

SKML rondzending

Her2Neu (*ERBB2*)

IHC 2015.1

ISH 2015.2

Introductie Her2Neu (*ERBB2*)

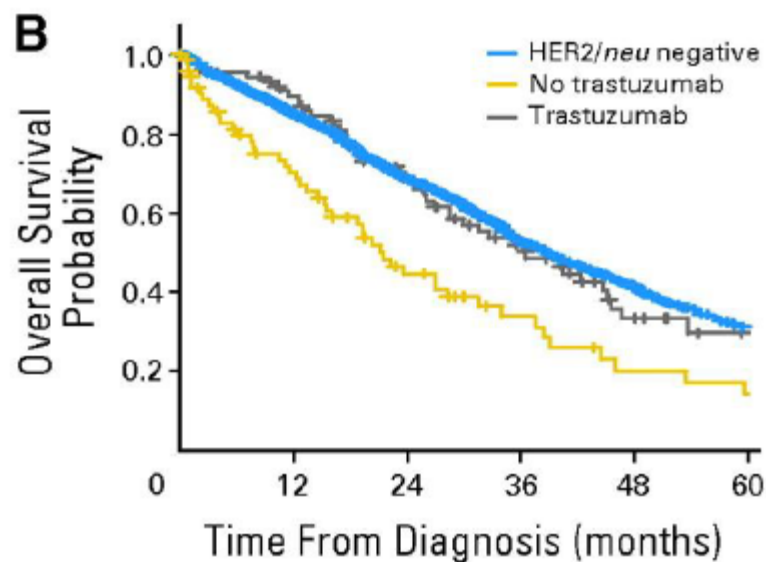
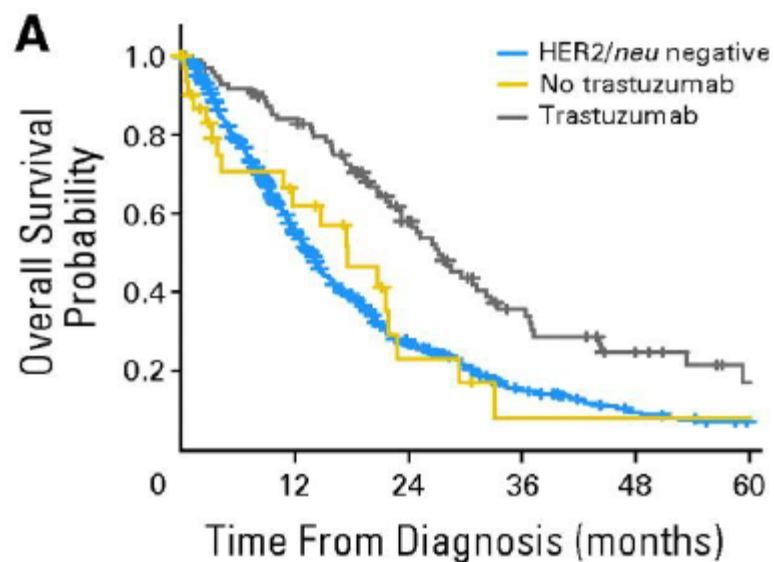
- **Mammacarcinoom**

- 20% Her2Neu geamplificeerd
- Geassocieerd met agressief klinisch beloop en verminderde ziekte vrije overleving
- Behandeling met Trastuzumab (al of niet icm CT) geeft een relatief goede respons
- Echter in patiënten zonder afwijkend Her2Neu geeft het alleen toxiciteit

Prognosis of women with metastatic breast cancer by Her2 status and Trastuzumab

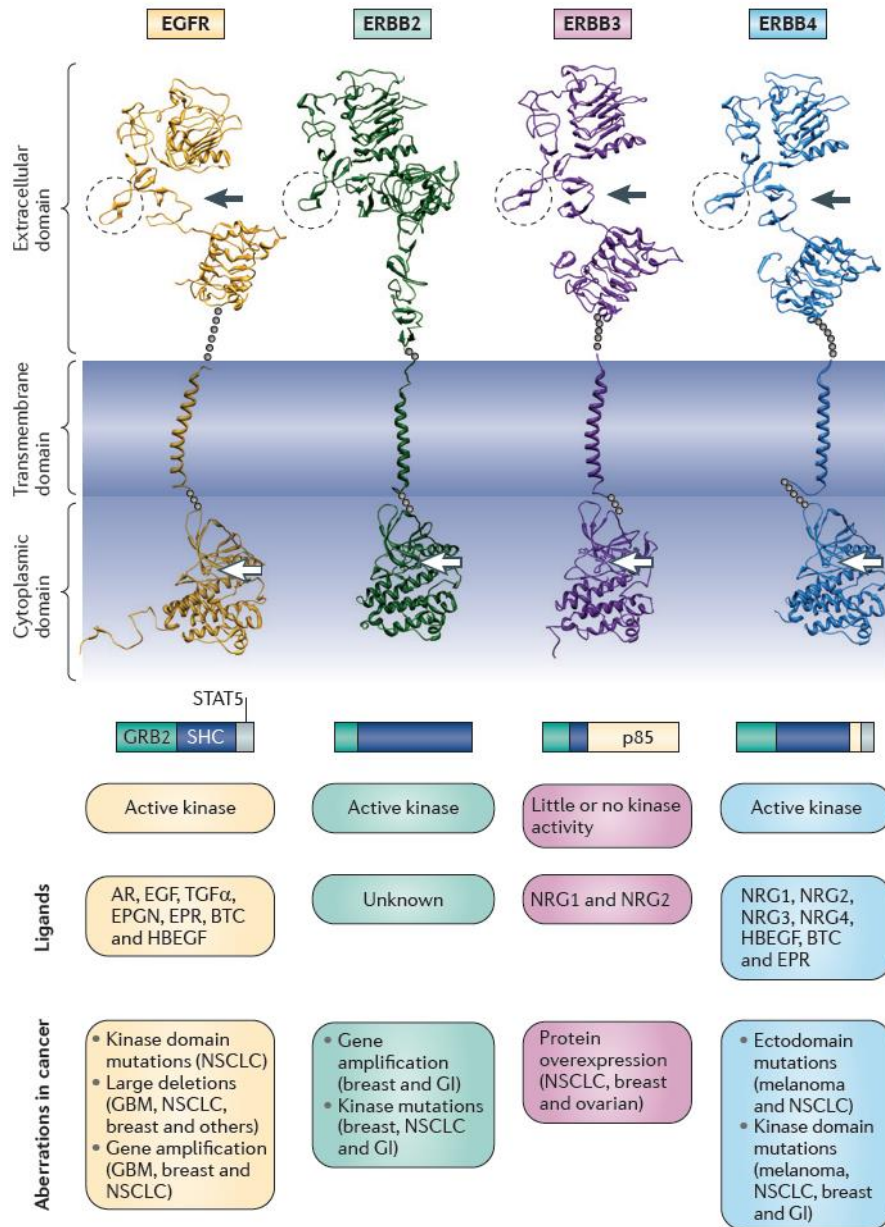
HR -

HR +

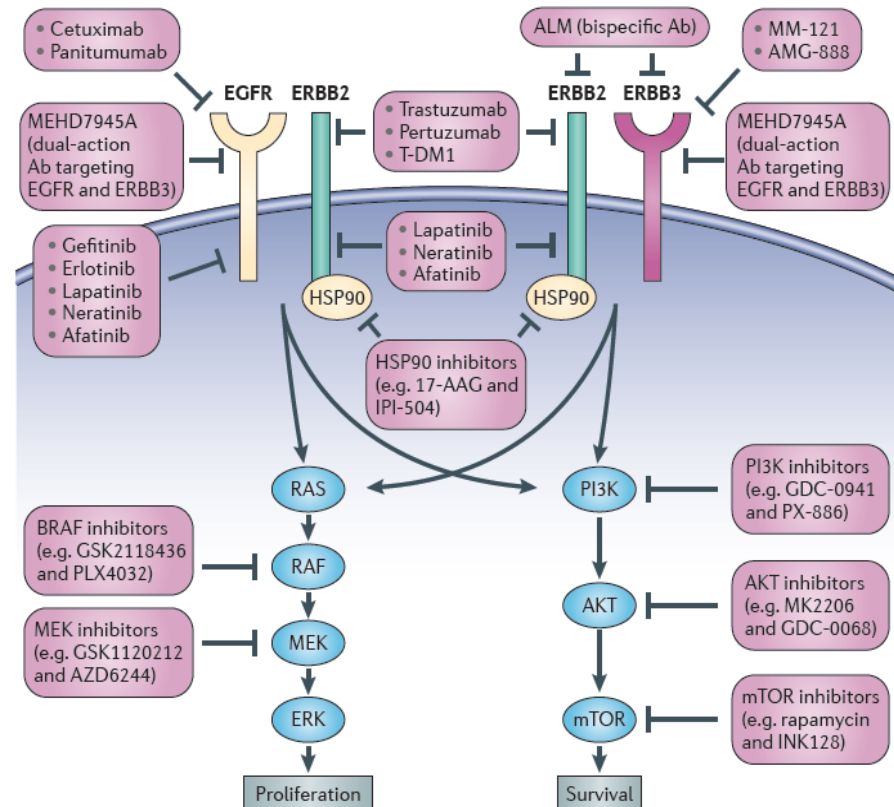


ERBB receptoren

avian erythroblastic leukemia viral oncogene homolog



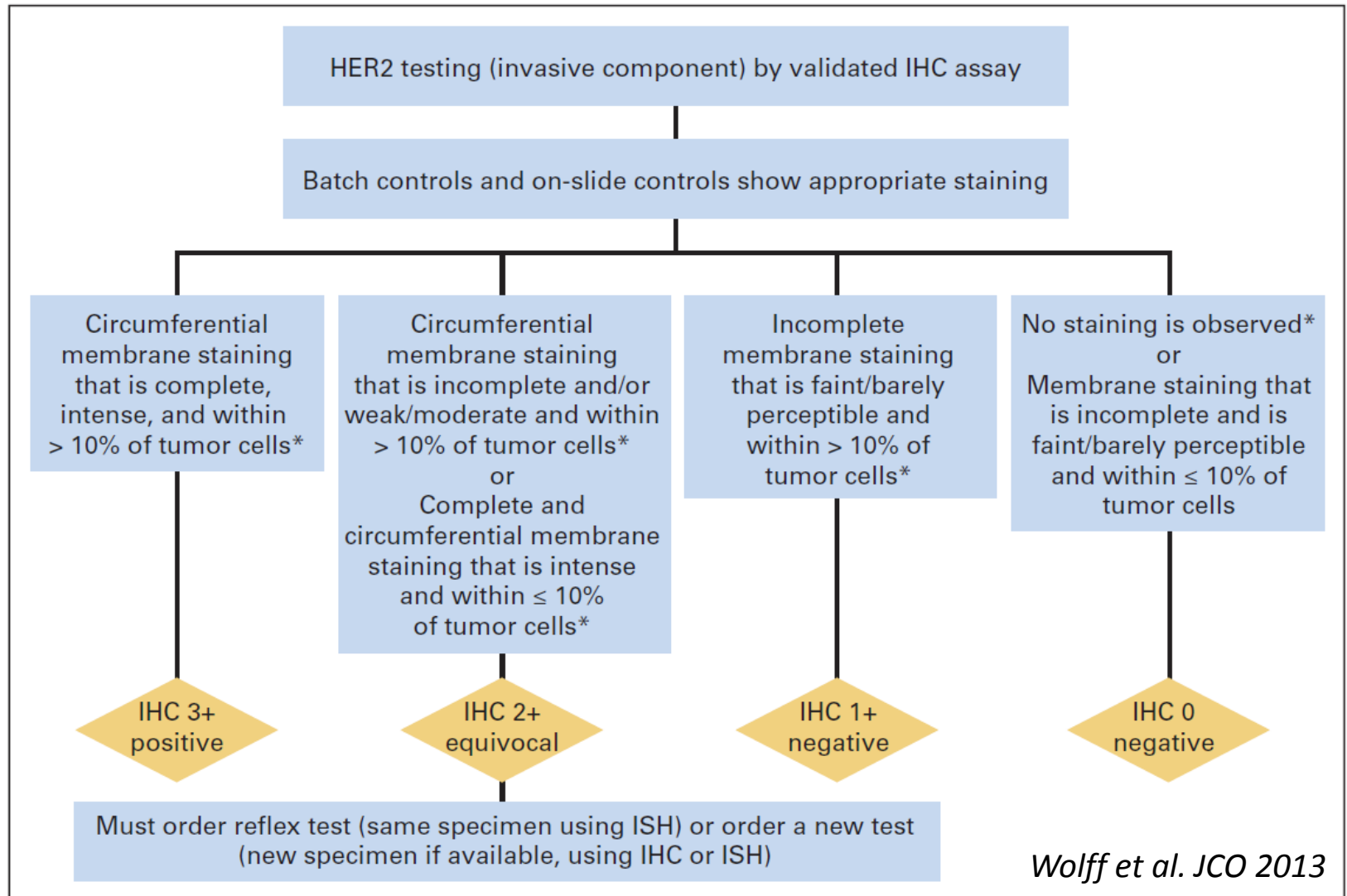
ERBB signalling

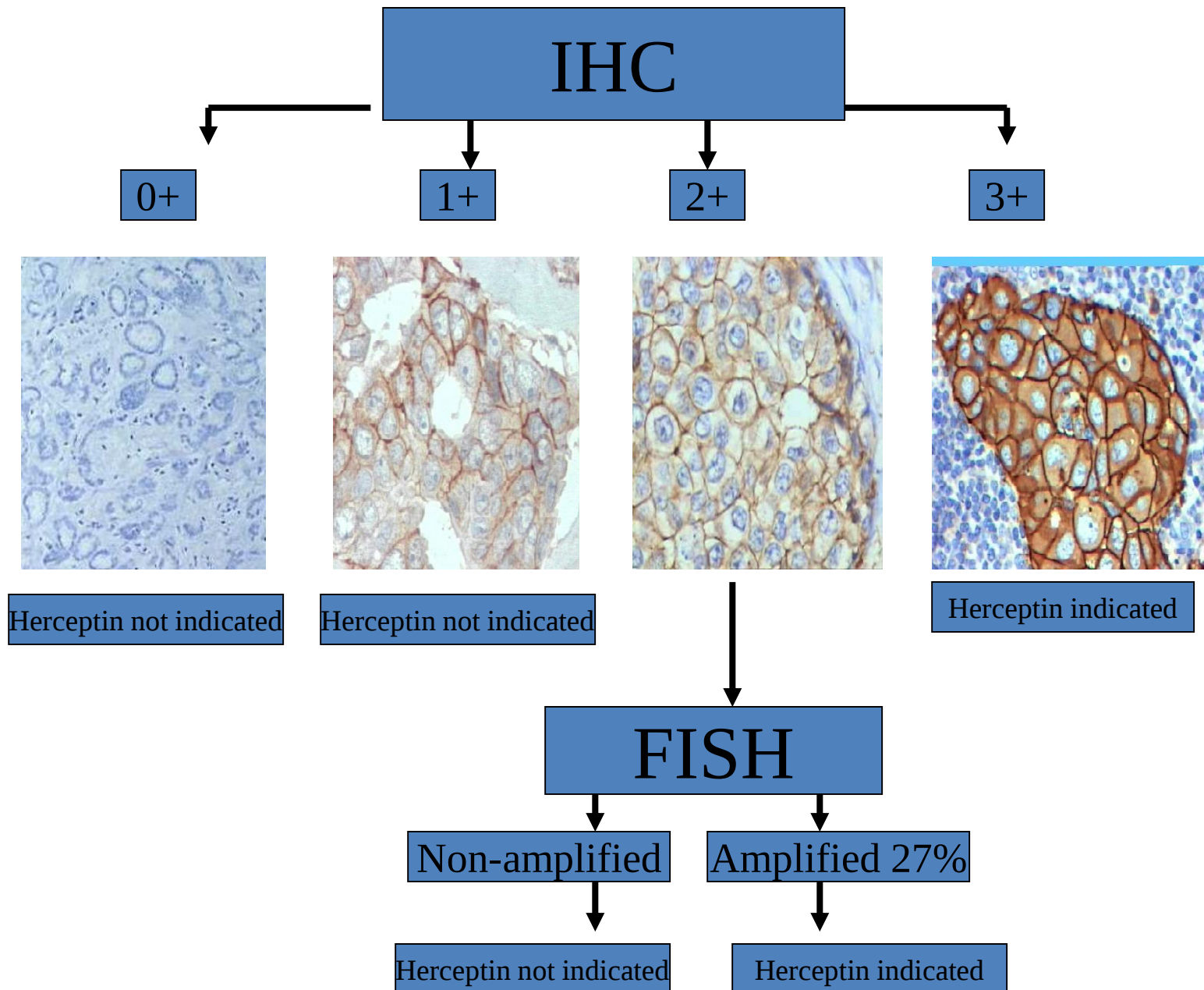


Introductie Her2Neu – belang test

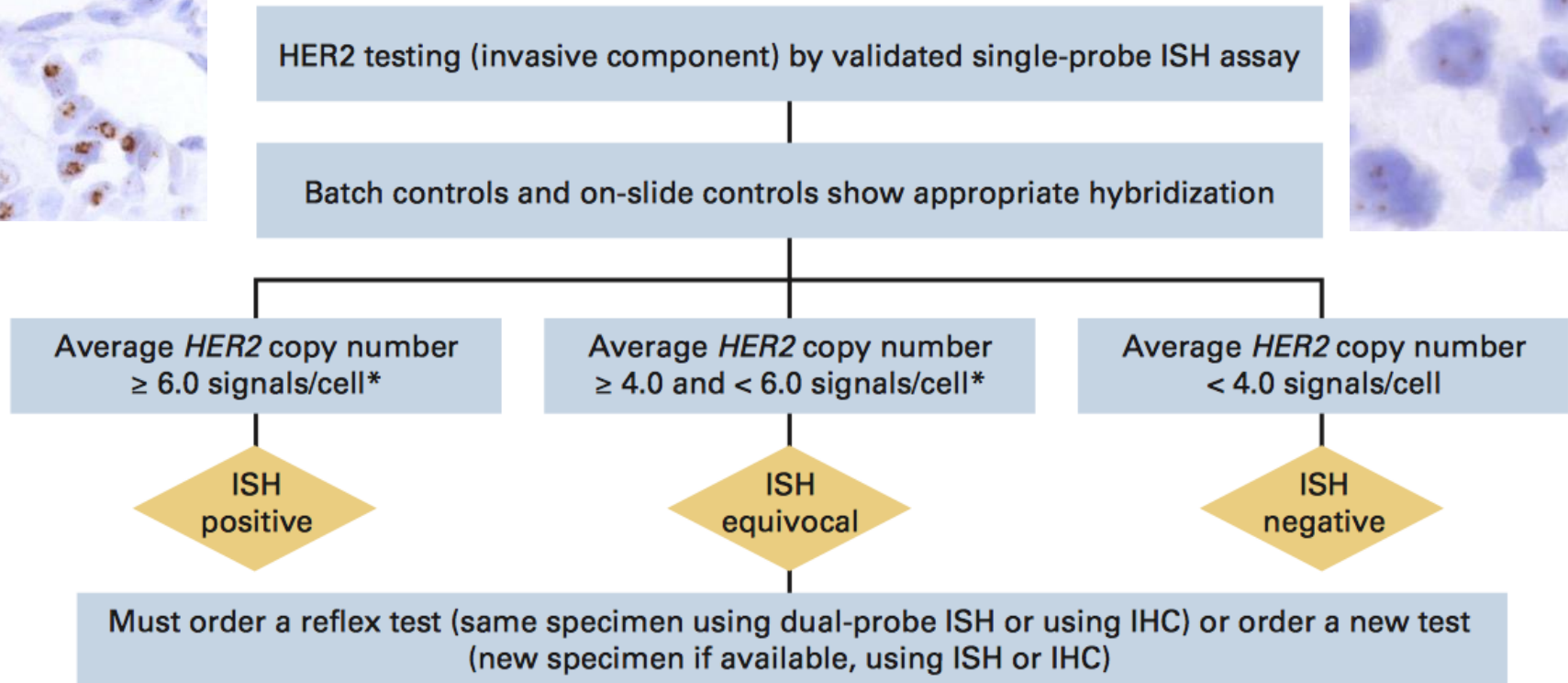
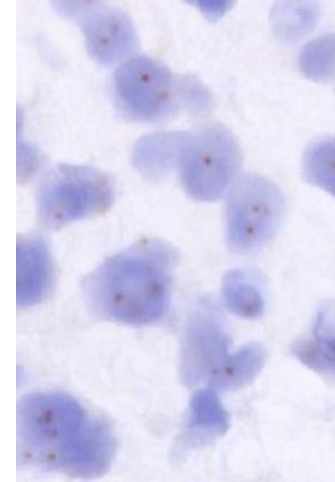
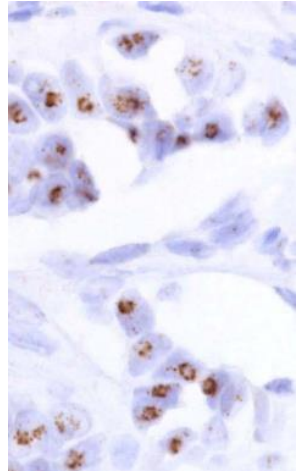
- Een fout-positieve uitslag kan leiden tot een onnodige (dure) therapie met alleen bijwerkingen
- Bij een fout-negatieve uitslag wordt de patiënt een potentieel gunstige therapie onthouden
- Testmethode?
 - IHC
 - FISH, BRISH, SISH, CISH
(MLPA, NGS, others)
- Variatie in uitkomsten
 - Fixatie
 - Type weefsel (biopt primaire tumor/metastase, resectie, voor/na behandeling)
 - Type test (IHC, ISH)
 - Manier van scoren
 - Interobserver variabiliteit

Her2Neu IHC: ASCO/CAP guidelines 2013



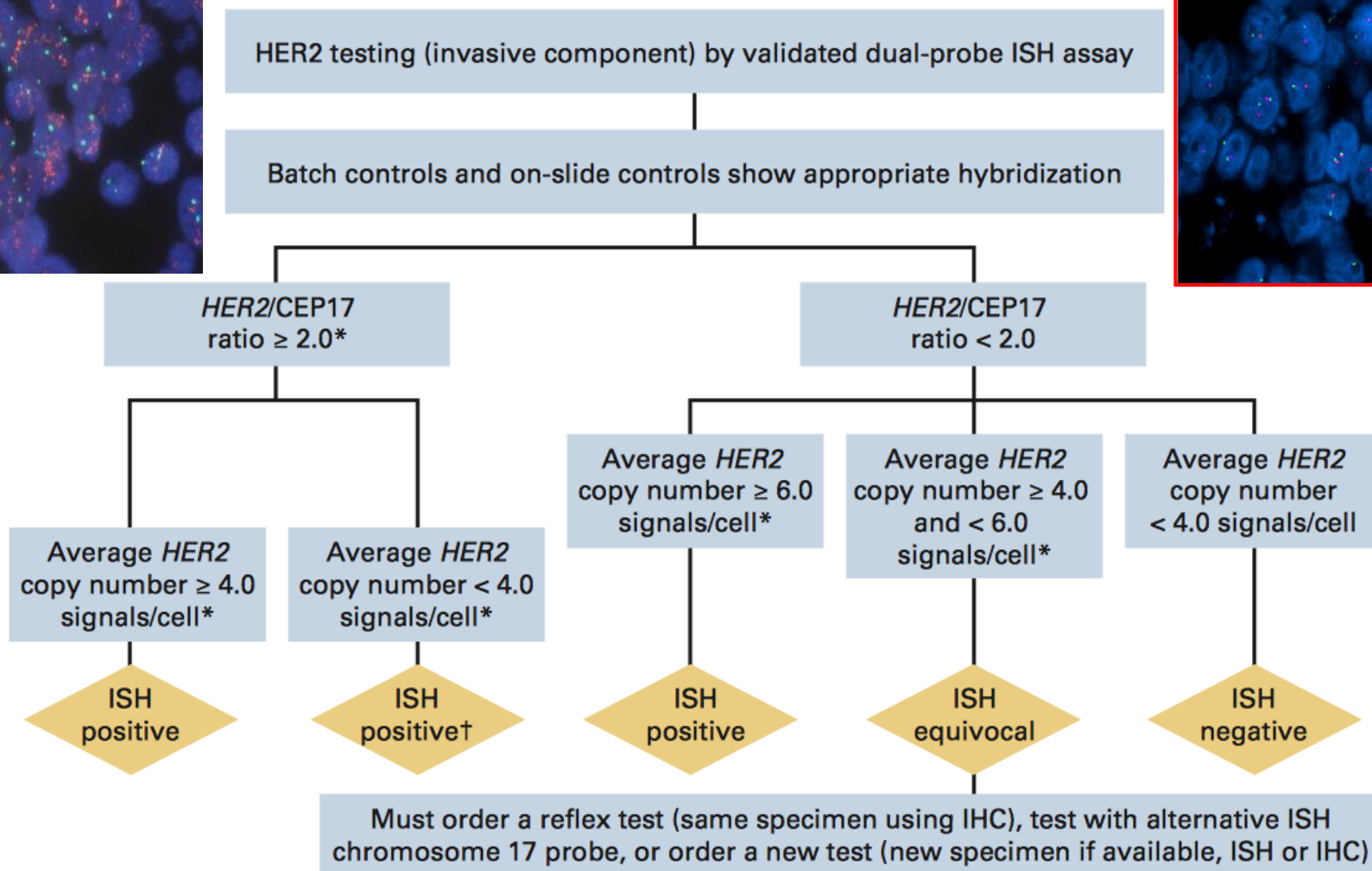
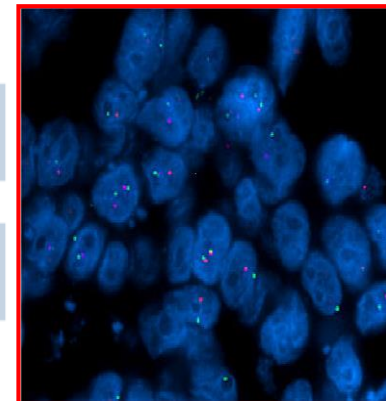
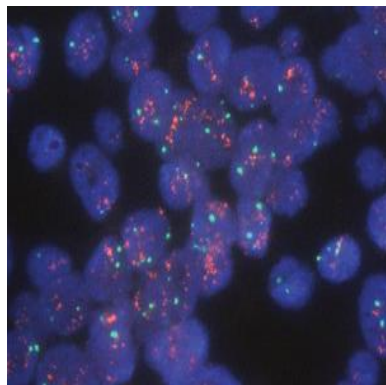


Her2Neu ISH (single probe) ASCO/CAP guidelines 2013



Her2Neu ISH (dual probe)

ASCO/CAP guidelines 2013



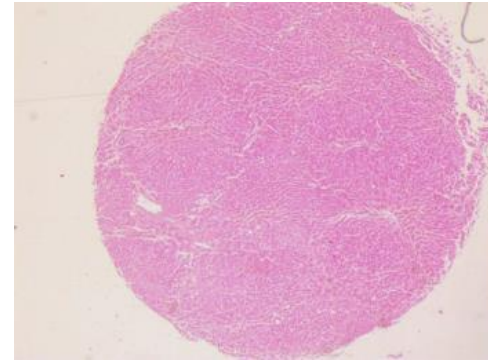
SKML – werkwijze

- Rondzending van casus middels TMA voor interne beoordeling van de techniek en interpretatie door het laboratorium in vergelijking met de consensus score
- 5 casus met mammacarcinoom
- Beoordeeld in 4 laboratoria voor consensusscore, namelijk Pathan Rotterdam, UMC Groningen, Radboud Nijmegen en bereidingslab St Elisabeth Tilburg
- Vervolgens gedistribueerd naar de deelnemende laboratoria voor IHC en ISH analyse.

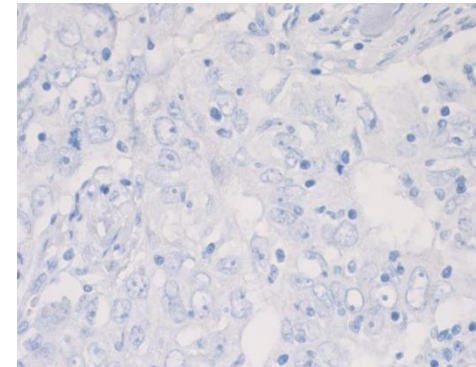
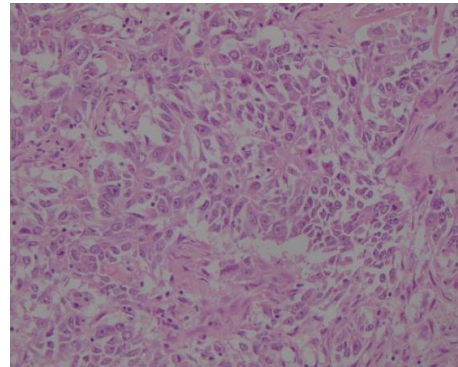
SKML rondzending

F	E	C	A	matrand
		D	B	

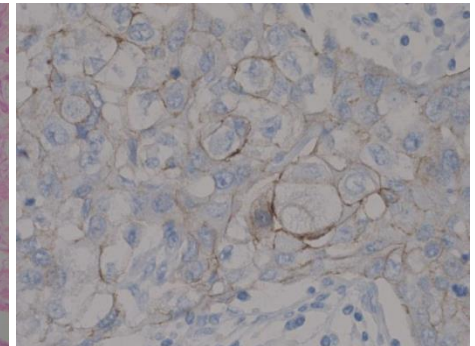
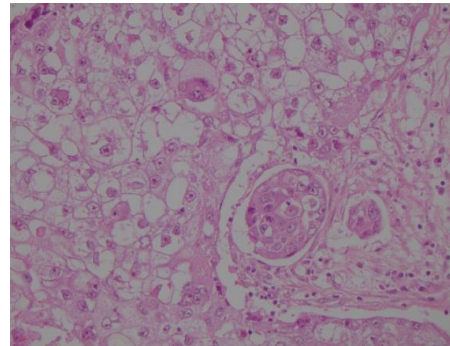
A. Lever



B. Mammatumor
(neg 0)



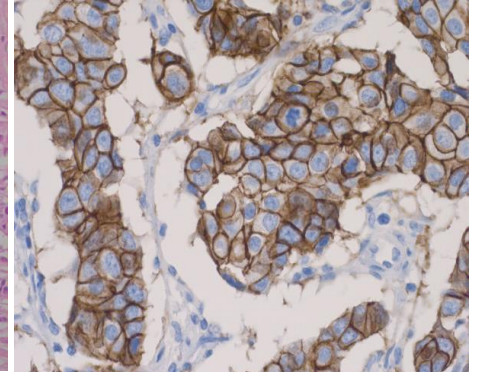
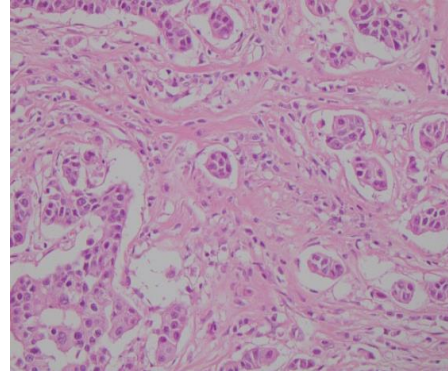
C. Mammatumor
(2+ geen amplificatie)



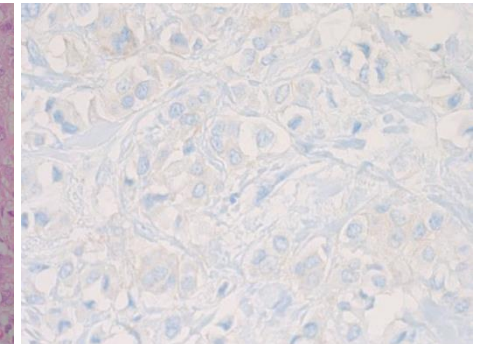
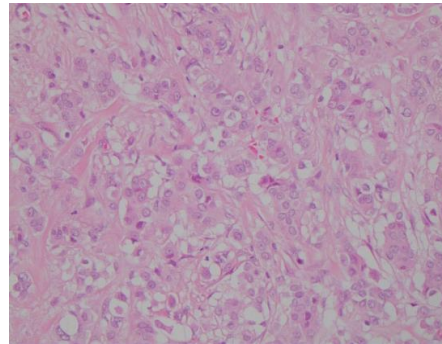
SKML rondzending

F	E	C	A	matrand
		D	B	

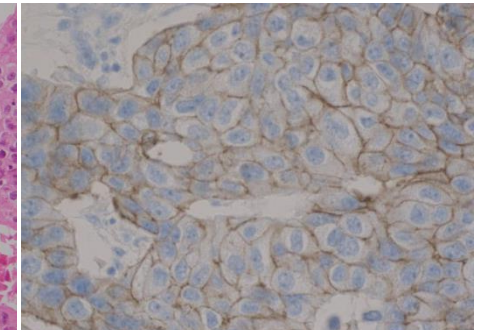
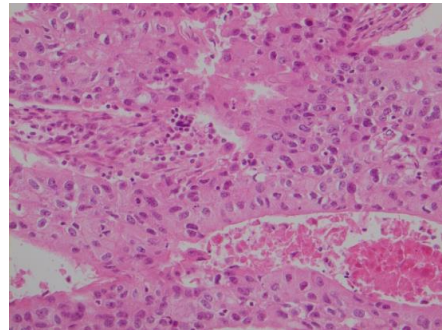
D. Mammatumor
(3+ amplificatie)



E. Mammatumor
(1+ geen amplificatie)



F. Mammatumor
(2+ amplificatie)



SKML - Scores

- 2. De maximum score van 2 wordt toegekend aan onderzoeksuitslagen of antwoorden op conclusievragen die volledig overeenstemmen met de expertuitslag of, als die ontbreekt, de consensus uitslag. Het optimale antwoord; leidt tot de juiste behandeling etc.
- 1. Een score van 1 wordt toegekend aan onderzoeksuitslagen of antwoorden op conclusievragen die gedeeltelijk overeenstemmen met de expertuitslag of, als die ontbreekt, de consensus uitslag. Voldoende/goed, echter kan specifieker/gedetailleerder, heeft geen klinische gevolgen
- 0. Een score van 0 wordt toegekend aan onderzoeksuitslagen of antwoorden op conclusievragen die niet overeenstemmen met de expertuitslag of, als die ontbreekt, de consensus uitslag. Onvoldoende; leidt niet tot hetzelfde beleid als het juiste antwoord (bv. extra diagnostiek)
- Een negatieve score wordt toegekend aan onderzoeksuitslagen of antwoorden op conclusievragen die kunnen leiden tot foutieve diagnose of behandeling.
 - 1. Een score van -1 wordt gereserveerd voor foutieve uitslagen of antwoorden op conclusievragen die tot foutieve behandeling zouden kunnen leiden, maar met beperkte complicaties.
 - 2. Een score van -2 wordt gereserveerd voor foutieve uitslagen of antwoorden op conclusievragen die tot behandelingen of uitblijven daarvan zouden kunnen leiden met zeer ernstige of fatale complicaties.
- De score is voor het uiteindelijke resultaat, geen score voor IHC of ISH apart.

Beoordeling voor Her2 amplificatie in monster B t/m F

	B	C	D	E	F
Positief	-1	-1	2	-1	2
Negatief	2	2	-1	2	-1
NTB	0	0	0	0	0

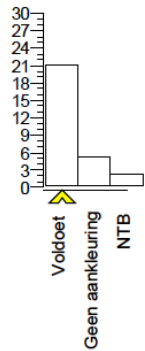
SKML rondzending – Data

- Aantal deelnemers 33
- Aantal inzenders 28 voor Her2Neu IHC
- Aantal inzenders 19 voor Her2Neu ISH

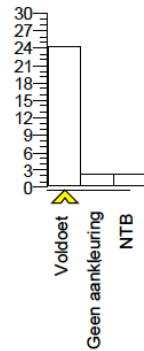
SKML rondzending – Data IHC

- Her2Neu IHC kleuring voldoet

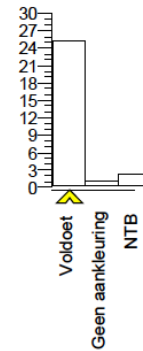
2015.1 A



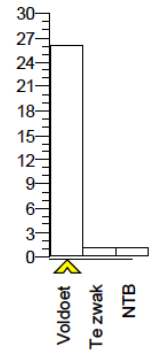
2015.1 B



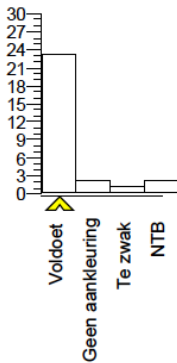
2015.1 C



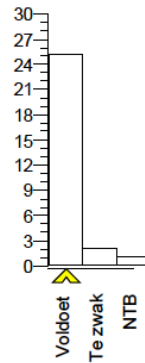
2015.1 D



2015.1 E



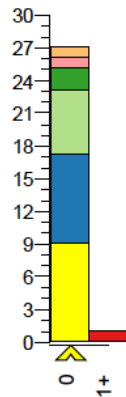
2015.1 F



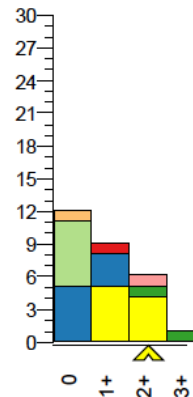
SKML rondzending – Data IHC

- Her2Neu IHC score en antilichaam

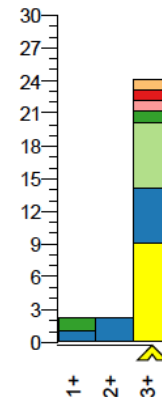
2015.1 B



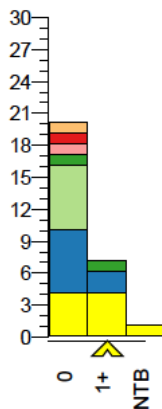
2015.1 C



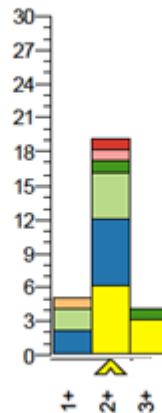
2015.1 D



2015.1 E



2015.1 F



SP3 gecontreerd

CB11 geconcentreerd

Polyclonaal

3B5 ready to use

4B5 ready to use

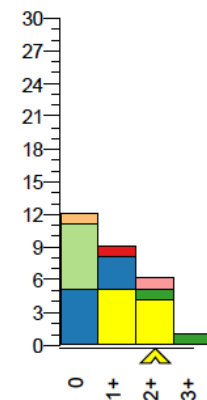
SP3 ready to use

Anders

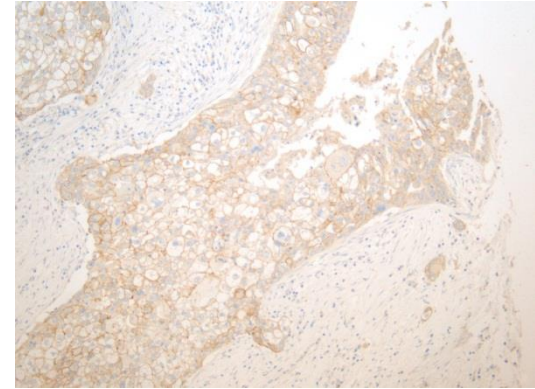
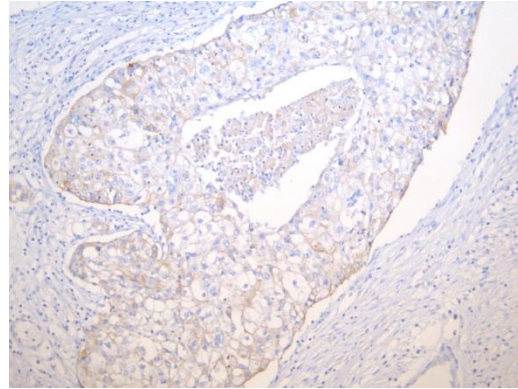
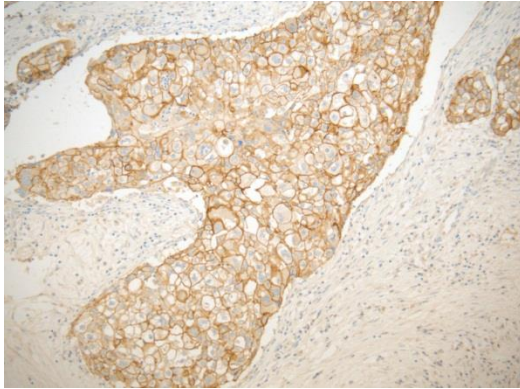
Welk antilichaam

- Opvallend: SP3 geeft over algemeen sterkere aankleuring dan 4B5 en polyclonaal
- Per gebruik antilichaam wisselende expressie en interpretatie
- Met name in casus C veel spreiding
- 3+ berust vermoedelijk op verkeerde oriëntatie
- Consensus 2+ geen amplificatie

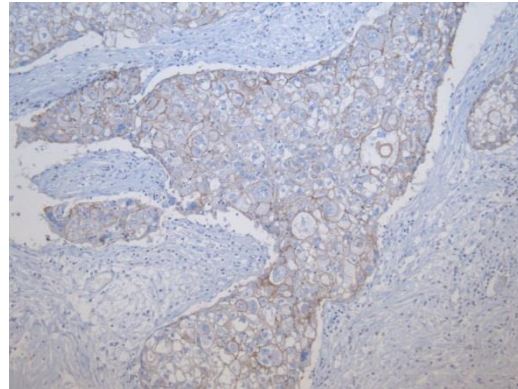
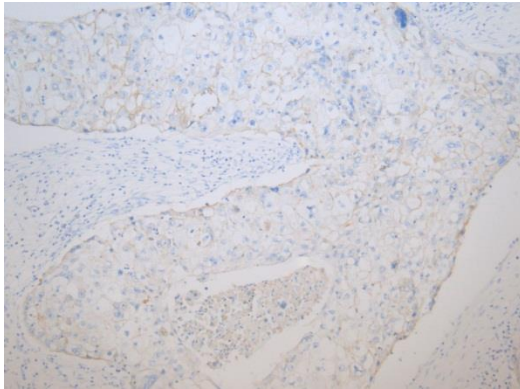
2015.1 C



SP3
score 2+

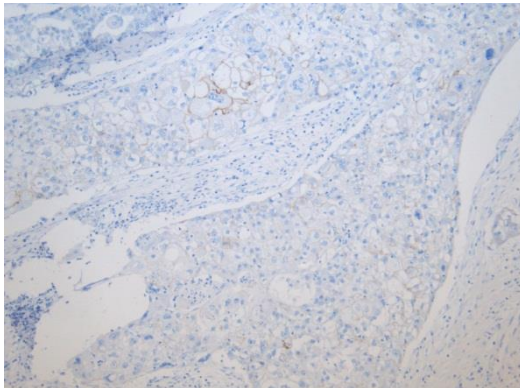


SP3
score 1+

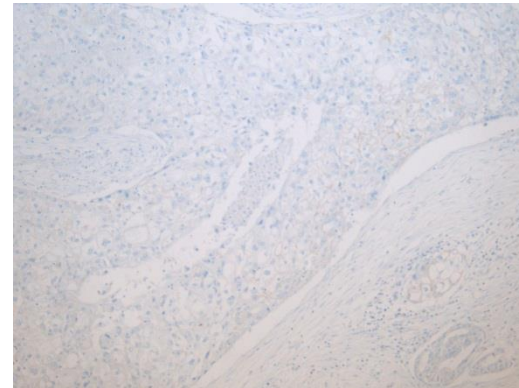


Casus C
2+ niet amp

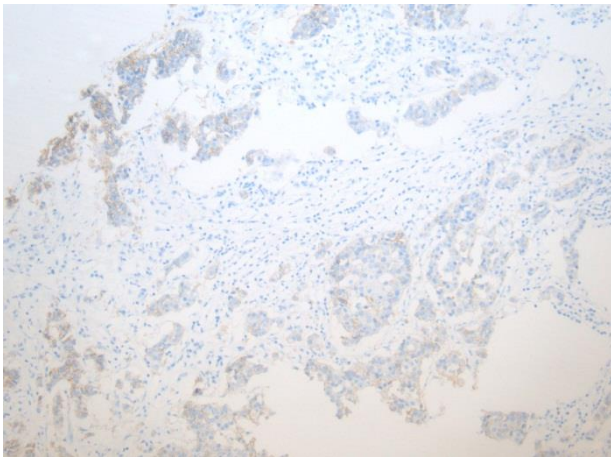
polyclonaal
score 0



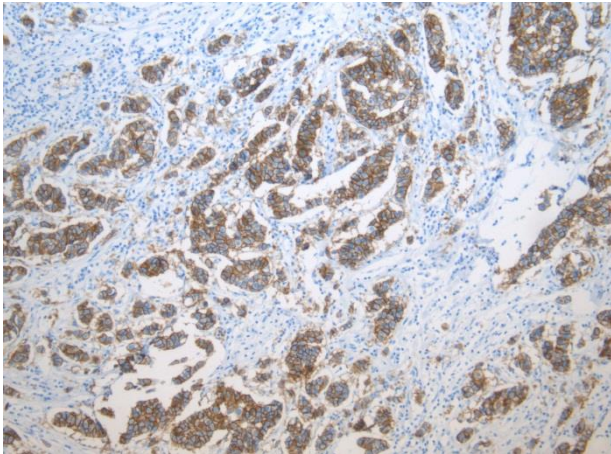
4B5
score 0



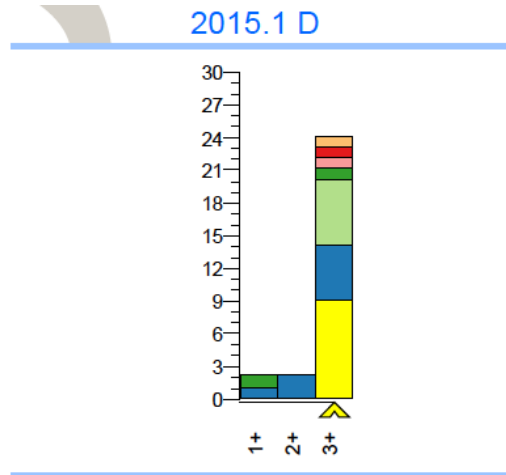
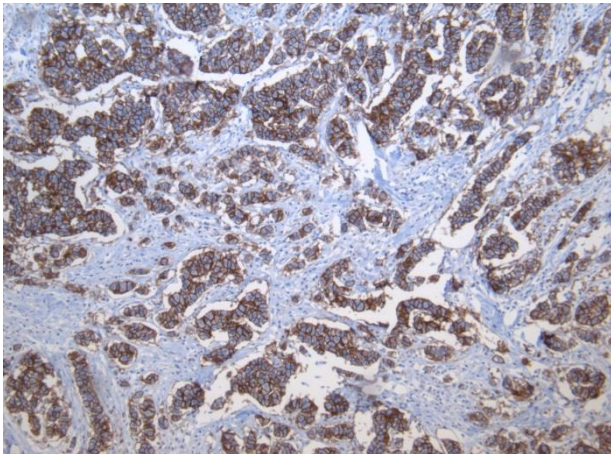
Polyclonaal
Score 1+
te zwak



Polyclonaal
Score 3+



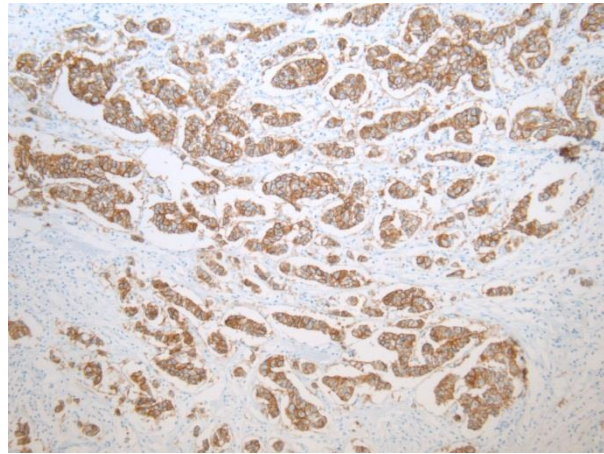
SP3
Score 3+



Casus D
3+ amp

1x orientatiefout

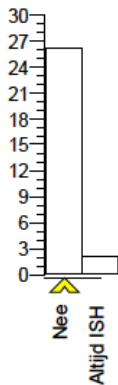
4B5
Score 3+



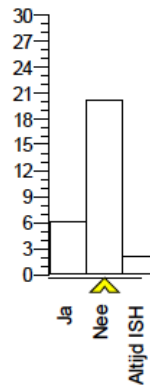
SKML rondzending – Data ISH

- Her2Neu uitvoeren FISH?

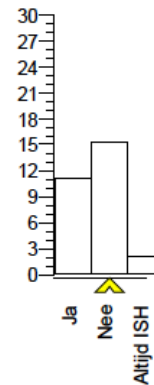
2015.1 B



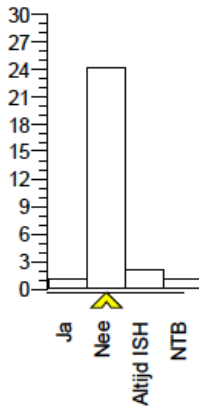
2015.1 C



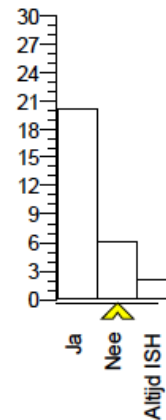
2015.1 D



2015.1 E



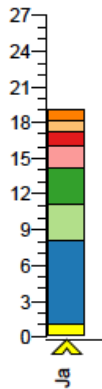
2015.1 F



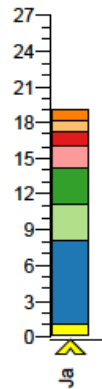
SKML - Data

- ISH beoordeling: goed

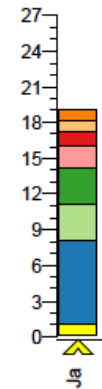
2015.2 B



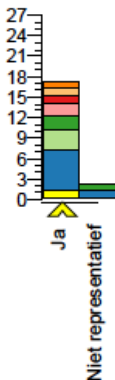
2015.2 C



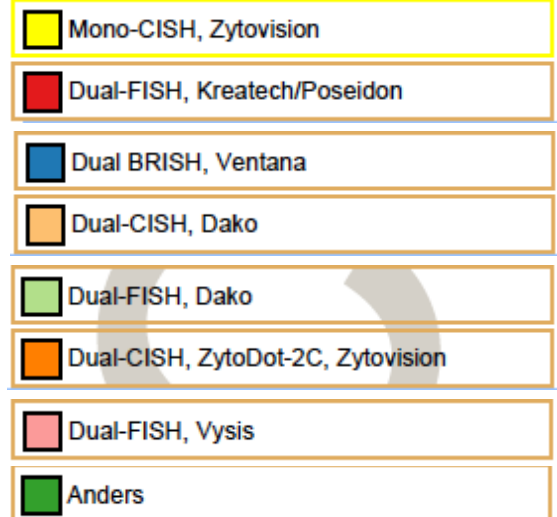
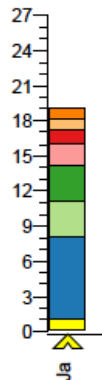
2015.2 D



2015.2 E



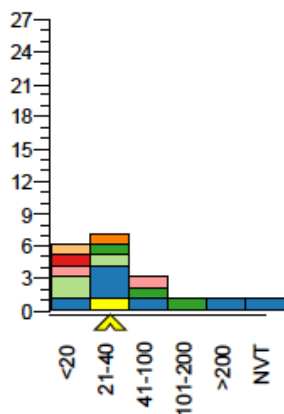
2015.2 F



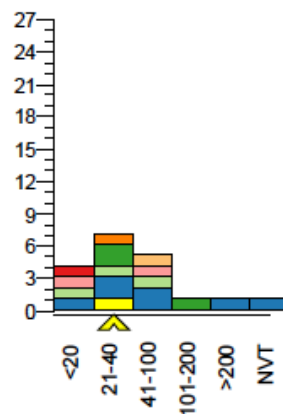
SKML - Data

- ISH aantal cellen/kernen geteld: consensus 21-40

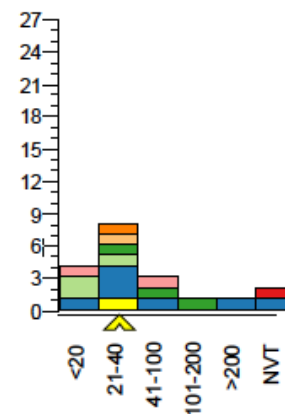
2015.2 B



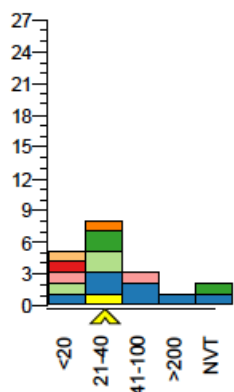
2015.2 C



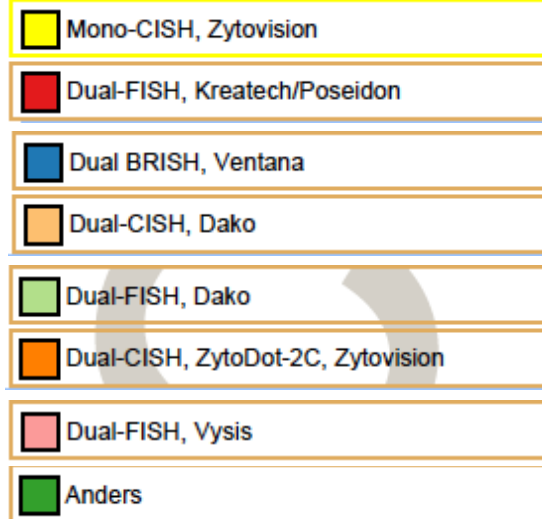
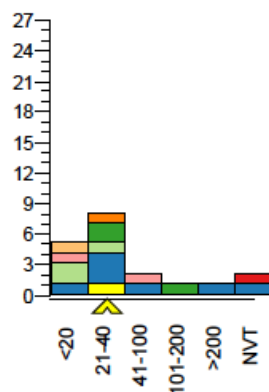
2015.2 D



2015.2 E



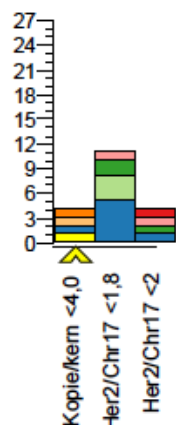
2015.2 F



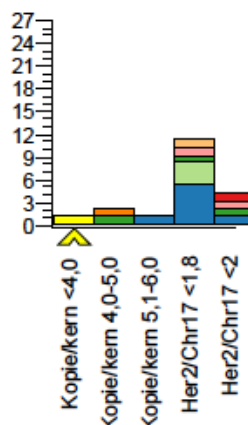
SKML - Data

- ISH score amplificatie: cut-off

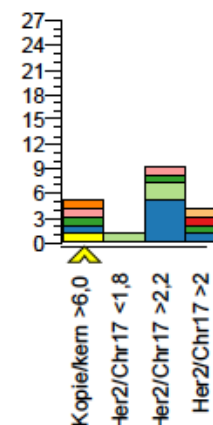
2015.2 B



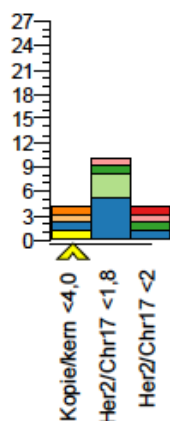
2015.2 C



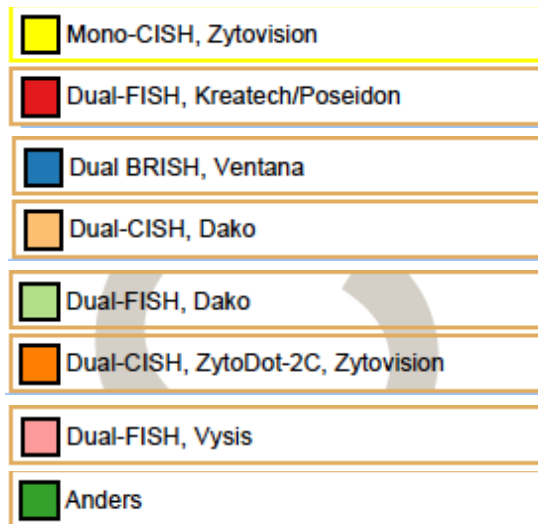
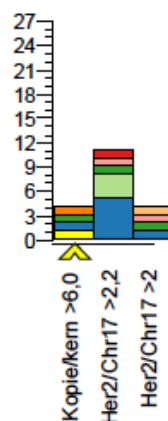
2015.2 D



2015.2 E



2015.2 F

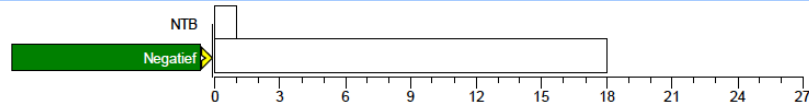


SKML - Data

- ISH score amplificatie: goed

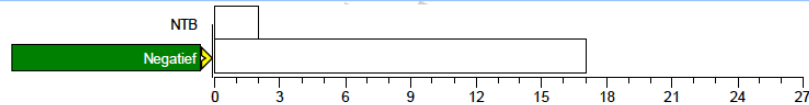
Monster : 2015.2 B

Beoordeling voor Her2 amplificatie in monster B (Mamma I):



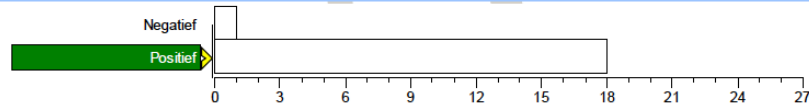
Monster : 2015.2 C

Beoordeling voor Her2 amplificatie in monster C (Mamma II):



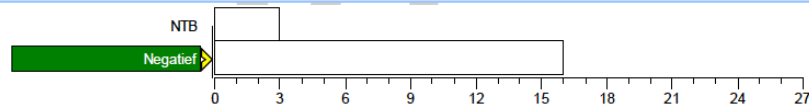
Monster : 2015.2 D

Beoordeling voor Her2 amplificatie in monster D (Mamma III):



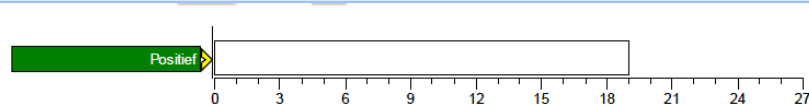
Monster : 2015.2 E

Beoordeling voor Her2 amplificatie in monster E (Mamma IV):



Monster : 2015.2 F

Beoordeling voor Her2 amplificatie in monster F (Mamma V):



Conclusie algemeen

- IHC na correctie voor aanvraag aanvullend onderzoek bij uitsluitend 2+
 - 1 casus ten onrechte positief
 - 7 casus ten onrechte negatief
- ISH
 - 1 patiënt ten onrechte negatief

		IHC					ISH		
	CONSENSUS	0	1+	2+	3+	NTB	NEG	POS	NTB
B	0	96%	4%				95%		5%
C	2+ geen amp	43%	32%	21%	4%		90%		10%
D	3+		7%	7%	86%		5%	95%	
E	1+	71%	25%			4%	84%		16%
F	2+ wel amp		18%	68%	14%			100%	

Behandeling

100% nee
100% nee
100% ja
100% nee
93% ja

Opmerkingen IHC

- Soms twijfel weergegeven
- Soms aanduiding vanaf 1+ altijd extra onderzoek, andere ook bij 3+
- Sommigen denken dat de kleuringen zwak zijn door gebruik van 3µm coupes
- Sommigen geven aan ook een ISH te willen testen, dit kan dus ook
- Sommigen geven aan controles op het materiaal te wensen
- Enkele labs doen nooit een IHC
- Soms wordt aangeduid dat coupes beschadigd zijn
- Sommigen zouden de test willen herhalen
- Sommigen vinden het te weinig casuïstiek

Opmerkingen ISH

- Sommigen zouden de test willen herhalen
- Sommigen zouden equivocal/dubieus willen selecteren
- Zwakke signalen, mogelijk door dikte coupe
- Soms 'leeggelopen kernen': overdigestie?
- Slecht materiaal

Conclusie

- Goede uitkomst van de test belangrijk voor patiëntenzorg
- Rondzending
 - Algemene resultaat IHC is goed
 - 2015 vals negatief 6 casus (5%)
 - 2014 vals negatief 20 casus (9%)
 - 2013 vals negatief 29 casus (13%)
 - Type antilichaam kan verschil maken
 - FISH resultaat is meer stabiel dan het IHC resultaat
 - Ondanks uitslagen 1+ en 3+ wordt toch ISH verricht en een enkele keer wordt geen ISH verricht bij uitslag 2+
 - Hierdoor krijgen minder patiënten uiteindelijk een onderbehandeling
 - **Doe laagdrempelig een ISH**
 - Men kan meedoen voor zowel IHC als ISH
- Meld je aan bij SKML

Casus C, 2+ geen amplificatie

- 12 labs 0, geen zou een ISH doen
- 9 labs 1, geen zou een ISH doen
- 6 labs 2+, maar 5 zouden ISH doen
- 1 lab 3+, echter verwisseling
- 100% goede behandeling

		IHC					ISH		
	CONSENSUS	0	1+	2+	3+	NTB	NEG	POS	NTB
B	0	96%	4%				95%		5%
C	2+ geen amp	43%	32%	21%	4%		90%		10%
D	3+		7%	7%	86%		5%	95%	
E	1+	71%	25%			4%	84%		16%
F	2+ wel amp		18%	68%	14%			100%	

Casus D, 3+ amplificatie

- 2 labs 1+; eenmaal te zwak en ISH wordt gedaan; eenmaal verwisseling
- 2 labs 2+; beide doen ISH
- 15 labs 3+; 8 doen een ISH en 2 doen standaard alleen ISH
- 100% goede behandeling

		IHC					ISH		
	CONSENSUS	0	1+	2+	3+	NTB	NEG	POS	NTB
B	0	96%	4%				95%		5%
C	2+ geen amp	43%	32%	21%	4%		90%		10%
D	3+		7%	7%	86%		5%	95%	
E	1+	71%	25%			4%	84%		16%
F	2+ wel amp		18%	68%	14%			100%	

Casus E, 1+

- 20 labs 0
- 7 labs 1+
- 1 lab doet ISH en 2 labs doen standaard ISH
- 100% goede behandeling

		IHC					ISH		
	CONSENSUS	0	1+	2+	3+	NTB	NEG	POS	NTB
B	0	96%	4%				95%		5%
C	2+ geen amp	43%	32%	21%	4%		90%		10%
D	3+		7%	7%	86%		5%	95%	
E	1+	71%	25%			4%	84%		16%
F	2+ wel amp		18%	68%	14%			100%	

Casus F, 2+ amplificatie

- 5 labs score 1+
 - 2 labs kleuring voldoet en doen geen ISH
 - 1 lab kleuring voldoet, doet ISH
 - 2 labs kleuring voldoet niet, echter 1 keer een ISH
- 19 labs 2+, allen zouden FISH doen
- 4 labs 3+, waarvan een lab een ISH zou doen
- 93% goede behandeling

		IHC					ISH		
	CONSENSUS	0	1+	2+	3+	NTB	NEG	POS	NTB
B	0	96%	4%				95%		5%
C	2+ geen amp	43%	32%	21%	4%		90%		10%
D	3+		7%	7%	86%		5%	95%	
E	1+	71%	25%			4%	84%		16%
F	2+ wel amp		18%	68%	14%			100%	

Table 1. Correlation Between HER2/neu Immunohistochemistry (IHC) and Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Results Using 2007 Guidelines				
IHC	FISH, No. (%)			Total, No. (%)
	Negative	Equivocal	Positive	
Negative	47 (8.0)	0 (0)	2 (0.3)	49 (8.3)
Equivocal	418 (70.8)	4 (0.7)	90 (15.3)	512 (86.8)
Positive	2 (0.3)	0 (0)	27 (4.6)	29 (4.9)
Total	467 (79.1)	4 (0.7)	119 (20.2)	590

Table 2. Correlation Between HER2/neu Immunohistochemistry (IHC) and Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Results Using 2013 Guidelines				
IHC	FISH, No. (%)			Total, No. (%)
	Negative	Equivocal	Positive	
Negative	41 (6.9)	6 (1.0)	2 (0.3)	49 (8.3)
Equivocal	365 (61.9)	49 (8.3)	89 (15.1)	503 (85.3)
Positive	3 (0.5)	1 (0.2)	34 (5.8)	38 (6.4)
Total	409 (69.3)	56 (9.5)	125 (21.2)	590

Table 3. Comparison of HER2/neu Immunohistochemistry Data Between 2007 and 2013 Scoring Guidelines				
2007 Guidelines	2013 Guidelines, No. (%)			Total, No. (%)
	Negative	Equivocal	Positive	
Negative	49 (8.3)	0 (0)	0 (0)	49 (8.3)
Equivocal	0 (0)	503 (85.3)	9 (1.5)	512 (86.8)
Positive	0 (0)	0 (0)	29 (4.9)	29 (4.9)
Total	49 (8.3)	503 (85.3)	38 (6.4)	590

Arch Pathol Lab Med. 2016 Feb;140(2):140-7. doi: 10.5858/arpa.2015-0108-OA.

Implications of the Updated 2013 American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations on Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Gene Testing Using Immunohistochemistry and Fluorescence In Situ Hybridization for Breast Cancer. Lim TH1, Lim AS, Thike AA, Tien SL, Tan PH.