

## BILAGA 1

# Kvalitetsdokument för patologi

## Utskärningsanvisningar

### Preparat med cancer (invasiv och in situ)

#### **Mastektomi och partiell mastektomi**

Preparatets vikt och mått i tre dimensioner noteras. Eventuell hud mäts och beskrives.

Preparatröntgen bör utföras på alla partiella mastektomi preparat. Om inte resektionskanter är tuschade av kirurgerna, tuschas alla ytor med separata färger efter ett angivet schema. Sidokanterna (circumferent yta) kan benämnas laterala, mediala, kraniala och kaudala, eller orienteras efter klockslag. Övriga ytor benämns ventral och dorsal (alternativ ”hudnära” och ”fascial”).

Det är centralt att den kliniska tumörbeskrivningen (tumörstorlek, antal, lokalisering) och eventuell tumörmarkering, kan korreleras och spåras genom den makroskopiska beskrivningen, och därmed till den mikroskopiska diagnosen.

Val av tumörmarkeringsmetod kan göras lokalt i samråd mellan kirurgi, radiologi, onkologi och patologi. Kolindikering är enkel och billig att utföra. Den vägleder kirurg men har nackdelen att den inte syns radiologiskt och kan vara svår att återfinna histopatologiskt. Metallclips har fördelen att synas radiologiskt och även histopatologiskt.

Största makroskopiska tumörstorlek noteras (av 3 dimensioner) och avstånd till dorsal resektionsyta, ventral och sidoresektionsyta noteras.

När tumör ses makroskopiskt tydlig och välavgränsad bäddas lämpligen hela tumörområdet i standardklossar. Standardklossar har fördelen att vara lättillgängliga för kompletterande immunhistokemisk undersökning. Vid stora, diffust utbredda, eller svår avgränsade tumörer, är storsnitt till god hjälp. Storsnitt täcker stora ytor med bibehållna relationer mellan olika strukturer och resektionsytor. Storsnitt är ofta att rekommendera vid oklart tumörfynd efter neoadjuvant behandling (1), utbredd DCIS eller utbredd diffust växande lobulär cancer.

I princip skall det bäddas tillräckligt med vävnad – inte för lite och inte för mycket. Hur mycket beror på tumören, preparattypen och tumörutbredningen. Bitar skall tas för fastställande av tumörstorlek, tumörutbredning och radikalitet. Vid unifokal tumör räcker ett mindre antal bitar. Vid mikrokalk utan makroskopisk synlig tumör är det nödvändigt att bädda mer vävnad, ibland hela preparatet. Ange om dorsal fascia är fri och rörlig.

Från preparatet tas bitar till dokumentation av mikroskopisk tumörstorlek. I de flesta fall med invasiv cancer < 20 mm kan en bit bäddas i en kassett. Vid större tumörer kan storsnitt användas eller biten kan delas i flera små kassetter med motsvarande kanter märkta. Vid stora tumörer med största tumörmått vinkelrätt mot snittplanet tas snitt med ungefär 1 cm mellanrum och storleken beräknas med hjälp av skivtjocklek och antal tumörensagerade skivor och jämförs eventuellt med radiologiska mått.

Vid flera invasiva tumörer dokumenteras varje tumör som ovan, avstånden mellan tumörerna mäts makroskopiskt. Alternativt kan de avbildas i storsnitt.

Ett snitt vinkelrätt mot dorsal resektionsyta närmast tumören tas om inte denna är med i tumorsnittet. Dessutom tas snitt från andra suspekta förändringar och ett snitt från normal bröstvävnad och eventuellt mamill.

Preliminär radikalitetsbedömning kan göras på preparatröntgen och makroskopiskt men vid definitiv radikalitetsbedömning är de histologiska marginalerna avgörande.

Tumörvävnad till tumörbank tillvaratas enligt lokala anvisningar. Tumörvävnad med kontrollerad fixeringstid för biomarkörbestämning kan med fördel tillvaratas färsk och fixeras i separat kassett. Notera tidpunkten då tumörbiten läggs i och tas ur formalinet. Om inte tumörbit tillvaratas färsk skall preparatet skivas enligt beskrivning nedan för att säkerställa god fixering. Vid mikrokalk och multipla tumörer kan skivorna preparatröntgas.

### Sentinel node

Varje sentinel node (SN) mäts och bäddas separat. Försiktig dissektion måste användas för att säkra att körtlarna är hela och att antalet är rätt. Syftet med undersökningen är att hitta alla metastaser > 2 mm varför SN makroskopisk skivas i maximalt 2 mm tjocka skivor. I praktiken betyder detta att SN < 4 mm kan undersökas hela, de > 4 mm kan halveras parallellt med längdaxeln. SN > 10 mm skärs i flera bitar där tjockleken på bitarna är 2 mm eller mindre, de kan skäras i 2 mm tunna skivor, vinkelrätt mot längsaxeln.

Vid fryssnitt av färska SN undersöks bitarna med ett eller flera ytliga seriesnitt på samma nivå. Nivåsnittning bör undvikas vid fryssnittning då det finns risk att metastaser bortsnittas. Vid makroskopisk metastas i en SN räcker det med fryssnitt från denna SN. Fryssnittning är resurs- och tidkrävande och undersökningens omfattning bör göras i överenskommelse med lokala multidisciplinära teamet.

Immunhistokemi på fryssnitt kan användas efter lokala rutiner. Används enbart imprint cytologi intraoperativt undersöks SN i paraffinbäddade snitt enligt nedan.

Handläggning av efterföljande formalinfixerat och paraffinbäddat material beror på fynden vid fryssnittningen:

Vid negativt fryssnitt och vid fynd av metastas  $\leq$  2 mm snittas paraffinsnitt i 3 nivåer med 200  $\mu$ m emellan.

Vid fryssnittfynd av metastas > 2 mm är ett paraffinsnitt tillräckligt.

Immunhistokemisk undersökning med cytokeratin kan utföras på negativa sentinel nodes, efter överenskommelse i det lokala multidisciplinära teamet.

### Axillpreparat

Lymfkörtlarna fridissekeras en och en och samtliga lymfkörtlar bäddas i sin helhet, därefter undersöks resterande fettväv med sax/kniv och fettets pressas mot underlaget för att hitta de små lymfkörtlarna.

Lymfkörtlarna delas i längdaxeln och båda halvorna bäddas med en lymfkörtel per kassett. Större lymfkörtlar fördelas i flera kassetter. Lymfkörtlar < 4 mm kan bäddas odelade och flera tillsammans i en kassett. Varje paraffinblock undersöks med ett HE snitt. Från stora lymfkörtlar med makroskopiskt synlig metastas kan det räcka med en bäddad bit, men lymfkörteln skall undersökas i sin helhet om metastasen inte bekräftas mikroskopiskt.

## Preparat utan påvisad cancer

*Profolaktisk mastektomi:* Noggrann makroskopisk undersökning och om makroskopin är normal undersöks 3–4 vävnadsbitar per bröst.

*Reduktionsplastik:* Noggrann makroskopisk undersökning och om inget avvikande ses undersöks 1 vävnadsbit per bröst.

*Excisionsbiopsier och diagnostiska biopsier:* Omhändertas som partiell mastektomi. Representativa snitt tas från förändringen och från resektionskanter.

## Mikroskopisk undersökning och bedömning

Bröstcancer typas morfologiskt i enlighet med internationell referenslitteratur (WHO 2012) (2). De morfologiska typerna och deras SNOMED-kodning finns listade nedan under rubriken Koder och beteckningar. För molekylär typning, se ovan kapitel Klassificering av tumören.

Immunhistokemisk undersökning används som komplement till den morfologiska undersökningen för att bedöma till exempel tumörtyp, atypi och invasivitet.

## Gradering av invasiv cancer

Morfologisk gradering av bröstcancer enligt Elston/Ellis (ofta benämnd "Elstongradering" i Sverige) kallas numera i publikationer Nottingham Histologic Grade (NHG) vilken är den benämning som förordas.

Reproducerbarheten av NHG är god under förutsättning att graderingen utförs noggrant och i enlighet med de riktlinjer ("protokoll"), som publicerats av Nottinghamgruppen.

Alla typer av invasiv bröstcancer kan och bör graderas med undantag av tumörer mindre än 2 till 3 mm, där tumörytan i praktiken är för liten för adekvat gradering.

En god fixering är en förutsättning för korrekt gradering. Dålig fixering omöjliggör säker bedömningen av samtliga tre ingående parametrar i NHG: cellkärnorna blir svullna och vakuoliserade (kärnatypin kan ej värderas), gångepitelet lossnar och dissocierar (andelen öppna tubuli kan ej värderas) samt mitoserna blir svåra att skilja från pyknotiska cellkärnor, apoptotiska celler och autolyserat material. Det är därför viktigt att ha en klar gräns för när man avstår från gradering. Gradering av dåligt fixerade brösttumörer resulterar i dålig prognostik och låg reproducerbarhet. Bra kvalitet på rutinfärgning med HE är en förutsättning för diagnostik och histologisk gradering inom bröstpatologi varför det rekommenderas att avdelningar deltar i Equalis HTX program.

Tillräckligt många bitar från tumören ska bäddas och samtliga glas från tumören ska granskas.

### Körtelgrad

Granska samtliga tumörglas i låg förstoring för att bedöma andelen öppna, tubulära invasiva strukturer, med polariserade epitelceller, i procent av hela den invasiva cancers epitelkomponent. In situ komponenter skall således exkluderas. Kribriforma invasiva strukturer jämfälls med tubulära komponenter. Detsamma gäller invasiva papillära formationer.

Poäng tilldelas enligt följande:

Poäng	Andel körtelstrukturer
1	> 75 %
2	10–75 %
3	< 10 %

### Kärngrad

Kärnatypigraden är den svårast reproducerbara parametern i NHG och kräver, att man regelbundet kalibrerar sin uppfattning om kärnatypigrad mot bildmaterial. I det aktuella preparatet utgör normalt gångepitel den interna referensen. Kärnatypin består av 3 komponenter (kärnstorlek, storleksvariabilitet samt nukleoler), som skall värderas inom hela tumörcellspopulationen och alltid jämföras med det normala gångepitelet. Det skall dock poängteras, att det är kärnstorleken som är det primära kriteriet. De andra två parametrarna är sekundära. Nedan följer ett försök till verbal beskrivning av kärnatypi:

Poäng	Beskrivning av kärnatypi
1	Små, regelbundna cellkärnor. Låg intercellulär variabilitet. Regelbundet kromatin, små eller inga synliga nukleoler. Lindrig avvikelse från det normala gångepitelet.
2	Måttligt förstörade cellkärnor. Måttlig intercellulär variabilitet. Ofta vesikulära cellkärnor med synlig, solitär nukleol. Måttlig avvikelse från det normala gångepitelet.
3	Stora oregelbundna kärnor med hög intercellulär variabilitet. Bisarra kärnor kan förekomma. Vesikulära cellkärnor med en eller flera framträdande nukleoler. Uttalad avvikelse från det normala gångepitelet.

Referensbilder för gradering finns på KVASt-hemsida.

I praktiken är det relativt ovanligt att en cancer till > 90 % utgörs av tumörkärnor med kärnatypi = 1 poäng. Däremot kan denna atypigrad ingå i lägre procentandel i flera cancertyper såsom tubulär cancer, lobulär cancer, mucinös cancer med flera.

Vi har tillsammans med professor Elston enväldigt bestämt, att 10 % tumörcellskärnor av en högre grad är tillräckligt för att höja den sammanlagda kärnatypigraden med 1 poäng. 10 %-gränsen är inte fastställd vetenskapligt men är den nivå som vi empiriskt använder oss av.

## Mitosgrad

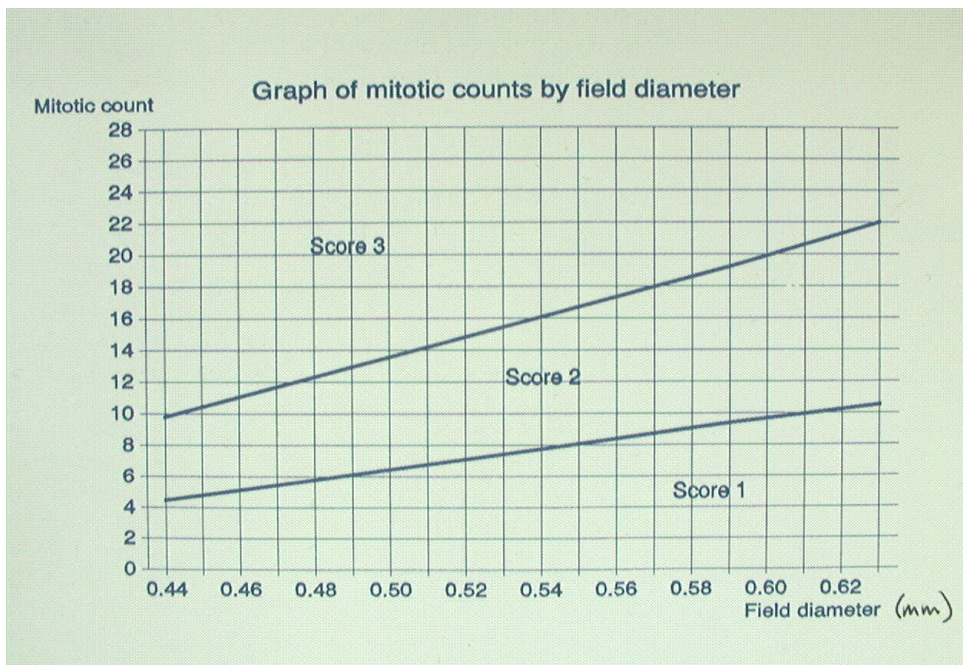
Räkna mitoser med x40 objektiv inom de mest proliferativa och atypiska områdena, så kallade "hot spot". De mest proliferativa områdena är oftast belägna i cancers periferi. Vid lobulär cancer är dock mitoserna i regel lika frekventa centralt som perifert.

Räkna antalet entydiga mitoser i 10 synfält och summera dem ("When in doubt, don't count them", citat prof. Christopher Elston). Välj därefter en annan "hot spot" och upprepa proceduren. Serien med högst antal mitoser blir underlag för poängtilldelningen efter att synfältsdiametern fastställts och korrigering av brytpunkterna för mitosräkningen gjorts enligt diagrammet nedan. Ett exempel visas nedan där synfältsdiametern bestämts till 0,54 mm:

Poäng	Antal tydliga mitoser
1	< 8
2	8–16
3	> 16

Om mitossumman hamnar nära någon brytpunkt – framför allt när den totala graden kan ändras – kontrollräkna i ytterligare några "hot spots".

Mitosgrad har definierats som antalet mitoser per 10 "high power fields", det vill säga synfält vid avläsning med x40 objektiv. Eftersom synfältsdiametern varierar mellan olika mikroskopfabrikat krävs justering av mitosintervall för standardisering mot värden vid den ursprungliga definitionen av mitosgrad. Detta kan göras med hjälp av nomogram.



### Rapportering av graderingen

De tre parametrarna summeras och resulterar i en malignitetsgrad, som benämns Nottingham Histologic Grade (NHG).

Totalpoäng = körtelpoäng + kärnpöäng + mitospoäng.

Totalpoäng	NHG
3–5	1
6–7	2
8–9	3

Invasiv lobulär cancer kan anta vilken som helst av de tre malignitetsgraderna, men har oftast grad 2. Lobulär cancer med kärngrad 3 kallas pleomorf.

### Gradering av in situ cancer

Gradering av duktal cancer in situ baseras på kärnornas utseende (3, 4).

**Kärngrad 1:** kärnstorlek 1,5–2,0 x normal röd blodkroppsdiаметer. Runda, tämligen likstora (monomorfa). Kromatinet är i regel fintecknat utan framträdande nukleoler.

**Kärngrad 2:** det som varken är grad 1 eller 3.

**Kärngrad 3:** kärnstorlek > 2,5 x normal röd blodkroppsdiаметer. Olikstora och oregelbundna kärnor. Kromatinet är i regel grovtecknat, med framträdande nukleoler.

Utöver kärngraden rekommenderas som tillägg beskrivning av växtmönster (solitt, kribbrigt, mikropapillärt) och notering om förekomst av nekros.

Förekomst av mitoser och nekros ses framför allt vid hög kärngrad.

Nekros definierar vi som 5 eller flera pyknotiska kärnor inom ett tvärsnitt av *en* gång.

För att höja kärngraden 1 steg krävs det att > 5 % av cellerna i *en* gång tillhör den högre kärngraden (3).

### Stadieindelning

Tumörstadieindelning baseras på pTNM (5), översatt enligt nedan.

Stadieindelande tumörstorlek är en tumörs största mått i mm, (vid osäkerhet avrunda till närmaste tröskelvärde). Vid multipla tumörer gäller måttet av största enskilda tumörhård, se nedan.

pTX Primär tumör kan inte bestämmas

pT0 Inget belägg för primär tumör

pTis Cancer in situ

pTis (DCIS) Duktal cancer in situ

pTis (LCIS) Lobulär cancer in situ

pTis (Paget)	Morbus Paget i mamillen utan invasiv eller in situ cancer i bröstet
pT1	≤20 mm
pT1mi	≤1 mm
pT1a	> 1 mm och ≤5 mm
pT1b	> 5 mm och ≤10 mm
pT1c	> 10 mm och ≤20 mm
pT2	> 20 mm och ≤50 mm
pT3	> 50 mm
pT4	Tumör oberoende av storlek, som växer direkt över på bröstkorgsväggen och/eller på huden (som hudulceration eller hudnoduli). Invasion av enbart dermis räcker ej för T4)
pT4a	Överväxt på bröstkorgsväggen (växt i pectoralismuskeln räcker ej)
pT4b	Ulceration och/eller ipsilateral hud satellit nodule och/eller hud ödem (inkluderande peau d'orange)
pT4c	Både T4a och T4b ovan
T4d	Inflammatorisk bröstcancer (klinisk diagnos, som kan korrelera med histopatologiskt fynd av lymfovaskulär invasion).

Entydig definition av multifokalitet försvåras av att bröstcancer inte sällan utbreder sig diskontinuerligt i små och stora förband. Detta diskuteras i AJCC 7 (5) och här föreslås att multipla tumörer föreligger om de är ”makroskopiskt urskiljbara med kliniska och patologiska metoder” (s. 354). Men om de ”är mycket nära varandra, (till exempel < 5 mm), speciellt om de är histologiskt lika, så är de sannolikt en tumör med komplex form”.

I gränsfall föreslås utbredningen beskrivas och bedömningen motiveras i utlåtandet. En konsekvens av uppdelning av tumör i flera är att måttet på den stadieindelade största härden minskar.

pNX	Regionala lymfkörtlar kan inte bedömas (ex tidigare exciderade)
pN0	Inga regionala lymfkörtelmetastaser
pN1	Metastas i 1–3 ipsilaterala axillära lymfkörtlar, och/eller i internal mammary lymfkörtlar påvisad med sentinel node biopsi men inte kliniskt påvisad.
-pN1mi	Mikrometastaser (större än 0,2 mm och/eller mer än 200 celler, men ingen större än 2,0 mm)
- pN1a	Metastaser i 1–3 axillära lymfkörtlar med åtminstone en som är större än 2 mm i största mått
- pN1b	Metastas i internal mammary lymfkörtlar med mikro- eller makrometastas upptäckt med sentinel node biopsi med inte klinisk upptäckt
-pN1c	Metastas i 1–3 axillära lymfkörtlar och i internal mammary lymfkörtlar med mikro och makroskopiska metastaser påvisad med sentinel node biopsi men inte kliniskt påvisad

- pN2 Metastas i 4–9 ipsilaterala axillära lymfkörtlar, eller klinisk påvisade ipsilaterala internal mammary lymfkörtlar utan metastas i axillära lymfkörtlar
- pN2a Metastas i 4–9 axillära lymfkörtlar (åtminstone en större än 2 mm)
  - pN2b Metastaser i klinisk påvisade internal mammary lymfkörtlar utan metastas i axillära lymfkörtlar
- pN3 Metastaser som nedan beskrivit
- pN3a Metastaser i 10 eller fler axillära lymfkörtlar (åtminstone en större än 2 mm) eller metastaser i infraklavikulära lymfkörtlar
  - pN3b Metastaser i klinisk påvisade ipsilateral internal mammary lymfkörtlar med samtidigt positiva axill lymfkörtlar; eller metastaser i mer än 3 axillära lymfkörtlar och i internal mammary lymfkörtlar med mikro- eller makroskopiska metastaser påvisade med sentinel node biopsi med inte klinisk påvisade
  - pN3c Metastaser i ipsilaterala supraklavikulära lymfkörtlar

För neoadjuvant behandling ypN var god se AJCC och/eller UJCC 7th ed (5):

ITC:  $\leq 0,2$  mm /  $< 200$  celler

Mikrometastas:  $> 0,2$  mm /  $> 200$  celler

Makrometastas:  $> 2,0$  mm

För att patient ska kategoriseras som makrometastas-positiv ska åtminstone en lymfkörtel innehålla en tumörhärd som är  $> 2,0$  mm (makrometastas). För att medräknas i körtelstatus måste ytterligare lymfkörtlar innehålla tumörhårdar som är  $> 0,2$  mm (åtminstone mikrometastas).

Fall med endast metastas  $< 2$  mm klassas som pN1mi.

Lymfkörtlar som bara innehåller tumörhårdar  $\leq 0,2$  mm (ITC) inräknas inte som positiva lymfkörtlar i N klassifikationen, men ska registreras som innehållande ITC, och inkluderas i det totala antalet undersökta lymfkörtlar.

Fall med enbart ITC i lymfkörtlar klassas som N0.

Cancerhårdar som ligger fritt i den axillära fettvävnaden utan histologisk påvisbar rest av lymfkörtel klassas som regional lymfkörtelmetastas ( $\geq N1$ ), när det finns cancer i bröstet.

Huvudmålet med undersökning av lymfkörtlar är att påvisa alla makrometastaser ( $> 2$  mm). Hela lymfkörteln ska inlämnas för undersökning. Större lymfkörtlar delas eller skivas i högst 2 mm tjocka skivor.

Metastasers storlek mäts som största storlek av härd med tumörceller i kontakt med varandra. Skilda hårdar får inte adderas. Om metastasen har inducerat desmoplastisk stromareaktion inkluderas det fibrotiska området i tumörmåttet.

Bedömning av metastasstorlek görs oberoende av om tumörhärden är lokaliserad inom en lymfkörtel, i anslutning till kapseln, eller ligger helt fritt i fettväv.



Mikrometastaser definieras som tumörhärdar större än 0,2 mm men inte större än 2,0 mm i största mått. En tredimensionell tumörhärd mätande 0,2 mm innehåller i genomsnitt cirka 1 000 tumörceller. Man har beräknat att om man påträffar mer än 200 tumörceller i ett enda snitt av en lymfkörtel, är sannolikheten stor att hela lymfkörteln innehåller mer än 1 000 tumörceller och därmed motsvarar en mikrometastas.

Isolerade tumörceller (ITC) definieras som lymfkörtel innehållande kontinuerlig tumörhärd mätande mindre än 0,2 mm, och/eller färre än totalt 200 spridda celler i ett snitt. Tumörcellerna skall räknas i ett enda snitt och fynd i flera snitt skall inte adderas.

Gränsvärdet 200 celler är endast en riktlinje och patologen kan göra en egen bedömning av om en tumörcellansamling mest sannolikt utgör mikrometastas eller isolerade tumörceller.

Intramammara lymfkörtlar ligger i bröstvävnad och kodas som axillära lymfkörtlar när fallet stadiindelade.

Stadieindelning			
Stage 0	Tis	N0	M0
Stage IA	T1*	N0	M0
Stage IB	T0, T1*	N1mi	M0
Stage IIA	T0, T1	N1**	M0
	T2	N0	M0
Stage IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Stage IIIA	T0, T1*, T2*		
	T3	N1, N2	M0
Stage IIIB	T4	N0, N1, N2	M0
Stage IIIC	Alla T	N3	M0
Stage IV	Alla T	Alla N	M1
* T1 innehåller T1mi			
** T0- och T1-tumörer med enbart mikrometastaser klassificeras som Stadium IIA (inte IB)			

## Biomarköranalyser

Biomarkörer analyseras på tumörvävnad med kontrollerad och om möjligt dokumenterad fixeringstid på 24–72 timmar. Kall ischemitid (tid från operation till formalin) anges om möjligt. Om tumören är tydlig makroskopiskt kan tumörbit för biomarkörer tas redan vid färskhanteringen. Analys görs främst på tumörvävnad med hela vävnadssnitt. Biopsimaterial kan avläsas och rapporteras likartat som hela vävnadssnitt men i jämförelse dem emellan bör man ta hänsyn till heterogenitet. Vad gäller omanalys av samma tumörvävnad bör man göra en sammanvägd bedömning avseende mängd vävnad som är analyserad, befintliga utfall och heterogenitet inom tumören.

Primär bröstcancer och recidiv analyseras avseende östrogen- och progesteronreceptorer, proliferationsmarkör Ki-67 och HER2-status, på histopatologiskt material.

Analyserna ska vara kvalitetssäkrade (intern kvalitetssäkring, extern kvalitetssäkring (testnivå exempelvis NordiQC eller UK-nequas och populationsnivå ex SweQA/Equalis). Analysmetod (inkluderande instrument, antikroppar, mm) ska dokumenteras vid laboratoriet, för att kunna utlämnas vid förfrågan. Med fördel kan kontroller, såväl negativa som olika positiva, finnas med på glaset.

Om analysmetoden (instrument, protokoll, reagenser) eller preparathantering (fixering, dehydrering, bäddning) ändras, ska validering utföras (6-8).

### Östrogen- och progesteronreceptorstatus – immunhistokemisk metod

Målet för receptorbestämning är att förutsäga kliniskt svar på hormonell behandling och varje analysmetod bör därför valideras mot analys som använts vid studier där effekt av hormonell behandling har utvärderats.

Om normal bröstvävnad finns med i snittet så fungerar denna som intern kontroll. Normala körtelceller uppvisar varierande (ingen-svag-måttlig) kärnfärgning utmed gångens cirkumferens. Stromaceller och myoepiteliala celler ska vara negativa.

Extern kontroll bör användas i form av extra snitt på glaset av till exempel normal vävnad eller cellinjer med varierande receptoruttryck.

Endast invasiva tumörstrukturer ska avläsas och vid tveksamhet i rutinfärgning kompletteras med immunhistokemisk färgning för myoepitel. All invasiv tumör på glaset ska granskas eftersom uttryck kan vara heterogent, i synnerhet avseende progesteronreceptorer.

Receptoruttryck på in situ-cancer utförs vid kliniskt önskemål.

Brunfärgade kärnor bedöms som positiva oavsett färgintensitet.

#### *Rapportering*

Resultatet anges som helt negativt eller med uppskattad andel positiva tumörceller i den invasiva komponenten i hela snittet. För att resultat ska kunna bearbetas statistiskt rekommenderas rapportering som ett siffervärde. Detta är också det format används i nationellt kvalitetsregister för bröstcancer.

Vävnad där interna kontroller inte utfaller korrekt trots att testet har upprepats kan inte användas till receptorbestämning. Tekniska orsaker till problem kan vara fixering i alkohol eller andra fixativ än 10 % neutral buffrad formalin, fixering < 6 timmar eller > 72 timmar, kall ischemitid överstigande 1 timme eller urkalkning i stark syra.



### **Proliferationsmarkör Ki67 – immunhistokemisk metod**

Bedömningen utförs på invasiv cancer inom områden som har det högsta antalet Ki67-positiva cancercellskärnor/ytenhet (så kallade ”hot spot”). Ett sådant område ska omfatta minst 200 celler. Det finns olika metodologiska avläsningsätt. Bedömning utförs i högsta förstoring motsvarande x40 objektiv.

Vid tveksamhet om vilka områden som utgörs av invasiv cancer bör kompletterande analyser med immunhistokemisk färgning för myoepiteliala celler (exempelvis p63, SMMS1) eller dubbelfärgning för Ki67 och cytokeratin göras.

Räkning kan utföras på olika sätt, såsom helt: visuellt i mikroskopet, med stöd av grid-okular eller datorstött med visuell cellmarkering på bild. Vid mycket låga värden (enstaka procent) eller mycket höga värden (> 75 %) kan visuell skattning räcka.

Som positiva celler räknas alla med färgade kärnor (bruna vid DAB-färgning) och hematoxylinfärgade (blå) kärnor räknas som negativa (9).

För att resultat ska kunna bearbetas statistiskt rekommenderas rapportering som ett siffervärde. Detta är också det format som används i nationellt kvalitetsregister för bröstcancer.

### **HER2 status – immunhistokemisk metod och in situ hybridisering**

#### *Kontroller och validering*

Målet för receptorbestämning är att förutsäga behov av att utföra in situ hybridisering. In situ hybridiseringen avser att förutsäga behandlingssvar på anti HER2 behandling. In situ hybridisering valideras mot analys som använts vid studier där effekt av anti HER2 behandling har utvärderats.

Vid immunhistokemisk färgning används extern kontroll. Med fördel kan bröstcancervävnad med varierande uttryck av HER2 protein användas (fall med 0 och 3+ där in situ hybridisering (ISH) tidigare har utförts) som kontroll. Även cellinjer med varierande HER2-uttryck kan användas. Om område av normal bröstvävnad är representerad i snittet fungerar denna som intern kontroll. I normal bröstvävnad skall ses en svag, inkomplett infärgning i utförsgångar.

Om resultatet i kontrollerna inte utfaller som väntat måste analysen göras om. Om cytoplasmatisk färgning döljer membranfärgningen måste testet göras om eller ISH utföras.

Vid ISH test kan extern kontroll användas med normalt och amplifierat HER2 uttryck. Om inte kontrollerna utfaller som väntat måste testet göras om.

#### *Avläsning*

Immunhistokemi för HER2 och ISH bör avläsas tillsammans med tillhörande rutinfärgat glas.

HER2-status kan bestämmas som proteinuttryck i membranet med immunhistokemi (IHC) och/eller på gen-nivå med in situ hybridisering (ISH). Båda metoderna kan användas men har diagnostiska problem som bör observeras. Vilken metod som är optimal kan variera från fall till fall. Alla IHC 2+ och 3+ bör undersökas med ISH.

HER2 IHC avläses med 10x objektivet.

All tumörvävnad i snittet granskas och andel tumör (brytpunkt 10 %) med signifikant membraninfärgning (styrka och utbredning), uppskattas enligt nedan.

#### *IHC-avläsning*

0: Ingen in färgning eller inkomplett membranfärgning som är svag/knappt synlig i  $\leq 10\%$

1+: Inkomplett membranfärgning som är svag/knappt synlig i  $> 10\%$

2+: Komplet svag/måttlig membranfärgning infärgning i  $> 10\%$ . U-format basolateral kraftig positiv membranfärgning där den luminala del av membranen är negativ (sällsynta fall) (10).  
Komplett kraftig membranfärgning i  $\leq 10\%$

3+: Komplet, kraftig membranfärgning i  $> 10\%$

#### *ISH-avläsning*

Avläsning kan göras av en specialutbildad BMA men en patolog måste konfirmera bedömning och att invasiv cancer har undersökts.

Räkna minst 20 icke-överlappande kärnor i vardera minst 2 separata områden med invasiv cancer. Om resultatet är tveksamt eller om expressionen är heterogen ska minst två oberoende personer avläsa provet.

Vid bedömning bör utfallet korreleras med tumörens typ och grad (6).

#### *Rapportering HER2-status*

Vid rapportering av resultat rekommenderas en algoritm som definierar HER2 status utifrån positiva och negativa resultat för båda HER2 protein expression och HER2 gen amplifikation (6).

##### Positivt HER2 status

IHC färgning 3+

IHC 2+ och ISH kvot  $\geq 2$

IHC 2+ och antal HER2 kopior  $> 4$  (11).

##### Negativt HER2 status

IHC färgning 0 eller 1+

ISH kvot  $< 2,0$  och HER2 kopior  $< 4$ .

I svaret rapporteras IHC utfall (0, 1+, 2+, 3+). Om ISH utförts rapporteras även ISH kvot och medelantal HER2 kopior.

Vävnad där interna kontroller inte utfaller korrekt trots att testet har upprepats och undersökts med både IHC och ISH kan inte bedömas och besvaras som "icke bedömbart resultat".



## Information i remissens svarsdel

### Makroskopisk beskrivning

Standardsvar utformade efter lokal överenskommelse i det multidisciplinära teamet kan med fördel användas. Den makroskopiska beskrivningen är inte del av standardsvaret.

Makrofoto, eventuellt med stöd av digital programvara, kan användas för dokumentation.

### Partiell mastektomi och mastektomi

Storlek på preparatet och på eventuell hud samt markering och eventuell tuschning registreras. Tumörstorlek och resektionsmarginaler skall mätas makroskopiskt och användas för patologisk/röntgenologisk korrelation men behöver inte beskrivas i remissens svarsdel.

Det är centralt att den kliniska tumörbeskrivningen (tumörstorlek, antal, lokalisering) och eventuell tumörmarkering, kan korreleras och spåras genom den makroskopiska beskrivningen, och därmed till den mikroskopiska diagnosen.

### Sentinel node

Storlek på SN anges med ett mått per lymfknuta.

### Axillpreparat

Ingen.

### Kompletterande mastektomi, excisionsbiopsier och diagnostiska biopsier

Storlek på preparatet och eventuell hud samt markering registreras. Lokalisation och storlek av eventuellt ärr på huden samt storlek av eventuellt ärrområde i bröstet registreras.

## Mikroskopiutlåtande

### Cytologimaterial

Förutom en beskrivande diagnos kan ett system med svars-koder användas.

### Biopsier

Förutom en beskrivande diagnos kan ett system med svars-koder användas.

### Partiell mastektomi och mastektomi

Standardsvar utformade efter lokal överenskommelse i det multidisciplinära teamet kan med fördel användas. Nedanstående överensstämmer med de variabler som registreras i nationellt kvalitetsregister för bröstcancer.

### Preparat med invasiv cancer

*Svarsparametrar*

Preparat typ. Partiell mastektomi, mastektomi eller kolvbiopsi före neoadjuvant behandling.

Sida. Höger eller vänster

**Tumörplacering.** Vid mastektomi kan klockslog med klockslog 1–12, och avstånd till mamill anges. Retromamillärt anges med kl. 0. Vid partiell mastektomi är relation till mamill ofta inte bevarad och tumörens lokalisering kan i stället beskrivas med relation till eventuell tumörmarkering (nål, preparatröntgen) eller position i resektatet.

**Histologisk diagnos.** Invasiv duktal cancer, invasiv lobulär cancer eller annan specificerad typ (se Klassificering av tumören samt Koder och beteckningar).

**Antal invasiva tumörer i bröstet.** Antal invasiva tumörer som är åtskilda av antingen in situ cancer eller benign bröstvävnad anges.

**Multifokalitet** (flera invasiva tumörhårdar med benign bröstvävnad eller in situ vävnad mellan). Anges med ja, nej eller diffus växt. Med diffus växt avses finfördelad eller diskontinuerlig tumörväxt utan välavgränsad tumörkropp.

**Mikroskopisk storlek av största invasiva focus, mm.** Det största måttet av 3 dimensioner anges i mm.

**Samlad storlek av alla in situ och invasiva foci (extent), mm.** Definieras som område (area eller volym) innehållande alla maligna strukturer i operationsmaterialet (inklusive alla invasiva och in situ partier, DCIS såväl som LCIS samt tumörens engagerade kärl). Rapporteras som den största av 3 dimensioner i mm.

**Minsta avstånd till sidoresektionsyta från invasiv cancer, mm:** Sammanvägd makro- och mikroskopisk bedömning.

**Minsta avstånd till sidoresektionsyta cancer in situ, mm:** Sammanvägd makro- och mikroskopisk bedömning bestämmer avstånd från DCIS till sidoresektionsrand. Resektionsmarginal för LCIS rekommenderas ej rapporteras enligt WHO 2012.

**Kärllinväxt.** Peritumoral kärllinväxt bedöms på HE-färgade snitt som förekommande, inte förekommande eller ej bedömbart. Kärllinväxt (vaskulär invasion)

Förekomst av kärllinväxt eftersöks peritumoralt och diagnostiseras om tumörceller kan verifieras i endotelklädda kärllika hålrum. Man kan känna igen olika mönster av vaskulär invasion vilka kan underlätta i differentialdiagnostiken gentemot artefakter (12, 13) (se referensbilder på hemsida). I enstaka fall kan immunhistokemisk undersökning med endotelmarkörer vara av värde.

**Histologisk grad (NHG).** Körtelgrad + kärngrad + mitosgrad = totalpoäng. NHG anges som grad 1, grad 2 eller grad 3, alternativt ej bedömbart vid till exempel små tumörer eller ej utfört vid till exempel total regression efter neoadjuvant behandling.

**Östrogenreceptor, procent.** Registreras som uppskattat procent positiva kärnor i hela snittet. Besvaras som procent-andel positiva celler, ej utfört eller ej bedömbart.

**Progesteron receptor, procent.** Som för östrogen receptor.

**HER2 protein.** Anges med 0, 1+, 2+, 3+, ej utfört eller ej bedömbart

**ISH HER2.** Anges med normal, amplifierat, ej utfört, ej bedömbart

**Ki67 index, %.** Totalt 200 celler räknas i ”hot spots” (se Analyser). För närvarande kategoriseras tumörer som låg eller högproliferativa utifrån det enskilda laboratoriets gränsvärde för den 1/3-delen med högst proliferation, av samtliga invasiva tumörer, i regel 20–30% beroende på laboratorium. Pågående arbete talar för att en indelning i tre proliferationsnivåer, av Estrogenreceptor-positiva och Her2-negativa tumörer, kan förbättra diskrimineringen mellan mellan Luminal A- och Luminal B-tumörer, varför dessa riktlinjer kan komma att ändras.

#### *Synpunkter på mikrofoto*

Mikroskopisk fotodokumentation och digital mätning av tumörstorlek eller storlek av lymfkörtelmetastaser kan med fördel användas för att illustrera och dokumentera de histopatologiska fynden.

#### *Systemisk preoperativ (neoadjuvant) behandling*

Om systemisk preoperativ behandling övervägs krävs preoperativ diagnostik med kolvbiopsi med biomarkörbestämning och tumörgradering som vägledning för behandling.

Biomarkörbestämning rekommenderas upprepas på eventuell resttumör, då behandlingen kan ändra biomarköruttrycket.

Erfarenhetsmässigt kan analys av biomarkörer efter neoadjuvant behandling försvåras av behandlingsinducerade förändringar i cellerna och därför bör särskilt fall där hormonreceptor- eller HER2 status har förändrats granskas noga.

Den neoadjuvanta behandlingen ger stora förändringar i histologin och tumören kan gå i totalt regress. Därför är det mycket viktigt att tumörområdet är markerat före behandlingen. Detta kan göras med klips inlagda vid biopsi tagning, med tusch på huden ovanpå tumören eller med kolmarkering av tumören i bröstet. Innan omhändertagning av preparatet måste patologen ha exakt information om tumörlokalisering och antal tumörer. Beskrivning av hur röntgenstrålning, cytostatika och hormonell behandling inverkar på tumörvävnad och på normalvävnad finns i referens (14). Tumörtyp och histologisk grad anges som vid obehandlade tumörer. Det finns olika klassifikationssystem för neoadjuvant behandlade tumörer, men ingen är evidensbaserad.

Axillära lymfkörtlar efter neoadjuvant behandling anges med antal undersökta, antal med metastas och antal. Förekomst av förändringar talande för total regress av metastas (fibros, hämosiderofager, xanthogranulomatös inflammation, osv) ska rapporteras.

### **Preparat med in situ cancer**

#### *Svarsparametrar*

**Sida.** Höger eller vänster

**Tumörplacering, kl.** Använd klockslag. Retromamillärt anges med kl. 0

**Histologisk typ.** Duktal cancer in situ, lobulär cancer in situ eller annan specificerad typ.

**Multifokalitet (flera härdar av in situ med benign bröstvävnad mellan).** Anges med ja, nej eller diffus växt. Diffus växt är en kontinuerlig tumörväxt i stora delar av det dukala systemet och är oftast av grad 3 med nekros.

**Mikroskopisk storlek av största in situ cancer focus, mm.** Det största måttet av tre dimensioner i mm.

**Samlad storlek av alla in situ foci (extent), mm.** Anges som den största av tre dimensioner i mm.

**Minsta avstånd till sidokant från in situ cancer, mm:** Sammanvägd makro- och mikroskopisk bedömning.

**Kärngrad.** Anges som grad 1, grad 2, grad 3 eller ej bedömbart. Se Bilaga 1, Analyser.

**Nekros.** Anges med ja, nej eller ej bedömbart

### Sentinel node

*Svarsparametrar*

**Intraoperativ undersökning.** Anges med ja eller nej

**Sida.** Höger eller vänster

**Antal sentinel nodes.** Antal sentinel nodes undersökta med sentinel node teknik

**Antal sentinel nodes med ITC.** Antal sentinel nodes med isolerade tumörcellsclusters där största härd mäter  $\leq 0,2$  mm eller innehåller  $< 200$  tumörceller i ett snitt. För definition av ITC ses (5).

**Antal positiva sentinel nodes.** Antal sentinel nodes med metastas där den största härd mäter  $> 0,2$  mm eller innehåller  $> 200$  tumörceller i ett snitt.

**Storlek största metastasen, mm.** Storleken anges i mm och tumörhärdar  $< 2$  mm anges med decimal.

Svarsparametrar för non sentinel nodes och för axill är desamma som för sentinel nodes.

### Kompletterande mastektomi, excisionsbiopsier och diagnostiska biopsier

Beskrivning av histologin och underlag för diagnos.

## Koder och beteckningar

### SNOMED-kodning

**Topografikoderna** följer SNOMED II med tillägget 1 = höger, 2 = vänster, 9 = sida okänd.

Följande T-koder kan användas:

**T04000** Bröst UNS (används ibland för kvinnligt bröst, annars är den korrekta koden egentligen enligt nedan T04010)

Vidare används även:

**T04020** Kvinnligt bröst, höger

**T04030** Kvinnligt bröst, vänster

**T04040** Manligt bröst

**T04100** Mamill



De som önskar topografikoda mer detaljerat kan använda följande T-koder, som således ej är obligatoriska:

<b>T04001</b>	Retromamillärt
<b>T04002</b>	Övre inre kvadranten
<b>T04003</b>	Nedre inre kvadranten
<b>T04004</b>	Övre yttre kvadranten
<b>T04005</b>	Nedre yttre kvadranten
<b>T04010</b>	Kvinnligt bröst
<b>T04200</b>	Areola
<b>T04280</b>	Axillary tail (bröst)

**Tumörnomenklaturen** (morfologikoderna, M-koderna) i SNOMED II kapitel 8 och 9 sammanfaller med få undantag med SNOMED III, WHO och ICD-O. SNOMED II kan således användas med uppdateringar från senaste WHO (2012) (2) och ICD-O (v.3).

Siffran i M-kodens 5:e position användes på sedvanligt vis: 0 = benigt, 1 = malignitetsmisstanke/borderline, 2 = in situ cancer, 3 = invasiv malignitet, 6 = metastas, 9 = oklart om primär eller sekundär malignitet. Förslag finns att om man så önskar kan man använda 7 = recidiv.

### SNOMED-koder för bröstförändringar enligt WHO 2012.

För översiktens skull har även icke-cancerösa förändringar medtagits

<b>EPITELIALA TUMÖRER</b>	
Invasiv duktal cancer, NST	85003
Cancer, pleomorf	80223
Cancer med osteoklastlika jätteceller	80353
Cancer med choriocarcinom drag	-
Cancer med melanocyära drag	-
Invasiv lobulär cancer	85203
Tubulär cancer	82113
Invasiv kribriform cancer	82013
Mucinös cancer	84803
Medullär cancer	85103
Cancer med apokrina drag	84013
Cancer med signetringscelldifferentiering	84903
Invasiv mikropapillär cancer	85073

Metaplastisk cancer	85753
Låggradig adenoskvamös cancer	
Fibromatos-lik metaplastisk cancer	85753
Skivepitelcancer	80703
Spolcellig cancer	85723
Metaplastisk cancer med mesenkymal differentiering	
Blandad metaplastisk cancer	84903
Myoepitelial cancer	84903
<b>Ovanliga cancerformer</b>	
Cancer med neuroendokrina drag	
Sekretorisk cancer	85023
Invasiv papillär cancer	85033
Acinic cell cancer	85503
Mucoepidermoid cancer	84303
Polymorf cancer	85253
Onkocytär cancer	82903
Lipidrik cancer	83143
Glykogenrik klarcellig cancer	83153
Sebaceös cancer	84103
<b>Prekursorlesioner</b>	
Duktal cancer in situ	85002
Lobulär cancer in situ	85202
<b>Epiteliala-myoepiteliala tumörer</b>	
Pleomorft adenom	89400
Adenomyoepiteliom	89830
Adenoidcystisk cancer	82003

<b>Papillära lesioner</b>	
Intraduktalt papillom	
Intraduktal papillär cancer	85032
Inkapslad papillär cancer (stadieindelas som in situ-cancer)	85042
Solid papillär cancer (stadieindelas som in situ-cancer)	85092
<b>Benigna epiteliäla proliferationer</b>	
Skleroserande adenos	
Apokrin adenos	
Mikroglandulär adenos	
Radierande ärr/Komplex skleroserande lesion	
Adenom (tubulärt/lakterande/apokrint/duktalt)	
<b>MESENKYMALA TUMÖRER</b>	
Nodulär fasciit	
Myofibroblastom	
Desmoid-typ fibromatos	
Inflammatorisk myofibroblastisk tumör	88251
Benigna vaskulära lesioner	
Hemangiom	
Angiomatos	
Atypisk vaskulär lesion	
Pseudoangiomatös stromal hyperplasi (PASH)	
Granularcellstumör	95800
Neurofibrom	95400
Schwannom	95600
Lipom	88500
Liposarkom	
Angiosarkom	
Rhabdomyosarkom	
Osteosarkom	
Leiomyom	
Leiomyosarkom	

<b>FIBROEPITELIALA TUMÖRER</b>	
Fibroadenom	90100
Phyllodestumör	90201
Benign	90200
Borderline	90201
Malign	90203
Periduktal stromal tumör, låggradig	90203
Hamartom	
<b>TUMÖRER I BRÖSTVÅRTAN</b>	
Adenom (Nipple adenoma)	85060
Syringomatös tumör	
Mb Paget	85403
<b>MALIGNT LYMFOM</b>	
Diffust storcelligt B-cellslymfom	96873
<b>METASTASER</b>	
<b>TUMÖRER I MANLIGT BRÖST</b>	
Gynekomasti	
Cancer, invasiv	85003
Cancer, in situ	85002

### Tilläggsregistreringar

I nationellt kvalitetsregister för bröstcancer registreras den första bröstcancer (invasiv eller in situ) i höger respektive vänster bröst. Kvalitetsregistret för bröstcancer innehåller patologidata och för närvarande fyller patologer, kirurger, sjuksköterskor eller sekreterare manuellt i ett formulär med data som senare överförs i ett on-line register. På vissa håll i landet fyller man i data direkt i registret. Arbete pågår för att skapa en gemensam databas för patologisvar och registrering i kvalitetsregistret i laboratorieinformationssystemet. Patologivariabler (enligt standardsvår) ska matas in i databasen genom ett separat fönster i datasystemet. En kopia förs in i patologisvaret och data skickas automatisk till kvalitetsregistret. Detta kräver att variabler i den lokala laboratoredatabasen, i databasen på regionalt cancercentrum och i det nationella kvalitetsregistret är helt kongruenta.



## Kvalitetsarbete för patologin

### Nyckeltal

Parameter	Värde
<b>Antal invasiva cancerfall</b>	Antal nydiagnostiserade invasiva cancerfall per år
<b>Andel enbart DCIS</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade cancerfall
<b>NHG 1</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade invasiva graderade cancerfall
<b>NHG 2</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade invasiva graderade cancerfall
<b>NHG 3</b>	Procent av samtliga nya nydiagnostiserade invasiva graderade cancerfall
<b>Kärlinväxt</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade invasiva cancerfall
<b>ER ≤10 %</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade invasiva cancerfall
<b>ER &gt; 10 %</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade invasiva cancerfall
<b>PGR ≤ 10 %</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade invasiva cancerfall
<b>PGR &gt; 10 %</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade invasiva cancerfall
<b>IHC HER2 0</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade invasiva cancerfall
<b>IHC HER2 1+</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade invasiva cancerfall
<b>IHC HER2 2+</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade invasiva cancerfall
<b>IHC HER2 3+</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade invasiva cancerfall
<b>Ampl (ISH) HER2 2+</b>	Procent av IHC HER2 2+ nydiagnostiserade
<b>Ampl (ISH) HER2 3+</b>	Procent av IHC HER2 3+ nydiagnostiserade
<b>Ki67 ≤ 20 %</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade invasiva cancerfall
<b>Ki67 &gt; 20 %</b>	Procent av samtliga nydiagnostiserade invasiva cancerfall

## Referenser

1. Provenzano E, Bossuyt V, Viale G, Cameron D, Badve S, Denkert C, et al. Standardization of pathologic evaluation and reporting of postneoadjuvant specimens in clinical trials of breast cancer: recommendations from an international working group. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2015;28(9):1185-201.
2. Lakhani SR, Ellis. I.O., Schnitt, S.J., Tan, P.H., van de Vijver, M.J. WHO Classification of Tumours. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2012.
3. Douglas-Jones AG, Gupta SK, Attanoos RL, Morgan JM, Mansel RE. A critical appraisal of six modern classifications of ductal carcinoma in situ of the breast (DCIS): correlation with grade of associated invasive carcinoma. *Histopathology.* 1996;29(5):397-409.
4. Consensus Conference on the classification of ductal carcinoma in situ. The Consensus Conference Committee. *Cancer.* 1997;80(9):1798-802.
5. AJCC Cancer Staging Manual (Edge, Ajcc Cancer Staging Manual) 7th Edition. Stephen Edge DRB, Carolyn C. Compton, April G. Fritz, Frederick L. Greene, Andrew Trotti editor. Chicago: Springer.
6. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *Archives of pathology & laboratory medicine.* 2014;138(2):241-56.
7. Hammond ME, Hayes DF, Wolff AC, Mangu PB, Temin S. American society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *Journal of oncology practice / American Society of Clinical Oncology.* 2010;6(4):195-7.
8. Fitzgibbons PL, Murphy DA, Hammond ME, Allred DC, Valenstein PN. Recommendations for validating estrogen and progesterone receptor immunohistochemistry assays. *Archives of pathology & laboratory medicine.* 2010;134(6):930-5.
9. Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, Bartlett J, Coombes RC, Cuzick J, et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. *Journal of the National Cancer Institute.* 2011;103(22):1656-64.
10. Rakha EA, Starczynski J, Lee AH, Ellis IO. The updated ASCO/CAP guideline recommendations for HER2 testing in the management of invasive breast cancer: a critical review of their implications for routine practice. *Histopathology.* 2014;64(5):609-15.
11. Bergh JoG, D. Diskussion SweBCG. 2014.
12. Orbo A, Stalsberg H, Kunde D. Topographic criteria in the diagnosis of tumor emboli in intramammary lymphatics. *Cancer.* 1990;66(5):972-7.
13. Elston C.W. EIO. *Systemic Pathology: Churchill Livingstone;* 1998.
14. Murray M. Nonneoplastic alterations of the mammary epithelium can mimic atypia. *Archives of pathology & laboratory medicine.* 2009;133(5):722-8.



Regionala cancercentrum – landstingens och regionernas nationella samverkan inom cancervården.  
Med patienter och närstående för hela människan, i dagens och framtidens cancervård.  
[www.cancercentrum.se](http://www.cancercentrum.se)