

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S  
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR PATHOLOGISCHE ANATOMIE  
WERKGROEP EKE**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE  
VOOR ANALYSES PATHOLOGISCHE ANATOMIE**

**DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT  
IMMUNOHISTOCHEMIE – HER2/PR  
ENQUETE 2022/3**

**Sciensano/Immunohistochemie/16-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
Vanessa Ghislain	Enquêtecoördinator	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	<a href="mailto:Vanessa.Ghislain@sciensano.be">Vanessa.Ghislain@sciensano.be</a>		
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 voorlopige versie (draft) van dit rapport werd voorgelegd aan de leden van de werkgroep EKE op: 12/12/2022.

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

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

**Publicatiedatum** : 21/12/2022

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.....	5
<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. PR .....	6
2.3. Eindbeoordeling.....	6
2.3.1. HER2.....	6
2.3.2. PR .....	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. PR .....	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.....	10
<b>4. Bespreking van de resultaten</b> .....	<b>11</b>
4.1. HER2 .....	11
4.2. PR.....	11
4.3. HER2 interpretatie .....	12
<b>5. Beelden</b> .....	<b>14</b>

# 1. Inleiding

Dit document bestaat uit een overzicht en een bespreking van de resultaten van de externe kwaliteitsevaluatie (EKE) Immunohistochemie 2022/3 (HER2/PR) 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 PR (progesteron receptor) te evalueren.

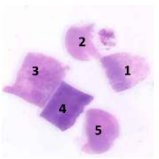
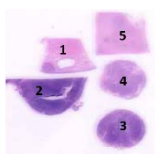
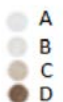

## 1.2. UITBESTEDE ACTIVITEITEN

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 1) punchbiopten afkomstig van operatiestukken en 2) FFPE cellijnen. 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 12/09/2022. 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).

	HER2	PR
Biopten	 <ul style="list-style-type: none"> <li>1) Borstcarcinoom</li> <li>2) Borstcarcinoom</li> <li>3) Borstcarcinoom</li> <li>4) Borstcarcinoom</li> <li>5) Borstcarcinoom</li> </ul>	 <ul style="list-style-type: none"> <li>1) Cervix</li> <li>2) Tonsil</li> <li>3) Borstcarcinoom</li> <li>4) Borstcarcinoom</li> <li>5) Borstcarcinoom</li> </ul>
Cellijnen	 <ul style="list-style-type: none"> <li>A) Borst adenocarcinoom</li> <li>B) Borst adenocarcinoom</li> <li>C) Maag adenocarcinoom</li> <li>D) Borst adenocarcinoom</li> </ul>	 <ul style="list-style-type: none"> <li>A) Ductaal carcinoom</li> <li>B) Borst adenocarcinoom</li> <li>C) Ductaal carcinoom</li> <li>D) Ductaal carcinoom</li> </ul>

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 PR 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 PR 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 enquêtecöördinator 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 enquêtecöördinator, Vanessa Ghislain (Sciensano). De evaluatie vond plaats op 9 november 2022 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

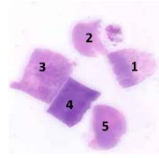

Algemeen is de beoordeling gebaseerd op :

- **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 EPITOOP

#### 2.2.1. HER2

**Biopten en cellijnen :**

			IHC	ISH (ratio)
Biopten*	1. Borstcarcinoom 2. Borstcarcinoom 3. Borstcarcinoom 4. Borstcarcinoom 5. Borstcarcinoom		1) 2+ 2) 0 3) 1-2+ 4) 3+ 5) 1-2+	1) Amplified (2.50) 2) Not amplified (0.90) 3) Not amplified (1.09) 4) Amplified (9.52) 5) Not amplified (1.30)
Cellijnen	A. Borst adenocarcinoom B. Borst adenocarcinoom C. Maag adenocarcinoom D. Borst adenocarcinoom		A) 0 B) 1+ C) 2+ D) 3+	A) Not amplified B) Not amplified C) Equivocal D) Amplified

(\*) 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. PR

### Biopten :

- 1) **Cervix** : matig tot sterke nucleaire aankleuring van de meeste cellen van het columnair epitheel en van de meeste stromale cellen (uitgezonderd endotheliale en lymfoïde cellen); minstens zwakke nucleaire aankleuring van basaal squameus epitheel
- 2) **Tonsil** : geen nucleaire aankleuring
- 3) **Borstcarcinoom** : matig tot sterke nucleaire aankleuring in ongeveer 30% van de tumorale cellen
- 4) **Borstcarcinoom** : matig tot sterke nucleaire aankleuring in meer dan 90% van de tumorale cellen
- 5) **Borstcarcinoom** : geen aankleuring in de tumorale cellen

### Cellijnen :

- A) **Ductaal carcinoom** : negatief
- B) **Borst adenocarcinoom** : zwak/matig positief
- C) **Ductaal carcinoom** : matig/sterk positief
- D) **Ductaal carcinoom** : sterk positief

## 2.3. EINDBEOORDELING

### 2.3.1. HER2

- **Optimaal** : de kleuring van biopt 1 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 4 komt overeen met een score 2+ of algemeen weinig intense membranaire aankleuring of er is cytoplasmatische aankleuring die interfereert met de interpretatie van de membranaire aankleuring of te zwakke tegenkleuring
- **Borderline** : één van de cellijnen is vals negatief; optimalisatie van het protocol is nodig
- **Onvoldoende** : de kleuring van biopt 1 of biopt 4 komt overeen met een score 0 of 1+; optimalisatie van het protocol is dringend nodig

### 2.3.2. PR

- **Optimaal** : de kleuring komt overeen met de criteria hierboven beschreven (zie 2.2.2.)
- **Goed** : algemeen matige aankleuring (bv.  $\geq 10\%$  positiviteit in biopten 3 en 4 maar te lage proportie of te weinig intense aankleuring t.o.v. de referentiecoupe) of cytoplasmatische aankleuring of te zwakke tegenkleuring
- **Borderline** : vals positieve aankleuring in het endotheel van het cervixbiopt of  $\geq 10\%$  nucleaire aankleuring van de B-cellen in de kiemcentra van de tonsil of onvoldoende aankleuring in één van de borstbiopten (bv.  $\geq 1\%$  en  $< 10\%$  positiviteit in biopt 3 of 4) of cytoplasmatische aankleuring die interfereert met de interpretatie; optimalisatie van het protocol is nodig
- **Onvoldoende** : vals negatieve of vals positieve aankleuring in één van de borstbiopten (d. w.z.  $< 1\%$  positiviteit in biopt 3 of 4 of  $\geq 1\%$  positiviteit in biopt 5); optimalisatie van het protocol is dringend nodig

## 3. Resultaten

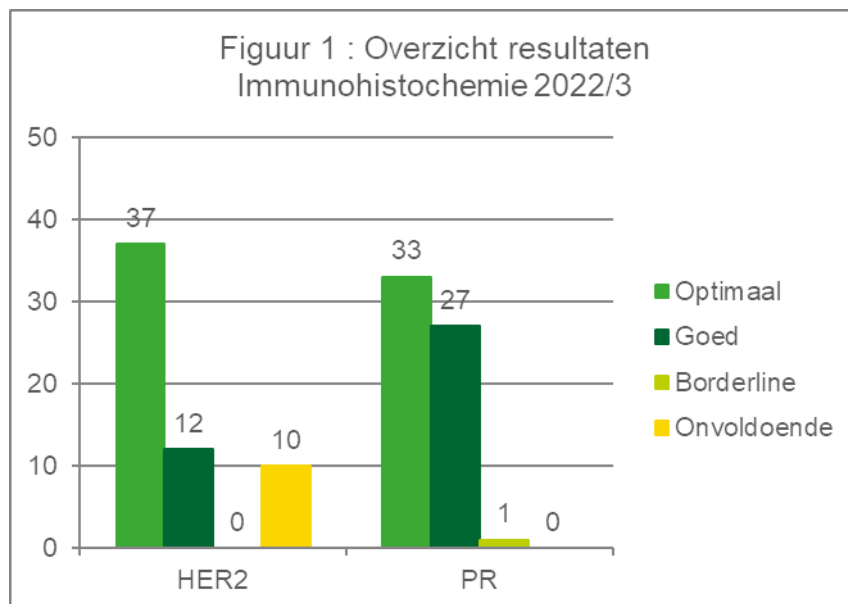
### 3.1. DEELNAME AAN DE EKE

Het deelnamepercentage bedroeg 61/63 (97%).

Gewest	Aantal laboratoria dat stalen ontving (ingeschrevenen)	Aantal laboratoria dat een HER2 coupe terugstuurde	Aantal laboratoria dat een PR coupe terugstuurde
Vlaams gewest	39	37	39
Brussels gewest	9	8	8
Waals gewest	15	14	14
Farm. firma's	0	0	0
Totaal	63	59	61

### 3.2. OVERZICHT VAN DE RESULTATEN

Eindresultaat	HER2	PR
Optimaal	37 (63%)	33 (54%)
Goed	12 (20%)	27 (44%)
Borderline	0	1 (2%)
Onvoldoende	10 (17%)	0
Totaal	59	61



### 3.3. RESULTATEN PER ANTILICHAAM

#### 3.3.1. HER2

HER2							
Kloon	N	Producent	Optimaal	Goed	Border-line	Onvoldoende	Aanvaardbaar*
<b>Geconcentreerde antilichamen (n = 18)</b>							
Polyclonaal	18	Dako/Agilent Technologies	11	4	0	3	83%
<b>Ready-To-Use antilichamen (n = 41)</b>							
rm 4B5	34	Cell Marque/Ventana/Roche	21	6	0	7	79%
rm DG44 (HercepTest)	6	Dako/Agilent Technologies	5	1	0	0	100%
mm CB11	1	Leica / Novocastra	0	1	0	0	1/1

(\*) optimaal/goed

mm = mouse monoonaal antilichaam

rm = rabbit monoonaal antilichaam

#### 3.3.2. PR

PR							
Kloon	N	Producent	Optimaal	Goed	Border-line	Onvoldoende	Aanvaardbaar*
<b>Geconcentreerde antilichamen (n = 4)</b>							
mm PgR 1294	2	Dako/Agilent Technologies	1	1	0	0	2/2
mm 16	1	Leica/Novocastra	0	1	0	0	1/1
mm 16 + SAN27	1	Leica/Novocastra	1	0	0	0	1/1
<b>Ready-To-Use antilichamen (n = 57)</b>							
rm 1E2	34	Cell Marque/Ventana/Roche	9	24	1	0	97%
mm PgR 1294	15	Dako/Agilent Technologies	14	1	0	0	100%
mm PgR 636	6	Dako/Agilent Technologies	6	0	0	0	100%
mm 16	2	Leica/Novocastra	2	0	0	0	2/2

(\*) optimaal/goed

mm = mouse monoonaal antilichaam

rm = rabbit monoonaal antilichaam

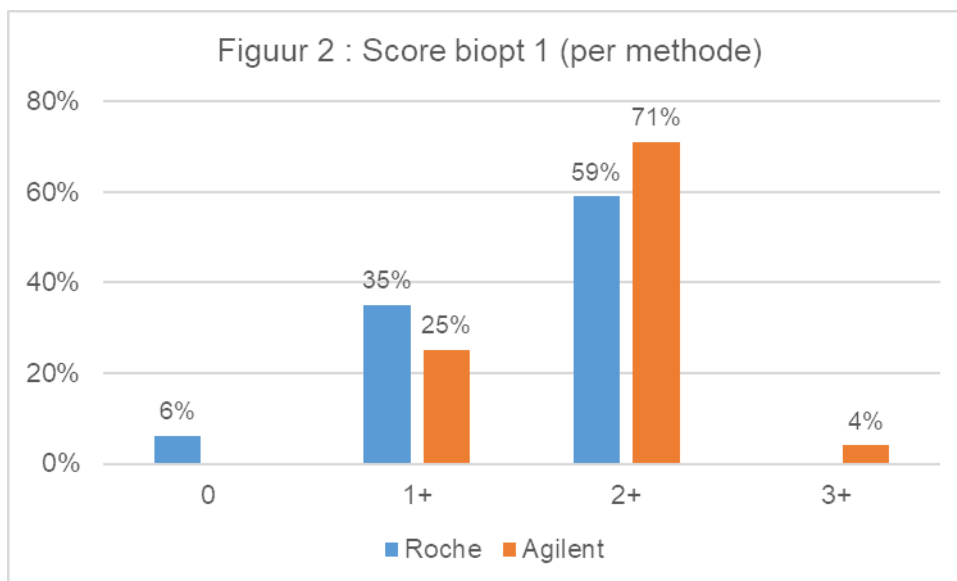
### 3.4. RESULTATEN VAN DE HER2 INTERPRETATIE

#### 3.4.1. Score biopt 1

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

Antwoorden	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	2	0	0
1+	12	6	0
2+	20	17	1
3+	0	1	0

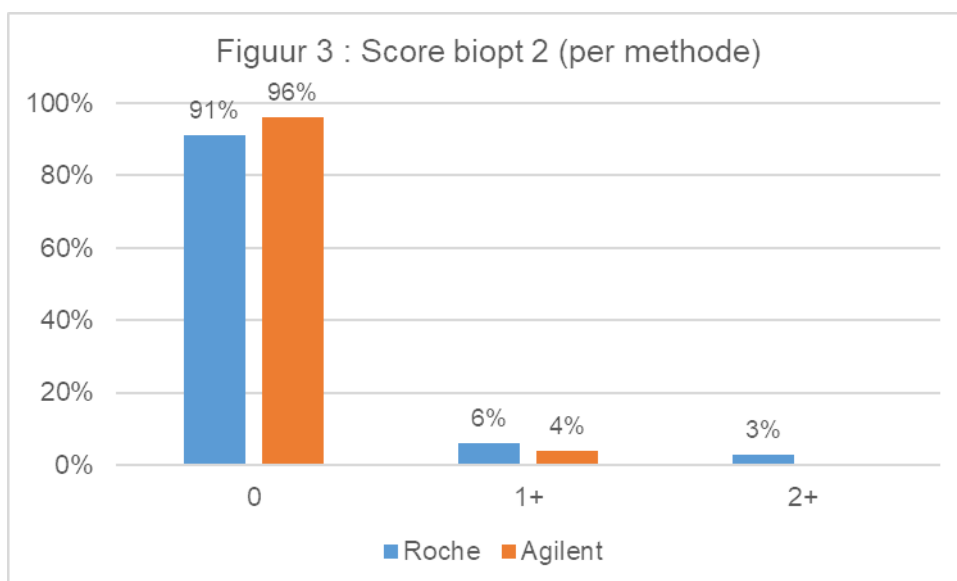




### 3.4.2. Score biopt 2

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

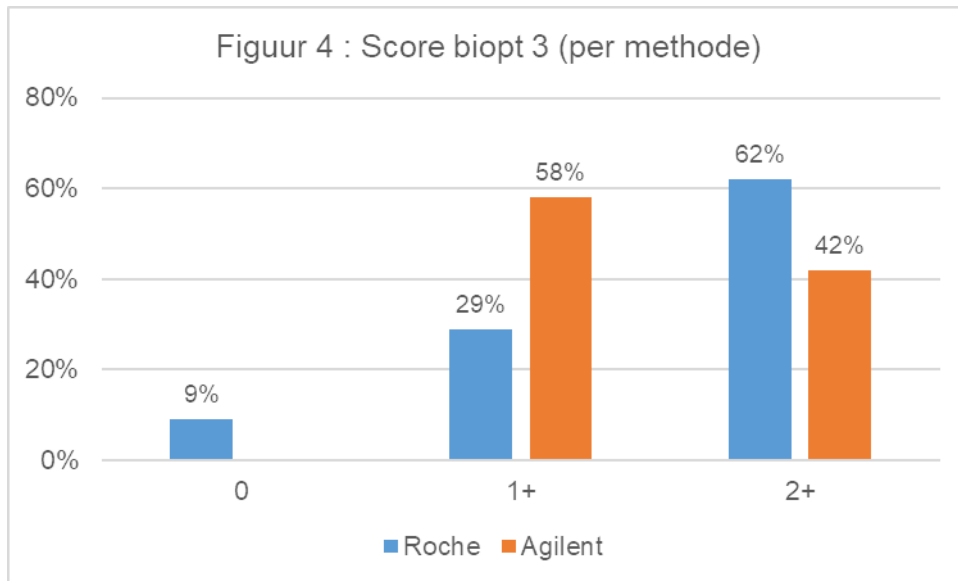
Antwoorden	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	31	23	0
1+	2	1	1
2+	1	0	0
3+	0	0	0



### 3.4.3. Score biopt 3

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

Antwoorden	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	3	0	0
1+	10	14	0
2+	21	10	1
3+	0	0	0



### 3.4.4. Score biopt 4

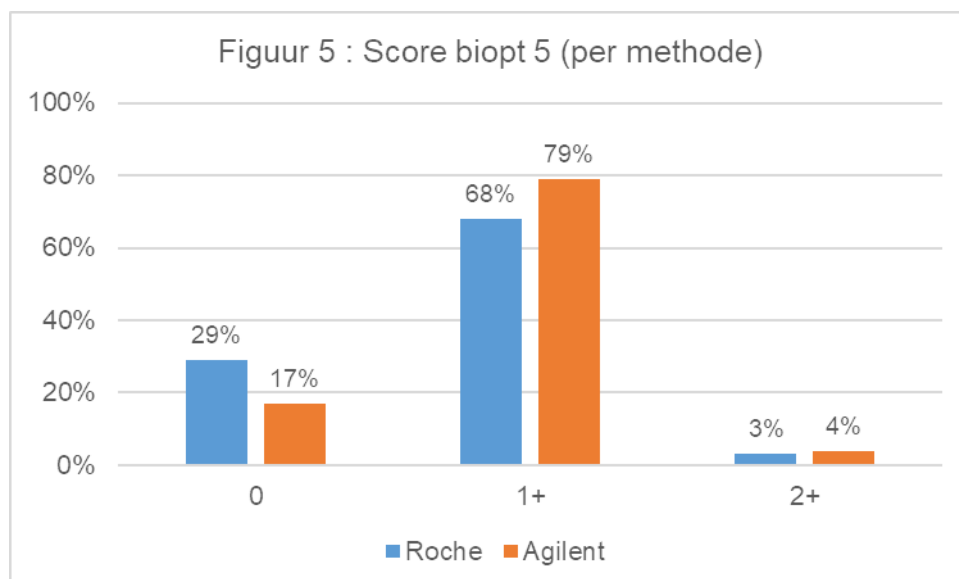
Het verwachte resultaat voor dit biopt was **score 3+**.

Antwoorden	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	0	0	0
1+	0	0	0
2+	0	0	0
3+	34	24	1

### 3.4.5. Score biopt 5

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

Antwoorden	Roche (N)	Agilent (N)	Leica (N)
0	10	4	1
1+	23	19	0
2+	1	1	0
3+	0	0	0



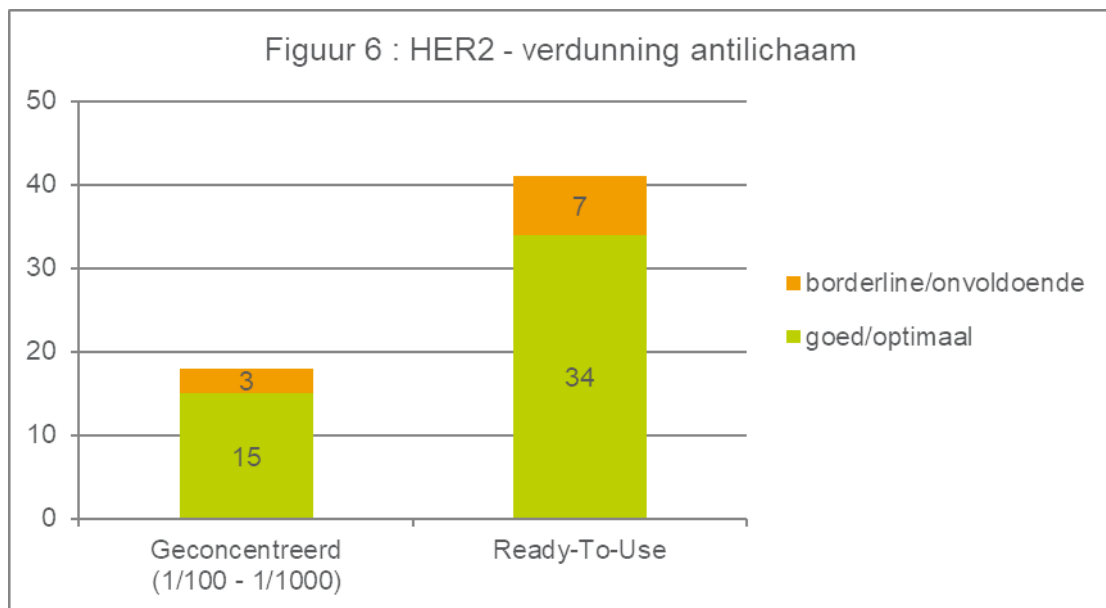
### 3.4.6. Guidelines gevolgd voor de interpretatie van de resultaten

Antwoorden	N
ASCO/CAP Guidelines 2018	56
Belgian Guidelines 2014	2
Niet vermeld	1

## 4. Bespreking van de resultaten

### 4.1. HER2

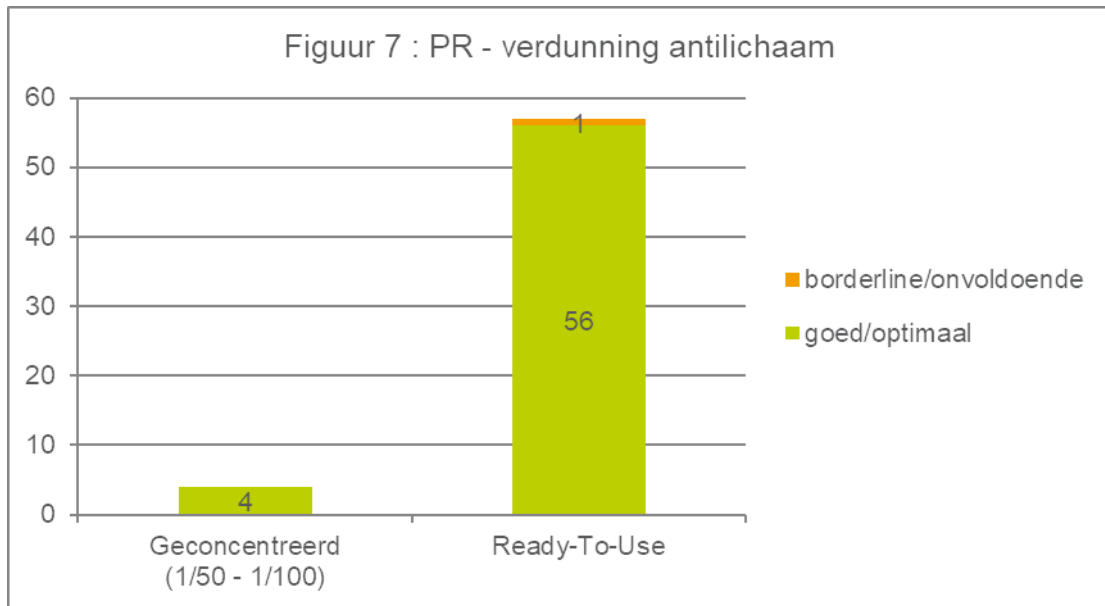
- De HER2 kleuring was van optimale of goede kwaliteit bij 49/59 deelnemers (83%) (zie figuur 1).
- De kleuring werd door alle laboratoria uitgevoerd d.m.v. een automaat.
- Er was een controlecoupe aanwezig bij 57/59 deelnemers (97%). De controlecoupe was conform in 55/57 (96%) gevallen.
- De meest gebruikte antilichamen zijn kloon 4B5 (34/59 laboratoria of 58%) en het polyclonaal antilichaam A0485 (18/59 laboratoria of 31%).
- Een geconcentreerd antilichaam werd in 18/59 laboratoria (31%) gebruikt, een Ready-To-Use antilichaam in 41/59 laboratoria (69%) (zie figuur 6).



- Een onvoldoende resultaat werd in alle gevallen (10/10) getypeerd door vals negatieve aankleuring van biopt 1 (2+/amplified).

### 4.2. PR

- De PR kleuring was van optimale of goede kwaliteit bij 60/61 deelnemers (98%) (zie figuur 1).
- De kleuring werd door alle laboratoria uitgevoerd d.m.v. een automaat.
- Er was een controlecoupe aanwezig bij 40/61 deelnemers (66%).
- De meest gebruikte klonen zijn 1E2 (34/61 laboratoria of 56%), PgR 1294 (17/61 laboratoria of 28%) en PgR 636 (6/61 laboratoria of 10%).
- Een geconcentreerd antilichaam werd in 4/61 laboratoria (7%) gebruikt, een Ready-To-Use antilichaam in 57/61 laboratoria (93%) (zie figuur 6).



- Eén laboratorium behaalde een borderline resultaat wegens onvoldoende aankleuring in de borst van core 3.
- Een vaak terugkerende opmerking is een matige (te weinig intense) aankleuring in borstbiopt 3 ; 27 laboratoria kregen hierdoor een score 'goed' i.p.v. 'optimaal'. Het Ready-To-Use antilichaam 1E2 van Roche lijkt vooral onderhevig aan dit probleem.
- Cervix wordt door NordiQC aanbevolen als positieve controle voor de evaluatie van de sensitiviteit van de PR kleuring. Bijna alle columnair epitheel en de stromale cellen moeten matig tot sterk aankleuren, met slechts een minimale cytoplasmatische aankleuring. Basaal squameus epitheel moet minstens zwak aankleuren (een lagere PR-expressie in het squameus epitheel van de cervix van post-menopauzale vrouwen is mogelijk). Endotheliale en lymfoïde cellen mogen niet aankleuren. Tonsil kan gebruikt worden als negatieve controle : er mag geen nucleaire aankleuring aanwezig zijn.

### 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
<b>Verwacht resultaat</b>	<b>2+/A*</b>	<b>0/NA*</b>	<b>1-2+/NA</b>	<b>3+/A</b>	<b>1-2+/NA</b>
<b>0</b>	3%	<b>91.5%</b>	5%	-	25.5%
<b>1+</b>	31%	7%	41%	-	<b>71%</b>
<b>2+</b>	<b>64%</b>	1.5%	<b>54%</b>	-	3.5%
<b>3+</b>	2%	-	-	<b>100%</b>	-

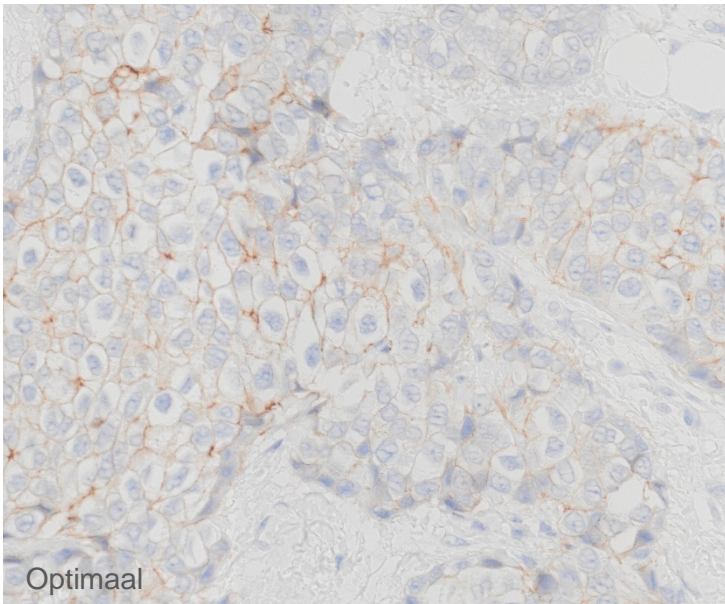
(\*) NA = not amplified, A = amplified

- 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.
- 10 Laboratoria hebben biopt 1 (2+/amplified) foutief als 1+ geïnterpreteerd, hoewel de kleuring technisch in orde was en overeenkwam met een score 2+. De kleuring werd als 'optimaal' of 'goed' geëvalueerd, maar de deelnemers kregen een opmerking in hun individueel rapport.

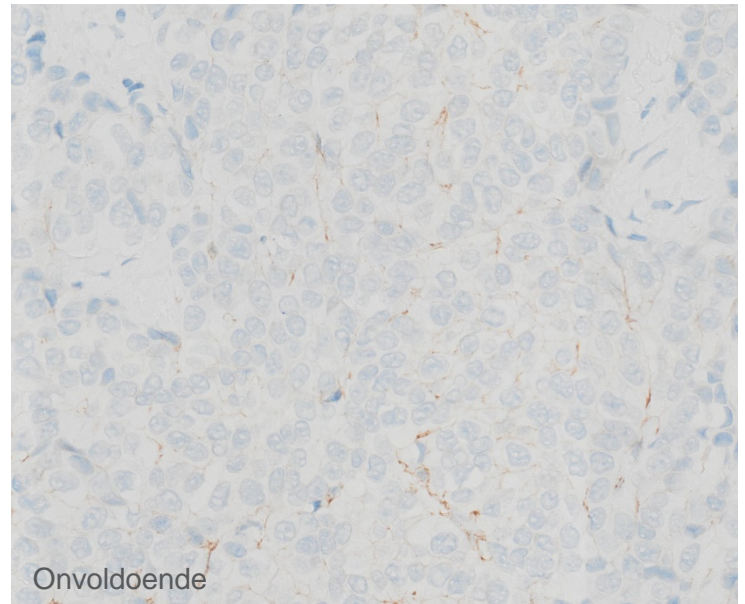
- Van de overige 10 laboratoria die biopt 1 als 1+ of 0 hebben geïnterpreteerd, was de kleuring inderdaad technisch niet in orde. Zij kregen als resultaat 'onvoldoende'.

## 5. Beelden

### HER2

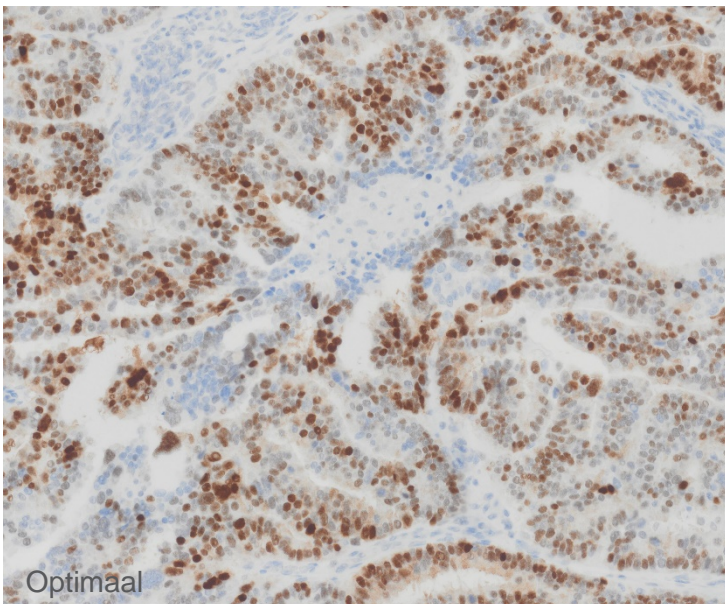


**Biopt 1 (2+/amplified)**

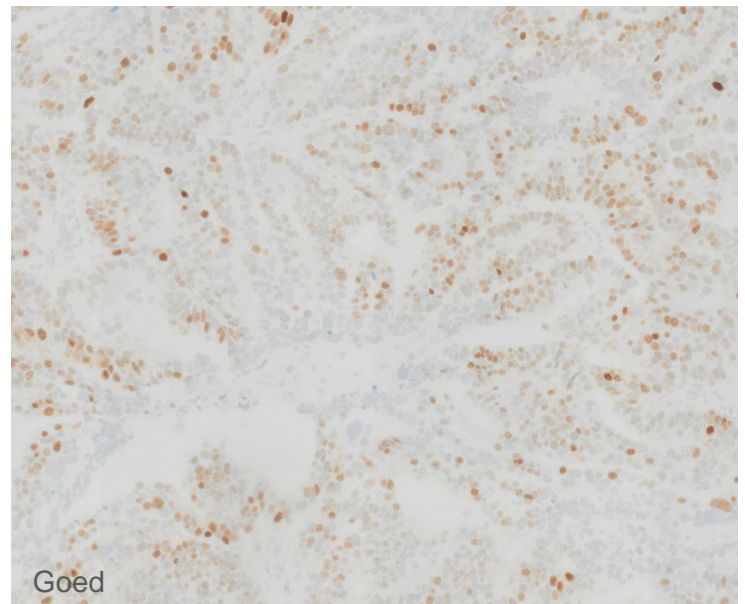


**Biopt 1 (2+/amplified)** : de kleuring is vals negatief want komt niet overeen met een score 2+

### PR



**Biopt 3** : matig tot sterke nucleaire aankleuring in ongeveer 30% van de tumorale cellen



**Biopt 3** : matige (te weinig intense) aankleuring

---

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.