

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S  
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR PATHOLOGISCHE ANATOMIE  
WERKGROEP EKE**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE  
VOOR ANALYSES PATHOLOGISCHE ANATOMIE**

**DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT  
IMMUNOHISTOCHEMIE – HER2/ER  
ENQUETE 2023/1**

**Sciensano/Immunohistochemie/17-NL**

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

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

## WERKGROEP EKE

Sciensano					
Secretariaat		TEL:	02/642.55.22	FAX:	02/642.56.45
		e-mail:	ql_secretariat@sciensano.be		
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				
Herwig Van Dijck	UZ Antwerpen				

Een draft versie van dit rapport werd voorgelegd aan de leden van de werkgroep EKE op: 18/04/2023.

Dit rapport werd besproken in de vergadering van de werkgroep EKE van: 25/04/2023.

**Autorisatie van het rapport :** door Vanessa Ghislain, enquêtecoördinator

**Publicatiedatum :** 27/04/2023

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:  
<https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria/eke-immunohistochemie>

## INHOUDSTAFEL

<b>1. Inleiding</b> .....	<b>4</b>
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
<b>2. Beoordeling</b> .....	<b>5</b>
2.1. Algemene criteria.....	5
2.2. Specifieke criteria per epitoom.....	5
2.2.1. HER2.....	5
2.2.2. ER .....	6
2.3. Eindbeoordeling.....	6
2.3.1. HER2.....	6
2.3.2. ER .....	6
<b>3. Resultaten</b> .....	<b>7</b>
3.1. Deelname aan de EKE .....	7
3.2. Overzicht van de resultaten .....	7
3.3. Resultaten per antilichaam .....	8
3.3.1. HER2.....	8
3.3.2. ER .....	8
3.4. Resultaten van de HER2 interpretatie.....	8
3.4.1. Score biopt 1 .....	8
3.4.2. Score biopt 2 .....	9
3.4.3. Score biopt 3 .....	9
3.4.4. Score biopt 4 .....	10
3.4.5. Score biopt 5 .....	10
3.4.6. Guidelines gevolgd voor de interpretatie van de resultaten.....	11
<b>4. Bespreking van de resultaten</b> .....	<b>11</b>
4.1. HER2 .....	11
4.2. ER.....	11
4.3. HER2 interpretatie .....	12
<b>5. Beelden</b> .....	<b>13</b>

# 1. Inleiding

Dit document bestaat uit een overzicht en een bespreking van de resultaten van de externe kwaliteitsevaluatie (EKE) Immunohistochemie 2023/1 (HER2/ER) 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 kleuringen HER2 en ER (oestrogeen receptor) te evalueren.

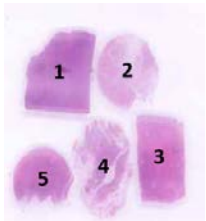
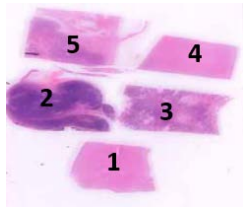
## 1.2. UITBESTEDE ACTIVITEITEN

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 2 ongekleurde paraffinecoupes 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).

De multiblokken werden vrijgegeven door de werkgroep EKE op 09/02/2023. De evaluatie van de HER2 multiblok gebeurde aan de hand van IHC kleuringen met de antilichamen van Ventana/Roche (kloon 4B5) en Dako/Agilent (polyclonaal antilichaam) en een in situ hybridisatie (SISH). De coupes werden bijkomend gekleurd door NordiQC (Pathway van Roche en HercepTest van Agilent).

HER2		ER	
1. Borstcarcinoom		1. Normale cervix	
2. Borstcarcinoom		2. Normale tonsil	
3. Borstcarcinoom		3. Borstcarcinoom	
4. Borstcarcinoom		4. Borstcarcinoom	
5. Borstcarcinoom		5. Borstcarcinoom	

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 elk panel van 2 coupes identieke informatie bevat) en stabiel tot het einde van de analyseperiode.

## 1.4. VRAAG

Er werd gevraagd om de coupes te kleuren voor HER2 en ER volgens de standaardprocedures van het laboratorium. Een eigen controlecoupe kon worden toegevoegd (controle extern aan het te testen weefsel); voor HER2 diende de controle verplicht mee opgestuurd te worden. Er werd gevraagd om de stalen te behandelen zoals patiëntenstalen, d.w.z. dat de stalen dienden geïntegreerd te worden in de routine samen met patiëntenstalen.

Er werd ook gevraagd om de HER2 score voor elk van de biopten te registreren. Voor ER werd geen interpretatie gevraagd.

## 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 21 maart 2023 in het UZ Gent. 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. Voor HER2 werden ook de controles beoordeeld (zie verder). De scores gerapporteerd voor de interpretatie van de HER2 biopten werden geëvalueerd maar telden niet mee voor het eindresultaat.

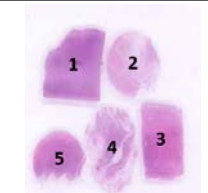
### 2.1. ALGEMENE CRITERIA

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 PER EPITOOPT

#### 2.2.1. HER2

Biopten*		IHC	ISH (ratio)
1. Borstcarcinoom		1) 3+	1) Amplified (9.53)
2. Borstcarcinoom		2) 0	2) Not amplified (1.11)
3. Borstcarcinoom		3) 1-2+	3) Not amplified (1.08)
4. Borstcarcinoom		4) 1-2+	4) Not amplified (0.84)
5. Borstcarcinoom		5) 2+	5) Amplified (2.20)

(\*) Kleuringen uitgevoerd cfr. punt 1.3; scoring volgens de 2018 ASCO/CAP guidelines.

#### Beoordeling controleweefsel van het laboratorium :

Controleweefsel aanwezig?	Conform de richtlijnen*?	Richtlijnen*
Ja / Neen	Conform / Niet conform	Er dient minstens een sterk positieve (3+) en een negatieve (1+ en/of 0) controle als dagelijks controlemateriaal te worden gebruikt. Zwak positieve (2+) controles zijn sterk aanbevolen.

- (\*)
- Praktijkrichtlijn voor de erkende laboratoria voor pathologische anatomie, versie 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. ER

- 1) **Cervix** : matig tot sterke nucleaire aankleuring van bijna alle columnair epitheel en van de meeste squameuze epitheliale en stromale cellen (uitgezonderd endotheliale en lymfoïde cellen)
- 2) **Tonsil** : minstens zwak tot matige nucleaire aankleuring in verspreide folliculaire dendritische cellen/T-cellen en squameuze epitheliale cellen
- 3) **Borstcarcinoom** : sterke nucleaire aankleuring in meer dan 90% van de tumorale cellen
- 4) **Borstcarcinoom** : geen aankleuring of minder dan 1% zwakke nucleaire aankleuring van de tumorale cellen
- 5) **Borstcarcinoom** : zwakke tot matige nucleaire aankleuring in minstens 1% van de tumorale cellen

## 2.3. EINDBEOORDELING

### 2.3.1. HER2

- **Optimaal** : de kleuring van biopt 5 komt overeen met een score 2+; de kleuring van biopt 3 komt overeen met een score 1+ of 2+; er is geen of maximaal zwakke cytoplasmatische aankleuring die niet interfereert met de interpretatie van de membranaire aankleuring
- **Goed** : vals positieve aankleuring (bv. de kleuring van biopt 2 komt overeen met een score 2+) of de kleuring van biopt 1 komt overeen met een score 2+ of algemeen weinig intense membranaire aankleuring of te zwakke tegenkleuring
- **Borderline** : er is cytoplasmatische aankleuring die interfereert met de interpretatie van de membranaire aankleuring; optimalisatie van het protocol is nodig
- **Onvoldoende** : de kleuring van biopt 1 of biopt 5 komt overeen met een score 0 of 1+; optimalisatie van het protocol is dringend nodig

### 2.3.2. ER

- **Optimaal** : de kleuring komt overeen met de criteria hierboven beschreven (zie 2.2.2.)
- **Goed** : algemeen matige aankleuring (bv. te zwakke aankleuring in cervix of tonsil) of cytoplasmatische aankleuring of te zwakke tegenkleuring
- **Borderline** : vals positieve aankleuring in het endotheel van het cervixbiopt of cytoplasmatische aankleuring die interfereert met de interpretatie of onvoldoende aankleuring in borstbiopt 3 (d.w.z.  $\geq 1\%$  en  $< 10\%$  positiviteit) of geen aankleuring in cervix of tonsil; optimalisatie van het protocol is nodig
- **Onvoldoende** : vals negatieve of vals positieve aankleuring in één van de borstbiopten (d. w.z.  $< 1\%$  positiviteit in biopten 3 en 5 of  $\geq 1\%$  positiviteit in biopt 4) of constante overkleuring; optimalisatie van het protocol is dringend nodig

## 3. Resultaten

### 3.1. DEELNAME AAN DE EKE

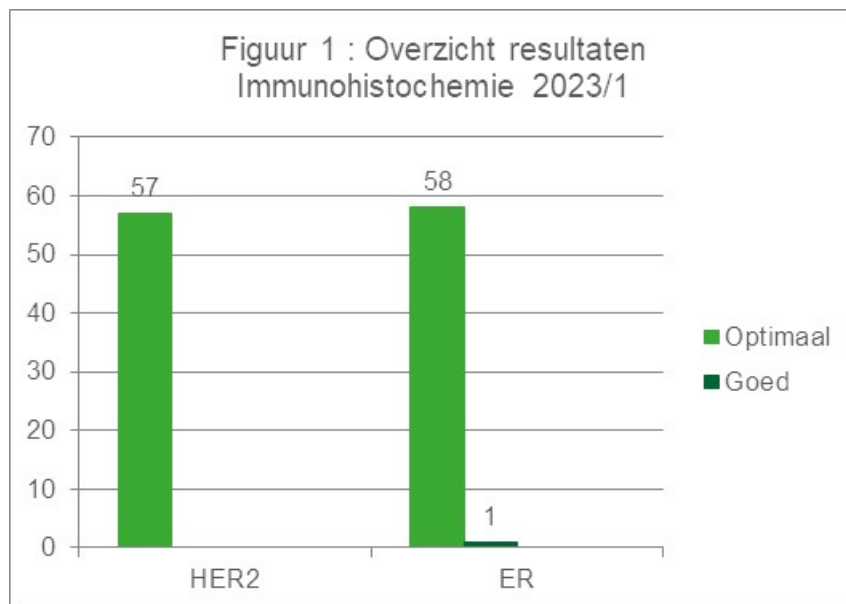
Het deelnamepercentage bedroeg 60/61 (98%).

Gewest	Aantal laboratoria dat stalen ontving (ingeschrevenen)	Aantal laboratoria dat een HER2 coupe terugstuurde	Aantal laboratoria dat een ER coupe terugstuurde
Vlaams gewest	37	35	37
Brussels gewest	8	8	8
Waals gewest	15	14	14
Farm. firma's	1	1	1
Totaal	61	58	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	HER2	ER
Optimaal	57 (100%)	58 (98%)
Goed	0	1 (2%)
Borderline	0	0
Onvoldoende	0	0
Totaal	57	59



### 3.3. RESULTATEN PER ANTILICHAAM

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

#### 3.3.1. HER2

HER2							
Kloon	N	Producent	Optimaal	Goed	Border-line	Onvoldoende	Aanvaardbaar*
<b>Geconcentreerde antilichamen (n = 17)</b>							
Polyclonaal	17	Dako/Agilent Technologies	17	0	0	0	100%
<b>Ready-To-Use antilichamen (n = 40)</b>							
rm 4B5	33	Cell Marque/Ventana/Roche	33	0	0	0	100%
rm DG44 (HercepTest)	6	Dako/Agilent Technologies	6	0	0	0	100%
mm CB11	1	Leica / Novocastra	1	0	0	0	1/1

(\*) optimaal/goed

mm = mouse monoclonaal antilichaam

rm = rabbit monoclonaal antilichaam

#### 3.3.2. ER

ER							
Kloon	N	Producent	Optimaal	Goed	Border-line	Onvoldoende	Aanvaardbaar*
<b>Geconcentreerde antilichamen (n = 1)</b>							
rm EP1	1	Dako/Agilent Technologies	1	0	0	0	1/1
<b>Ready-To-Use antilichamen (n = 58)</b>							
rm SP1	35	Cell Marque/Ventana/Roche	34	1	0	0	100%
rm EP1	21	Dako/Agilent Technologies	21	0	0	0	100%
mm 6F11	2	Leica/Novocastra	2	0	0	0	2/2

(\*) optimaal/goed

mm = mouse monoclonaal antilichaam

rm = rabbit monoclonaal antilichaam

### 3.4. RESULTATEN VAN DE HER2 INTERPRETATIE

#### 3.4.1. Score biopt 1

Het verwachte resultaat voor dit biopt was **score 3+**.

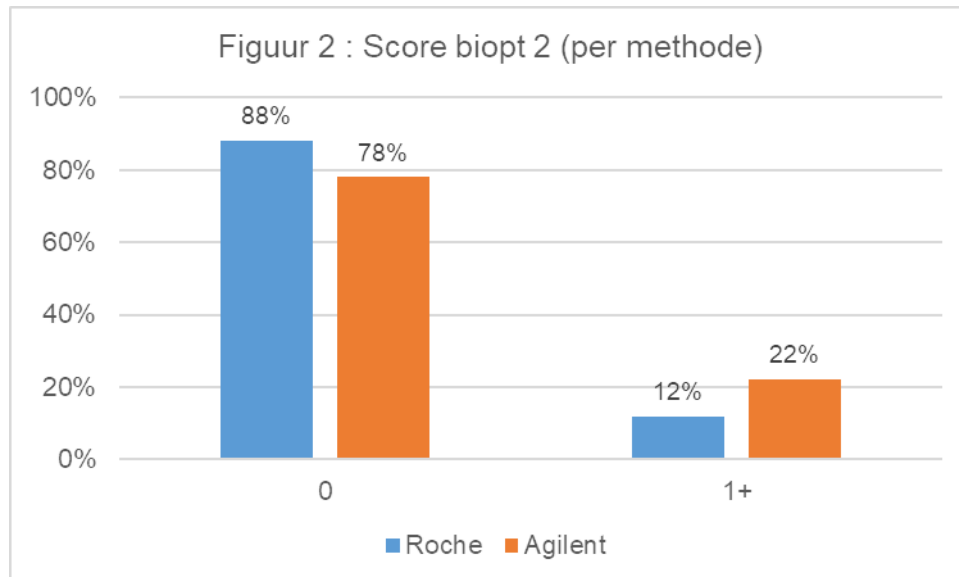
Antwoorden	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	0	0	0
1+	0	0	0
2+	0	0	0
3+	33	23	1



### 3.4.2. Score biopt 2

Het verwachte resultaat voor dit biopt was **score 0**.

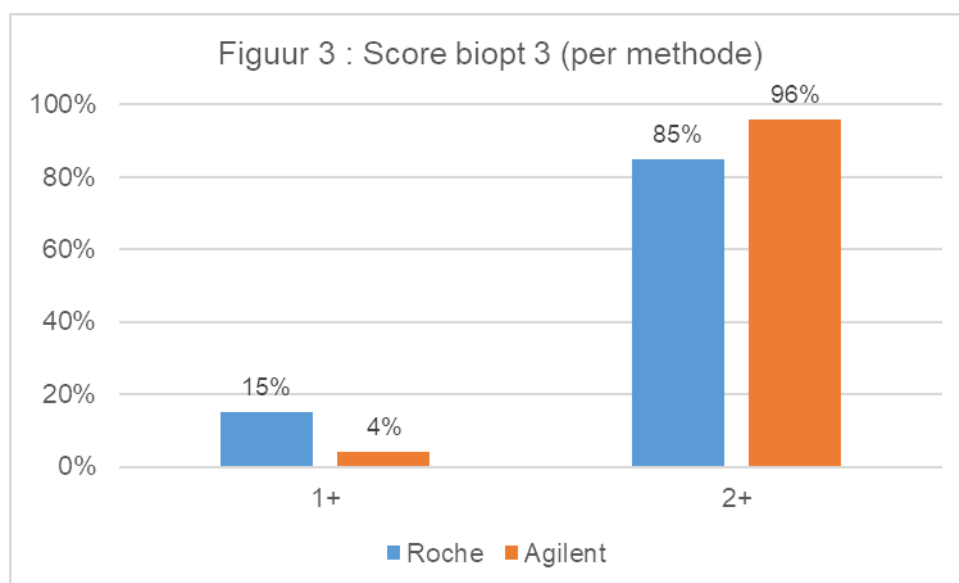
Antwoorden	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	29	18	1
1+	4	5	0
2+	0	0	0
3+	0	0	0



### 3.4.3. Score biopt 3

Het verwachte resultaat voor dit biopt was **score 1-2+**.

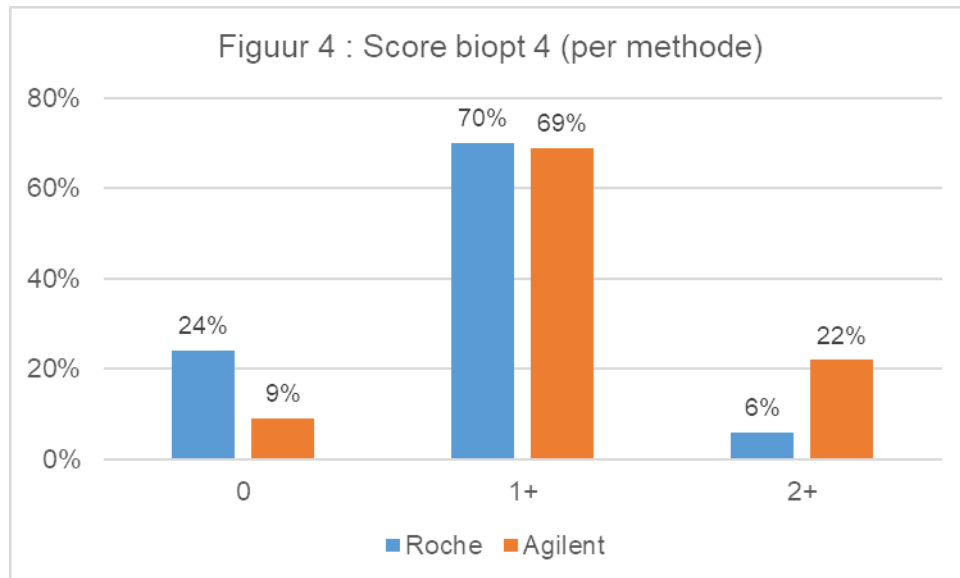
Antwoorden	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	0	0	0
1+	5	1	0
2+	28	22	1
3+	0	0	0



### 3.4.4. Score biopt 4

Het verwachte resultaat voor dit biopt was **score 1-2+**.

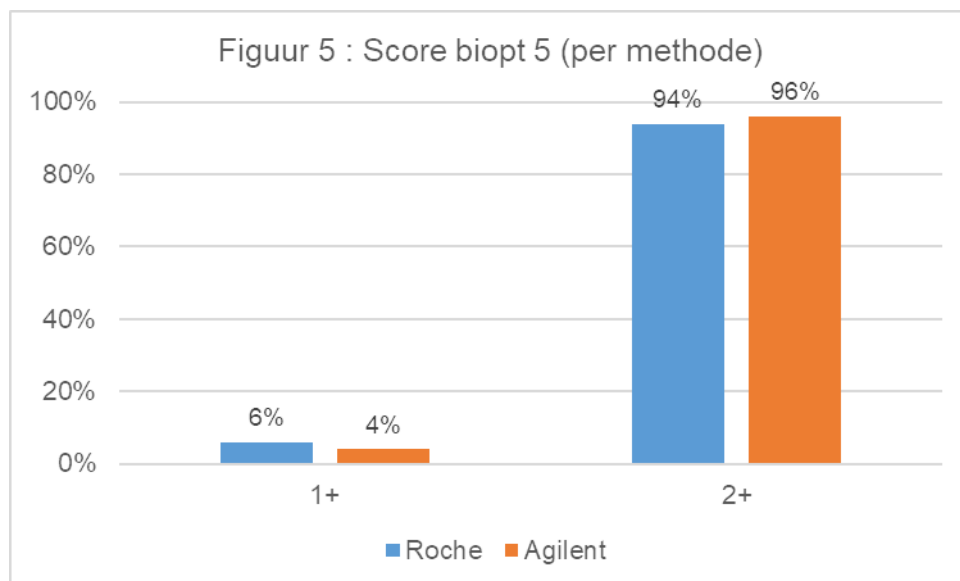
Antwoorden	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	8	2	0
1+	23	16	1
2+	2	5	0
3+	0	0	0



### 3.4.5. Score biopt 5

Het verwachte resultaat voor dit biopt was **score 2+**.

Antwoorden	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 gevolgd voor de interpretatie van de resultaten

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

## 4. Bespreking van de resultaten

### 4.1. HER2

- De HER2 kleuring was van optimale of goede kwaliteit bij 57/57 deelnemers (100%) (zie figuur 1).
- De kleuring werd door alle laboratoria uitgevoerd d.m.v. een automaat.
- Er was een controlecoupe aanwezig bij 56/57 deelnemers (98%). De controlecoupe was conform in 51/56 (91%) gevallen.
- De meest gebruikte antilichamen zijn kloon 4B5 (33/57 laboratoria of 58%) en het polyclonaal antilichaam A0485 (17/57 laboratoria of 30%).
- Een geconcentreerd antilichaam werd in 17/57 laboratoria (30%) gebruikt, een Ready-To-Use antilichaam in 40/57 laboratoria (70%).

### 4.2. ER

- De ER kleuring was van optimale of goede kwaliteit bij 59/59 deelnemers (100%) (zie figuur 1).
- De kleuring werd door alle laboratoria uitgevoerd d.m.v. een automaat.
- Er was een controlecoupe aanwezig bij 45/59 deelnemers (76%).
- De meest gebruikte klonen zijn SP1 (35/59 laboratoria of 59%) en EP1 (22/59 laboratoria of 37%).
- Een geconcentreerd antilichaam werd in 1/59 laboratorium (2%) gebruikt, een Ready-To-Use antilichaam in 58/59 laboratoria (98%).
- Eén laboratorium behaalde een resultaat 'goed' wegens algemeen matige aankleuring.
- Cervix en tonsil worden door NordiQC aanbevolen als positieve en negatieve controle. Bijna alle epitheelcellen van het plaveiselcelepitheel en van de klieren van de cervix moeten matig tot sterk aankleuren, evenals de meeste stromale cellen. Endotheliale en lymfoïde cellen mogen niet aankleuren. Als bijkomende controle om de sensitiviteit te evalueren kan tonsil worden gebruikt : er moet minstens een zwakke tot matige aankleuring van verspreide cellen in de kiemcentra (meestal folliculaire dendritische cellen) en van het plaveiselcelepitheel aanwezig zijn. B-cellen in de mantelzones en in de kiemcentra mogen niet aankleuren.

### 4.3. HER2 INTERPRETATIE

- De consensus interpretatie van de deelnemers (in vet in de tabel hieronder) kwam overeen met het verwachte resultaat voor elk van de biopten :

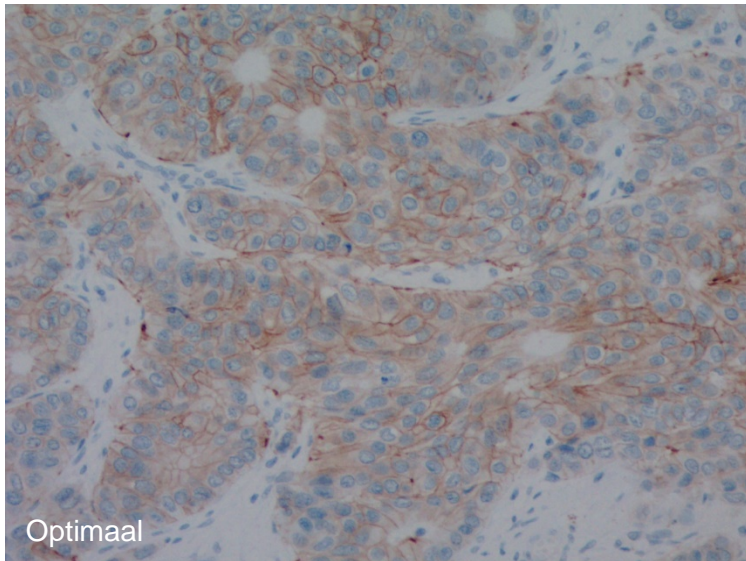
Antwoorden	Biopt 1	Biopt 2	Biopt 3	Biopt 4	Biopt 5
Verwacht resultaat	3+/A*	0/NA*	1-2+/NA	1-2+/NA	2+/A
<b>0</b>	-	<b>84%</b>	-	18%	-
<b>1+</b>	-	16%	11%	<b>70%</b>	5%
<b>2+</b>	-	-	<b>89%</b>	12%	<b>95%</b>
<b>3+</b>	<b>100%</b>	-	-	-	-

(\*) A = amplified, NA = not amplified

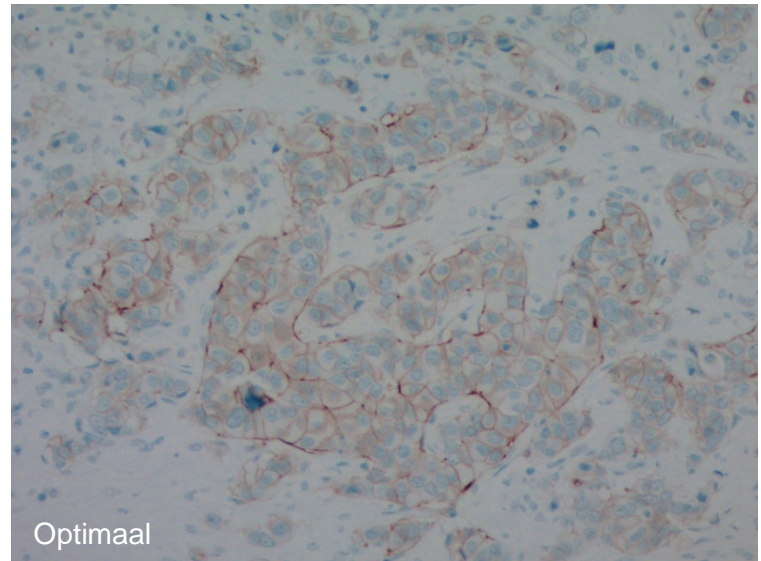
- In deze EKE zijn de IHC en ISH resultaten voor elk biopt concordant en hebben we geen overinterpretatie van de IHC vastgesteld. Dit wil zeggen dat de 3 niet geamplificeerde biopten van deze EKE door geen enkel laboratorium als 3+ werden gekleurd en/of geïnterpreteerd. Het is momenteel echter nog verplicht om een bevestiging via ISH uit te voeren voor biopten gescoord als 3+. Als de ISH bevestiging op 3+ biopten wordt afgeschaft, worden deze onmiddellijk beschouwd als HER2 positief en dreigt het gevaar van overinterpretatie van de tumor en een onnodige behandeling van de patiënt.
- 3 Laboratoria hebben biopt 5 (2+/amplified) foutief als 1+ geïnterpreteerd, hoewel de kleuring technisch in orde was en overeenkwam met een score 2+. De kleuring werd als 'optimaal' geëvalueerd, maar de deelnemers kregen een opmerking in hun individueel rapport.

## 5. Beelden

### HER2

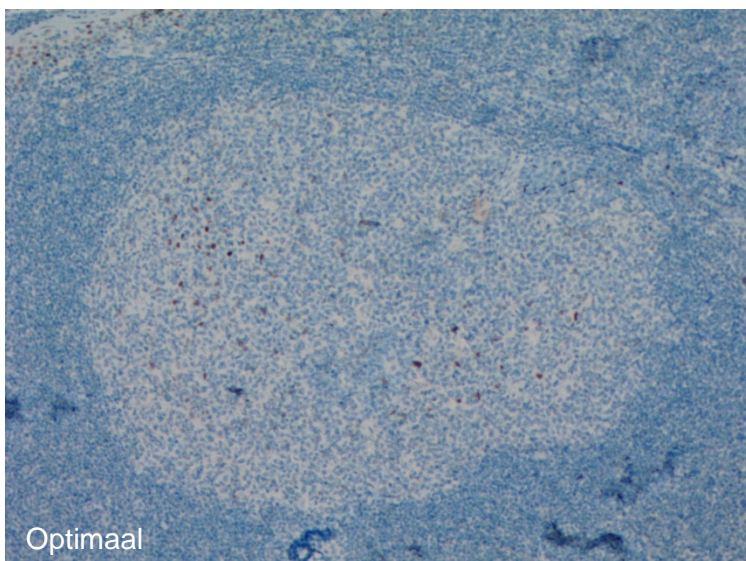


**Biopt 3 (2+/not amplified)** : optimale kleuring

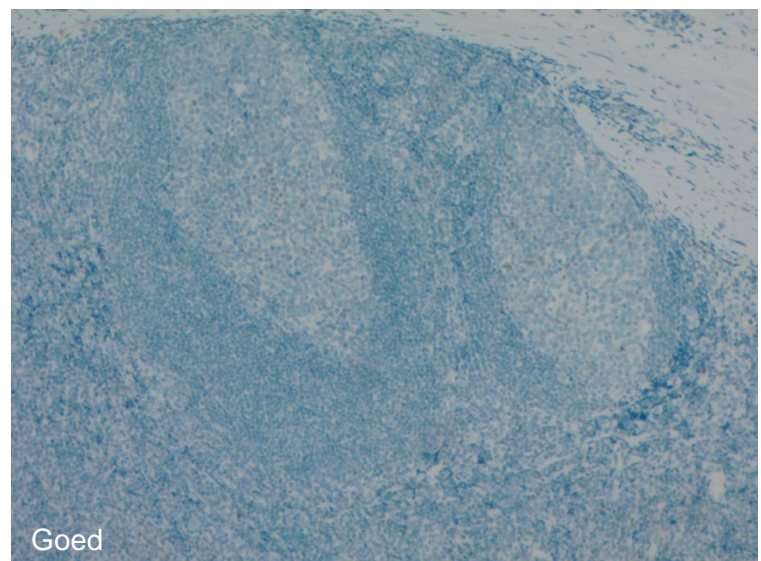


**Biopt 5 (2+/amplified)** : optimale kleuring, zelfde laboratorium

### ER



**Tonsil** : lage expressor; minstens zwak tot matige nucleaire aankleuring in verspreide folliculaire cellen en squameuze epitheliale cellen



**Tonsil** : algemeen matige aankleuring (in alle biopten)

---

EINDE

---

© Sciensano, Brussel 2023.

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.