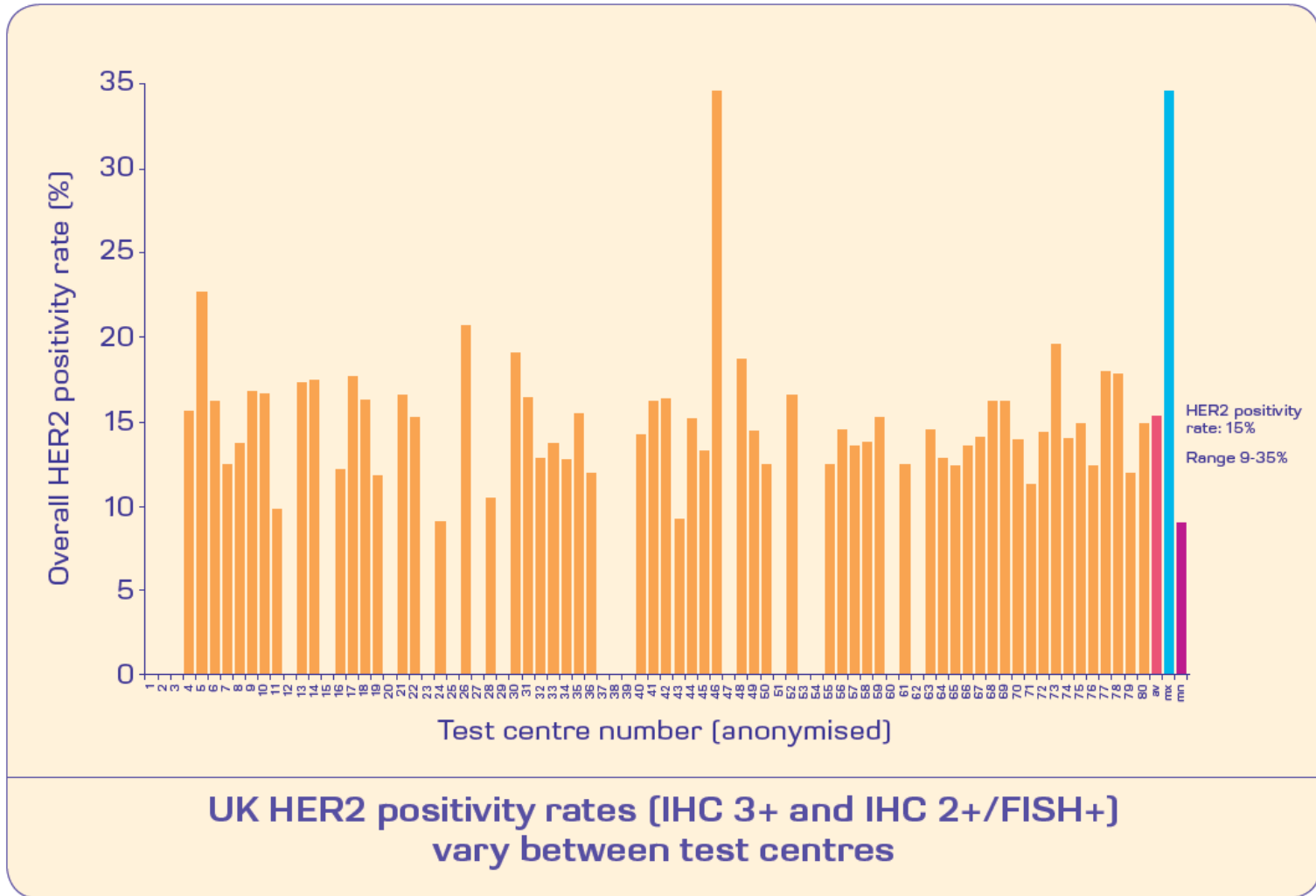


# Qualitätssicherung der HER-2/neu-Bestimmung beim Mammakarzinom

Angelika Reiner-Concin  
Pathologisch-Bakteriologisches Institut  
Donauspital  
Wien

# Statistische Analysen und Benchmarking

# HER2 positivity rates vary across centres - UK



**UK HER2 positivity rates (IHC 3+ and IHC 2+/FISH+)  
vary between test centres**



# HER-2 positive Mammakarzinome in Österreich

- Score 3+ und 2+ / FISH amplifiziert
  - 15%

<b>HER-2 Score 2+</b>	<b>% aller HER-2</b>	davon amplifiziert	<b>% amplifiziert</b>	
30		6		
43	<b>37</b>	4	<b>10,8</b>	
2	<b>2,4</b>	0	<b>0</b>	
4	<b>5,6</b>	4	<b>100</b>	
22	<b>12,6</b>	5	<b>22,7</b>	DCIS inkludiert
31	<b>20,4</b>	1	<b>3,2</b>	
31	<b>20,5</b>	2	<b>6,5</b>	
9	<b>12,3</b>	2	<b>22,2</b>	
11	<b>20,4</b>	0	<b>0</b>	
39	<b>36,8</b>	3	<b>7,7</b>	DCIS inkludiert
29	<b>20,4</b>	3	<b>10,3</b>	
25	<b>5,1</b>	12	<b>48</b>	DCIS inkludiert?
9	<b>4,3</b>	9	<b>100</b>	
2	<b>1,1</b>	1	<b>50</b>	
11	<b>12,4</b>	4	<b>36,4</b>	
28	<b>7,9</b>	8	<b>28,6</b>	
10	<b>4,9</b>	5	<b>50</b>	
35	<b>9,4</b>	10	<b>28,6</b>	
4	<b>1,7</b>	2	<b>50</b>	
<b>375</b>		<b>81</b>	<b>21</b>	

~ 15% Score 2+

Ringversuche

Labortechnik  
Interpretation

Ringversuch

HER-2/neu  
Immunhistochemie



# Teilnahme

- 2000 32/33 Institute 97 %
- 2001 30/34 Institute 91 %
- 2004 32/36 Institute 88%
  
- 2010 HER-2 31/ 34 Institute **91%**  
und 5 niedergelassene Labors für IHC  
  
22/34 Institute **65%**  
und 1 niedergelassenes Labor für ISH

# Bewertung der Ergebnisse

- **Klinisch signifikante Abweichung**
  - falsch positive und falsch negative Ergebnisse
- **Optimal**
  - die gewünschten Ergebnisse wurden komplett erreicht.
- **Borderline**
  - eine klinisch signifikante Abweichung.
- **Unzureichend**
  - mehr als eine klinisch signifikante Abweichung



# HER-2 Immunhistochemie



Ringversuche

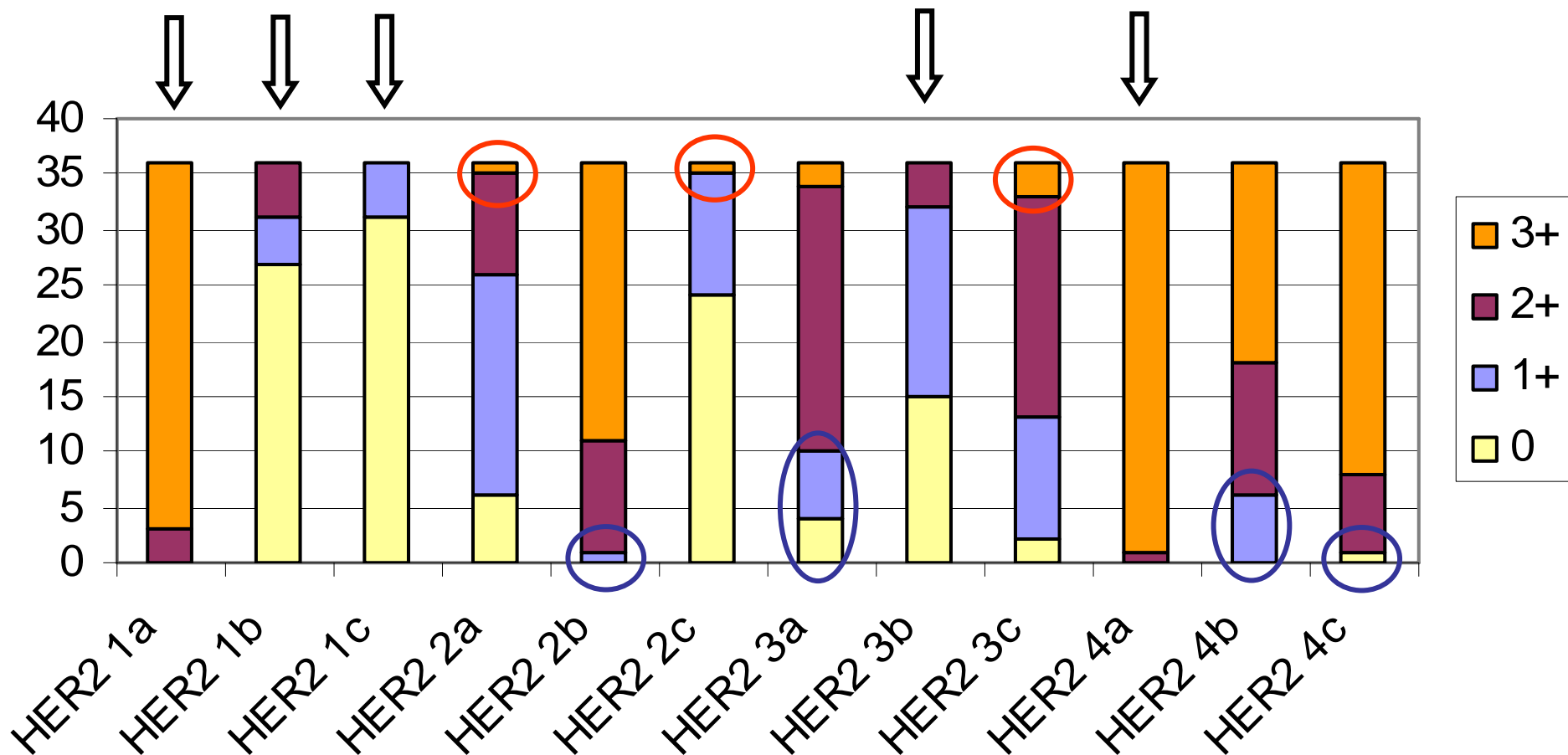
Fall	ISH Ratio	Bewertung	Zu erzielender Score
HER-2 1A	4,55	amplifiziert	3+ / 2+
HER-2 1B	0,98	nicht amplifiziert	0 / 1+ / 2+
HER-2 1C	1,03	nicht amplifiziert	0 / 1+ / 2+
HER-2 2A	1,19	nicht amplifiziert	0 / 1+ / 2+
HER-2 2B	4,73	amplifiziert	3+ / 2+
HER-2 2C	1,18	nicht amplifiziert	0 / 1+ / 2+
HER-2 3A	4,32	amplifiziert	3+ / 2+
HER-2 3B	1,11	nicht amplifiziert	0 / 1+ / 2+
HER-2 3C	1,76	nicht amplifiziert	0 / 1+ / 2+
HER-2 4A	6,08	amplifiziert	3+ / 2+
HER-2 4B	5,94	amplifiziert	3+ / 2+
HER-2 4C	7,7	amplifiziert	3+ / 2+



# HER-2 IHC Ergebnisse



Ringversuche



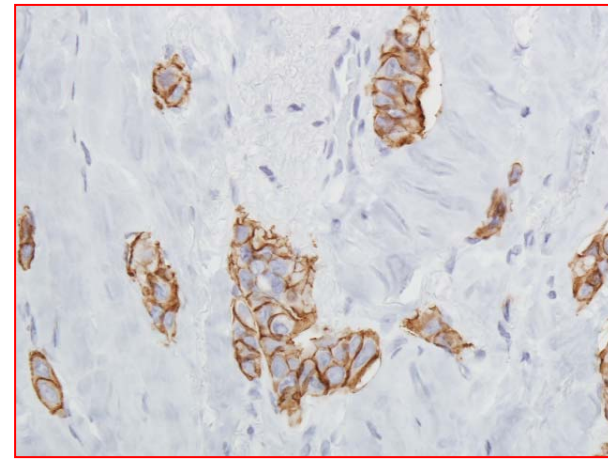
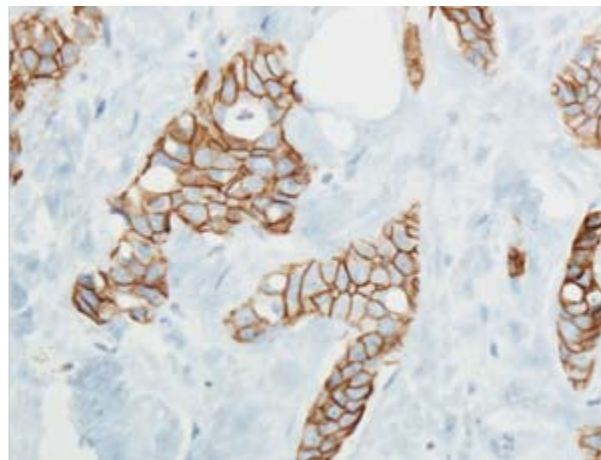
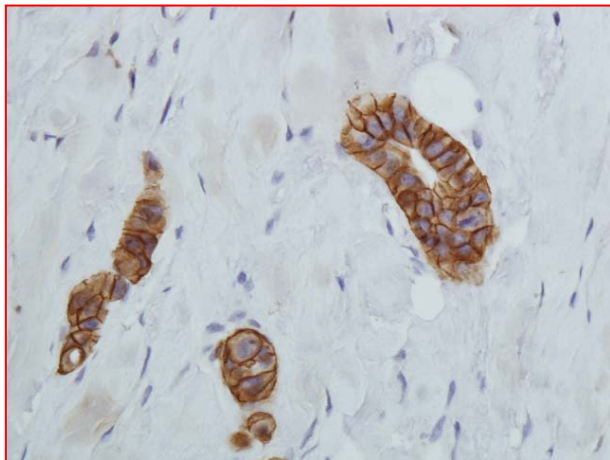
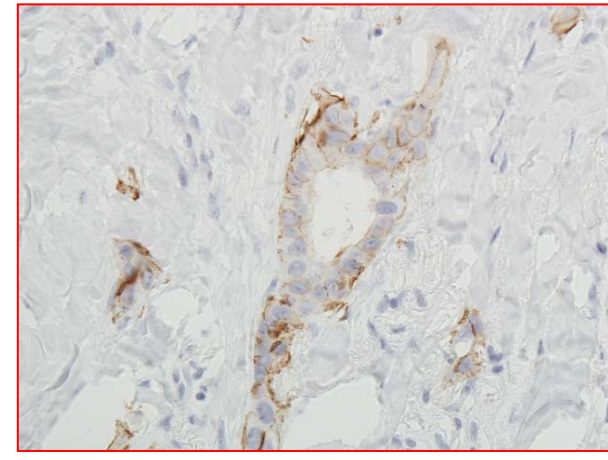
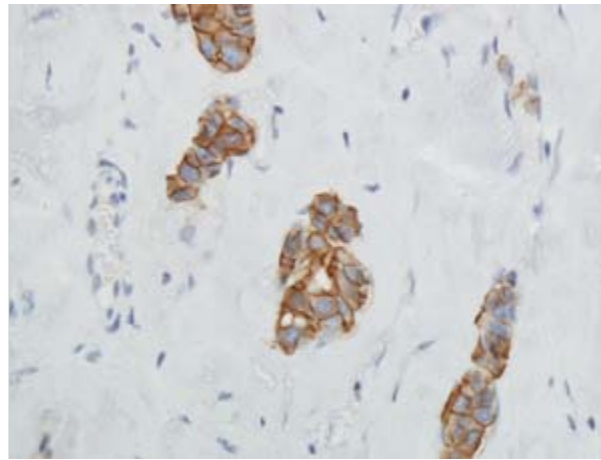
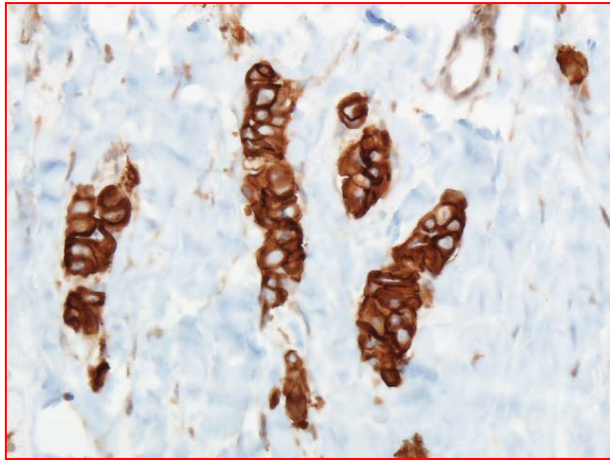
18 falsch negative = 4,2%

5 falsch positive = 1,16%

# Entwicklung der Ergebnisse der Ringversuche Immunhistochemie für HER-2

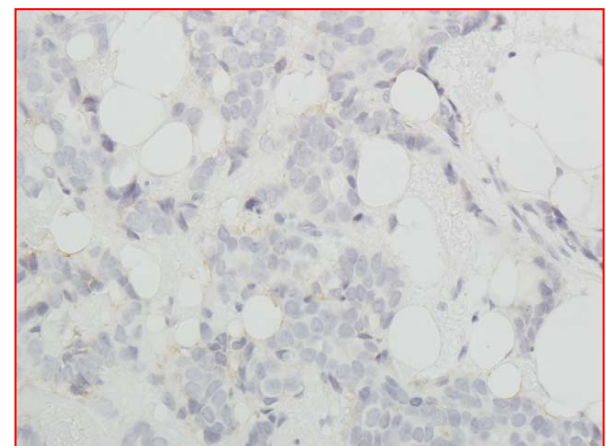
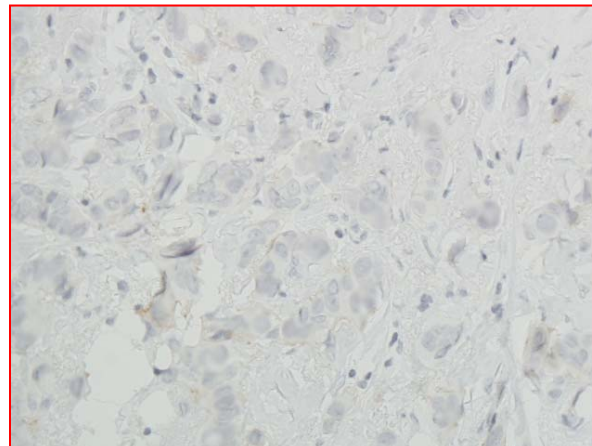
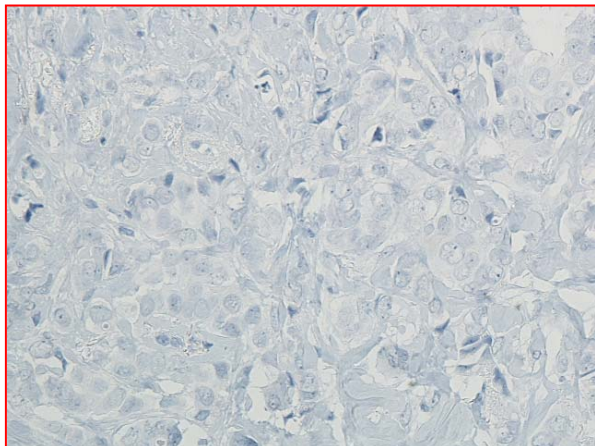
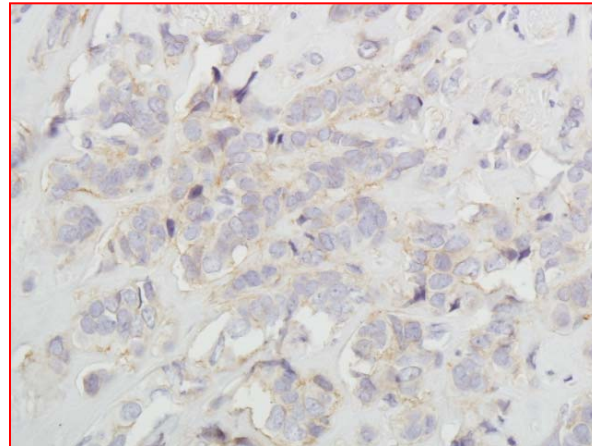
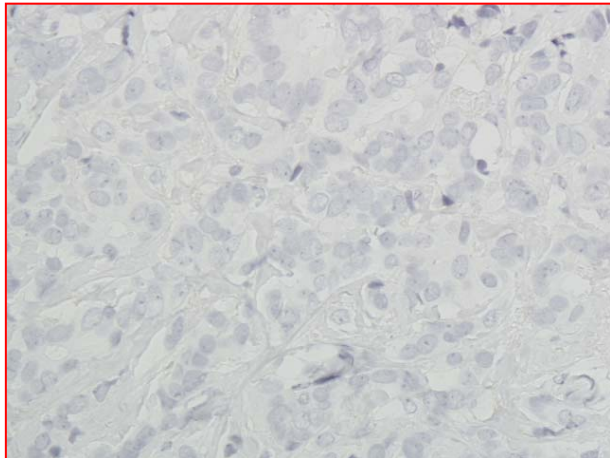
RV HER-2	Falsch negativ %	Falsch positiv %	Kappa gesamt
2002	1,3	2,5	0,37
2004	1,92	0,6	0,4
2009	4,2	1,16	0,4

# 4b **amplifiziert** Mehrheit Score 3+

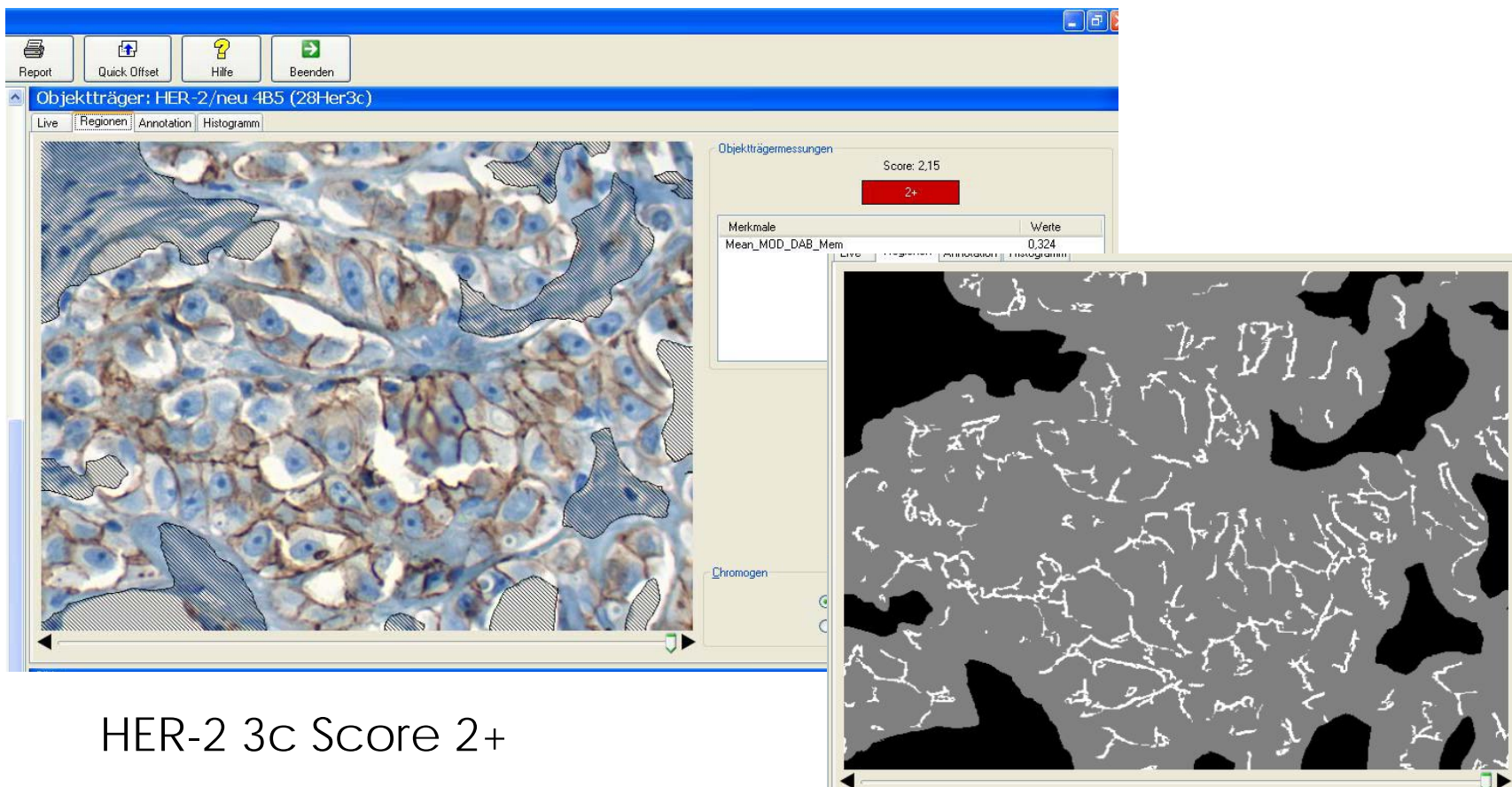


# 2c nicht amplifiziert

## Mehrheit Score 0 / 1+



### IHC VIAS 33 Institute



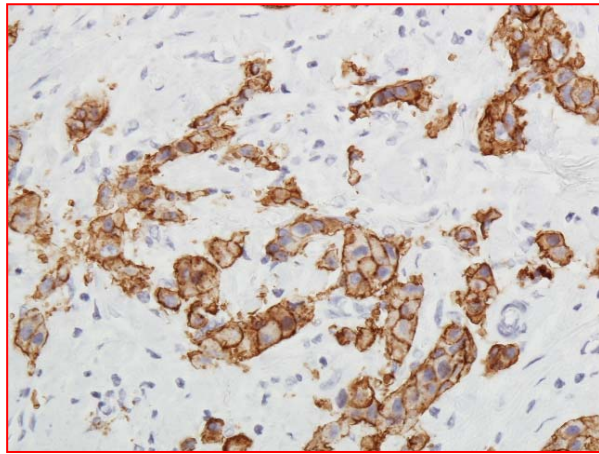
The screenshot displays the VIAS software interface. The main window shows a histology image with a score of 2+ and a corresponding thresholded image. The interface includes a menu bar with options like 'Report', 'Quick Offset', 'Hilfe', and 'Beenden'. The main window title is 'Objektträger: HER-2/neu 4B5 (28Her3c)'. The 'Objektträgermessungen' panel shows a score of 2,15 and a red '2+' indicator. A table of features and values is visible:

Merkmal	Werte
Mean_MOD_DAB_Mem	0,324

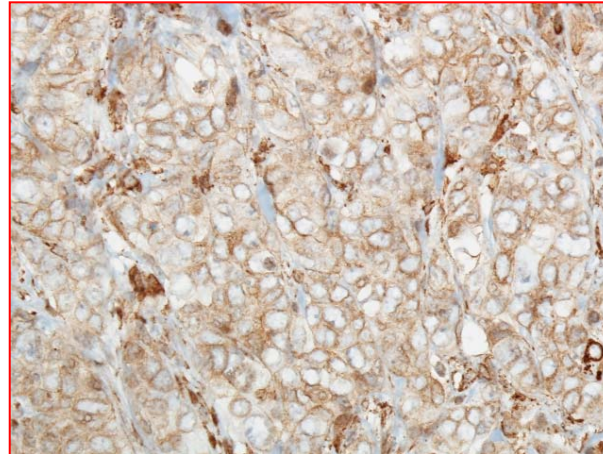
The 'Chromogen' checkbox is also visible. The thresholded image shows the detected regions in white on a grey background.

HER-2 3c Score 2+

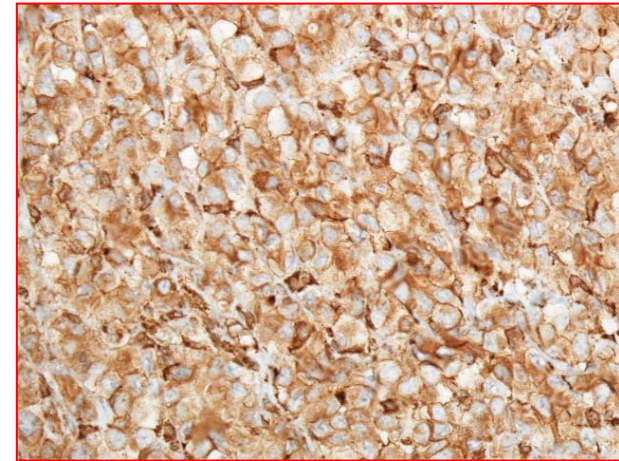
# Scoring Differenzen Institut / VIAS®



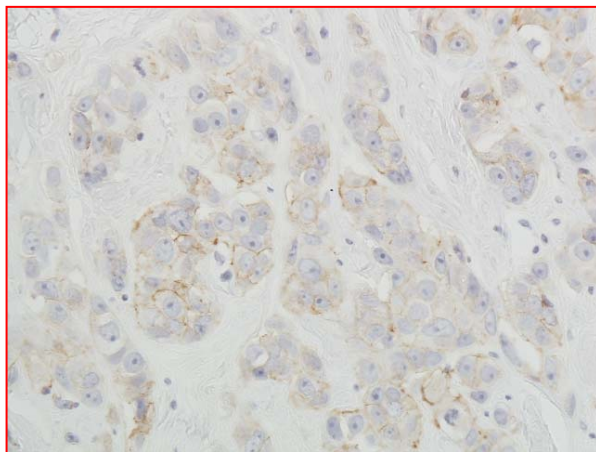
2+ / 3+



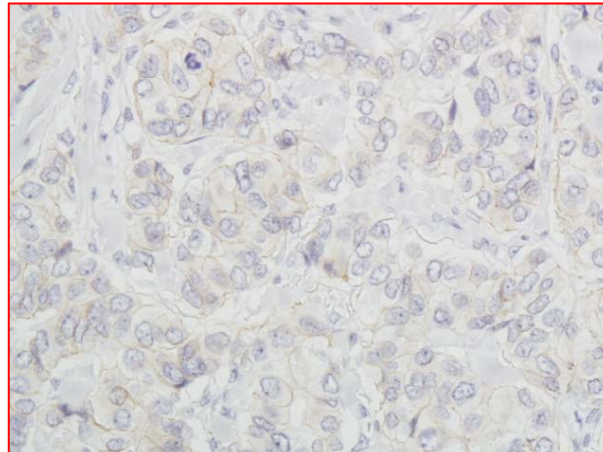
1+ / 2+



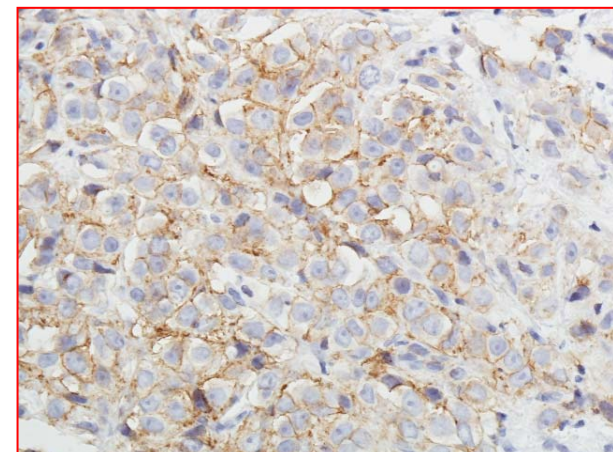
1+ / 3+



2+ / 1+



2+ / 1+



1+ / 2+



# Scoring Institute und VIAS<sup>®</sup> n=358, Korrelation=73%

		Institut			
		0	1+	2+	3+
VIAS	0	87	27	2	1
	1+	3	27	2	1
	2+		11	40	7
	3+	2	3	24	126
		92	68	68	135
		<b>98%</b>	<b>79%</b>	<b>58%</b>	<b>93%</b>



# Diskrepante Beurteilungen von VIAS<sup>®</sup> und Instituten



Ringversuche

- **Klinisch relevante Korrekturen durch VIAS<sup>®</sup>**  
n=10 (2,8%)

- **Nicht amplifiziert**

Institut	VIAS	n
3+	0/1+	2
3+	2+	1

- **Amplifiziert**

Institut	VIAS	n
1+	2+	5
0/1+	3+	2

- Befundung falscher Färbungen durch VIAS<sup>®</sup>

- Zu schwache Färbungen bei Amplifikation  
18 x Score 0/1+

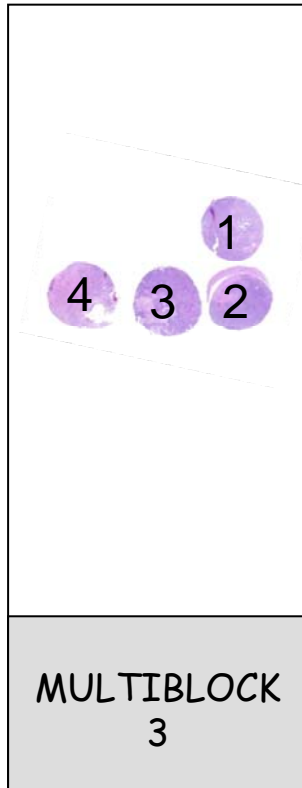
- Zu starke Färbung bei nicht-Amplifikation

Institut	VIAS	n
1+	3+	2
3+	3+	2

# Ringversuch HER-2/neu

In situ Hybridisierung

# Multiblock Arrays



Goldstandard: FISH Ratio  
 Ratio vorab durch KHL und DSP  
 übereinstimmend verblindet  
 bestimmt  
 Durchschnitt aus drei  
 Bestimmungen

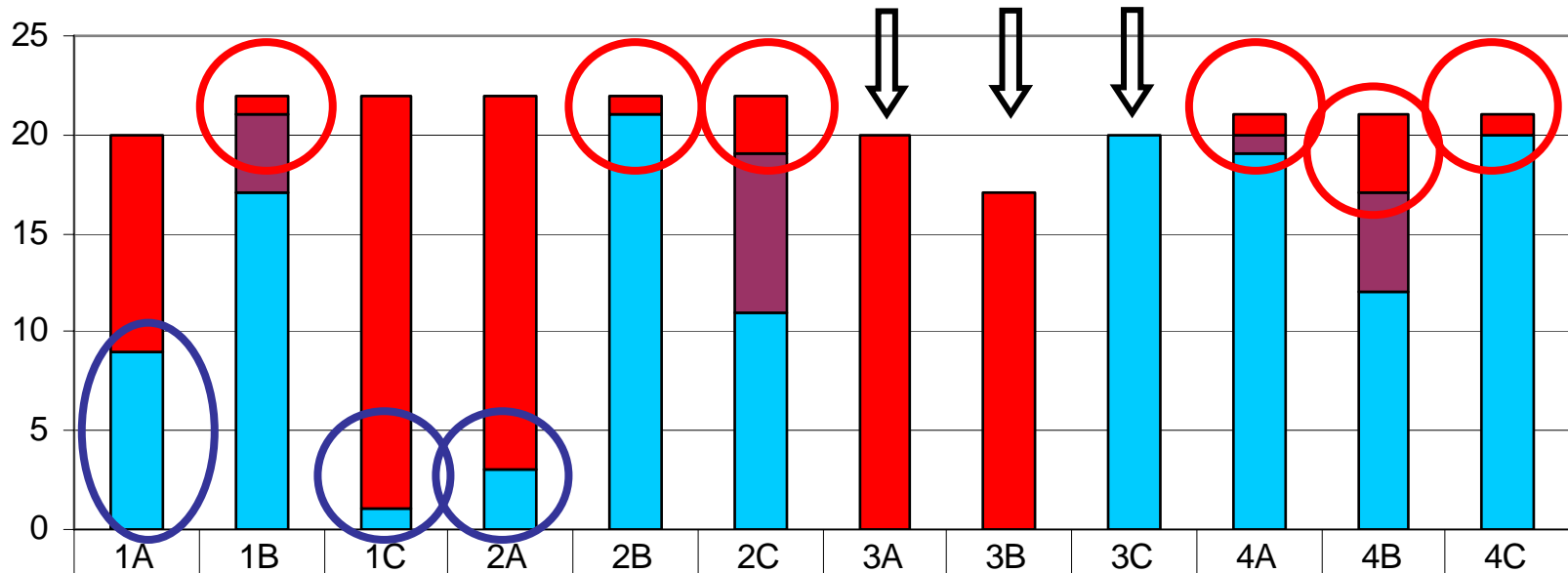
Core	Ratio Referenz	Bewertung
HER2 ISH 1 A	4,49	amplifiziert
HER2 ISH 1 B	1,86	equivocal
HER2 ISH 1 C	5,17	amplifiziert
HER2 ISH 2 A	6,36	amplifiziert
HER2 ISH 2 B	1,10	nicht amplifiziert
HER2 ISH 2 C	1,99	equivocal
HER2 ISH 3 A	4,65	amplifiziert
HER2 ISH 3 B	4,42	amplifiziert
HER2 ISH 3 C	0,70	nicht amplifiziert
HER2 ISH 4 A	1,45	nicht amplifiziert
HER2 ISH 4 B	1,71	nicht amplifiziert
HER2 ISH 4 C	0,64	nicht amplifiziert

# Ergebnisse

- 22 Institute haben teilgenommen
- 4 Institute haben nicht von allen 12 Fällen Ergebnisse eingeschickt  
(1 x 6, 1 x 8, 1 x 9, 1 x 11 Fälle)
- 250 Bestimmungen, davon  
226 (90,4%) richtig

# Ergebnisse

## In Situ Hybridisierung HER-2



■ amplifiziert	11	1	21	19	1	3	20	17		1	4	1
■ equivocal		4				8				1	5	
■ nicht amplifiziert	9	17	1	3	21	11			20	19	12	20

■ nicht amplifiziert ■ equivocal ■ amplifiziert

**Falsch negative 5,2%**

**Falsch positive 4,4%**

# Ergebnisse

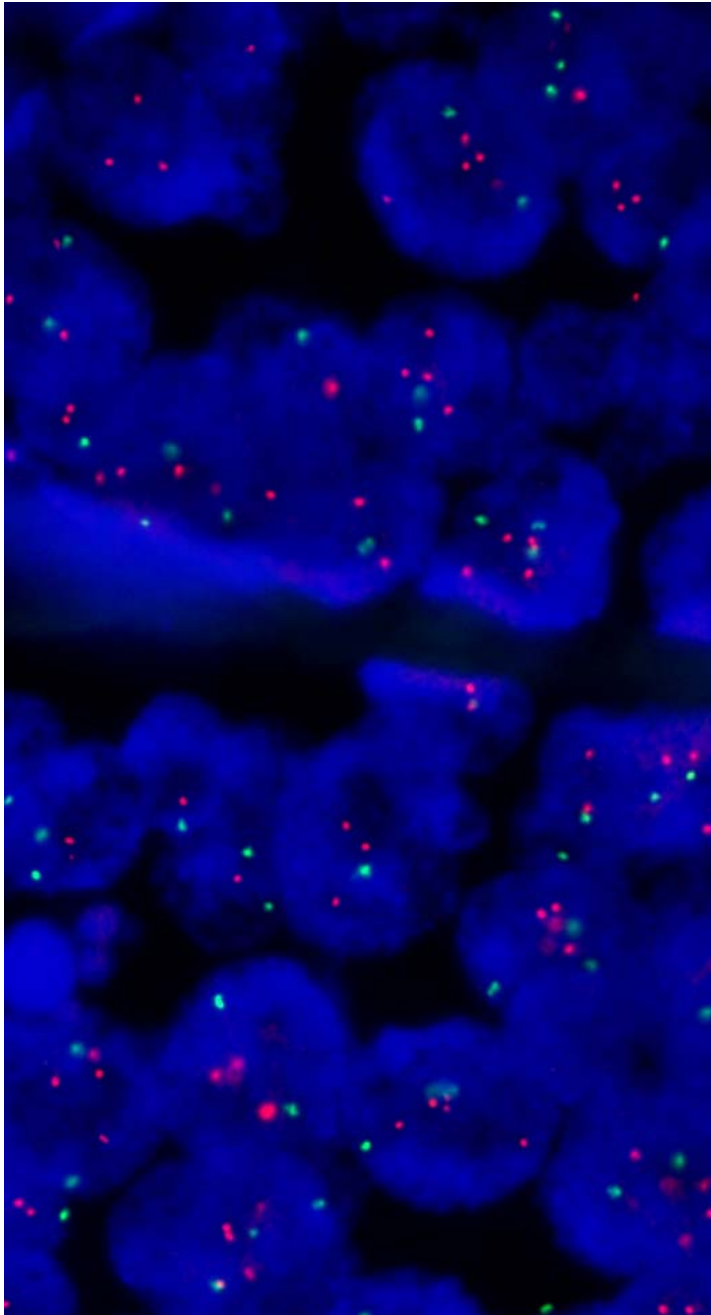
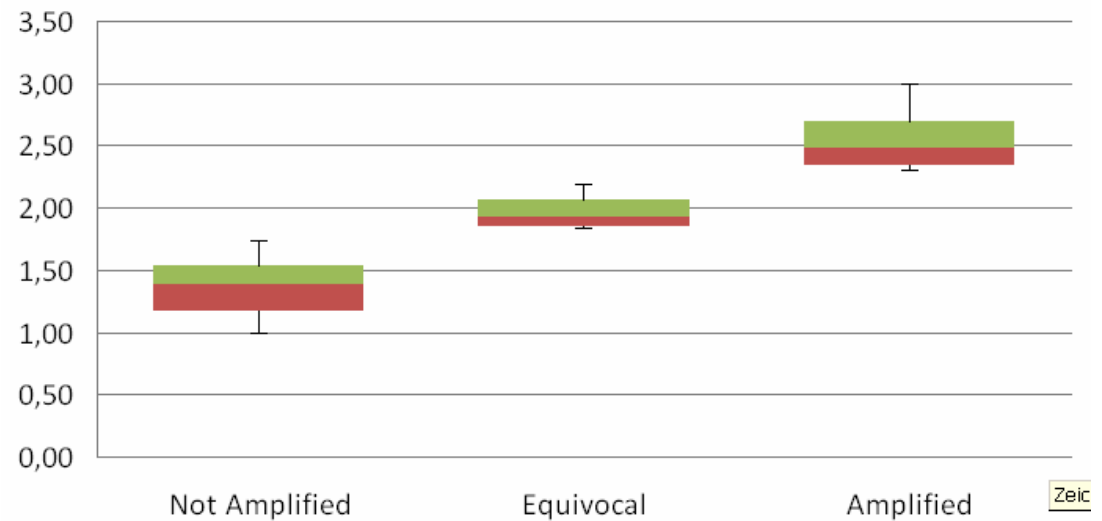
- 3 falsch negative Ergebnissen
  - bei Ratio 4,49
  - 5,17
  - 6,36
- 4 von 11 falsch positiven Ergebnissen
  - bei Ratio equivocal 1,86
  - 1,99
- 6 von 11 falsch positiven Ergebnissen
  - bei Ratio 0,64
  - 1,10
  - 1,71

# Fallbeispiel 4B

Referenz-Ratio: 1,71

Nicht amplifiziert	equivocal	amplifiziert
12	5	4

### Boxplot HER-2 ISH 4 B



# Zusammenfassung

- Bessere Ergebnisse wünschenswert
- Ringversuche alleine nicht ausreichend
- Statistische Auswertungen hilfreich zur Standortbestimmung
- Qualitätsarbeit kontinuierlich erforderlich