



## **Controllo Di Concordezza Diagnostica (CCD) Interregionale, Con metodiche di In Situ Hybridization (ISH) - con doppia sonda - per la derminazione di HER2 nel carcinoma della mammella**

**Approvato dal Gruppo di Studio sulla Patologia Molecolare**

**A cura di:** Ludovica Verdun Di Cantogno

**Coordinatori:** Francia di Celle Paola, Venesio Tiziana

### **Partecipanti:**

Cappia Susanna, Casorzo Laura, Di Benedetto Massimo, Falcone Patrizia Agnese, Giugliano Emilia, Giustetto Doriana, Maffè Antonella, Mariani Sara, Orecchia Sara, Pegoraro Fabiola, Rapa Ida, Saponaro Sara, Scaravaglio Patrizia, Scatolini Maria, Schillaci Francesca, Trisolini Elena, Veggiani Claudia, Verdun Di Cantogno Ludovica

**Centri di Patologia Molecolare di Piemonte e Valle  
d'Aosta: efficienza e qualità dell'attività in ambito  
oncologico**



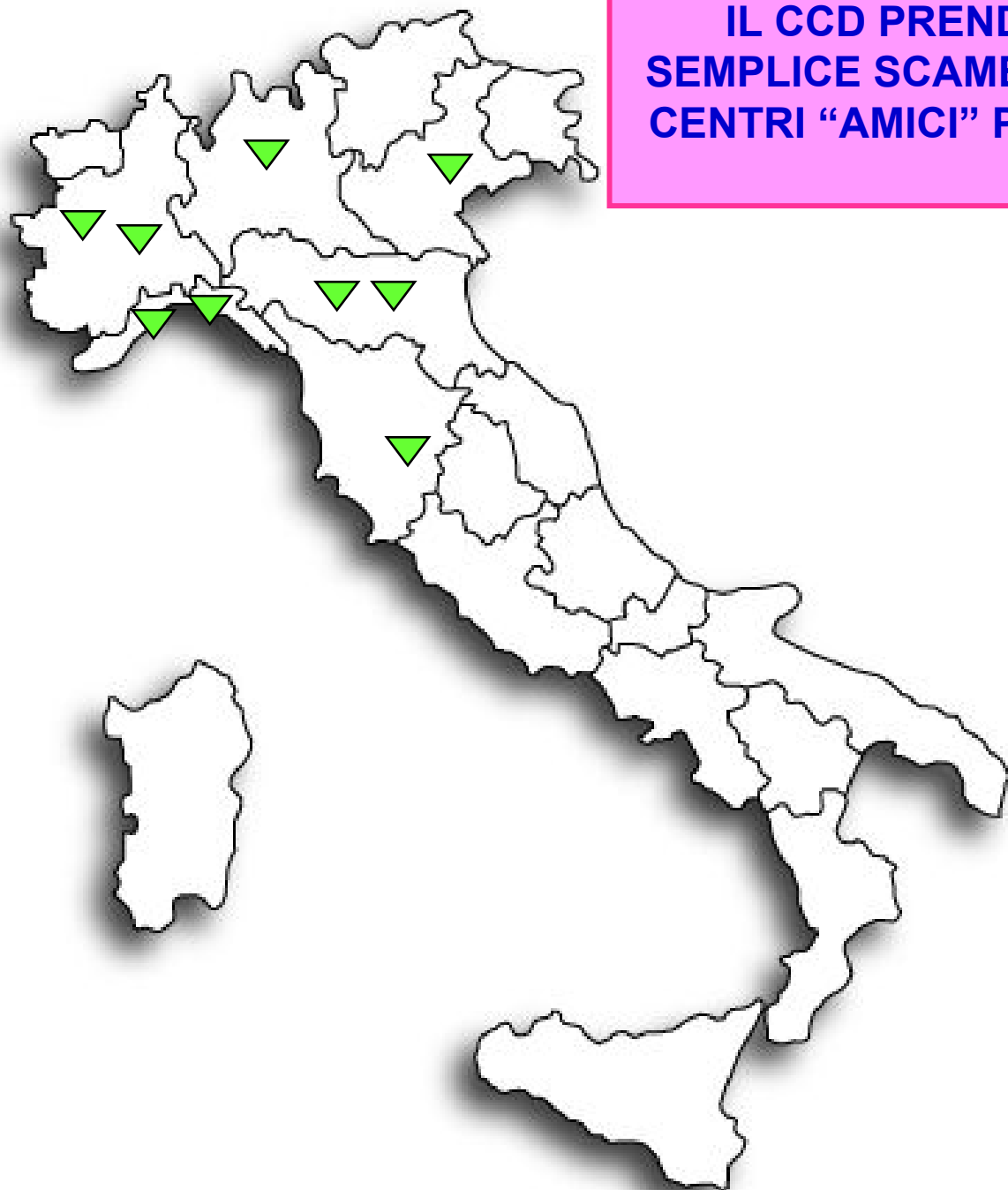
# **Controllo di Concordanza Diagnostica (CCD) Interregionale, con metodiche di In Situ Hybridization (ISH) - con doppia sonda - per la determinazione di *HER2* nel carcinoma della mammella**

**Dott.ssa Ludovica Verdun di Cantogno**

**Anatomia Patologica 2U, Città della Salute e della Scienza di Torino, presidio Molinette**

**Torino, 25 marzo 2018**

**A cura di Ludovica Verdun di Cantogno e condiviso dal Gruppo di Patologia Molecolare**



**IL CCD PRENDE IL VIA NEL 2008 COME  
SEMPLICE SCAMBIO RECIPROCO DI CASI TRA  
CENTRI "AMICI" PER VERIFICARE IL PROPRIO  
OPERATO**

**Centri totali**

**9**

## **Gruppo Unico**

|                               |
|-------------------------------|
| <b>Bologna - Bellaria</b>     |
| <b>Candiolo - IRCC</b>        |
| <b>Firenze - Careggi</b>      |
| <b>Genova - Galliera</b>      |
| <b>Genova - IST</b>           |
| <b>Milano - S. Raffaele</b>   |
| <b>Parma</b>                  |
| <b>Torino - Molinette</b>     |
| <b>Treviso - Osp Generale</b> |

**10 ANNI DOPO, NEL DICEMBRE 2018, IL CCD  
CONTA 78 CENTRI ADERENTI IN TUTTE LE  
REGIONI ITALIANE**



**Centri totali  
78**

**7 Gruppi  
nuova assegnazione  
da gennaio 2017:**

**A, B, C, D, E, F, G**

# 78 Centri partecipanti al CCD Interregionale Dicembre 2018



| n° | CENTRO                        | n° | CENTRO                  | n° | CENTRO                        |
|----|-------------------------------|----|-------------------------|----|-------------------------------|
| 1  | Alba - San Lazzaro            | 27 | Dolo (VE)               | 53 | Parma                         |
| 2  | Albano Laziale (Roma)         | 28 | Firenze                 | 54 | Pavia - Maugeri               |
| 3  | Alessandria                   | 29 | Foggia                  | 55 | Pavia - S.Matteo              |
| 4  | Ancona                        | 30 | Foligno (PG)            | 56 | Perugia                       |
| 5  | Andria - L.Bonomo             | 31 | Genova - Galliera       | 57 | Piacenza                      |
| 6  | Asti - Cardinal Massaia       | 32 | Genova IRCCS-S.Martino  | 58 | Pietra Ligure (SV)            |
| 7  | Arzignano (Vi)                | 33 | Latina                  | 59 | Pisa- Cisanello               |
| 8  | Bari - Aldo Moro              | 34 | Lecco                   | 60 | Potenza - S. Carlo            |
| 9  | Bari - Giovanni Paolo II      | 35 | Legnano (MI)            | 61 | Reggio Calabria               |
| 10 | Bari - Giovanni Paolo II SISH | 36 | Lodi                    | 62 | Reggio Emilia                 |
| 11 | Bellaria (BO)                 | 37 | Milano IRCCS (BL. 2B)   | 63 | Roma Campus Biomedico         |
| 12 | Belluno                       | 38 | Milano IRCCS (BL. F)    | 64 | Roma - Gemelli                |
| 13 | Bergamo                       | 39 | Milano - Multimedica    | 65 | Roma- Isola Tiberina          |
| 14 | Brescia- Fond. Poliamb.       | 40 | Milano - Sacco          | 66 | Roma - S.Andrea               |
| 15 | Brescia - Osp. Civili         | 41 | Milano - S.Paolo        | 67 | Roma - S.Giovanni             |
| 16 | Brescia - S.Anna              | 42 | Milano - S.Raffaele     | 68 | Rovigo                        |
| 17 | Campobasso - Cardarelli       | 43 | Modena                  | 69 | Rozzano (MI)                  |
| 18 | Candiolo IRCC (TO)            | 44 | Napoli - Cardarelli     | 70 | S. Giovanni Rotondo (FG) CISH |
| 19 | Castelfranco Veneto (TV)      | 45 | Napoli - Federico II    | 71 | Sassari                       |
| 20 | Castellammare di Stabia       | 46 | Napoli - IRCCS          | 72 | Siena                         |
| 21 | Catania - Humanitas           | 47 | Negrar (VR)- S. Cuore   | 73 | Torino - Molinette            |
| 22 | Como - S.Anna                 | 48 | Novara                  | 74 | Trento                        |
| 23 | Cosenza                       | 49 | Orbassano (TO)- S.Luigi | 75 | Treviso                       |
| 24 | Cremona                       | 50 | Ortona                  | 76 | Udine                         |
| 25 | Cuneo                         | 51 | Padova                  | 77 | Verona - Policlinico          |
| 26 | Desio (MB)                    | 52 | Palermo                 | 78 | Viterbo                       |

## ORGANIZZAZIONE A “RING”

nel Controllo di Concordanza Diagnostica (CCD):

i centri, divisi in gruppi di non più di 12 partecipanti, si scambiano un caso al mese secondo un calendario prestabilito dal centro coordinatore (Torino Molinetta)

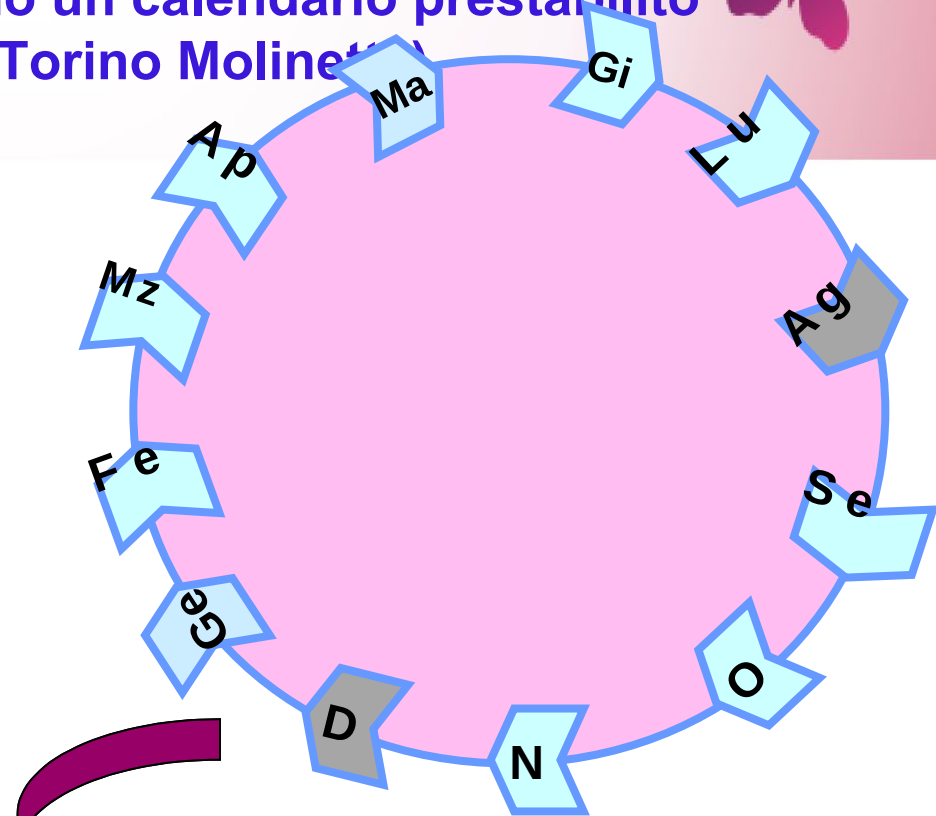


- **Suddivisione** dei centri partecipanti in 7 gruppi **A, B, C, D, E, F, G** (non più di 12 partecipanti per gruppo)\_

- **Invio mensile** di un caso da analizzare a rotazione tra i centri di uno stesso gruppo

- **Inserimento dei risultati FISH** in un apposito sito con password di accesso

- **Raccolta dati** in un unico centro (Torino) con feedback dei risultati agli altri centri



- **No sovraccarico** di un singolo centro nella gestione dei casi da inviare per l'analisi.

- **Possibilità di valutare la qualità preanalitica** del preparato allestito dai centri partecipanti.

# SITO WEB: pagina principale



Ad ogni centro partecipante vengono assegnati:

- Password di accesso al sito
- Codice identificativo del proprio centro

## Progetto Interregionale per i controlli di Qualità Indagini FISH su Tessuti Solidi

Centro

Password

Enter

Per ottenere o modificare i parametri di accesso al sito  
inviare una richiesta via e-mail a [stefano.vigna@unito.it](mailto:stefano.vigna@unito.it)  
indicando nome del centro e password desiderata.

**UNA VOLTA ENTRATI NEL SITO DEDICATO E' POSSIBILE  
L'INSERIMENTO DEI DATI (F)ISH OTTENUTI E QUINDI IDENTIFICARE  
LO STATO DI *HER2* CONSEGUENTE SECONDO LE ATTUALI LINEE  
GUIDA ASCO/CAP 2018, SELEZIONANDO L'APPOSITA DICITURA NEL  
MENU A TENDINA**



N° CCD: **G01/19**

Data: **20/03/2019** (data ultima modifica)

**DATI ISH**

N° cellule contate

N° Medio Segnali HER2

N° Medio Segnali Centromero17

Ratio HER2/CEP17

Presenza di popolazione  
etereogenena  Se si, inserire % cellule amplificate  %

Stato HER2

POS Gruppo 1:  $RATIO > 2$  e Media HER2  $> 4$   
POS Gruppo 2 :  $RATIO > 2$  e Media HER2  $< 4$  con IHC = 3+  
POS Gruppo 3 :  $RATIO < 2$  e Media HER2  $> 6$   
POS Gruppo 4 :  $RATIO < 2$  e Media HER2  $> 4 < 6$  (ex EQV) con IHC = 3+  
POS per popolazione: Presenza di una popolazione aggregata amplificata  $> 10\%$   
POS "clusters": Pattern di HER2 a Clusters, Ratio non calcolabile  
NEG Gruppo 5:  $RATIO < 2$  e Media HER2  $< 4$   
NEG Gruppo 2:  $RATIO > 2$  e Media HER2  $< 4$   
NEG Gruppo 3:  $RATIO < 2$  e Media HER2  $> 6$  con IHC = 0/1+  
NEG Gruppo 4:  $RATIO < 2$  e Media HER2  $> 4 < 6$  (ex EQV)

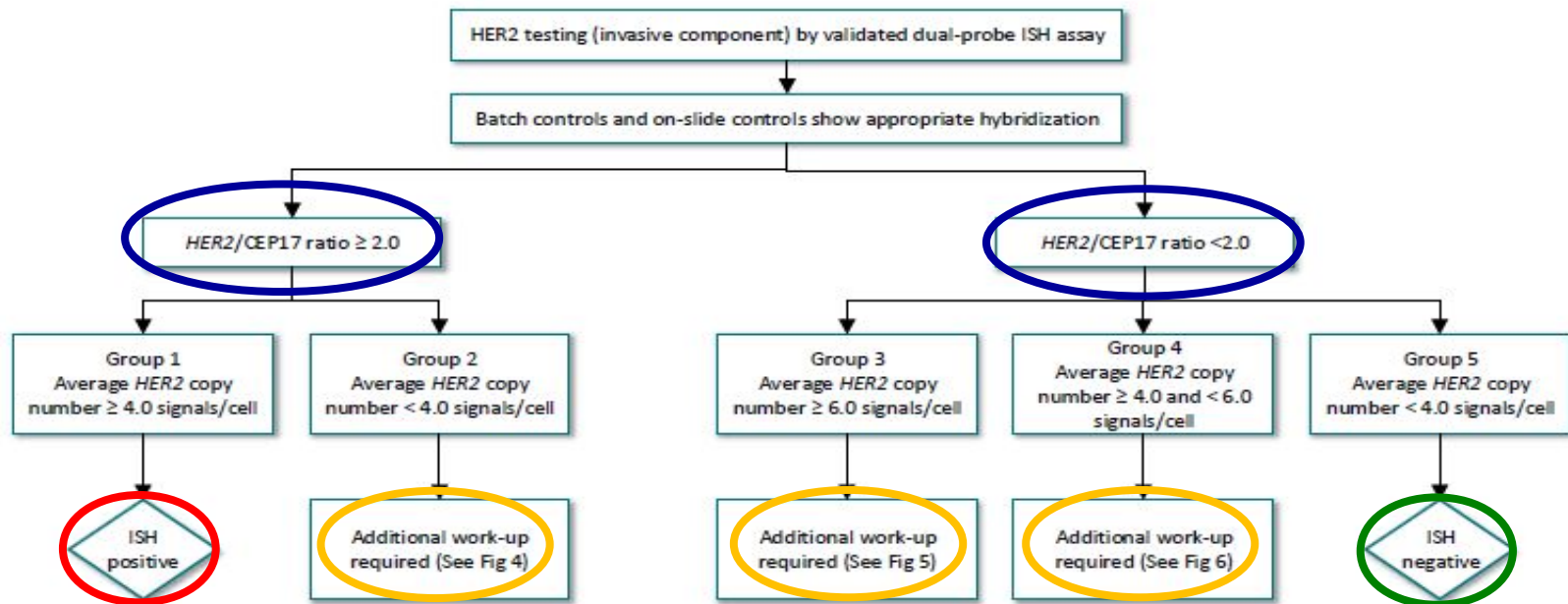
**Menu a tendina dove  
selezionare lo Stato  
di *HER2* ottenuto  
Secondo le  
LG ASCO/CAP 2018**

# Pattern di *HER2*, ottenibili con metodiche di ISH su carcinoma della mammella, identificati dalle attuali Linee Guida ASCO/CAP 2018



Figure 3. Algorithm for evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 (*HER2*) gene amplification by in situ hybridization (ISH) assay of the invasive component of a breast cancer specimen using a dual-signal (*HER2* gene) assay (dual-probe ISH).

**Doppia sonda**



**NOTE.** The final reported results assume that there is no apparent histopathologic discordance observed by the pathologist. Regarding Groups 2, 3, and 4, If not already assessed by the institution/lab performing the ISH test, IHC testing for *HER2* should be performed using sections from the same tissue sample used for ISH and the slides from both ISH and IHC be reviewed together to guide the selection of areas to score by ISH (local practice considerations will dictate the best procedure to accomplish this concomitant assessment).

# Pattern di *HER2* identificati dalle attuali Linee Guida ASCO/CAP 2018



Secondo le attuali L.G. ASCO/CAP 2018 ci sono 5 pattern di *HER2* evidenziabili mediante metodiche di ISH su carcinoma della mammella:

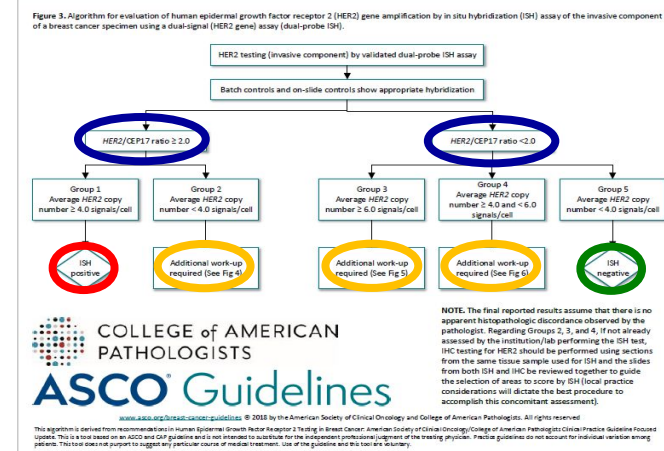
2 pattern sono univoci:

- Gruppo 1: certamente **Positivo**
- Gruppo 5: certamente **Negativo**

3 pattern richiedono ulteriori approfondimenti: lettura ISH da parte di un secondo operatore e confronto con la determinazione proteica di *HER2* ottenuta tramite (IHC):

- Gruppo 2
- Gruppo 3
- Gruppo 4

Questi pattern in particolare venivano interpretati in modo differente nelle versioni precedenti delle L.G. ASCO/CAP



## AMPLIFICATO “classico”

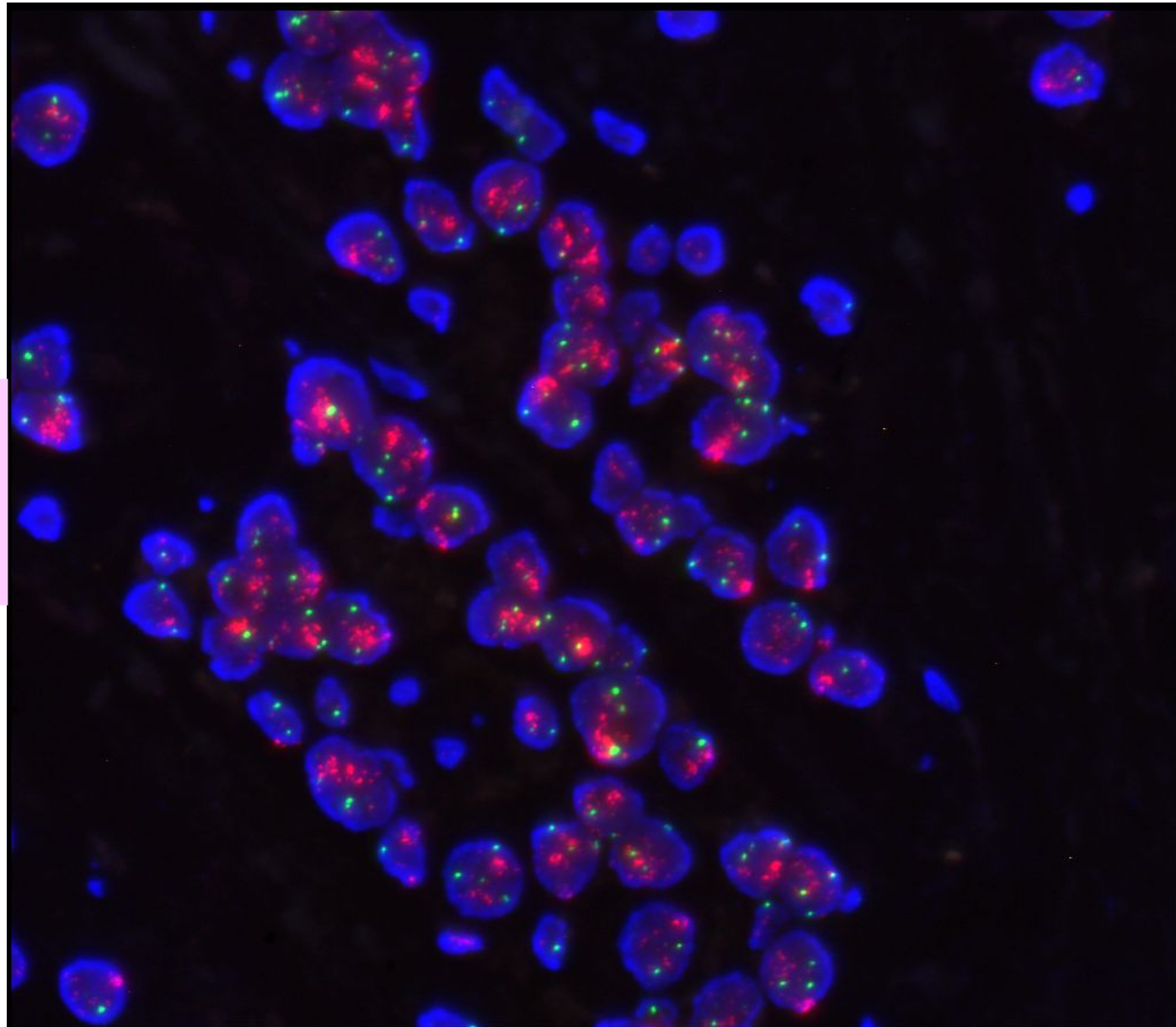
- Ratio  $\geq 2$
- HER2/nucleo  $\geq 6$

Media HER2: 18,1  
Media CEP17: 3,0  
Ratio: 6,1

-ASCO 2007:  
AMPLIFICATO

-ASCO 2013: POSITIVO

-ASCO 2018: POS. Gr.1



## NON AMPLIFICATO “classico”

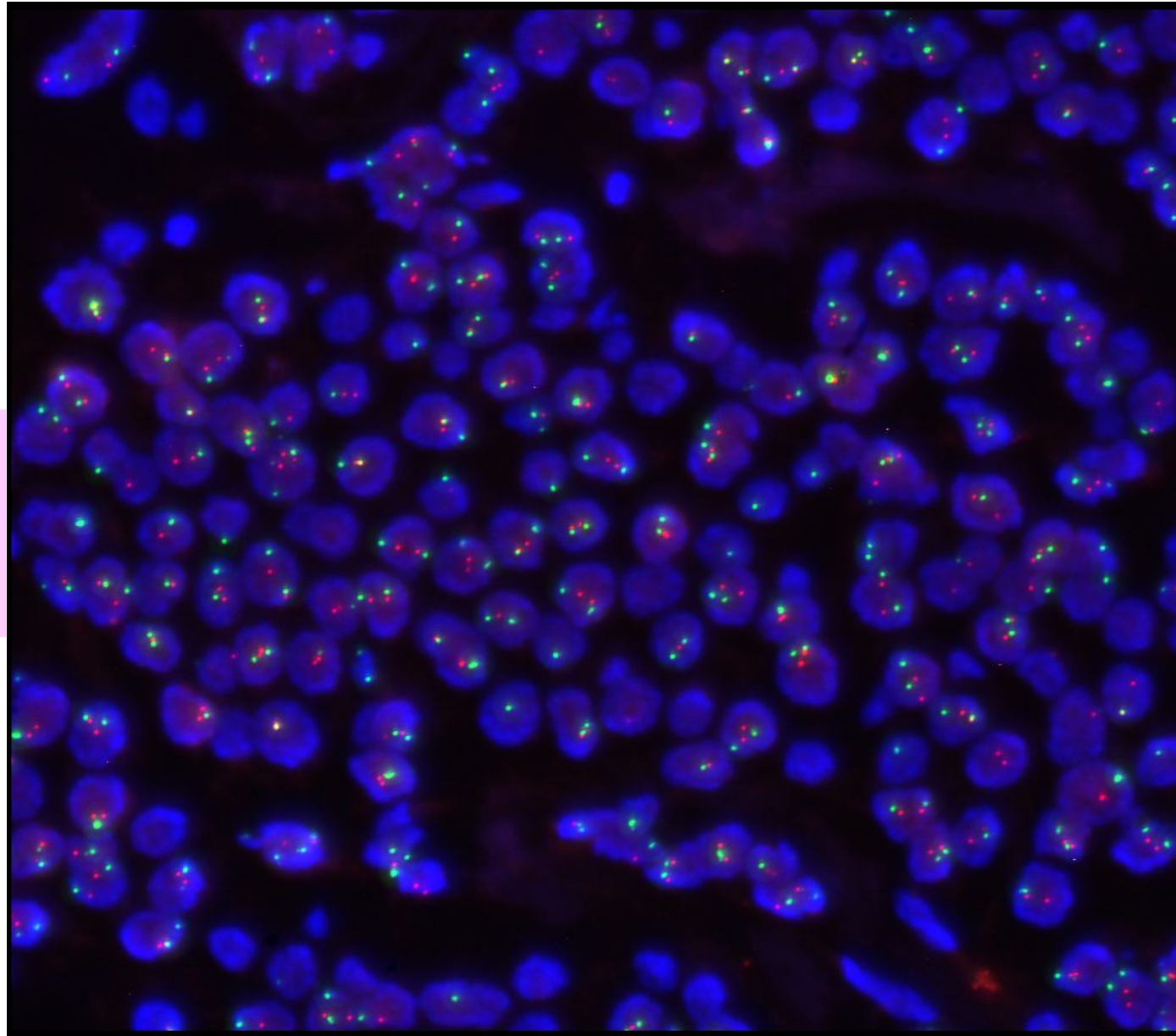
- Ratio < 2
- HER2/nucleo < 4

Media HER2: 2,1  
Media CEP17: 1,9  
Ratio: 1,1

-ASCO 2007:  
NON AMPLIFICATO

-ASCO 2013: NEGATIVO

-ASCO 2018: NEG. Gr.5



## ETEROGENEO con cellule POSITIVE INTERSPERSE

- Ratio  $< 2$
- HER2/nucleo  $\geq 4 < 6$

popolazioni pos + neg assieme:

Media HER2: 5,3

Media CEP17: 2,9

Ratio: 1,8

Media HER2: 6,8  
Media CEP17: 3,3  
Ratio: 2,1

Positiva 29%

Media HER2: 3,8  
Media CEP17: 2,6  
Ratio: 1,5

Negativa 71%

-ASCO 2007: EQUIVOCO

-ASCO 2013: EQUIVOCO

-ASCO 2018:

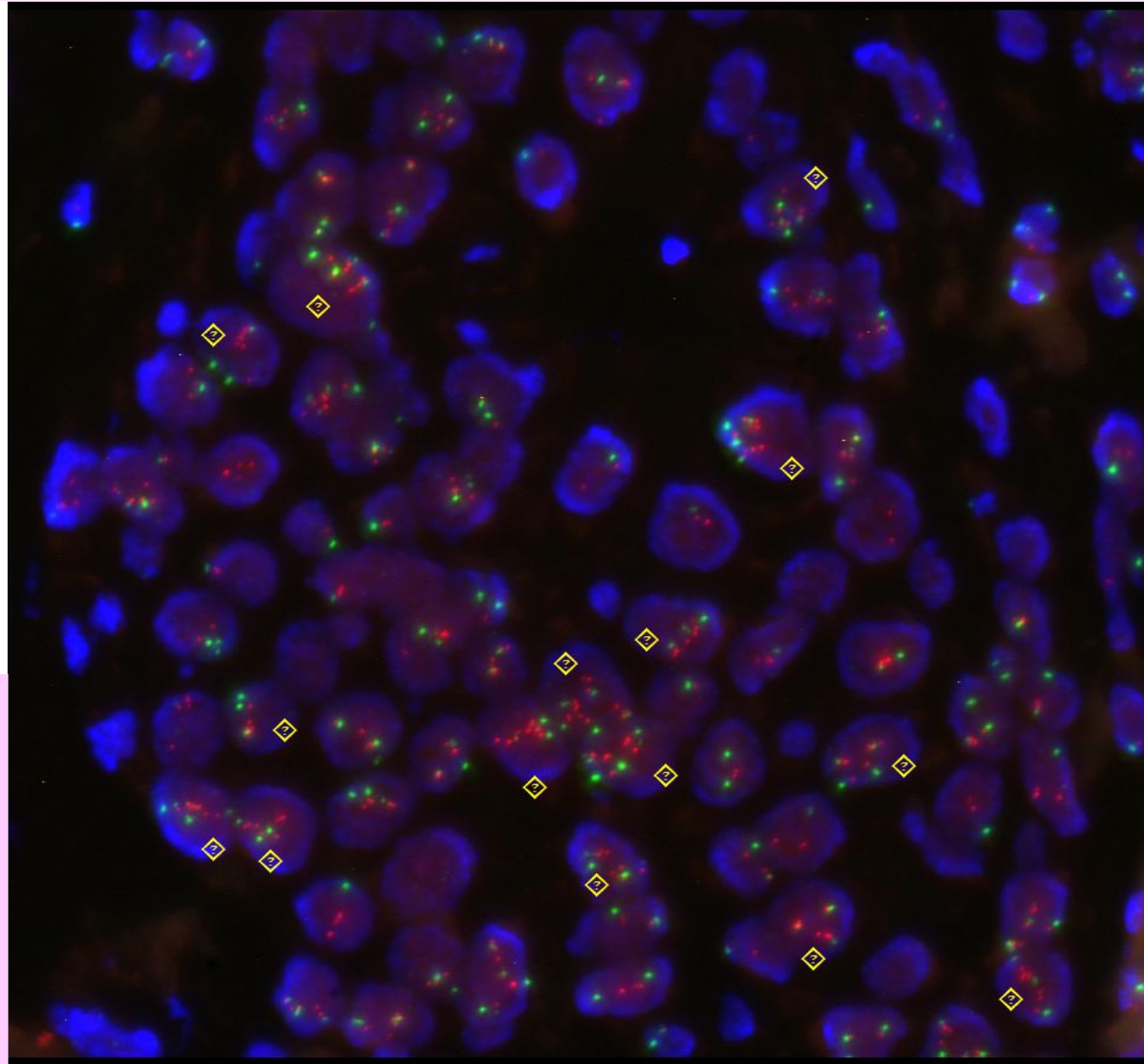
NEGATIVO Gr. 4

(se pattern confermato  
da altro lettore e IHC=2+)

Oppure

POSITIVO Gr. 4

(se IHC= 3+)



## GAIN DI *HER2*/GAIN DEL CEP17

- Ratio  $< 2$
- *HER2*/nucleo  $\geq 6$

Media *HER2*: 6,2  
Media CEP17: 3,8  
Ratio: 1,6

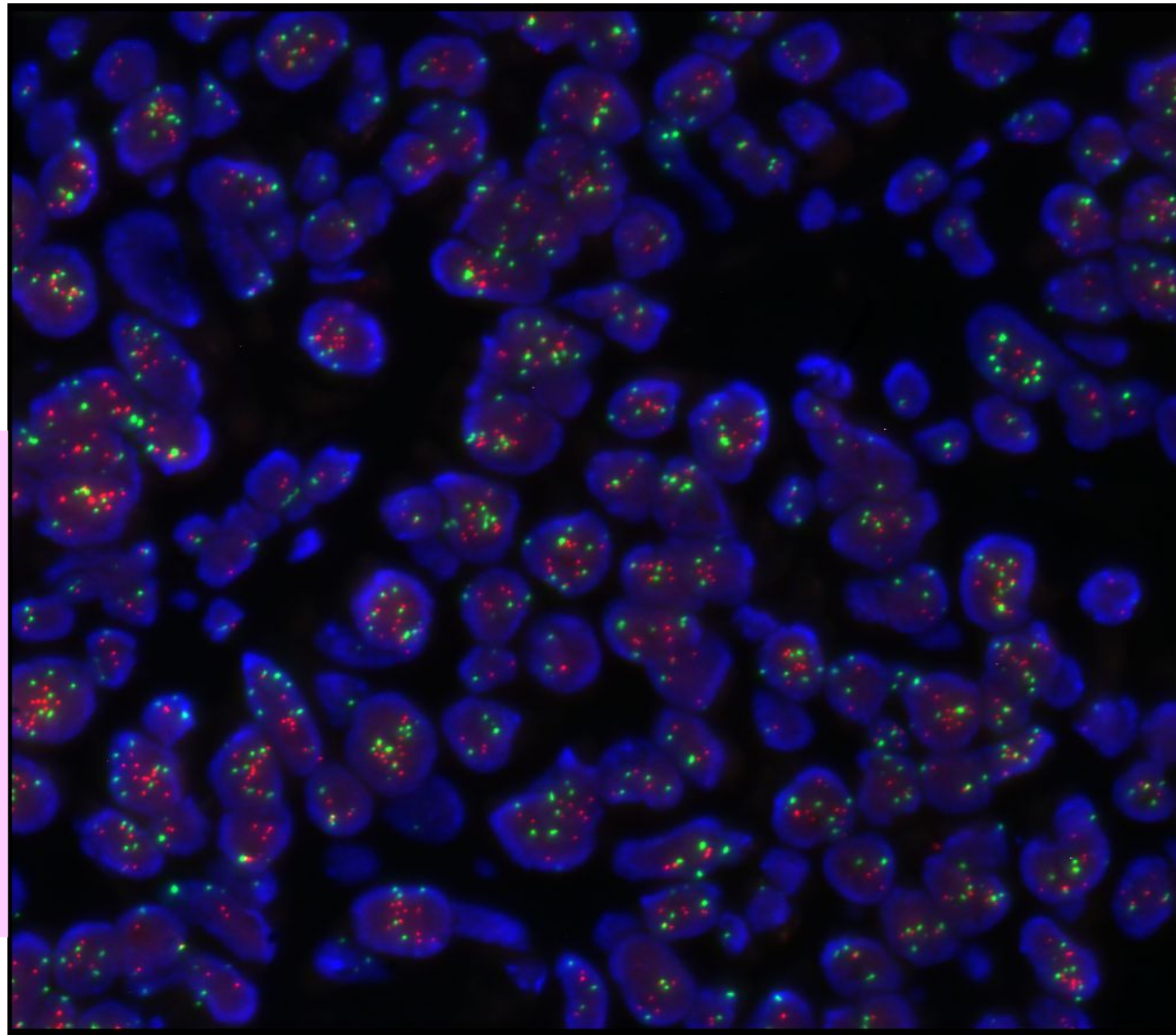
-ASCO 2007:  
POSITIVO

-ASCO 2013:  
POSITIVO

-ASCO 2018:  
POSITIVO Gr. 3

(se IHC = 3+ o se pattern  
confermato da altro lettore e  
IHC=2+)

*Oppure*  
NEGATIVO Gr. 3  
(se IHC=0/1+)



## ALCUNI ESEMPI DI PATTERN DI *HER2* CON RELATIVA INTERPRETAZIONE

SECONDO 3 DIVERSE VERSIONI DELLE L.G. ASCO/CAP: 2007, 2013 e quelle attualmente in uso del 2018

### GAIN DI *HER2* ( $\geq 3 < 6$ )

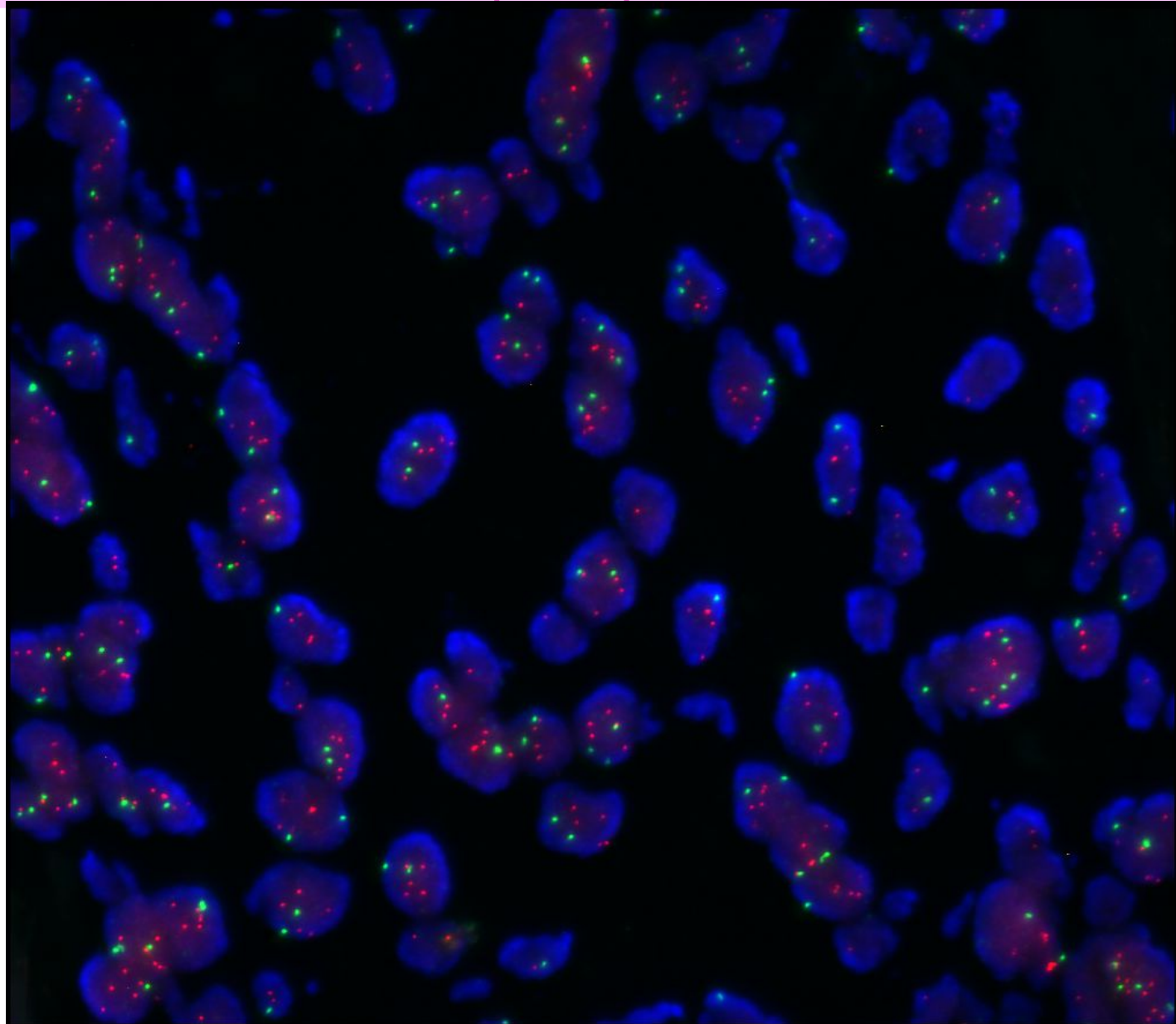
- Ratio **>2**
- *HER2*/nucleo  **$\geq 4 < 6$**

Media *HER2*: 4,1  
Media CEP17: 2,0  
Ratio: 2,0

-ASCO 2007:  
EQUIVOCO

-ASCO 2013:  
POSITIVO

-ASCO 2018:  
POSITIVO Gr. 1



## GAIN DI *HER2*/LOSS DEL CEP17

- Ratio  $\geq 2$
- *HER2*/nucleo  $< 4$

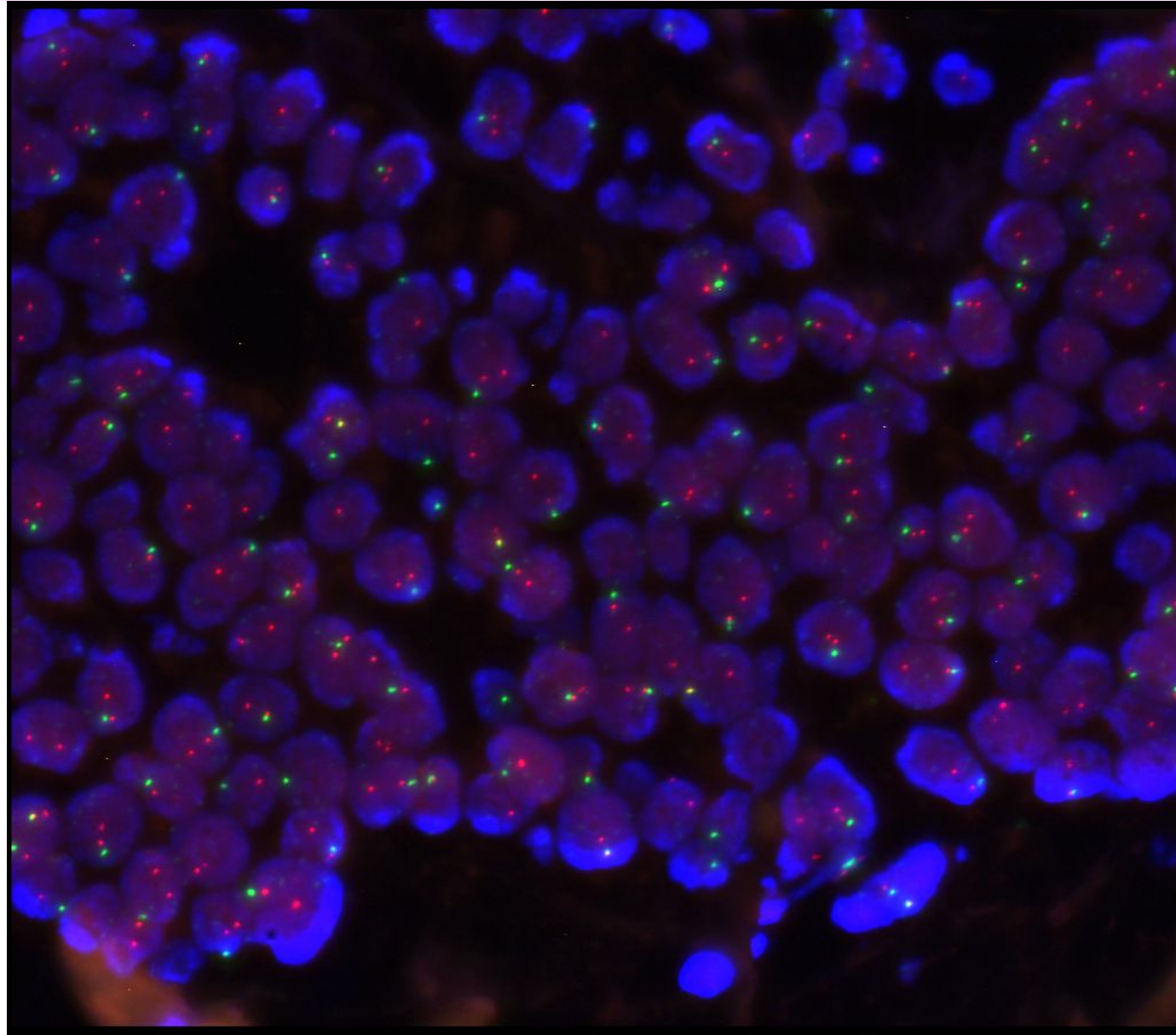
Media *HER2*: 2,0  
Media CEP17: 1,0  
Ratio: 2,0

-ASCO 2007:  
EQUIVOCO

-ASCO 2013:  
POSITIVO

-ASCO 2018:  
NEGATIVO Gr. 2  
(se IHC=0/1+ o se pattern  
confermato da altro lettore e  
IHC=2+)

POSITIVO Gr. 2  
(se IHC = 3+)



# **MATERIALE INVIATO AD OGNI CENTRO PARTECIPANTE ALL'ATTO DELL'ISCRIZIONE E RINNOVATO QUANDO NECESSARIO:**



- **Codice identificativo del centro e password per l'accesso al sito dedicato**
- **Calendario degli invii per l'anno in corso corredato degli indirizzi dei centri partecipanti facenti parte del proprio gruppo**
- **Codici identificativi dei pattern *HER2* ISH, secondo le linee guida ASCO/CAP vigenti**
- **Codici identificativi dei pattern *HER2* IIC, secondo le linee guida ASCO/CAP vigenti. Questo CCD non riguarda l'IIC ma questo dato è ora indispensabile per l'interpretazione di alcuni pattern di *HER2* in ISH.**
- **Legenda diciture per la valutazione, da parte del centro ricevente, della qualità del preparato pervenuto**
- **Copia delle linee guida ASCO/CAP in uso**

**MATERIALE INVIATO AD OGNI CENTRO  
PARTECIPANTE ALL'ATTO DELL'ISCRIZIONE E  
RINNOVATO QUANDO NECESSARIO:**



## **LEGENDE PER I RISULTATI:**

- LEGENDE ISH**
- LEGENDE IIC**
- LEGENDE QUALITA' DEL PREPARATO**

**IN USO DA GENNAIO 2019**

**novembre 2018)**

| PATTERN DI <i>HER2</i> RILEVATO CON METODICHE ISH DUAL PROBE SECONDO LINEE GUIDA ASCO/CAP 2018                                                         |  | codice del pattern |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--------------------|
| <b>PATTERN POSITIVI</b>                                                                                                                                |  |                    |
| POS Gruppo 1: $\text{RATIO} \geq 2$ e Media <i>HER2</i> $\geq 4$                                                                                       |  | POS.G1             |
| POS Gruppo 2 : $\text{RATIO} \geq 2$ e Media <i>HER2</i> $< 4$ con IHC = 3+                                                                            |  | POS.G2             |
| POS Gruppo 3 : $\text{RATIO} < 2$ e Media <i>HER2</i> $\geq 6$<br>con IHC = 3+ oppure con IHC = 2+ e pattern confermato da altro lettore               |  | POS.G3             |
| POS Gruppo 4 : $\text{RATIO} < 2$ e Media <i>HER2</i> $\geq 4 < 6$ (ex EQV) con IHC = 3+                                                               |  | POS.G4             |
| POS per popolazione : Presenza di una popolazione aggregata amplificata $>10\%$                                                                        |  | POS.pop            |
| POS “clusters”: Pattern di <i>HER2</i> a Clusters, Ratio non calcolabile*                                                                              |  | POS.clus           |
| <b>PATTERN NEGATIVI</b>                                                                                                                                |  |                    |
| NEG Gruppo 5: $\text{RATIO} < 2$ e Media <i>HER2</i> $< 4$                                                                                             |  | NEG.G5             |
| NEG Gruppo 2: $\text{RATIO} \geq 2$ e Media <i>HER2</i> $< 4$<br>con IHC = 0/1+ oppure con IHC = 2+ e pattern confermato da altro lettore              |  | NEG.G2             |
| NEG Gruppo 3: $\text{RATIO} < 2$ e Media <i>HER2</i> $\geq 6$ con IHC = 0/1+                                                                           |  | NEG.G3             |
| NEG Gruppo 4: $\text{RATIO} < 2$ e Media <i>HER2</i> $\geq 4 < 6$ (ex EQV)<br>con IHC = 0/1+ oppure con IHC = 2+ e pattern confermato da altro lettore |  | NEG.G4             |

\*Questo pattern non è previsto dalle LG ASCO 2018 che impongono sempre la quantificazione dei segnali con conseguente calcolo della Ratio, pertanto deve essere usato solo in casi eccezionali.

| <b>PATTERN di HER2 RILEVATO TRAMITE IHC<br/>SECONDO LINEE GUIDA ASCO/CAP 2018</b>                                                                                                                                                                                                                                                            | <b>codice del<br/>pattern</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| <b>IHC non eseguita</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | <b>n.e.</b>                   |
| <b>Colorazione della membrana cellulare completa ed intensa nel &gt; 10% delle cellule di carcinoma invasivo</b>                                                                                                                                                                                                                             | <b>3+</b>                     |
| <b>Colorazione della membrana cellulare completa, debole o moderata nel &gt; 10% delle cellule di carcinoma invasivo</b>                                                                                                                                                                                                                     | <b>2+</b>                     |
| <u>Raro, solo per istotipi speciali (per esempio micropapillari):</u><br>- colorazione della membrana cellulare incompleta (basolaterale o laterale), da moderata ad intensa nel > 10% delle cellule di carcinoma invasivo<br>- colorazione della membrana cellulare completa ed intensa nel $\leq 10\%$ delle cellule di carcinoma invasivo | <b>2+(a)</b>                  |
| <b>Colorazione della membrana cellulare incompleta, debole o debolissima presente nel &gt; 10% delle cellule di carcinoma invasivo</b>                                                                                                                                                                                                       | <b>1+</b>                     |
| <b>Assenza di colorazione oppure colorazione incompleta, debole o debolissima della membrana cellulare presente nel <math>\leq 10\%</math> delle cellule di carcinoma invasivo</b>                                                                                                                                                           | <b>0</b>                      |

## **QUALITA' PREPARATO** (Vers.1/Rev: 21/05/2015)

| <b>DEFINIZIONE</b>   | <b>CARATTERISTICHE</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>OTTIMO</b>        | <p>Le caratteristiche del preparato hanno consentito di ottenere una reazione ISH facilmente interpretabile.</p> <p>(la sezione, sottoposta alle routinarie procedure ISH, mostra segnali chiaramente leggibili per intensità, brillantezza e per assenza di background)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>BUONO</b>         | <p>Le caratteristiche del preparato hanno consentito di ottenere una reazione ISH interpretabile senza problemi.</p> <p>(la sezione, sottoposta alle routinarie procedure ISH, mostra segnali chiaramente leggibili per intensità e per assenza di background significativo)</p>                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>SUFFICIENTE</b>   | <p>Le caratteristiche del preparato hanno consentito di ottenere una reazione ISH appena interpretabile.</p> <p>(la sezione, sottoposta alle routinarie procedure ISH, mostra segnali che risultano appena leggibili per intensità degli stessi e/o per presenza di background)</p>                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>INSUFFICIENTE</b> | <p>Le caratteristiche del preparato non hanno consentito di ottenere una reazione ISH interpretabile</p> <p>La sezione, sottoposta alle routinarie procedure ISH:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- si stacca parzialmente o del tutto durante la reazione</li><li>- presenta nuclei "bucati" con conseguente perdita di segnali oppure non risulta ibridata, con assenza di segnali in tutto o in parte (nuclei ibridati &lt; 80%)</li><li>- essendo troppo spessa non consente l'interpretazione corretta segnali/nucleo</li></ul> |

# MATERIALE INVIATO AD OGNI CENTRO PARTECIPANTE COME FEEDBACK DEL PRORIO OPERATO



**A FINE ANNO AD OGNI CENTRO PARTECIPANTE VENGONO INVIATE:**

## **1. TABELLE DI FEEDBACK DEI ROUND MENSILI:**

le tabelle sono ideate in modo che ogni centro, confrontando il proprio operato con quello degli altri centri del proprio gruppo, possa compiere un'autovalutazione della validità del proprio operato, anche aiutato da alcune notazioni poste a fondo tabella.

## **2. TABELLA RIASSUNTIVA ANNUALE:**

In questa tabella viene valutato l'andamento annuale di ogni centro e vengono dati due score, uno per la partecipazione ed uno per la concordanza.

## **3. ATTESTATO DI PARTECIPAZIONE**

**MATERIALE INVIATO AD OGNI CENTRO  
PARTECIPANTE COME FEEDBACK DEL PRORIO  
OPERATO**



## **ESEMPI DI TABELLE DI FEEDBACK DEI ROUND MENSILI**

**MATERIALE INVIATO AD OGNI CENTRO  
PARTECIPANTE ALL'ATTO DELL'ISCRIZIONE E  
RINNOVATO QUANDO NECESSARIO:**



**I DATI CHE SEGUONO SI RIFERISCONO A ROUND DEL CCD  
DEL 2018 ANNO IN CUI ERANO ANCORA IN USO LE L.G.  
ASCO/CAP DEL 2013.**

**LE L.G. 2018 SONO STATE ADOTTATE DAL CCD  
INTERREGIONALE DAL GENNAIO 2019.**

**PERTANTO LE TABELLE CON I CODICI IDENTIFICATIVI DEI  
DIVERSI PATTERN DI *HER2* SONO I SEGUENTI ...**

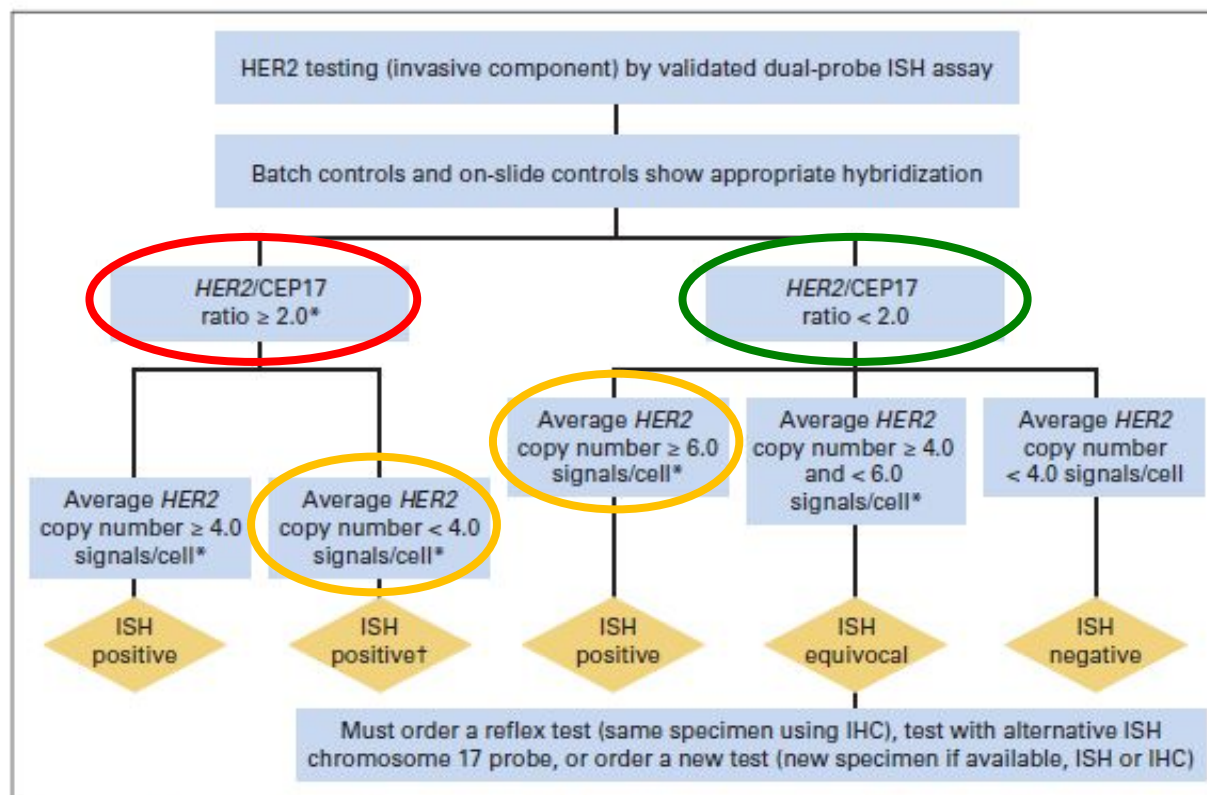
# Linee Guida ASCO/CAP 2013: in uso nel 2018

Published Ahead of Print on October 7, 2013 as 10.1200/JCO.2013.50.9984  
The latest version is at <http://jco.ascopubs.org/cgi/doi/10.1200/JCO.2013.50.9984>

JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY

ASCO SPECIAL ARTICLE

Doppia  
sonda



**Fig 3.** Algorithm for evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) gene amplification by in situ hybridization (ISH) assay of the invasive component of a breast cancer specimen using a dual-signal (HER2 gene) assay (dual-probe ISH). Amplification in a dual-probe ISH assay is defined by examining first the HER2/CEP17 ratio followed by the average HER2 copy number (see Data Supplement 2E for more details). If there is a second contiguous population of cells with increased HER2 signals per cell, and this cell population consists of more than 10% of tumor cells on the slide (defined by image analysis or visual estimation of the ISH or immunohistochemistry [IHC] slide), a separate counting of at least 20 nonoverlapping cells must also be performed within this cell population and also reported. Although categories of HER2 status by ISH can be created that are not covered by these definitions, in practice they are rare and if encountered should be considered ISH equivocal (see Data Supplement 2E). NOTE. The final reported results assume that there is no apparent histopathologic discordance observed by the pathologist. (\*) Observed in a homogeneous and contiguous population. (†) See Data Supplement 2E for more information on these rare scenarios.

# LEGENDA PATTERN *HER2* ISH SECONDO LE L.G. ASCO 2013 (utilizzata nel CCD fino a dicembre 2018)



## LEGENDA RISULTATI ISH (Vers.1/Rev: 01/10/2015)

| PATTERN                                                                                    | CODICE<br>TABELLA |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| <b>POSITIVO</b>                                                                            |                   |
| Ratio $\geq 2$ con Media <i>HER2</i> $\geq 4$                                              | POSa              |
| Ratio $\geq 2$ con Media <i>HER2</i> $< 4$                                                 | POSb              |
| Ratio $< 2$ con Media <i>HER2</i> $\geq 6$                                                 | POSc              |
| Ratio $< 2$<br>ma presenza di una popolazione amplificata ( <i>HER2</i> $\geq 6$ ) $>10\%$ | POSd              |
| Pattern di <i>HER2</i> a Clusters, Ratio non calcolabile                                   | POSe              |
| <b>NEGATIVO</b>                                                                            |                   |
| Ratio $< 2$ con Media <i>HER2</i> $< 4$                                                    | NEG               |
| <b>EQUIVOCO</b>                                                                            |                   |
| Ratio $< 2$ con Media <i>HER2</i> $\geq 4$ e $< 6$                                         | EQV               |

# Esempio 1 di Tabella mensile di Feedback dei Risultati 2018 (L.G. ASCO 2013)

## CASO CONCORDE 100%

### CASO NEGATIVO



#### GRUPPO A - CASO A07 /18 - Luglio 2018 - Centro inviante: XXX

| ID_CENTRO        | DATA inserimento dati | Numero cellule lette | Media HER2/ nucleo                 | Media CEP17/ nucleo                | Ratio HER2/ CEP17 | Popolazione eterogenea | %  | Interpretazione dello stato di HER2 nel caso in esame | Concordanza di Interpretazione dello stato di HER2 riferito a POS vs NEG | Valutazione IHC | Qualità del preparato |
|------------------|-----------------------|----------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------|------------------------|----|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------------|
| B7X9             | 27/07/2018            | 60                   | 1,65                               | 1,57                               | 1,05              | No                     |    | NEG                                                   | CONCORDE                                                                 | 0               | Buona                 |
| A5G6             | 03/08/2018            | 20                   | 1,3                                | 1,55                               | 0,8               | No                     |    | NEG                                                   | CONCORDE                                                                 | 1+              | Ottima                |
| R9Z7             | 24/07/2018            | 60                   | 2,15                               | 2,08                               | 1,03              | Si                     | <5 | NEG                                                   | CONCORDE                                                                 | N.E.            | Buona                 |
| T2V8             | 06/08/2018            | 60                   | 1,6                                | 1,9                                | 0,8               | No                     |    | NEG                                                   | CONCORDE                                                                 | 0               | Buona                 |
| G7M9             | 27/08/2018            | 40                   | 1,8                                | 2                                  | 0,9               | No                     |    | NEG                                                   | CONCORDE                                                                 | N.E.            | Sufficiente           |
| A2T5             | 23/08/2018            | 100                  | 2,1                                | 2                                  | 1,1               | No                     |    | NEG                                                   | CONCORDE                                                                 | N.E.            | Buona                 |
| C5T3             | 26/07/2018            | 60                   | 1,6                                | 1,43                               | 1,11              | No                     |    | NEG                                                   | CONCORDE                                                                 | 0               | Buona                 |
| F9R7             | 26/08/2018            | 120                  | 1,5                                | 1,7                                | 0,9               | No                     |    | NEG                                                   | CONCORDE                                                                 | N.E.            | Buona                 |
| R3C7             | 03/08/2018            | 174                  | 1,4                                | 1,9                                | 0,7               | No                     |    | NEG                                                   | CONCORDE                                                                 | N.E.            | Ottima                |
| H5N3             | 01/08/2018            | 60                   | 2                                  | 2                                  | 1                 | No                     |    | NEG                                                   | CONCORDE                                                                 | N.E.            | Sufficiente*          |
| W4J3             | 13/08/2018            | 200                  | 1,2                                | 2                                  | <2                | No                     |    | NEG                                                   | CONCORDE                                                                 | N.E.            | Buona                 |
| Media ± Dev. St. |                       |                      | 1,7 ± 0,32<br>max 2,02<br>min 1,38 | 1,8 ± 0,23<br>max 2,03<br>min 1,57 |                   |                        |    |                                                       |                                                                          |                 |                       |

Centri iscritti partecipanti 11 /11 (100%)

|                                                          |  |  |  |  |  |                           |                  |              |                                    |
|----------------------------------------------------------|--|--|--|--|--|---------------------------|------------------|--------------|------------------------------------|
| Diagnosi di Maggioranza (percentuale centri concordanti) |  |  |  |  |  | Pattern di HER2: NEGATIVO | Concordanza 100% | IHC: 0 (75%) | Qualità del preparato: BUONA (64%) |
|----------------------------------------------------------|--|--|--|--|--|---------------------------|------------------|--------------|------------------------------------|

N.E. = reazione IHC Non Eseguita

|                 |      |                                            |  |  |  |  |  |  |  |
|-----------------|------|--------------------------------------------|--|--|--|--|--|--|--|
| NOTE dei centri | G7M9 | Presenza di autofluorescenza e background  |  |  |  |  |  |  |  |
|                 | W4J3 | significativa perdita del locus gene HER2? |  |  |  |  |  |  |  |

**\*Attenzione:** quando un preparato è ritenuto sufficiente/insufficiente, allo scopo di dare al centro che ha allestito il caso informazioni utili a migliorarsi, è bene dare indicazioni precise sui problemi riscontrati (es. la sezione era troppo spessa/sottile, la sezione si è staccata in tutto o in parte dal vetrino, lo smascheramento da noi utilizzato routinariamente su questo caso non è stato sufficiente ad ottenere segnali leggibili .... ecc.)

La valutazione IIC Non era necessaria con le L.G. ASCO 2013, ma chi voleva poteva inserire in tabella anche questo dato.

N.E. = IIC Non Eseguita.

## CONCORDE 100%

# CASO POSITIVO



| GRUPPO C - CASO C04 /18 - Aprile 2018 - Centro inviante: XXX    |                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                             |                    |                     |                   |                        |   |                                                       |                                                                          |                      |                                            |
|-----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|--------------------|---------------------|-------------------|------------------------|---|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|----------------------|--------------------------------------------|
| ID_ CENTRO                                                      | DATA inserimento dati                                                                                                                                                                                                                                                                      | Numero cellule lette        | Media HER2/ nucleo | Media CEP17/ nucleo | Ratio HER2/ CEP17 | Popolazione eterogenea | % | Interpretazione dello stato di HER2 nel caso in esame | Concordanza di Interpretazione dello stato di HER2 riferito a POS vs NEG | Valutazione IHC      | Qualità del preparato                      |
| L2H8                                                            | 09/08/2018                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 60                          | 10,86              | 2,58                | 4,2               | No                     |   | POSa                                                  | CONCORDE                                                                 | 3+                   | Ottima                                     |
| C7N9                                                            | 10/07/2018                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 60                          | 3.1*               | no dato             | no dato           | No                     |   | POSe                                                  | NON VALUTABILE                                                           | N.E.                 | Buona                                      |
| N7C9                                                            | 10/07/2018                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 60                          | 4.1*               | 2.2                 | >2                | No                     |   | POSa                                                  | NON VALUTABILE                                                           | 2+a                  | Buona                                      |
| D4S8                                                            | 10/07/2018                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 100                         | 6.5                | 1.9                 | 3.4               | No                     |   | POSe                                                  | CONCORDE                                                                 | 3+                   | Ottima                                     |
| F8G2                                                            | 04/05/2018                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 100                         | 18                 | 4.5                 | 4                 | No                     |   | POSa                                                  | CONCORDE                                                                 | 3+                   | Ottima                                     |
| G5C3                                                            | 07/05/2018                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 60                          | 16.7               | 3.68                | 4.53              | No                     |   | POSa                                                  | CONCORDE                                                                 | 3+                   | Ottima                                     |
| M3X9                                                            | 10/05/2018                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 20                          | 18                 | 6                   | 3                 | No                     |   | POSa                                                  | CONCORDE                                                                 | 3+                   | Ottima                                     |
| C4V6                                                            | 23/08/2018                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 100                         | cluster*           | 3.4                 | >2                | No                     |   | POSe                                                  | CONCORDE                                                                 | N.E.                 | Buona                                      |
| E6Y5                                                            | 27/08/2018                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 100                         | 8                  | 2                   | no dato           | No                     |   | POSa                                                  | CONCORDE                                                                 | 3+                   | Ottima                                     |
| K3F5                                                            | 24/04/2018                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 62                          | 28.5               | 4.8                 | 5.9               | No                     |   | POSa                                                  | CONCORDE                                                                 | 3+                   | Ottima                                     |
| <b>Media ± Dev. St.</b>                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                             | <b>15,2 ± 7,54</b> | <b>3,5 ± 1,43</b>   |                   |                        |   |                                                       |                                                                          |                      |                                            |
| *dati non utilizzati nel calcolo delle medie                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                             | <b>max 22,7</b>    | <b>max 4,9</b>      |                   |                        |   |                                                       |                                                                          |                      |                                            |
|                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                             | <b>min 7,66</b>    | <b>min 2,1</b>      |                   |                        |   |                                                       |                                                                          |                      |                                            |
| <b>Centri iscritti partecipanti 10 /10 (100%)</b>               |                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                             |                    |                     |                   |                        |   |                                                       |                                                                          |                      |                                            |
| <b>Diagnosi di Maggioranza (percentuale centri concordanti)</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                             |                    |                     |                   |                        |   | <b>Pattern di HER2: POSITIVO</b>                      | <b>Concordanza 100%</b>                                                  | <b>IHC: 3+ (87%)</b> | <b>Qualità del preparato: OTTIMA (70%)</b> |
| N.E. = IHC non eseguita                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                             |                    |                     |                   |                        |   |                                                       |                                                                          |                      |                                            |
| <b>NOTE</b>                                                     | <b>G5C3</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                | <b>Presenza di Clusters</b> |                    |                     |                   |                        |   |                                                       |                                                                          |                      |                                            |
| <b>C7N9</b>                                                     | l'unico dato inserito in tabella, la media di HER2, che è di molto inferiore rispetto a quella riscontrata dagli altri centri, non supporta l'interpretazione del caso come POS                                                                                                            |                             |                    |                     |                   |                        |   |                                                       |                                                                          |                      |                                            |
| <b>N7C9</b>                                                     | la ratio >2 non è il rapporto dalle medie di HER2 e del CEP17 riportate in tabella, secondo i valori inseriti la ratio risulta negativa (4,1/2,2 = 1,86) non supportando l'interpretazione del caso come POS. Media di HER2 molto inferiore rispetto a quella riportata dagli altri centri |                             |                    |                     |                   |                        |   |                                                       |                                                                          |                      |                                            |
| <b>D4S8</b>                                                     | secondo i dati inseriti il caso risulta POS "a" e non "e" in quanto la ratio è calcolabile con esattezza (vedi legenda)                                                                                                                                                                    |                             |                    |                     |                   |                        |   |                                                       |                                                                          |                      |                                            |

## CASO POSITIVO



**MATERIALE INVIATO AD OGNI CENTRO  
PARTECIPANTE COME FEEDBACK DEL PRORIO  
OPERATO**



## **ESEMPIO DI TABELLA RIASSUNTIVA ANNUALE**

### **DUE SCORE:**

- uno per la partecipazione**
- uno per la concordanza**



# CONTROLLO DI QUALITA`



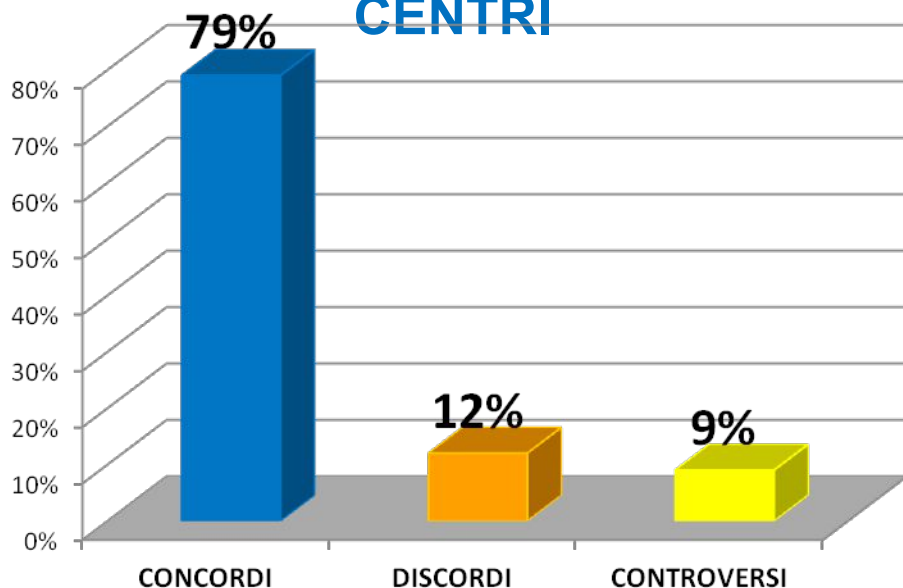
**Con il termine di  
CONTROLLO DI QUALITA`  
viene indicata tutta una serie di  
accorgimenti messi in atto allo scopo di  
RENDERE ATTENDIBILI E  
RIPRODUCIBILI I RISULTATI OTTENUTI**

# Tutti i centri rounds 2018 e 2017



Confrontando l'operato di tutti i centri del 2017 vs il 2018 si nota una diminuzione dei rounds discordi, quelli cioè dove 1 o 2 centri risultano non concordi con la diagnosi di maggioranza, ed un sensibile aumento dei rounds dove invece tutti centri concordano sul pattern di *HER2* nel caso in esame.

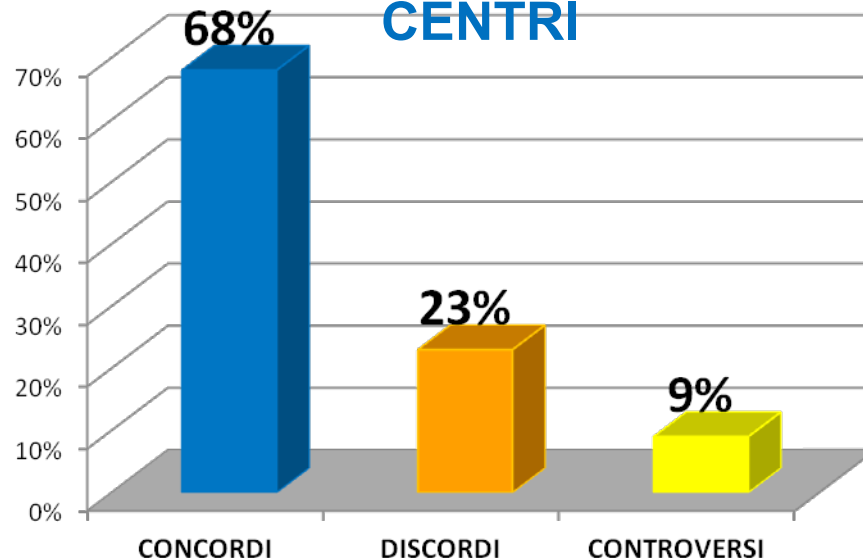
## ANNO 2018: 65 ROUNDS, 78 CENTRI



**Discordi:** round con  $<3$  centri non concordi rispetto al pattern *HER2* di maggioranza

**Controverso:** round con  $\geq 3$  centri non concordi rispetto al pattern *HER2* di maggioranza

## ANNO 2017: 47 ROUNDS, 77 CENTRI



# CONTROLLO DI CONCORDANZA DIAGNOSTICA INTERREGIONALE



- Consente un confronto del proprio operato, paritario tra centri, sia per quanto riguarda la lettura e l'interpretazione dei risultati che per la fase preanalitica di allestimento del preparato.
- Crea “comunità” tra centri che eseguono questo tipo di analisi in tutta Italia, dando la possibilità ai centri che evidenziassero delle criticità di chiedere aiuto per migliorare il proprio operato (il centro di Torino Molinette è disponibile ad accogliere chi avesse problemi e volesse verificare le procedure di allestimento, lettura ed interpretazione)
- Questo CCD è gratuito
- E' l'unico confronto esistente per la determinazione di *HER2* con metodiche (F)ISH su carcinoma mammario che segue le Linee Guida ASCO/CAP 2018, le sole approvate dalla SIAPEC/IAP

# Attestato di Partecipazione: inviato a fine anno a tutti i centri partecipanti



## **CONTROLLO DI CONCORDANZA DIAGNOSTICA NAZIONALE PER LA VALUTAZIONE DI *HER2* CON METODICHE DI IBRIDAZIONE *IN SITU* SU CARCINOMA MAMMARIO**

*Si certifica che*

*S.C.D.U. Anatomia Patologica*

*Az. Osp. Città della Salute e della Scienza di Torino*

*Presidio Molinette (TO)*

*ha partecipato al Controllo di Concordeza Diagnostica Nazionale*

*promosso da SIAPEC-IAP per l'anno 2017*

Prof.ssa Anna Sapino  
*Responsabile del Progetto*

Dott. Mauro Truini  
*Presidente SIAPEC-IAP*

Dott.ssa Ludovica Verdun di Cantogno  
*Coordinatore del Progetto*

# STAFF Controllo di Concordanza Diagnostica sulla Determinazione di *HER2* su Mammella con Metodiche di IHS



**Prof.ssa Anna Sapino**

**Dott.ssa Ludovica Verdun di Cantogno**

**Dott. Carmine Dell'Aglio**

**Stefano Vigna**

**TUTTI  
I  
PARTECIPANTI  
AL CCD**