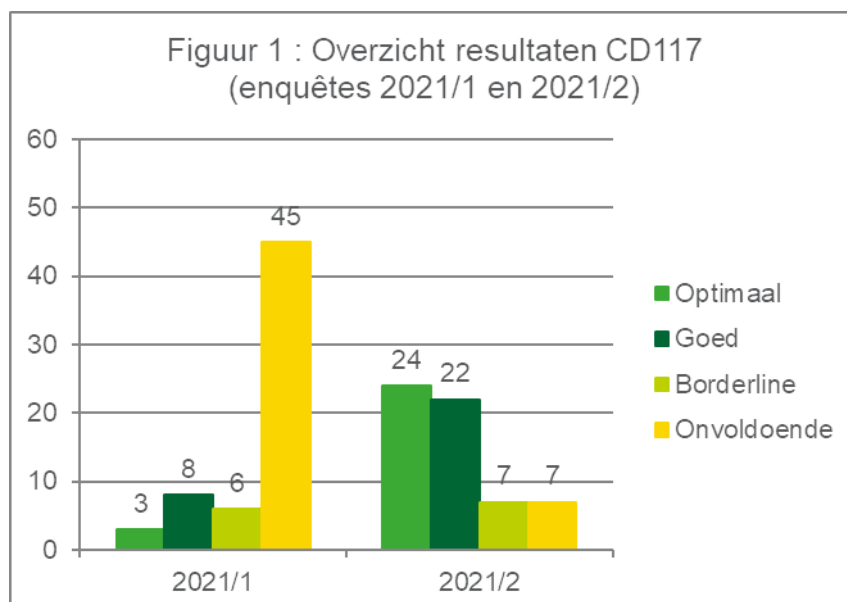
3.2. OVERZICHT VAN DE RESULTATEN

De farmaceutische firma's (producenten van antilichamen, zie ook 3.1) werden niet opgenomen in de resultaten.

Eindresultaat	CD117
Optimaal	24 (40%)
Goed	22 (37%)
Borderline	7 (11.5%)
Onvoldoende	7 (11.5%)
Totaal	60*

(*) Eén laboratorium heeft een tweede coupe gevraagd en teruggestuurd (2 methodes).

Onderstaande figuur geeft de resultaten weer van CD117 van de enquêtes immunohistochemie 2021/1 en 2021/2.



3.3. RESULTATEN PER ANTILICHAAM

De farmaceutische firma's (producenten van antilichamen, zie ook 3.1) werden niet opgenomen in de resultaten.

CD117							
Kloon	N	Producent	Optimaal	Goed	Borderline	Onvoldoende	Aanvaardbaar*
Geconcentreerde antilichamen (n = 35)							
Polyclonaal	30 [§]	Dako/Agilent Technologies	6	13	6	5	63%
rm YR145	2	Cell Marque/Ventana/Roche	2	0	0	0	2/2
rm EP10	1	Epitomics	0	0	0	1	0/1
	1	Leica / Novocastra	1	0	0	0	1/1
Niet vermeld	1	Dako/Agilent Technologies	0	1	0	0	1/1
Ready-To-Use antilichamen (n = 25)							
rm EP10	20	Cell Marque/Ventana/Roche	12	7	1	0	95%
	2	Leica / Novocastra	1	1	0	0	2/2
rm YR145	2	Cell Marque/Ventana/Roche	2	0	0	0	2/2
rm 9.7	1	Cell Marque/Ventana/Roche	0	0	0	1	0/1

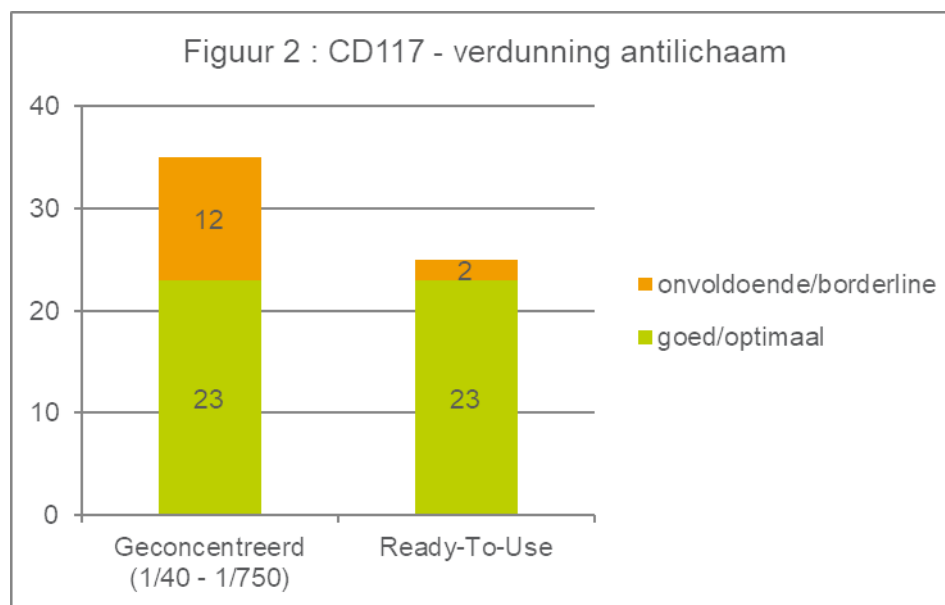
(*) optimaal/goed

rm = rabbit monoclonaal antilichaam

([§]) Eén laboratorium heeft de kleuring 2 keer uitgevoerd met een verschillend protocol, maar met hetzelfde antilichaam. Het polyclonaal antilichaam werd dus door 29 laboratoria gebruikt.

4. Bespreking van de resultaten

- De CD117 kleuring was van optimale of goede kwaliteit bij 46/60 deelnemers/methodes (77%) (zie figuur 1).
- De kleuring werd door alle laboratoria uitgevoerd d.m.v. een automaat.
- Er was een controlecoupe aanwezig bij 35/59 deelnemers (59%).
- Een geconcentreerd antilichaam werd in 35/60 laboratoria/methodes (58%) gebruikt, een Ready-To-Use antilichaam in 25/60 laboratoria (42%) (zie figuur 2).



- De meest gebruikte antilichamen zijn het polyclonaal antilichaam A4502 (29/59 laboratoria of 49%) en kloon EP10 (20/59 laboratoria of 34%). Kloon 9.7, die door Roche werd vervangen door kloon EP10, wordt nog door één laboratorium gebruikt.
- Van de laboratoria die een borderline of onvoldoende resultaat behaalden in de EKE 2021/1, hebben er 32 hun protocol gewijzigd.

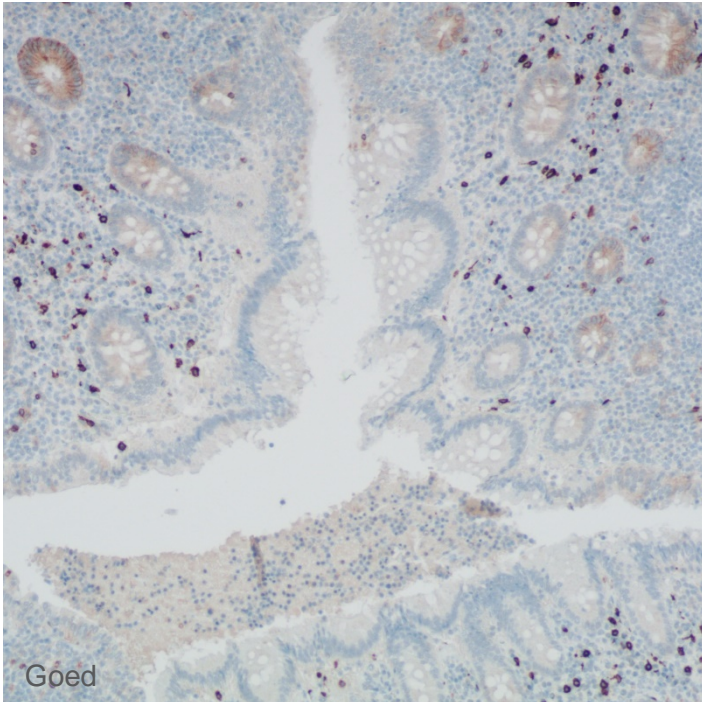
Wijziging	N	Optimaal	Goed	Border-line	Onvoldoende	Aanvaardbaar*
Kloon	11	7	4	0	0	100%
Enkel verdunning (geconcentreerd antilichaam)	5	2	2	1	0	80%
Enkel incubatietijd van het AL [§]	2	2	0	0	0	2/2
Enkel incubatietemperatuur van het AL	2	1	1	0	0	2/2
Enkel pretreatment	2	1	1	0	0	2/2
Enkel detectie	1	0	1	0	0	1/1
Enkel amplificatie (toegevoegd of geschrappt)	3	2	1	0	0	3/3
Combinatie van verdunning en/of incubatietijd en/of incubatietemp. en/of pretreatment en/of detectie en/of amplificatie	6	0	2	1	3	33%

(*) optimaal/goed

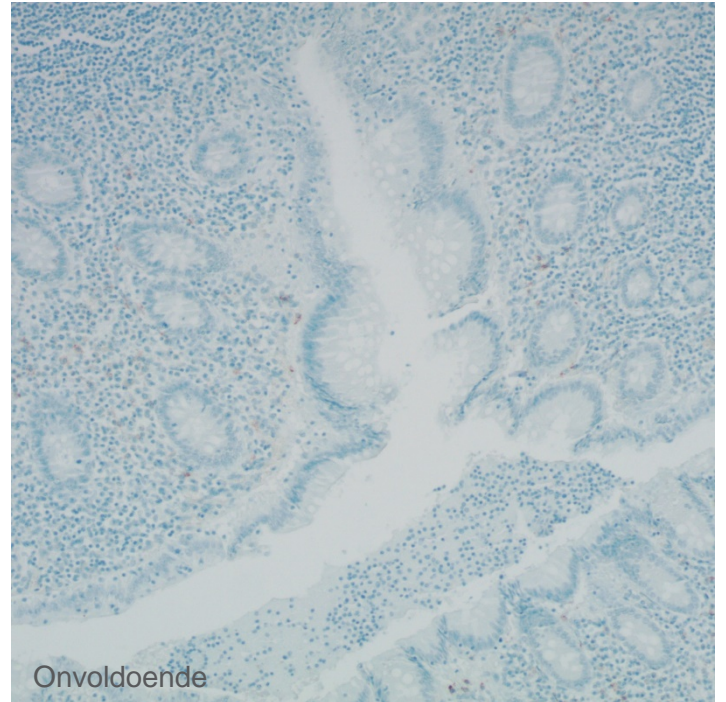
(§) antilichaam

- Een borderline resultaat werd in 5/7 gevallen getypeerd door een onvoldoende aankleuring van de kiemceltumor en in 2/7 gevallen door een algemeen te zwakke kleuring.
- Een onvoldoende resultaat werd in alle gevallen (7/7) getypeerd door een onvoldoende aankleuring in meerdere weefsels.
- Een HIER voorbehandeling, bij voorkeur bij hoge pH, is noodzakelijk. In deze EKE pasten 3 laboratoria geen enkele voorbehandeling toe, zij behaalden allen een onvoldoende resultaat.
- Appendix wordt door NordiQC aanbevolen als positieve en negatieve controle : Cajal cellen, mastcellen en neovasculaire structuren moeten zeer sterk aankleuren (zo sterk mogelijk), terwijl de gladde spiercellen van de lamina muscularis propria en van de bloedvaten niet mogen aankleuren.

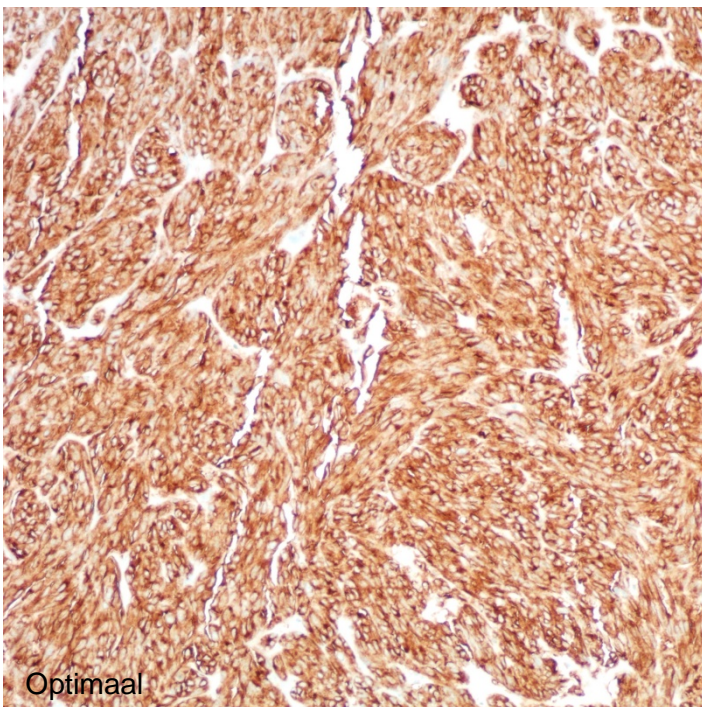
5. Beelden



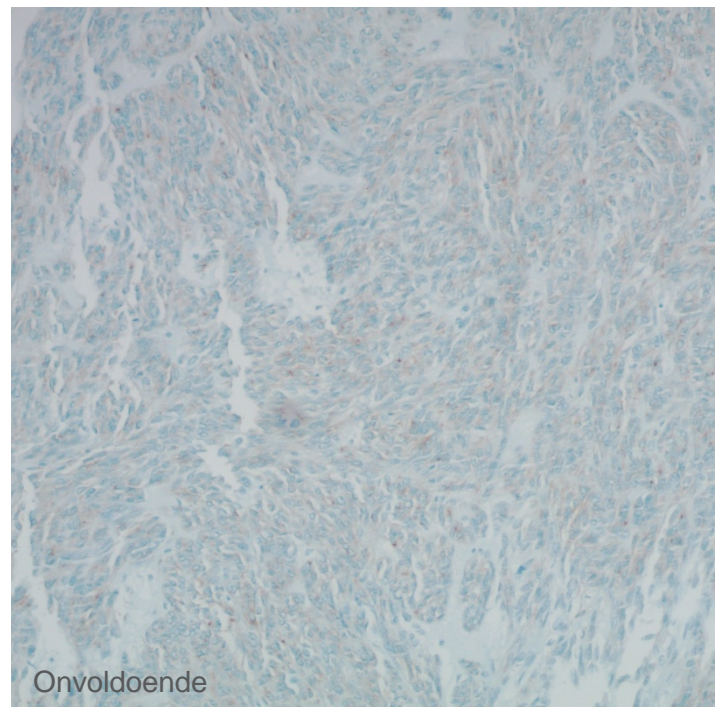
Appendix : zwakke tot matige aankleuring van verspreide epitheliale cellen in de basale zone van de crypten; sterke aankleuring van mastcellen; score 'goed' in plaats van 'optimaal' omwille van de aanwezigheid van achtergrond



Appendix : afwezige aankleuring van epitheel en mastcellen



GIST : sterke aankleuring van de neoplastische cellen

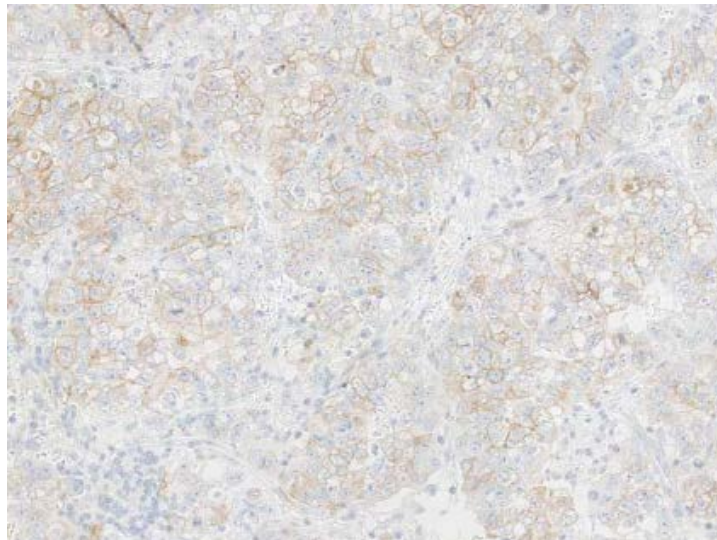


GIST : afwezige aankleuring van de neoplastische cellen (protocol zonder voorbehandeling)

CD117 kleuring uitgevoerd door NordiQC (rabbit monoclonaal antilichaam YR145) :



GIST



Kiemceltumor

EINDE

© Sciensano, Brussel 2022.

Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder akkoord van Sciensano. De individuele resultaten van de laboratoria zijn vertrouwelijk. Zij worden door Sciensano niet doorgegeven aan derden, noch aan de leden van de Commissie, de expertencomités of de werkgroep EKE.