



PROTOCOL ANATOMO-PATOLOGIC DE MANIPULARE, PRELUCRARE ȘI RAPORTARE A PIESELOR DE REZECȚIE ȘI BIOPSIE MAMARĂ

Cuprins

1. Colectarea specimenelor	3
1.1. Etichetarea specimenelor	3
1.1.1. Identificarea pacientului	3
1.1.2 Etichetarea specimenelor	3
1.2. Completarea formularului de solitare a examinării histopatologice/cererii de examinare histopatologică/biletului de trimitere către laboratorul de anatomie patologică și atașarea documentației cazului	4
1.3. Transportul specimenelor	4
1.4. Recepționarea specimenului	6
2. Procedurile de laborator premergătoare analizei microscopice	7
2.1. Examinare macroscopică imediată	7
2.2. Consultul intraoperator	8
2.3. Fixarea	9
2.4. Examinarea macroscopică post-fixare	10
2.4.1. Specimene biopsice de dimensiuni mici:	10
2.4.2. Specimene de dimensiuni mari:	11
2.4.3. Prelevarea specimenelor și a secțiunilor pentru includere în casete tisulare	18
2.4.4. Etichetarea/identificarea/marcarea casetelor tisulare	18
2.5. Procesarea	19
2.6. Includerea	21
2.7. Secționarea	22
2.8. Colorarea	23
2.9. Montarea	24
3. Examinarea microscopice	25
3.1. Examinarea microscopice a biopsiei tru-cut, biopsiei asistată vacuum, biopsiei incizionale	25
3.2. Examinarea microscopice a biopsiei excizionale, a sectorului mamar și a piesei de mastectomie	30
3.3. Examinarea microscopice a limfoganglionilor axilari	38
4. Studii complementare	38
4.1. Testarea IHC a statusului receptorilor hormonal	38
4.1.1. Statutul receptorilor estrogenici (ER)	38
4.1.2. Statutul receptorilor progesteronici (PR)	40
4.2. Evaluarea Ki-67	41
4.3. Evaluarea Her2	41
4.3.1. Testare IHC a supraexpresiei Her2:	41
4.3.3. Testarea HER2 prin metode de hibridizare in situ (ISH)	42
5. Bibliografie	43

Notă introductivă

Protocolul anatomo-patologic de manipulare, prelucrare și raportare a pieselor de rezecție și biopsie mamară pentru Programul Național pentru Screeningul pentru Cancerul de Sân a fost elaborat în cadrul proiectului "Creșterea capacității instituționale și a competențelor profesionale ale specialiștilor din sistemul de sănătate în scopul implementării Programului Național de screening pentru cancerul de sân", contract de finanțare nr. POCU/259/4/9/120799 Cod SMIS: 120799 finanțat de Fondul Social European, Programul Operațional Capital Uman 2014-2020, Axa prioritară 4: Incluziunea socială și combaterea sărăciei, Prioritatea de investiții: Creșterea accesului la servicii accesibile, durabile și de înaltă calitate, inclusiv asistență medicală și servicii sociale de interes general implementat de Institutul Oncologic "Prof Dr. Ion Chiricuță" Cluj-Napoca în parteneriat cu Institutul Național de Sănătate Publică.

Protocolul urmărește stabilirea unor proceduri unitare pentru implementarea Programului Național de Screening pentru Cancerul de Sân care, pentru început, va fi finanțat în Regiunile de dezvoltare Nord-Vest, Vest, Nord-Est și Sud-Est prin Programul Operațional Capital Uman, proiectele "Fii responsabilă de sănătatea ta – programe regionale de prevenție, depistare precoce, diagnostic și tratament precoce al cancerului de sân - etapa II", AP 4/ PI 9.iv/ OS 4.9

Acest document reprezintă o sumarizarea a recomandărilor și ghidurilor internaționale actuale și protocoalelor anatomopatologice ce fac referire la etapele diagnosticului anatomopatologic al pacienților cu cancer de sân. Aceste ghiduri sunt enumerate la finalul documentului în secțiunea Bibliografie. Acest document a fost redactat cu scop informativ, educațional, non-profit. Pentru informații suplimentare vă rugăm să consultați documentele originale, în versiunile actualizate.

1. Colectarea specimenelor

Etapa preanalitică este extrem de importantă pentru examinarea specimenelor tisulare, calitatea tuturor examinărilor microscopice și a studiilor de imunohistochimie, citogenetică și biologie moleculară fiind dependentă de respectarea recomandărilor de bune practici în ceea ce privește manipularea și realizarea procedurilor de laborator din etapa preanalitică.

1.1. Etichetarea specimenelor

1.1.1. Identificarea pacientului

- Identitatea pacientului trebuie să fie verificată la momentul colectării specimenului tisular și în oglindă în momentul recepționării în laboratorul de anatomie patologică
- Este recomandată să existe cel puțin două elemente de identificare unice
- Elemente de identificare ale pacientului pot fi:
 - Numele complet
 - Numărul de identificare alocat pacientului într-o instituție medicală (de exemplu numărul fișei medicale)
 - Codul numeric personal
 - Alte date din documente oficiale (documente de identificare (carte de identitate, pașaport))
 - Data nașterii
 - Alte date personale specifice de identificare sau alte date specifice ale instituției
- Este necesară acordarea unei atenții sporite pentru asigurarea confidențialității în privința fișelor medicale și a datelor medicale și respectării prevederilor GDPR

1.1.2 Etichetarea specimenelor

- Eticheta specimenului trebuie să conțină cel puțin 2 elemente unice de identificare (vezi 1.1.1)
- Eticheta poate conține și elemente suplimentare (sex, medic trimițător, localizare anatomică, tipul specimenului)
- Este recomandat să se utilizeze etichete standardizate (format și date) și ca etichetarea să se facă în prezența pacientului (în măsura în care aceasta lucru este posibil)
- Cel puțin un identificator trebuie să poată fi citit de om
- Recomandări de bune practici pentru evitarea erorilor de etichetare:
 - Nu lipiți eticheta pe capacul recipientului (total sau parțial)
 - Nu lipiți eticheta astfel încât să fie acoperite datele pacientului
 - Creați și urmați o procedură de corectare a erorilor de etichetare
 - Utilizați etichete ce sunt validate pentru a rezista substanțelor chimice și proceselor desfășurate pentru speciemenle de anatomie patologică
 - Procedurile de colectare, manipulare și predare trebuie să fie puse la dispoziția tuturor cadrelor medicale implicate în colectarea, etichetarea, predarea și transportul speciemenelor către laboratorul de anatomie patologică
- Metode de etichetare pot cuprinde:
 - Codurile de bare
 - Identificare prin RadioFrecvență (IDRF)
 - Etichete simple autocolante care să respecte recomandările de mai sus

1.2. Completarea formularului de solitare a examinării histopatologice/cererii de examinare histopatologică/biletului de trimitere către laboratorul de anatomie patologică și atașarea documentației cazului

- Procedurile scrise despre completarea corectă a unei solicitări către laboratorul de anatomie patologică trebuie să se afle la dispoziția tuturor cadrelor medicale implicate în colectarea, etichetarea, predarea și transportul specimenelor către laboratorul de anatomie patologică
- Cererea de examinare poate fi redactată în format scris sau electronic și trebuie completată de personal autorizat
- Datele de identificare ale pacientului trebuie incluse pe fișa de solitare/cererea de examinare (vezi 1.1.1)
- Pe solitare se pot consemna și documentele medicale atașate
- La recepția documentelor medicale atașate pentru fiecare dintre acestea sunt urmați pașii de identificare pentru a asigura faptul că acestea provin de același pacient
- Solicitarea scrisă sau electronică pentru testarea pacientului trebuie să includă:
 - Elementele de identificare a pacientului enumerate mai sus
 - Numele și adresa sau alte elemente adecvate de identificare ale persoanei autorizate care solicită testarea
 - Numele și adresa sau alte elemente adecvate de identificare ale persoanei responsabile pentru recepționarea rezultatelor testării
 - Numele și adresa laboratorului care trimite specimenul
 - Testul și/sau testele care trebuie efectuate
 - Procedura efectuată pentru recoltarea specimenelor
 - Localizarea specimenului – în cazul în care este colectat mai mult de un specimen într-o singură procedură fiecare specimen trebuie să fie identificat în mod individual prin localizarea anatomică și/sau tipul specimenului
 - Data și ora procedurii sau a colectării specimenului
 - Data primirii specimenului
 - Istoricul clinic – orice informații suplimentare relevante sau necesare pentru un test specific, pentru a asigura corectitudinea și promptitudinea testării și raportării rezultatelor, inclusiv interpretarea acestora dacă este cazul
- Este recomandat să se utilizeze formulare standardizate (format și date) și să fie consemnat și timpul de ischemie caldă (timpul măsurat de la întreruperea aportului de sânge către țesut/tumoră de către chirurg până la momentul exciziei specimenului tisular) și timpul de ischemie la rece (timpul de la extragerea specimenului din câmpul chirurgical până la momentul în care țesutul este plasat în agentul de fixare)- documentarea datei și orei la care specimenul este plasat în agentul de fixare de către medicul care a recoltat specimenul sau delegatul acestuia
- Informațiile trebuie să se afle la dispoziția laboratorului pentru a putea fi revizuite și/sau să apară în fișa de recepție a pacientului

1.3. Transportul specimenelor

- Toate speciemenle trebuie să fie plasate în recipiente etanșe
- Speciemenle trebuie să fie transportate la laborator imediat după colectare
- Speciemenle care nu pot fi transferate imediat, trebuie să fie ținute la frigider până la transferul către laboratorul de anatomie patologică

- Specimenele transferate din centre aflate la distanță de laboratorul anatomo-patologic trebuie să fie expediate în condiții de temperatură controlată pentru a evita supraîncălzirea sau congelarea
- Toate speci­menele trebuie să fie ambalate și etichetate adecvat, indicând materialele care trebuie transportate, înainte de trimiterea către laborator
- Pentru a evita uscarea țesuturilor care nu sunt plasate imediat în fixator la momentul prelevării:
 - Masele tisulare solide (de exemplu ganglion limfatic sau nodul mamar) sunt înfășurate în tifon înmuiat în soluție salină înainte de plasarea în recipientul etichetat (anumite biopsii pot necesita o manipulare specială)
 - Se adaugă un volum mic de soluție salină țesuturilor cu o cantitate insuficientă de fluide naturale
- Specimenele trebuie să fie plasate într-un agent de fixare adecvat, după cum se specifică în procedura de colectare/manipulare și predare
- Raportul dintre volumul agentului de fixare și cel al țesutului trebuie să fie inclus în procedurile de colectare/manipulare și predare, de exemplu volumul soluției 10% de formalină neutră tamponată (FNT) trebuie să fie de 15- 20 de ori mai mare decât volumul specimenului
- Toate recipientele pentru speci­mene care conțin agenți de fixare trebuie să aibă etichete adecvate pentru substanțele chimice
- Recipientele pentru speci­mene trebuie să fie expediate cu respectarea regulilor adecvate pentru transportul și manipularea formalinei (recipient cu pereți duri, cu ambalaj absorbant) sau altui fixator utilizat
- Trebuie documentată data și ora la care specimenul a ajuns în laboratorul pentru a permite calcularea timpului de transport
- Fișa cu datele de securitate materialelor și substanțelor utilizate trebuie să se afle la dispoziția tuturor membrilor personalului care manipulează agenții de fixare

Considerații speciale:

- *Specimenele proaspete*
 - Toate speci­menele proaspete trebuie să fie trimise cât mai rapid către departamentul de anatomie patologică, cu instrucțiuni pentru testare sau procese speciale
 - Toate speci­menele nefixate trebuie să fie transportate cât mai rapid către laboratorul de anatomie patologică și trebuie păstrate la frigider până vor fi plasate într-un agent de fixare adecvat
 - Speci­menele care nu se află încă în agentul de fixare trebuie să fie plasate într-un recipient steril și păstrate umede cu soluție salină sterilă sau înfășurate în bureți umeziți cu soluție salină până când vor putea fi plasate în agentul de fixare adecvat
 - Se confirmă cu chirurgul ce alte tipuri de studii diagnostice trebuie efectuate, inclusiv colorație Gram, acid fast și analize microbiologice etc.
 - Excepțiile de la trimiterea imediată a specimenului tisular trebuie să fie descrise clar în politici și proceduri
- *Specimene în fixator*
 - Sunt necesare ghiduri speciale pentru manipularea țesutului mamar pentru a garanta îndeplinirea ghidurilor de fixare (vezi 2.3)
 - Recipientele trebuie să fie rigide, impermeabile, incasabile și nereactive cu soluțiile de fixare

Recomandări pentru bune practici:

- Utilizarea instrumentelor chirurgicale pe bază de căldură trebuie să fie evitată sau limitată oricând este posibil acest lucru
- Utilizarea instrumentelor chirurgicale trebuie să fie evitată sau limitată cât mai mult în manipularea speci­menelor pentru a preveni zdrobirea sau lezarea țesuturilor
- Toate țesuturile trebuie să fie plasate în agenți de fixare cât mai rapid după excizia din corp, cu excepția cazurilor în care sunt solicitate studii speciale care pot fi afectate de agentul de fixare disponibil
- Dacă agentul de fixare nu poate fi adăugat în timp util, speci­menul trebuie plasat într-un recipient steril și păstrat umed cu soluție salină sterilă sau înfășurat în bureți umeziți cu soluție salină până când speci­menul va putea fi plasat în agentul de fixare
- Toate speci­menele nefixate trebuie să fie transportate cât mai devreme către laboratorul de anatomie patologică și păstrate la frigider până sunt plasate într-un agent de fixare adecvat
- Este recomandabil ca lanțul de responsabilitate să includă tot personalul implicat în manipularea și transportul speci­menului către laboratorul de anatomie patologică și în cadrul laboratorului de anatomie patologică, pe parcursul procedurilor de testare

1.4. Recepționarea speci­menului

- Procedura de recepționare a speci­menului trebuie să fie disponibilă pentru toți membrii personalului din laboratorul de anatomie patologică
- Laboratorul de anatomie patologică trebuie să aibă un sistem de înregistrare care identifică persoana care a primit speci­menul, data și ora primirii
- Toate speci­menele trebuie să fie marcate ca livrate în registrul de responsabilitate adus de persoana ce transportă speci­menul și trebuie să fie înregistrate în sistemul informatic al departamentului de anatomie patologică pentru accesare
- Laboratorul de anatomie patologică trebuie să aibă un proces pentru documentarea persoanei care manipulează speci­menul inițial și toate speci­menele secundare pe întreaga durată a procesului de examinare, testare și raportare
- Informațiile de pe recipientul speci­menului trebuie să se potrivească cu informațiile înregistrate în formularul de solicitare/cererea de examinare
- În unele cazuri, speci­menul poate fi respins și numai persoana de la care a pornit trebuie să facă modificările adecvate ale etichetei
- Motivele respingerii pot include:
 - Nume greșit
 - Localizare greșită
 - Date de identificare greșite
 - Starea speci­menului
- Eticheta și formularul de solicitare trebuie să se potrivească
- Trebuie păstrate înregistrări ale tuturor erorilor de etichetare, identificare
- Speci­menul trebuie să fie identificat/etichetat pe baza parametrilor descriși în secțiunea 1.1
- Fiecare recipient cu speci­mene recepționat trebuie să fie comparat cu formularul de solicitare pentru a asigura potrivirea corectă a cel puțin 2 elemente unice de identificare
- Informații suplimentare din formularul de solicitare care trebuie să fie verificate:
 - Numărul recipientelor cu speci­mene
 - Tipul speci­menelor trimise
 - Istoricul clinic complet
 - Numele medicului solicitant către care trebuie trimis raportul

- Datele de la colectare referitoare la fixare (vezi 1.1-1.2)
- Trebuie să fie disponibil suficient spațiu în laborator pentru a depozita speci­me­nele chirurgicale, în mod ordonat, după primirea și înaintea examinării macroscopice:
 - Spațiu pentru recipiente și documentele de însoțire/formulare de solicitare
 - Zona de depozitare trebuie să fie curată, ordonată și bine ventilată

2. Procedurile de laborator premergătoare analizei microscopice

2.1. Examinare macroscopică imediată

- Trebuie să fie la dispoziția tuturor membrilor personalului care manipulează speci­me­nele documentele specifice centrului despre cum se manipulează speci­me­nele care necesită examen macroscopic imediat (de exemplu, culturi microbiologice, microscopie electronică, citogenetică, citometrie în flux sau alte studii speciale, consulturi intraoperatorii) și trebuie să includă:
 - Tehnici specializate pentru examinarea macroscopică, de exemplu proceduri sterile
 - Colectarea speci­me­nelor care trebuie trimise în medii specializate, de exemplu pentru citogenetică sau microscopie electronică
 - Completarea formularului de solicitare pentru testare ulterioară, de exemplu trimitere către testele de microbiologie sau laboratorul de anatomie patologică
 - Procedura etichetării speci­me­nelor secundare
 - Instrucțiuni de păstrare și transport pentru testarea specializată (de exemplu, păstrare la frigider)
- Speci­me­nele trimise în stare proaspătă pentru consult intraoperator (de exemplu, secțiuni congelate, determinarea marginilor etc.) trebuie să fie păstrate în recipientele etichetate la temperatura camerei
- Dacă există o întârziere, speci­me­nul proaspăt trebuie să fie păstrat în recipientul etichetat și ținut la frigider până când poate fi examinat
- Se acordă atenție sporită riscului de contaminarea încrucișată a speci­me­nelor
- Examinarea macroscopică este realizată de personal abilitat sau sub supravegherea unui anatomopatolog calificat pentru această activitate și urmează recomandările specifice: instrucțiuni documentate sau ghiduri pentru disecția, descrierea și realizarea adecvată a probelor histologice pentru diferite tipuri de speci­me­ne sau sub supravegherea unui anatomopatolog calificat (vezi 2.4)
- Trebuie să fie implementate protocoale pentru a specifica natura supervizării de către un anatomopatolog a personalului fără specializare în anatomie patologică pentru diferite tipuri de speci­me­ne:
 - Protocolul pentru speci­me­nele mici, simple, care nu necesită cunoașterea anatomiei poate beneficia de supervizare indirectă
 - Protocolul pentru speci­me­nele mai complexe poate necesita supervizare directă sau indirectă în funcție de decizia coordonatorului laboratorului cu privire la capacitatea de a asigura o examinare adecvată a speci­me­nului în cazul fiecărui membru al personalului ce realizează examinarea macroscopică
- Evaluarea speci­me­nelor de către persoane fără specializare în anatomie patologică care efectuează examinarea macroscopică trebuie să fie revizuită în mod regulat de un anatomopatolog
 - Se efectuează o analiză anuală, cu documentarea erorilor în examinarea macroscopică, care include încurcarea speci­me­nelor, speci­me­ne cu un examen anatomo-patologic incorect și alți parametri considerați importanți de directorul laboratorului
- Identitatea fiecărui speci­me­n este păstrată în fiecare moment, în toate etapele examinării macroscopice

- Specimenele complexe trebuie să fie disecate, descrise și transformate în probe histologice într-un mod care:
 - Asigură o evaluare microscopică adecvată și stabilirea diagnosticului de către un anatomopatolog prin respectarea ghidurilor stabilite pentru disecția și secționarea histologică a specimenelor
 - Toți parametrii solicitați în secțiunea examinarea microscopică pentru cancer pot fi evaluați de anatomopatolog
- Trebuie stabilite politici și proceduri specifice pentru manipularea, păstrarea și eliminarea în siguranță a țesuturilor care pot conține material radioactiv
 - Trebuie să fie dezvoltate proceduri în conformitate cu ghidurile instituționale referitoare la siguranța radiațiilor și trebuie să respecte reglementările naționale pentru manipularea în siguranță a materialelor radioactive
 - Procedurile trebuie să diferențieze politicile referitoare la speciamele cu niveluri mici de radioactivitate (de exemplu, ganglionii limfatici santinelă) și speciamele cu niveluri mari de radioactivitate, de exemplu dispozitivele implantate
 - Procedura trebuie să specifice detaliile privind manipularea și laboratorul trebuie să includă o zonă specifică de păstrare a materialului cu radioactivitate mai mare
 - Procedura trebuie să includă instrucțiuni specifice instituției pentru eliminarea țesuturilor potențial radioactive
- Trebuie stabilită o procedură pentru manipularea speciamele care nu sunt optime (specimene neetichetate, speciame neînsoțite de formulare de solicitare adecvate, rămase nefixate sau care nu au fost păstrate la rece perioade mari de timp, primite într-un recipient/pungă cu o suprafață externă contaminată)
- Trebuie stabilită o procedură pentru păstrarea și eliminarea tuturor speciamele trimise pentru examinare. Ghidul ar trebui să includă:
 - Perioada de păstrare – minimum 2 săptămâni după emiterea raportului și raportarea rezultatelor către medicul trimițător
 - Metoda aprobată de eliminare a agentului de fixare conform ghidurilor locale și naționale
 - Metoda aprobată de eliminare a deșeurilor solide (tisulare)

2.2. Consultul intraoperator

- Trebuie să fie respectate procedurile și politicile instituției medicale pentru colectarea și manipularea adecvată a speciamele pentru consultul intraoperator. Procedurile pot să includă:
 - Numai examinare macroscopică
 - Secțiuni congelate
 - Preparate prin amprentare ("touch prep") sau fragmentare ("scrap prep")
- Toate rezultatele consulturilor intraoperatorii și diagnosticele tisulare sunt întocmite și semnate de către un anatomopatolog
- Reactivii și lamele utilizate pentru consulturile intraoperatorii sunt etichetate corect
- Preparatele pentru consulturile intraoperatorii trebuie să fie adecvate pentru stabilirea unui diagnostic
- Lamele intraoperatorii sunt păstrate și fac parte din țesutul examinat la caz
- Țesuturile reziduale utilizate pentru examinarea intraoperatorie sunt procesate în parafină pentru a fi comparate cu interpretarea secțiunilor congelate
- Atunci când oferă un raport verbal, anatomopatologul trebuie să poată vorbi direct cu personalul medical/chirurgical intraoperator

- Datele de identificare ale pacientului sunt verificate și confirmate înaintea furnizării oricărui raport verbal
- Toate rapoartele consulturilor intraoperatorii vor face parte din raportul anatomopatologic final
- Trebuie stabilită o procedură de decontaminare a criostatului
- Sunt necesare proceduri operaționale pentru colorația hematoxilină-eozină(H&E):
 - Reactivii care trebuie utilizați – concentrație și volume
 - Schema de colorare pentru fiecare program de colorare
 - Programul rotației sau schimbării reactivilor
 - Procesul de eliminare și/sau reciclare a reactivilor
- Se stabilesc criteriile de asigurare a calității pentru colorare și evaluarea colorației H&E

2.3. Fixarea

- Sunt respectate toate procedurile de etichetare și conservare și evitare a contaminării enunțate anterior
- Agentul de fixare recomandat este formalina (formolul) neutru tamponată 10 %
- Agenții de fixare adecvați trebuie să fie adăugați cât mai repede în recipientul cu specimenul, dacă este prezentă o cantitate insuficientă de agent de fixare la primirea specimenului în laborator, trebuie adăugată o cantitate suplimentară de agent de fixare într-un volum care se încadrează într-un raport de 15-20:1 între agentul de fixare și specimenul tisular
- Dacă este trimis un specimen mai mare, specimenul trebuie să fie deschis sau secționat și acoperit sau înfășurat într-un material absorbant (de exemplu, prosoape de hârtie etc.) pentru a maximiza expunerea suprafeței la reactivii fixatori și pentru a permite penetrarea agentului de fixare
- Recipientul specimenului trebuie să rămână sigilat, astfel încât să nu poată să apară uscarea sau alte incidente care pot duce la modificarea specimenului
- Laboratorul are responsabilitatea de a calcula și a documenta timpul total în care specimenul a fost păstrat în agentul de fixare pentru specimenul solicitat
- Timpul total de fixare cuprinde:
 - Timpul în care specimenul a fost ținut în sala de operație(în fixator)
 - Timpul de transport de la centrul aflat la distanță la laborator
 - Timpul în care specimenul a fost păstrat în agentul de fixare în laborator
 - Timpul în care specimenul este păstrat în casete după examinarea macroscopică
 - Timpul în agentul de fixare în procesorul tisular

Timpul de fixare pentru tesut mamar:

- Cerințele privind manipularea tisulară trebuie să fie standardizate și raportate pentru fiecare specimen tisular în parte
- Toate speciemele trebuie să înregistreze minimum șase (6) ore de fixare în formalină/formol neutru tamponat 10%
- Timpul de fixare recomandat este de 6-72 de ore pentru receptorii de estrogen și progesteron
- Timpul de fixare recomandat este de 6-72 de ore pentru receptorii Her2neu
- Speciemele mari necesită o perioadă mai mare de timp pentru fixarea adecvată a țesutului
- Timpul total de fixare și timpul de ischemie caldă și rece trebuie să fie documentate
- Utilizarea altor fixatori decât formalina neutru tamponată 10% trebuie documentată
- Ghidurile pentru utilizarea agenților de fixare speciali (alți fixatori decât formalina neutru tamponată 10%) pentru fiecare tip de specimen și acestea trebuie să includă:
 - Agentul de fixare care trebuie utilizat

- Durata recomandată a fixării
- Cerințe de manipulare specializată, de exemplu privind păstrarea la rece sau materialele inflamabile
- Pregătirea sau utilizarea specializată, de exemplu amestecare înainte de utilizare
- Precauții de siguranță și curățarea scurgerilor
- Trebuie redactate/documentate ghidurile privind temperatura la care se utilizează agentul de fixare:
 - Temperatura de păstrare a agentului de fixare înainte de utilizare
 - Temperatura la care trebuie păstrat specimenul în agentul de fixare după colectare
 - Temperatura la care trebuie păstrat specimenul în agentul de fixare în timpul transportului către laborator
- Aproape toți agenții de fixare pot fi utilizați eficient la temperatura camerei (22-25°C)
- Unii agenți de fixare, cum ar fi acetona, sunt mai eficienți atunci când sunt utilizați la rece (4°)
- Ghidurile pentru utilizarea și operarea echipamentului cu microunde specializat utilizat pentru asistarea fixării trebuie să includă:
 - Instrucțiuni de siguranță, inclusiv procesul de testare a iradierii
 - Soluțiile care pot fi utilizate în microunde
 - Tipul țesuturilor care pot fi fixate cu microunde
 - Dimensiunea țesuturilor care pot fi fixate cu microunde
 - Protocoalele care trebuie să fie aplicate

2.4. Examinarea macroscopică post-fixare

- Sunt respectate recomandările enunțate anterior la punctul 2.1 unde acestea se aplică

2.4.1. Specimene biopsice de dimensiuni mici:

- Acest tip de specimen poate fi obținut prin mai multe metode
 - Biopsie tru-cut
 - Biopsie asistată de vacuum
 - Biopsie incizională
- Descrierea specimenului (pentru toate tipurile):
 - Numărul și dimensiunea fragmentelor
 - Detalii macroscopice (ex. culoarea, consistența (pentru biopsia incizională, vezi mai jos))
 - Prezența tegumentului sau altui tip de țesut în piesa biopsică
 - Toate fragmentele trimise sunt incluse
- **Biopsia incizională:**
 - Este un tip de biopsie care se efectuează din ce în ce mai rar
 - Poate proveni de la un caz care este avansat locoregional, nerezecabil
 - Se efectuează pentru a confirma diagnosticul clinic/ imagistic și pentru a obține determinarea statusului receptorilor hormonal, Her2 și Ki-67 sau pentru obținere de material tisular pentru alte tipuri de teste (de exemplu biologie moleculară sau citogenetică)
 - Acest tip de specimene de obicei nu sunt marcate de către chirurg (fire textile, harpon metalic, clip metalic, clip carbon)
 - *Descrierea specimenului:*
 - Specimenele de biopsie incizională pot fi unice sau multiple, de obicei de dimensiuni reduse
 - Se notează numărul speciemenelor, se masoară speciemenele fie individual fie în dimensiuni cumulate cu menționarea dimensiunii cel puțin al celui mai mare fragment și de descrie aspectul pe suprafața de secțiune și consistența

- Pentru acest tip de biopsie nu se marchează marginile de rezecție, în primul rând pentru că scopul exciziei unor asemenea fragmente nu este unul cu intenție curativă sau de excizie în totalitate ci unul diagnostic.

2.4.2. Specimene de dimensiuni mari:

- **Biopsia excizională:**

- Sunt specimene chirurgicale care sunt excizate cu intenția de rezeca o formațiune tumorală în totalitate
- Se efectuează de cele mai multe ori pentru excizia unei tumori benigne sau pentru confirmarea/definitivarea unui diagnostic și foarte rar pentru o leziune confirmată anterior ca fiind malignă (de exemplu prin puncție biopsie)
- Intenția unei astfel de intervenții este de a obține margini chirurgicale negative
- De cele mai multe ori este completată printr-o piesa de reexcizie sau printr-o recupă
- Orientarea specimenelor este posibilă doar dacă sunt marcate cel puțin două margini de rezecție de către chirurg
- Marginile de rezecție sunt obligatoriu marcate cu tuș, inclusiv pentru speci­menele care sunt fragmentate
- *Descrierea specimenului:*
 - Orientarea specimenului se face prin așezarea acestuia în poziție anatomică, folosind marcajele realizate de chirurg. Orientarea specimenelor este posibilă doar dacă sunt prezente două marcaje perpendiculare unul perpendicular pe cealalt
 - Se identifică cele 6 margini de rezecție: superioară, inferioară, medială, laterală, anterioară și posterioară
 - Marginea de rezecție posterioară corespunde întotdeauna marginii celei mai profunde în relație cu peretele toracic
 - Tegumentul (dacă este prezent) corespunde de cele mai multe ori marginii de rezecție anterioare, însă uneori, în localizări anatomice particulare poate corespunde altor margini
 - Toate speci­menele, inclusiv cele fragmentate se colorează cu tuș la nivelul marginilor de rezecție; pentru speci­menele marcate de către chirurg se pot utiliza tușuri de culori diferite pentru marginile de rezecție, iar pentru speci­menele nemarcate se poate utiliza o singura culoare
 - Se consemnează dimensiunea totală (măsurată în trei axe) a piesei/fragmentelor (pentru speci­menele fragmentate se masoară speci­menele individual)
 - Se consemnează prezența marcajelor (tipul și numărul)
 - Pentru leziunile identificate se consemnează :
 - număr
 - dimensiune (ideal în 3 axe)
 - consistența
 - distanța față de toate marginile de rezecție
 - în cazul unor leziuni multiple se înregistrează distanța dintre acestea și față de marginile de rezecție
 - aspectul pe secțiune
 - prezența modificărilor secundare (hemoragie, necroză, degenerescență chistică), a traiectului de puncție, a marcajelor de la nivelul leziunilor, a calcificărilor
 - *Eșantionarea:*
 - Toate leziunile (inclusiv zonele suspecte) se eșantionează
 - Pentru leziuni multiple se eșantionează și parenchimul dintre leziuni
 - Se eșantionează 1 secțiune din tegument și din mamelon dacă sunt fără leziuni vizibile macroscopic

- Se poate utiliza controlul imagistic al specimenului de excizie și al casetelor pentru a confirma Eșantionarea corespunzătoare a zonelor de interes (marcaje cu fir metalic, clip metalic, calcificări)
- *Excizii pentru leziuni benigne:*
 - o se eșantionează 1 secțiune(două per casetă)/ fiecare centimetru din dimensiunea maximă a leziunii
- *Excizii pentru leziuni maligne confirmate sau suspecte:*
 - o 4-5 secțiuni din leziunea confirmată/suspectă
 - o unele secțiuni din leziune care să conțină și marginile de rezecție
- *Excizii pentru leziuni suspecte la care nu se evidențiază leziuni vizibile macroscopice(zone de parenchim dense identificate intraoperator/imagistic, calcificări suspecte):*
 - o Ideal zona suspectă se eșantionează în totalitate sau se eșantionează minim 10 casete (2 secțiuni/casetă)
 - o Se poate utiliza controlul imagistic al specimenului de excizie și al casetelor pentru a confirma eșantionarea corespunzătoare a zonelor de interes
 - o Pentru piesele cu un diagnostic cunoscut de CDIS (de exemplu, prin biopsie anterioară) sau hiperplazie atipică/CDIS la microscopie se recomandă ca întregul specimen să fie examinat, dacă acest lucru este practic, folosind secțiuni seriate pentru a exclude posibilitatea invaziei, pentru a evalua complet marginile și pentru a ajuta la determinarea gradului
 - o Dacă un întreg exemplar excizional sau o leziune evidentă nu este examinată microscopic complet, este util să se noteze procentul aproximativ al piesei sau leziunii examinate
- Toate marginile de rezecție se eșantionează pentru cazurile suspecte de malignitate sau confirmate din zona care este cea mai apropiată față de leziune

- **Sectorul mamar:**

- o Sunt specimene chirurgicale care sunt excizate cu intenția de rezeca o formațiune tumorală în totalitate cu obținerea marginilor chirurgicale oncologice negative
- o Se efectuează de cele mai multe ori pentru excizia unei leziuni confirmată anterior ca fiind malignă (de exemplu prin puncție biopsie)
- o Intenția unei astfel de intervenții este de a obține margini chirurgicale oncologice negative
- o În cazul în care marginile chirurgicale sunt pozitive sau insuficiente este completată printr-o piesa de reexcizie sau printr-o recupă
- o Poate să fie însoțită de excizia ganglionului santinelă sau de limfadenectomie axilară
- o Orientarea specimenelor este posibilă doar dacă sunt marcate cel puțin două margini de rezecție de către chirurg, cu marcaje perpendiculare unul pe celălalt
- o Marginile de rezecție sunt obligatoriu marcate cu tuș, inclusiv pentru speciamele care sunt fragmentate
- o *Descrierea specimenului:*
 - Orientarea specimenului se face prin așezarea acestuia în poziție anatomică, folosind marcajele realizate de chirurg. Orientarea specimenelor este posibilă doar dacă sunt prezente două marcaje perpendiculare unul pe celălalt
 - Se identifică cele 6 margini de rezecție: superioară, inferioară, medială, laterală, anterioară și posterioară

- Marginea de rezecție posterioară corespunde întotdeauna marginii celei mai profunde în relație cu peretele toracic
- Tegumentul (dacă este prezent) corespunde de cele mai multe ori marginii de rezecție anterioare, însă uneori, în localizări anatomice particulare poate corespunde altor margini
- Toate speci­me­nele, inclusiv cele fragmentate se colorează cu tuș la nivelul marginilor de rezecție; pentru speci­me­nele marcate de către chirurg se pot utiliza tușuri de culori diferite pentru marginile de rezecție, iar pentru speci­me­nele nemarcate se poate utiliza o singura culoare
- Se consemnează dimensiunea totală (măsurată în trei axe) a piesei/fragmentelor (pentru speci­me­nele fragmentate se masoară fragmentele individual)
- Se consemnează prezența marcajelor (tipul și numărul)
- Pentru leziunile identificate se consemnează :
 - număr
 - dimensiune (idel în 3 axe)
 - consistența
 - distanța față de marginile de toate marginile de rezecție
 - în cazul unor leziuni multiple se înregistrează distanța dintre acestea și față de marginile de rezecție
 - aspectul pe secțiune
 - prezența modificărilor secundare (hemoragie, necroză, degenerescență chistică), a traiectului de puncție, a marcajelor de la nivelul leziunilor, a calcificărilor
- *Eșantionarea:*
 - Toate leziunile (inclusiv zonele suspecte) se eşantionează
 - Pentru leziuni multiple se eşantionează și parenchimul dintre leziuni
 - Se eşantionează 1 secțiune din tegument și din mamelon dacă sunt fără leziuni vizibile macroscopic
 - Dacă există un interes sporit pentru examinarea detaliată a mamelonului (de exemplu boală Paget a mamelonului) atunci acesta este eşantionat în totalitate
 - Se poate utiliza controlul imagistic al specimenului de excizie și al casetelor pentru a confirma eşantionarea corespunzătoare a zonelor de interes (marcaje cu fir metalic, clip metalic, calcificări)
 - *Excizii pentru leziuni benigne:*
 - o se eşantionează 1 secțiune(două per casetă)/ fiecare centrimetru din dimensiunea maximă a leziunii
 - *Excizii pentru leziuni maligne confirmate sau suspecte:*
 - o 4-5 secțiuni din leziunea confirmată/suspectă
 - o unele secțiuni din leziuni care să conțină și marginile de rezecție
 - *Excizii pentru leziuni suspecte la care nu se evidențiază leziuni vizibile macroscopice(zone de parenchim dense identificate intraoperator/imagistic, calcificări suspecte):*
 - o Ideal zona suspectă se eşantionează în totalitate sau se eşantionează minim 10 casete (2 secțiuni/casetă)
 - o Se poate utiliza controlul imagistic al specimenului de excizie și al casetelor pentru a confirma eşantionarea corespunzătoare a zonelor de interes

- Pentru piesele cu un diagnostic cunoscut de CDIS (de exemplu, prin biopsie anterioară) sau hiperplazie atipică/CDIS la microscopie se recomandă ca întregul specimen să fie examinat, dacă este practic, folosind secțiuni seriate pentru a exclude posibilitatea invaziei, pentru a evalua complet marginile și pentru a ajuta la determinarea gradului
- Dacă un întreg exemplar excizional sau o leziune evidentă nu este examinată microscopic în totalitate, este util să se noteze procentul aproximativ al piesei sau leziunii examinate
- Toate marginile de rezecție se eșantionează pentru cazurile suspecte de malignitate sau confirmate din zona care este cea mai apropiată față de leziune

- **Reexcizia:**

- Reprezintă o excizie lărgită realizată de obicei după o biopsie excizională cu rezultat malign
- De obicei este prezent un fragment de tegument și o zonă cavitară/cicatricială post-excizie
- De obicei nu conține mamelonul
- Specimenul poate fi însoțit de specimenul de limfadenectomie axilară completă ipsilateral sau de ganglionul santinelă
- Orientarea specimenelor este posibilă doar dacă sunt marcate cel puțin două margini de rezecție de către chirurg
- Marginile de rezecție sunt obligatoriu marcate cu tuș, inclusiv pentru speciamele care sunt fragmentate
- *Descrierea specimenului:*
 - Orientarea specimenului se face prin așezarea acestuia în poziție anatomică, folosind marcajele realizate de chirurg. Orientarea specimenelor este posibilă doar dacă sunt prezente două marcaje perpendiculare unul peste celălalt
 - Se identifică cele 6 margini de rezecție: superioară, inferioară, medială, laterală, anterioară și posterioară
 - Marginea de rezecție posterioară corespunde întotdeauna marginii celei mai profunde în relație cu peretele toracic.
 - Tegumentul (dacă este prezent) corespunde de cele mai multe ori marginii de rezecție anterioare, însă uneori, în localizări anatomice particulare poate corespunde altor margini
 - Toate speciamele, inclusiv cele fragmentate se colorează cu tuș la nivelul marginilor de rezecție. Pentru speciamele marcate de către chirurg se pot utiliza tușuri de culori diferite pentru marginile de rezecție, iar pentru speciamele nemarcate se poate utiliza o singură culoare
 - Dimensiunea totală (măsurată în trei axe) a piesei/fragmentelor (pentru speciamele fragmentate se masoară speciamele individual)
 - Prezența marcajelor (tipul și numărul)
 - Pentru leziunile identificate, inclusiv zone cavitare sau cicatriciale se consemnează:
 - număr
 - dimensiune (idel în 3 axe)
 - consistența
 - distanța față de marginile de toate marginile de rezecție
 - în cazul unor leziuni multiple se înregistrează distanța dintre acestea și față de marginile de rezecție
 - aspectul pe secțiune, conținutul chistic

- *Eșantionarea:*
 - Ideal specimenul se eșantionează în totalitate (dacă nu există zone suspecte macroscopic) sau se eșantionează cel puțin 2 blocuri/fiecare centimetru din dimensiunea maximă
 - Toate leziunile (inclusiv zonele suspecte) se eșantionează
 - Pentru leziuni multiple se eșantionează și parenchimul dintre leziuni
 - Se eșantionează 1 secțiune din tegument dacă acesta este fără leziuni vizibile macroscopic
 - Toate marginile de rezecție se eșantionează din zona care este cea mai apropiată față de leziune sau de zona cicatricială/cavitară

- **Recupa:**
 - Alcătuită din țesut mamar prelevat din vecinătatea zonei de excizie (biopsie excizională, sector mamar)
 - Sunt marcate de obicei pe una dintre margini
 - *Descrierea specimenului:*
 - Orientarea specimenului se face folosind marcajele realizate de chirurg
 - Se marchează cu tuș toate speciemenle (preferabil se marchează cu tuș de diferite culori vechea și noua margine de rezecție)
 - Se consemnează dimensiunea totală (măsurată în trei axe) a piesei/fragmentelor (pentru speciemenle fragmentate se masoară speciemenle individual)
 - Se consemnează prezența marcajelor (tipul și numărul)
 - Pentru leziunile identificate, se consemnează:
 - număr
 - dimensiune (ideal în 3 axe)
 - consistența
 - distanța față de marginile de rezecție
 - în cazul unor leziuni multiple se înregistrează distanța dintre acestea și față de marginile de rezecție
 - aspectul pe secțiune
 - *Eșantionarea:*
 - Ideal specimenul se eșantionează în totalitate (dacă nu există zone suspecte macroscopic) sau se eșantionează cel puțin 1 bloc/fiecare centimetru din dimensiunea maximă
 - Toate leziunile (inclusiv zonele suspecte) se eșantionează perpendicular pe noua margine de rezecție
 - Pentru piesele cu un diagnostic cunoscut de CDIS sau hiperplazie atipic/CDIS la microscopie se recomandă ca întregul specimen să fie examinat, dacă acest lucru este practic, folosind secțiuni seriate pentru a exclude posibilitatea invaziei, pentru a evalua complet marginile și pentru a ajuta la determinarea gradului

- **Mastectomia:**
 - Tipuri de mastectomie utilizate pentru cancerul mamar : mastectomie simplă (mai ales pentru carcinom in situ multifocal sau cu scop profilactic), mastectomie cu conservarea tegumentului, mastectomia radicală, mastectomie radicală modificată
 - De cele mai multe ori specimenul de mastectomie cuprinde și specimenul de limfadenectomie axilară completă ipsilateral
 - Cea mai frecventă tehnică este mastectomia radicală modificată pentru care marginea de rezecție profundă ce cuprinde doar planuri fasciale și eventual mici fragmente din muschiul pectoral

- Majoritatea mastectomiilor se efectuează pentru leziuni confirmate maligne prin puncție biopsie și în situația în care biopsiile excizionale, sectoarele mamare anterior efectuate nu au putut obține margini chirurgicale oncologice negative, leziuni multiple, leziuni avansate local, carcinom inflamator, carcinom mamar metastatic la nivelul axilei fără tumor primară identificată clinic și radiologic la nivelul sânului (carcinom primar ocult), recurențe la cazurile tratate anterior prin radioterapie, profilactic la grupe cu risc înalt (de exemplu mutații ale BRCA1 și BRCA2)
- Orientarea specimenelor este posibilă doar dacă axila este atașată și vârful acesteia este marcat și se cunoaște lateralitatea
- Marginile de rezecție sunt obligatoriu marcate cu tuș
- *Descrierea specimenului:*
 - Orientarea specimenului se face prin așezarea acestuia în poziție anatomică, folosind marcajele realizate de chirurg
 - Se identifică cele 5 margini de rezecție: superioară, inferioară, medială, laterală, posterioară (marginea de rezecție profundă)
 - Se consemnează dimensiunea totală (măsurată în trei axe) a piesei
 - Se consemnează prezența marcajelor (tipul și numărul)
 - Tipuri de țesuturi prezente (muschi striat, limfoganglioni intramamari)
 - Localizarea în diferite cadrane
 - Tegumentul:
 - Culoare
 - Dimensiune
 - Cicatrici: aspect (matură, recentă, suturată); se măsoară și se consemnează dimensiunea, localizarea și distanța față de margini
 - Retracții
 - Ulcerații
 - Alte leziuni cutanate (nevi, hemangioane etc)
 - Mamelonul: dimensiune, aspect (retracție, inversie, ulceratie, prezența de cruste)
 - Pentru leziunile identificate se consemnează :
 - Număr
 - Dimensiune (idee în 3 axe)
 - Consistența
 - Distanța față de toate marginile de rezecție
 - În cazul unor leziuni multiple se înregistrează distanța dintre acestea și față de marginile de rezecție
 - Aspectul pe secțiune
 - Prezența modificărilor secundare (hemoragie, necroză, degenerescență chistică), a traiectului de puncție, a marcajelor de la nivelul leziunilor, a calcificărilor, incizilor realizate intraoperator
 - Toate marginile de rezecție se marchează cu tuș
 - Prezența de limfoganglioni intramamari și muschi striat (se măsoară și eșantionează toate fragmentele)
 - *Eșantionarea:*
 - Toate leziunile (inclusiv zonele suspecte) se eșantionează
 - Pentru leziuni multiple se eșantionează și parenchimul dintre leziuni
 - Se eșantionează 1 secțiune din tegument și din mamelon dacă sunt fără leziuni vizibile macroscopic

- Dacă există un interes sporit pentru examinarea detaliată a mamelonului (de exemplu boală Paget a mamelonului) atunci acesta este eșantionat în totalitate
- Se poate utiliza controlul imagistic al specimenului de excizie și al casetelor pentru a confirma eșantionarea corespunzătoare a zonelor de interes (marcaje cu fir metalic, clip metalic, calcificări)
- Pentru piesele cu un diagnostic cunoscut de CDIS (de exemplu, prin biopsie anterioară), se recomandă ca toate zonele suspecte să fie examinate, dacă acest lucru este practic, folosind secțiuni seriate pentru a exclude posibilitatea invaziei, pentru a evalua complet marginile și pentru a ajuta la determinarea gradului
- Se eșantionează cel puțin 4 secțiuni (două per casetă) din zonele cavitate cicatriciale (mactomie post-exciziei), iar pentru piesele cu un diagnostic cunoscut de CDIS (de exemplu, prin biopsie anterioară) sau hiperplazie atipic/CDIS la microscopie se recomandă ca toate zonele suspecte de CDIS să fie examinate, dacă este practic, folosind secțiuni seriate pentru a exclude posibilitatea invaziei, pentru a evalua complet marginile și pentru a ajuta la determinarea gradului
- Dacă o leziune evidentă nu este examinată microscopic în totalitate, este util să se noteze procentul aproximativ al piesei sau leziunii examinate
- Pentru situațiile în care există leziuni reziduale tumorale post-excizie se obțin 4-5 secțiuni din leziunea confirmată/suspectă
- Se obțin unele secțiuni din leziune care să conțină și marginile de rezecție (mai ales cea profundă) și tegumentul
- *Excizii pentru leziuni suspecte la care nu se evidențiază leziuni vizibile macroscopice (zone de parenchim dense identificate intraoperator/imagistic, calcificări suspecte, piese post-terapie neoadjuvantă):*
 - o ideal zona suspectă/ patul tumoral rezidual se eșantionează în totalitate sau se eșantionează minim 10 casete (2 secțiuni/casetă)
 - o Pentru piesele cu un diagnostic cunoscut de CDIS (de exemplu, prin biopsie anterioară) sau hiperplazie atipic/CDIS la microscopie se recomandă ca toate zonele suspecte de CDIS specimen să fie examinate, dacă este practic, folosind secțiuni seriate pentru a exclude posibilitatea invaziei, pentru a evalua complet marginile și pentru a ajuta la determinarea gradului
 - o Dacă o leziune evidentă nu este examinată microscopic în totalitate, este util să se noteze procentul aproximativ al piesei sau leziunii examinate
 - o Se poate utiliza controlul imagistic al specimenului de excizie și al casetelor pentru a confirma eșantionarea corespunzătoare a zonelor de interes
- Tegumentul: se eșantionează 1 secțiune din cicatricea postexcizie sau se pot preleva multiple secțiuni în cazul în care există leziuni tumorale tegumentare sau carcinom infiltrativ
- Marginea profundă: se eșantionează 1 secțiune perpendiculară dacă nu există suspiciunea macroscopică a infiltrării acesteia și se eșantionează și fragmentele de muschi scheletic

- Restul marginilor: se eșantionează cu o secțiune perpendiculară marginile care sunt foarte apropiate de leziune
- Alte secțiuni reprezentative pot fi prelevate de la tuturor cadranelor din zone fără leziuni cu aspect fibros nu adipos
- **Limfoganglionii axilari:**
 - Pot fi reprezentate de: piese de limfadenectomie axilară sau excizie joasă axilară (de exemplu în caz de CDIS), piese de excizie a ganglionilor santinelă
 - Se înregistrează numărul total de limfoganglioni examinați, dimensiunea celui mai mare limfoganglion, prezența metastazelor, invazie extracapsulară vizibilă macroscopic
 - Toți limfoganglionii se eșantionează
 - Ganglionii santinelă se includ în totalitate

2.4.3. Prelevarea specimenelor și a secțiunilor pentru includere în casete tisulare

- Dimensiunea specimenului trebuie să fie suficient de mică (3-4 mm) pentru a asigura fixarea și procesarea adecvată a țesutului
- Specimenul trebuie să fie suficient de mic pentru a se încadra în casetă și pentru a permite un spațiu în care să pătrundă lichidul de procesare în casetă pe toate lamele
- Țesuturile sanguinolente sau friabile trebuie să fie împachetate astfel încât specimenul tisular să aibă loc în casetă pentru a evita contaminarea încrucișată cu alte specimene
- Numărul fragmentelor biopsice dintr-o casetă trebuie să fie limitat pentru a permite includerea adecvată în parafină; toate speciemenle trebuie să fie plate și în același plan
- Trebuie să fie înregistrat numărul de casete pentru fiecare specimen
- Trebuie să fie înregistrat numărul de piese din fiecare casetă
- Trebuie să fie documentate instrucțiunile specializate de includere în parafină
- Biopsiile mici:
 - În cazul biopsiilor mici, mai multe piese mici pot fi trimise într-o singură casetă. Pentru biopsiile cu ac gros, pot fi incluse una sau cel mult câteva (mai puțin de 5) piese într-o casetă; toate speciemenle trebuie să fie plate și în același plan
- Fragmente tisulare mai mari sau speciemenle din organe întregi:
 - În cazul în care se include mai mult de o secțiune într-un bloc, secțiunile combinate trebuie să îndeplinească parametrii menționați mai sus și să existe suficient spațiu între piese pentru a permite fixarea și includerea în parafină adecvate

2.4.4. Etichetarea/identificarea/marcarea casetelor tisulare

- Toate casetele tisulare trebuie identificate cu un element unic de identificare
- Elementul unic de identificare trebuie să fie imposibil de șters în toate procedurile ulterioare
- Elementul unic de identificare poate fi aplicat manual sau electronic prin utilizarea unor imprimante automate
- Cerințele minime pentru un element unic de identificare includ:
 - Datele de identificare ale cazului primit – trebuie să includă anul
 - Datele de identificare ale specimenului – litere sau cifre
 - Datele de identificare ale blocului – litere sau cifre
- Date de identificare suplimentare: pot fi utilizate, dar nu sunt necesare:
 - Numele sau codul de identificare al laboratorului
 - Casetă cu cod de culori: tipul țesutului, agentul de fixare utilizat, anatomopatologul etc.
- Codurile de bare nu trebuie să reprezinte singurul element de identificare; este necesar și un element de identificare care să poată fi citit de om
- În cazul în care este aplicat un cod de bare pe casetă, acesta trebuie să poată fi citit de toate metodele de identificare utilizate în laborator; sistemul informatic al laboratorului/spitalului,

echipamentul de testare asociat (inscripționarea lamelor) și software-ul de identificare al unei terțe părți

2.5. Procesarea

- Trebuie să fie scrise și validate proceduri pentru fiecare program de procesare utilizat
- Programele de procesare documentate trebuie să includă:
 - Un titlu unic care poate fi asociat programului procesorului tisular
 - Identificarea tipurilor tisulare pentru care poate fi utilizat programul
 - Rapide/urgente, biopsii, țesut mamar
 - Indicarea oricărui tratament anterior al țesuturilor
 - Țesutul trebuie să fie fixat complet înaintea procesării deoarece programul începe în alcool
 - Timpul total de procesare
 - Programul
 - Numele reactivului
 - Data expirării
 - Concentrația
 - Localizarea în procesor
 - Ordinea aplicării reactivilor
 - Asigurați-vă că reactivii sunt compatibili între ei – de exemplu, alcoolul după formalina neutră tamponată trebuie să fie în concentrație de 70% sau mai mică pentru a opri precipitarea sărurilor fosfat
 - Durata aplicării
 - Funcții specializate:
 - Căldură – temperatura actuală
 - Presiune/vacuum – nivelurile actuale
 - Mixare/amestecare/agitare – Da/ Nu
- Trebuie stabilite programele de mentenanță a procesorului
 - Contracte preventive de mentenanță și service
 - Completate de personalul de laborator
 - Completate de vânzător
 - Mentenanță operațională:
 - Programul de completare/schimbare/rotație a reactivilor bazat pe:
 - Numărul casetelor procesate
 - Numărul derulărilor programului
 - Monitorizat și stabilit de software-ul procesorului
 - Curățarea rezervoarelor pentru reactivi
- **Reactivi**
 - **Fixator:**
 - Stabilirea și documentarea agenților de fixare care trebuie utilizați în procesorul tisular:
 - Tipul agentului de fixare care trebuie utilizat:
 - Formalină neutră tamponată 10% (FNT10%)
 - Zinc formalină
 - Formalină alcoolică

- Un substitut de formalină sau un agent de fixare patentat
 - Numărul rezervoarelor cu agent de fixare care trebuie utilizate
 - Durata perioadei în agentul de fixare
 - Temperatură / vacuum/ agitare
 - Programul de rotație sau schimbare
- Verificarea și documentarea faptului că agentul de fixare utilizat este compatibil cu țesuturile care trebuie să fie procesate
- Stabilirea și documentarea procedurilor pentru manipularea agentului de fixare, care includ:
 - Păstrarea
 - Siguranța, care include:
 - Utilizarea echipamentului de protecție personală
 - Controlul și curățarea scurgerilor
 - Monitorizarea nivelurilor de expunere
 - Metode de eliminare care respectă ghidurile autorităților de reglementare
- **Agenti de deshidratare:**
 - Dezvoltarea documentației care stabilește parametrii agentului de deshidratare utilizat în procesorul tisular:
 - Tipul – alcool sau produs patentat
 - Tipul alcoolului – etanol sau izopropanol
 - Concentrația – grade de alcool, de exemplu 70%, 80%, 95%, 100%
 - Numărul rezervoarelor pentru fiecare concentrație de alcool
 - Durata de timp în fiecare rezervor de alcool și timpul total
 - Temperatură / vacuum/ agitare
 - Programul de rotație sau schimbare
 - Verificarea și documentarea faptului că agentul de deshidratare este compatibil cu țesuturile care trebuie procesate și este schimbat la intervale adecvate pentru volumul de lucru
 - Asigurarea faptului că agentul de deshidratare utilizat după fixare este compatibil cu agentul de fixare:
 - FNT10% - primul alcool din seria de deshidratare trebuie să aibă o concentrație de 70% sau mai mică pentru a preveni precipitarea fosfaților din FNT10%
 - Formalina alcoolică – primul alcool din seria de deshidratare poate avea o concentrație de 95% deoarece țesutul a fost deja în alcool 70%
 - Substituent de formalină sau agent de fixare patentat – trebuie să fie respectate ghidurile oferite de producător
 - Validarea faptului că agentul deshidratant este compatibil cu reactivul care urmează în ciclul de procesare; acesta poate fi xilen sau un substituent xilenic sau parafină
 - Dezvoltarea unui proces de documentare pentru înregistrarea procurării, utilizării și eliminării etanolului
 - Dezvoltarea procedurilor pentru alcool:
 - Păstrarea
 - Siguranța, care include:
 - Utilizarea echipamentului de protecție personală

- Controlul și curățarea scurgerilor
 - Monitorizarea nivelurilor de expunere
- Metode de eliminare care respectă ghidurile de reglementare
- **Agenti pentru clarificare:**
 - Dezvoltarea documentației care stabilește parametrii agentului de clarificare utilizat în procesorul tisular:
 - Tipul – xilen, un substituent al xilenului sau un produs patentat
 - Verificarea faptului că agentul de clarificare este compatibil cu agenții de deshidratare și parafina
 - Numărul rezervoarelor cu agent de clarificare
 - Durata de timp în fiecare rezervor cu agent de clarificare și timpul total
 - Temperatură / vacuum/ agitare
 - Programul de rotație sau schimbare
 - Verificarea faptului că agentul de clarificare care va fi utilizat este compatibil cu țesuturile care trebuie procesate și schimbate la intervale adecvate pentru volumul de lucru
 - Dezvoltarea procedurilor pentru agentul de clarificare:
 - Păstrare
 - Siguranță, care include:
 - Utilizarea echipamentului de protecție personală
 - Controlul și curățarea scurgerilor
 - Monitorizarea nivelurilor de expunere
 - Metode de eliminare care respectă ghidurile de reglementare
 - Proceduri de reciclare:
 - Metoda de testare pentru demonstrarea calității
 - Când poate fi utilizat agentul de clarificare reciclat
- **Agenti de infiltrare**
 - Parafina
 - Dezvoltarea documentației care stabilește parametrii pentru parafina care trebuie utilizată în procesorul tisular:
 - Tipul – cu sau fără aditivi
 - Verificarea faptului că parafina este compatibilă cu agenții de deshidratare sau clarificare utilizați
 - Punctul de topire al parafinei
 - Numărul rezervoarelor de parafină
 - Durata de timp în fiecare rezervor de parafină și timpul total
 - Temperatură/vacuum/agitare
 - Programul de rotație sau schimbare
 - Forma de ceară care trebuie utilizată; ceară topită, pelete, bloc solid

2.6. Includerea

- Dezvoltarea ghidurilor standardizate pentru includerea la parafină de rutină și manipularea biopsiilor speciale:
 - Deschiderea casetelor – câte o casetă pe rând
 - Dimensiunea matriței/mold-ului

- Păstrarea și temperatura matritelor
- Plasarea țesutului în matrită
 - Suprafețele similare se orientează în aceeași direcție
 - Direcția suprafeței este orientată în funcție de plasarea blocului la microtom
- Orientarea tipurilor tisulare
- Metoda de răcire a blocurilor
- Metoda eliberării blocurilor din matrită și îndepărtarea excesului de parafină
- Metoda curățării și reutilizării matritelor
- Stabilirea ghidurilor pentru ordinea casetelor de includere la parafină:
 - Urgența
 - Tipul tisular; biopsie, țesuturi de rutină
- Stabilirea ghidurilor pentru utilizarea și operarea stației de includere la parafină:
 - Temperatura parafinei pentru includere – monitorizată zilnic
 - Stabilirea temperaturii celorlalte elemente încălzite: recipientele pentru parafină, suprafața de lucru și forcepsul
 - Curățarea forcepsului și a suprafeței de lucru
 - Adăugarea parafinei în rezervor: lichid, pelete, bloc solid
 - Curățarea rezervorului de parafină și a filtrului

2.7. Secționarea

- Se recomandă realizarea de instrucțiuni scrise pentru operarea microtoamelor:
- Programarea și documentarea procedurilor anuale preventive de mentenanță, service sau a reparațiilor
- Dezvoltarea tehnicii pentru poziționarea standardizată a mandrinei microtomului (piesa care fixează blocul) pe toate microtoamele pentru a asigura faptul că blocurile pot fi secționate din nou pe orice microtom
- Stabilirea ghidurilor pentru orientarea plasării blocului în mandrina microtomului:
 - Un element de identificare pe bloc orientat către dreapta, stânga, sus sau jos
- Stabilirea ghidurilor de secționare:
 - Plasarea etichetei lamei
 - Limitarea unui singur tip de țesut pe o lamă
 - Grosimea secțiunii:
 - Țesuturi de rutină
 - Țesuturi specializate, de exemplu creier, ganglioni limfatici
 - Tehnici specializate, de exemplu amiloid, imunohistochimie
 - Numărul secțiunilor/ panglicilor pe fiecare lamă
 - Secțiunile/ panglicile au aceeași profunzime
 - Fiecare secțiune/panglică are o profunzime diferită
 - Cantitatea de reziduuri între fiecare secțiune/panglică
 - Plasarea secțiunilor pe lamă
 - Numărul lamelor în funcție de tipul tisular, de exemplu 2 lame pentru blocurile de biopsie
 - Utilizarea lamelor specializate:
 - Adezive sau non-adezive
 - Lame de control – marcaje specializate
 - Adăugarea de aditivi în baia de apă
 - Adezivi – de exemplu, gelatină, agar, adeziv Elmer sau produse patentate
 - Surfactanți – de exemplu, tween

- Stabilirea ghidurilor pentru utilizarea și mentenanța flotării/băii de apă:
 - Temperatura flotării/băii de apă – documentarea temperaturii
 - Tipul de apă care trebuie să fie utilizată – apă de la robinet sau distilată
 - Utilizarea aditivilor – gelatină, agar, adeziv Elmer, produse patentate
 - Metoda de curățare
 - Frecvența
- Produsele de curățare care trebuie utilizate
- Toate lamele trebuie să fie etichetate clar pentru a identifica următoarele elemente:
 - Numărul biopsiei
 - Datele de identificare ale blocului
 - Numărul nivelului lamei
 - Identificarea colorației
- Stabilirea unei proceduri de etichetare care trebuie utilizată; reprezintă o bună practică de laborator etichetarea lamelor numai cu elementele necesare și evitarea practicii pre-etichetării unui număr mare de lame în avans
- Stabilirea unui proces de asigurare a calității pentru compararea lamelor cu blocul înainte de părăsirea laboratorului
- Timpii de uscare pentru lamele cu secțiunile de parafină trebuie să fie stabiliți și puși la dispoziția tuturor membrilor personalului tehnic. Trebuie luate în considerare următoarele recomandări:
 - Uscarea la aer a secțiunilor înaintea plasării în cuptorul de uscare
 - Utilizarea unui uscător cu aer menținut la o temperatură situată puțin deasupra punctului de topire a parafinei
 - Timpul și temperatura de uscare în cuptor/uscător/termostat, în mod obișnuit lamele sunt uscate la 58-60°C timp de 15- 30 de minute
- Tehnicile speciale, cum sunt cele de imunohistochimie sau hibridizare in situ, pot necesita timpi de uscare mai mari. Timpul de uscare necesar trebuie inclus în procedura scrisă
 - Lamele sunt uscate într-un cuptor minimum 60 de minute la o temperatură între 50- 60°C. Rezultate optime sunt obținute la temperatura camerei timp de 24 de ore; totuși, acest lucru nu este practic în contextul unui laborator clinic. (Notă: Unele protocoale de testare moleculară presupun ca lamele să nu fie uscate în cuptor)
- Trebuie stabilite ghiduri pentru păstrarea și eliminarea tuturor blocurilor de parafină și a lamelor

2.8. Colorarea

- **Colorația hematoxilină-eozină:**
 - Stabilirea procedurii operaționale pentru colorarea manuală sau automată:
 - Reactivii care trebuie utilizați – concentrație și volum
 - Schema de colorare pentru fiecare program specific de colorare
 - Programul de rotație sau schimbare a reactivilor
 - Procesul de eliminare și/sau reciclare a reactivilor
 - Stabilirea criteriilor de asigurare a calității pentru colorarea și evaluarea colorației hematoxilină-eozină
 - Se completează și se documentează rezultatele probelor de control H&E înainte de colorarea lucrărilor de rutină
 - Documentarea trebuie să includă modificările sau acțiunile efectuate pentru a corecta colorarea substandard a probelor de control
 - Se stabilește un program de mentenanță preventiv care include service anual și service de urgență

- **Colorații histochemice și enzimatică (colorații speciale)**
 - Se stabilesc proceduri scrise pentru procedurile de colorare manuală sau automată pentru a include:
 - Secționarea sau prepararea specială a secțiunii tisulare
 - Reactivii utilizați
 - Accesul la fișele de date despre material
 - Concentrația
 - Depozitarea
 - Eliminarea
 - Etapele specifice ale procedurii de colorare
 - Procesul de asigurare a calității:
 - Definirea țesutului de control pozitiv
 - Definirea rezultatelor anticipate ale colorării
 - Înregistrarea în fișe a gradului de acceptabilitate
 - Stabilirea procedurilor operaționale pentru echipamentul de colorare automată:
 - Procesul de validare
 - Procedurile de curățare și mentenanță
 - Stabilirea unui program de mentenanță preventiv care include service anual și service de urgență
- **Colorația imunohistochimică**
 - Se vor utiliza doar clone și reactivi cu certificare IVD
 - Fiecare laborator trebuie să deruleze programe interne de control al calității
 - Fiecare laborator trebuie să participe la programe externe de control al calității
- **Hibridizarea in Situ**
 - Se vor utiliza doar sonde și reactivi cu certificare IVD
 - Fiecare laborator trebuie să deruleze programe interne de control al calității
 - Fiecare laborator trebuie să participe la programe externe de control al calității

2.9. Montarea

- Stabilirea procedurilor manuale de montaj care:
 - Includ tehnici ergonomice
 - Reduc expunerea chimică
- Utilizarea unui mediu de montaj cu un indice de refracție adecvat pentru o rezoluție corectă:
 - Apos sau non-apos
 - Non-fluorescent
 - Compatibil cu toate tehnicile de colorare folosite
- Identificarea dimensiunii și a greutateii lamei care trebuie să fie utilizată
- Identificarea metodei de uscarea a lamei și lamei
- Stabilirea procedurilor de validare și operare pentru un aparat automat de montare a lamelor:
 - Viteza operării
 - Tipul mediului de montare
 - Dimensiunea și tipul lamei
 - Tipul și volumul lichidului de transfer (xilen sau substituent al xilenului)
 - Curățare și mentenanță
 - Completarea sau schimbarea reactivului
 - Schimbarea filtrului

- Timpul de uscare
- Stabilirea unui program de mentenanță preventiv care include service anual și service de urgență

3. Examinarea microscopică

3.1. Examinarea microscopică a biopsiei tru-cut, biopsiei asistată vacuum, biopsiei incizională

- **Sistemul de Raportare UK National Health Service Screening Programme pentru biopsia tru-cut (B1- B5)**
 - **B1 – țesut normal/material nereprezentativ** (cu comentarii asupra microcalcificărilor și a reprezentativității materialului):
 - Poate conține calcificări(ex: acini sau ducte involuate)
 - Acest tip de calcificare nu se vede pe mamografie
 - Trebuie descrise/însoțite de o notă
 - Biopsiile neinterpretabile (cu artefacte de strivire sau alcătuite exclusiv din coaguli de sange)
 - **B2 – leziune benignă** (se va specifica)
 - Descrie o leziune histologică benignă
 - Fibroadenomul, modificarea fibrochistică a glandei mamare, adenoza sclerozantă, ectazia ductală, abcesul, necroza adipoasă
 - **B3 – potențial malign incert** (include cicatricea radială, anumite leziuni papilare, hiperplazia ductala atipică, neoplazia lobulară)
 - Este tipul de material biopsic cu aspect benign care provine din leziuni heterogene al căror risc de a conține leziuni maligne există, dar este scăzut (25% vs 66% din B4)
 - Majoritatea cazurilor necesită excizie, dar decizia trebuie luată în comisiile multidisciplinare
 - Leziunile papilare (Papiloamele intraductale): în funcție de dimensiune și de atipiile celulelor epiteliale pot fi încadrate în B2 sau B4
 - Cicatricea radială și leziunea complexă sclerozantă: pot conține CLIS sau CDIS
 - Neoplazia lobulară in situ (LIN): este de obicei o descoperire incidentală (nu are de multe ori corepondent mamografic);pleomorfic LIN pleomorfic va fi clasificat B5
 - Proliferare epitelială atipică de tip ductal:
 - Cu caractere prezente dar insuficiente (ca și atipie celulară și/sau ca și extindere) pentru afirmarea CDIS
 - Nu se folosește terminologia de hiperplazie atipică ductală(ADH) în biopsia pe ac
 - Tumorile Phyllodes:
 - Criteriile de afirmare a malignității nu pot fi de multe ori identificate în materialul biopsic redus din biopsie
 - Cazurile în care aceste criterii sunt îndeplinite vor fi încadrate în categoria B5
 - **B4 – suspect de malignitate** (sugestiv dar insuficient datorită materialului redus sau artefactelor)
 - Este rezervată cazurilor în care sunt prezente celule tumorale strivite sau fără relație cu stroma(în interiorul coagurilor de sânge)
 - Cazurile în care sunt prezente fragmente de ducte cu celule maligne în interior
 - Cazurilor de atipie pe metaplazie apocrină
 - **B5 – malign**

- În măsura posibilităților se va specifica dacă este vorba de un carcinom invaziv
 - Se va preciza gradul pentru carcinomul intraductal
 - LIN - pleomorfism nuclear accentuat, comedonecroză
 - CDIS - boala Paget, 20% conțin focare de invazie, se pot grada. Este suficient un singur duct cu modificări de CDIS pentru diagnostic
 - Carcinom invaziv- se poate pune diagnosticul de invazivitate și se poate stabili gradul Nottingham (concordanța cu piesa chirurgicală de excizie nu este de 100%)
- **Considerații speciale pentru: carcinom ductal in situ fără carcinom invaziv sau microinvazie, boala Paget a mamelonului neasociată cu carcinomul mamar invaziv, carcinom papilar încapsulat fără carcinom invaziv, carcinom papilar solid fără carcinom invaziv**
 - Tipul histologic:
 - Carcinom ductal in situ (CDIS)
 - Boala Paget
 - Carcinom papilar încapsulat fără carcinom invaziv
 - Carcinom papilar solid fără carcinom invaziv
 - Carcinomul lobular pleomorfic in situ (CLIS) are caracteristici suprapuse cu CDIS și poate fi tratat în mod similar, dar în prezent nu există suficiente dovezi pentru a stabili recomandări definitive pentru tratament
 - CLIS pleomorfic nu este inclus în prezent în clasificarea pTis
 - Modele arhitecturale
 - Comedo
 - Boala Paget (CDIS care implică pielea mamelonului)
 - Cribriform
 - Micropapilar
 - Papilar
 - Solid
 - Altele
 - Atunci când CDIS implică doar pielea mamelonului, fără carcinom invaziv subiacent sau CDIS, clasificarea este CDIS (de exemplu, pTis [Paget])
 - Gradul nuclear (I, II, III) se apreciază folosind cei 6 parametri prezentați în tabelul 1
 - Gradul nuclear și prezența necrozei sunt elementele cu valoare predictivă mai mare decât modelul arhitectural
 - Prezența necrozei este corelată cu constatarea calcificărilor mamografice (de exemplu, majoritatea zonelor de necroză se vor calcifica)
 - CDIS care se prezintă inițial ca și calcificări mamografice recidivează adesea sub forma unor calcificări
 - Necroza poate fi clasificată după urmează:
 - **Centrală ("comedo")**
 - Porțiunea centrală a unui spațiu ductal afectat este înlocuită de o zonă de necroză expansivă care este ușor de detectat la o mărire redusă
 - Acest tip de necroză se corelează adesea cu un model liniar și/sau ramificat al calcificărilor pe mamografie
 - **Focală (punctată):** Focare mici, nedeslușite la mărire redusă sau necroză celulară izolată
 - Dacă biopsia a fost efectuată pentru o leziune benignă, iar CDIS este o constatare accidentală, acest lucru ar trebui să fie documentat
 - CDIS găsit în biopsiile efectuate pentru microcalcificări va fi aproape întotdeauna la locul calcificărilor sau în imediata apropiere, iar prezența calcificărilor vizate în probă trebuie confirmată prin radiografia probei

- Medicul anatomopatolog trebuie să se asigure că proba a fost recoltată astfel încât leziunile responsabile de calcificări să fi fost examinate microscopic
- Trebuie indicată relația calcificărilor radiologice cu CDIS
- Se va specifica dacă au fost făcute colorații IHC pentru celulele mioepiteliale (CD10, p63, CK5/6, actina, S100, Calponină) sau pentru diagnosticul diferențial (Ex: E-caderina)
- Se evaluează RE, RP

Tabelul 1. Gradul nuclear al carcinomului ductal in situ

Caracteristică	Gradul I (Redus)	Gradul II (Intermediar)	Gradul III (Înalt)
Pleomorfism	Monoton (monomorfic)	Intermediar	Semnificativ pleomorfic
Dimensiune	1,5 până la 2 x dimensiunea unui RBC* normal sau a unui nucleu de celule epiteliale ductale normale	Intermediar	>2,5 x dimensiunea unui RBC normal sau a unui nucleu de celule epiteliale ductale normale
Cromatină	De obicei, cromatină difuză, dispersată fin	Intermediar	De obicei veziculară cu distribuție neregulată a cromatinei
Nucleoli	Numai ocazional		Proeminenți, adesea multipli
Mitoteze	Numai ocazional	Intermediar	Pot fi frecvente
Orientare	Polarizată spre spațiile luminale	Intermediar	De obicei, nu este polarizată spre spațiul luminal

* RBC, eritrocit

- **Considerații speciale carcinomul microinvaziv**

- Dimensiunea maxima a focarului invaziv cel mai mare este de 1 mm diametru
- Se notează numărul focarelor
- Se va specifica dacă au fost făcute colorații IHC pentru celulele mioepiteliale (CD10, p63, CK5/6, actina, S100, Calponină) sau pentru tipuri speciale de carcinom (Ex: E-caderina)
- Este posibil ca dimensiunile reduse să nu permită aprecierea gradului Nottingham și a RE, RPg, KI 67 și HER 2

- **Tipul histologic al carcinoamelor invazive conform OMS (2019):**

- Fără carcinom invaziv rezidual
- Carcinom invaziv no special type (ductal)
- Carcinom microinvaziv
- Carcinom lobular invaziv
- Carcinom invaziv cu caracteristici mixte ductale și lobulare
- Carcinom invaziv cu caracteristici de (specificare):
- Carcinom tubular
- Carcinom cribriform invaziv
- Carcinom mucinos
- Carcinom micropapilar invaziv
- Adenocarcinom apocrin
- Carcinom metaplastic:
 - Carcinom adenoscuamos de grad scăzut
 - Carcinomul metaplastic asemănător fibromatozei
 - Carcinom cu celule fuziforme
 - Carcinomul cu celule scuamoase

- Carcinomul metaplastic cu diferențiere mezenchimală
 - Carcinom papilar încapsulat cu invazie
 - Carcinom papilar solid cu invazie
 - Adenocarcinom papilar intraductal cu invazie
 - Carcinom adenoid chistic
 - Tumori neuroendocrine:
 - Tumoră neuroendocrină, NOS(not otherwise specified)
 - Tumoră neuroendocrină, grad 1
 - Tumoră neuroendocrină, grad 2
 - Carcinoame neuroendocrine:
 - Carcinom neuroendocrin, NOS
 - Carcinom neuroendocrin cu celule mici
 - Carcinom neuroendocrin cu celule mari
 - Carcinom invaziv, tipul nu poate fi determinat
 - Carcinom papilar invaziv
 - Carcinom oncocitic
 - Carcinom bogat în lipide
 - Carcinom bogat în glicogen
 - Carcinom sebaceu
 - Cistadenocarcinom mucinos NOS
 - Carcinom cu celule acinare
 - Carcinom adenoid chistic clasic
 - Carcinom adenoid chistic solid-bazaloid
 - Carcinom adenoid chistic cu transformare de grad înalt
 - Carcinom secretor
 - Carcinom mucoepidermoid
 - Adenocarcinom polimorf
 - Carcinom cu celule înalte cu polaritate inversată
 - Adenomioepiteliom cu carcinom
 - Carcinom epitelial-mioepitelial
- **Grad histologic (Scorul histologic Nottingham)**
 - *Diferențiere glandulară (acinară)/tubulară*
 - Scorul 1 (>75% din suprafața tumorii care formează structuri glandulare/tubulare)
 - Scorul 2 (10% până la 75% din suprafața tumorii care formează structuri glandulare/tubulare)
 - Scorul 3 (<10% din suprafața tumorii care formează structuri glandulare/tubulare)
 - Scorul nu poate fi determinat (se recomandă completarea cu explicații)
 - *Pleomorfism nuclear*
 - Scorul 1 (nuclei mici, cu o creștere redusă în dimensiune în comparație cu celulele epiteliale mamare normale, contur regulat, cromatină nucleară uniformă, variații mici ale dimensiunii)
 - Scorul 2 (celule mai mari decât în mod normal, cu nuclei veziculoși deschiși, nucleoli vizibili și variabilitate moderată atât în dimensiune, cât și în formă)
 - Scorul 3 (nuclei veziculoși, adesea cu nucleoli proeminenți, prezentând o variație marcată a dimensiunii și formei, ocazional cu forme foarte mari și bizare)
 - Scorul nu poate fi determinat (se recomandă completarea cu explicații)
 - *Rata mitotică (vezi Tabelul 2)*
 - Scorul 1
 - Scorul 2
 - Scorul 3
 - Scorul nu poate fi determinat (se recomandă completarea cu explicații)
 - **Grad general** (rezultat prin adunarea scorului pentru diferențierea glandulară (acinară)/tubulară cu scorul pentru pleomorfismul nuclear și scorul pentru rata mitotică)

- Gradul 1 (scorurile 3, 4 sau 5)
- Gradul 2 (scorurile 6 sau 7)
- Gradul 3 (scorurile 8 sau 9)
- Scorul nu poate fi determinat (se recomandă completarea cu explicații)

• **Tabelul 2. Categoriile de scor în funcție de diametrul câmpului și numărul mitozelor**

Categoriile de scor ale numărului de mitoze				
Diametrul câmpului (mm)	Suprafața (mm ²)	Numărul de mitoze pe 10 câmpuri corespunzătoare		
		Scorul 1	Scorul 2	Scorul 3
0,40	0,125	≤4	5 la 9	≥10
0,41	0,132	≤4	5 la 9	≥10
0,42	0,139	≤5	6 la 10	≥11
0,43	0,145	≤5	6 la 10	≥11
0,44	0,152	≤5	6 la 11	≥12
0,45	0,159	≤5	6 la 11	≥12
0,46	0,166	≤6	7 la 12	≥13
0,47	0,173	≤6	7 la 12	≥13
0,48	0,181	≤6	7 la 13	≥14
0,49	0,189	≤6	7 la 13	≥14
0,50	0,196	≤7	8 la 14	≥15
0,51	0,204	≤7	8 la 14	≥15
0,52	0,212	≤7	8 la 15	≥16
0,53	0,221	≤8	9 la 16	≥17
0,54	0,229	≤8	9 la 16	≥17
0,55	0,238	≤8	9 la 17	≥18
0,56	0,246	≤8	9 la 17	≥18
0,57	0,255	≤9	10 la 18	≥19
0,58	0,264	≤9	10 la 19	≥20
0,59	0,273	≤9	10 la 19	≥20
0,60	0,283	≤10	11 la 20	≥21
0,61	0,292	≤10	11 la 21	≥22
0,62	0,302	≤11	12 la 22	≥23
0,63	0,312	≤11	12 la 22	≥23
0,64	0,322	≤11	12 la 23	≥24
0,65	0,332	≤12	13 la 24	≥25
0,66	0,342	≤12	13 la 24	≥25

Categoriile de scor ale numărului de mitoze				
Diametrul câmpului (mm)	Suprafața (mm ²)	Numărul de mitoze pe 10 câmpuri corespunzătoare		
		Scorul 1	Scorul 2	Scorul 3
0,67	0,353	≤12	13 la 25	≥26
0,68	0,363	≤13	14 la 26	≥27
0,69	0,374	≤13	14 la 27	≥ 28

- **Raportare:**

- Numărul și dimensiunea cumulată a fragmentelor eșantionate (se va corela cu macroscopia)
- Calitatea fragmentelor eșantionate (fixare, morfologie): interpretabile, greu interpretabile, neinterpretabile
- Tipul histologic (conform Clasificării OMS în vigoare): se vor specifica dacă există mai multe tipuri histologice, procentul pe care îl ocupă fiecare și se vor grada separat dacă este posibil
- Gradul Nottingham (inclusiv pentru cazurile tratate)
- Procentul din suprafața examinată ocupat de tumoră
- Celularitatea în patul tumoral
- Leziuni epiteliale asociate
- Prezența embolilor intralimfatici/intravenoși (în colorația uzuală HE sau în colorația IHC pentru: D2-40, CD34)
- Prezența infiltratelor tumorale perineurale
- TILs; limfocite intratumorale (tumour-infiltrating lymphocytes): % din aria stromala tumorală ocupată de TILs conform protocolului OMS
- Carcinom „in situ” asociat: se va specifica, tipul acestuia și cât reprezintă acesta din patul tumoral
- Necroză tumorală
- Microcalcificări
- Infiltrare inflamatorie peritumorală
- Se va specifica dacă au fost făcute colorații IHC pentru celulele mioepiteliale (CD10, p63, CK5/6, actină, S100, Calponină) sau pentru tipuri speciale de carcinoma (Ex: e-caderina, cromogranina)
- Se va clasifica biopsia pe ac conform Sistemului de Raportare „UK National Health Service Screening Programme” (B1- B5)

3.2. Examinarea microscopică a biopsiei excizionale, a sectorului mamar și a piesei de mastectomie

- **Dimensiunea tumorii (componentă invazivă)**

- Cea mai mare dimensiune a celui mai mare carcinom invaziv este utilizată pentru a determina clasificarea T
- Nu include carcinomul ductal in situ adiacent
- În scop de stadializare, constatările radiologice pot fi utilizate pentru categoria pT
- Numai microinvazie (≤1 mm) sau
- Cea mai mare dimensiune a celui mai mare focar invaziv >1 mm
 - Dimensiuni suplimentare

- **Focalitatea tumorii**
 - Focar unic de carcinom invaziv
 - Focare multiple de carcinom invaziv
 - Număr de focare
 - Dimensiunile focarelor individuale (milimetri)
 - Dacă există mai multe carcinoame invazive, dimensiunea, gradul, tipul histologic și rezultatele studiilor privind receptorii estrogenici (ER), receptorii progesteronici (PR) și HER2 ar trebui să aparțină celui mai mare carcinom invaziv. Dacă carcinoamele invazive mai mici prezintă caracteristici diferite, aceste informații trebuie incluse în rezultatul histopatologic
 - Grupuri:
 - Carcinom extensiv in situ (CIS) cu multiple focare de invazie
 - Carcinom invaziv cu focare-satelit de invazie mai mici
 - Carcinom invaziv cu invazie limfovaculară extensivă
 - Carcinoame invazive multiple separate biologic
 - Carcinoame invazive după terapia neoadjuvantă
 - Secționarea unui singur carcinom în mai multe fragmente
- **Considerații speciale pentru: carcinom ductal in situ fără carcinom invaziv sau microinvazie, boala Paget a mamelonului neasociată cu carcinomul mamar invaziv, carcinom papilar încapsulat fără carcinom invaziv, carcinom papilar solid fără carcinom invaziv**
 - Tipul histologic:
 - Carcinom ductal in situ (CDIS)
 - Boala Paget
 - Carcinom papilar încapsulat fără carcinom invaziv
 - Carcinom papilar solid fără carcinom invaziv
 - Carcinomul lobular pleomorfic in situ (CLIS) are caracteristici suprapuse cu CDIS și poate fi tratat în mod similar, dar în prezent nu există suficiente dovezi pentru a stabili recomandări definitive pentru tratament
 - CLIS pleomorfic nu este inclus în prezent în clasificarea pTis
 - Dimensiunea (extinderea) CDIS
 - Dimensiunea estimată (extinderea) CDIS în milimetri diametru maxim
 - Dimensiuni suplimentare în milimetri
 - Numărul de blocuri cu CDIS
 - Numărul de blocuri examinate
 - Notă: Dimensiunea (extinderea) CDIS (cea mai mare dimensiune folosind evaluarea macroscopică și microscopică) este o estimare a volumului de țesut mamar ocupat de CDIS. Aceste informații pot fi utile pentru cazurile cu o componentă predominantă a CDIS (de exemplu, CDIS cu microinvazie), dar poate să nu fie necesare pentru cazurile de carcinoame invazive fără componentă extensivă intraductală
 - Trebuie să se specifice dacă este prezent CDIS extensiv
 - Modele arhitecturale
 - Comedo
 - Boala Paget (CDIS care implică pielea mamelonului)
 - Cribriform
 - Micropapilar
 - Papilar
 - Solid
 - Altele

- Atunci când CDIS implică doar pielea mamelonului, fără carcinom invaziv subiacent sau CDIS, clasificarea este CDIS (de exemplu, pTis [Paget])
- Gradul nuclear (I, II, III) se apreciază folosind cei 6 parametri prezentați în tabelul 1
- Gradul nuclear și prezența necrozei sunt elementele cu valoare predictivă mai mare decât modelul arhitectural
- Prezența necrozei este corelată cu constatarea calcificărilor mamografice (de exemplu, majoritatea zonelor de necroză se vor calcifica). CDIS care se prezintă inițial ca și calcificări mamografice recidivează adesea sub forma unor calcificări.
- Necroza poate fi clasificată după urmează:
 - **Centrală ("comedo")**
 - Porțiunea centrală a unui spațiu ductal afectat este înlocuită de o zonă de necroză expansivă care este ușor de detectat la o mărire redusă
 - Acest tip de necroză se corelează adesea cu un model liniar și/sau ramificat al calcificărilor pe mamografie
 - **Focală (punctată):** Focare mici, nedeslușite la mărire redusă sau necroză celulară izolată
- Dacă biopsia a fost efectuată pentru o leziune benignă, iar CDIS este o constatare accidentală, acest lucru ar trebui să fie documentat
- CDIS găsit în biopsiile efectuate pentru microcalcificări va fi aproape întotdeauna la locul calcificărilor sau în imediata apropiere, iar prezența calcificărilor vizate în probă trebuie confirmată prin radiografia probei
- Medicul anatomopatolog trebuie să se asigure că proba a fost recoltată astfel încât leziunile responsabile de calcificări să fi fost examinate microscopic
- Trebuie indicată relația calcificărilor radiologice cu CDIS
- Se va specifica dacă au fost făcute colorații IHC pentru celulele mioepiteliale (CD10, p63, CK5/6, actina, S100, Calponină) sau pentru diagnosticul diferențial (Ex: E-caderina)
- Se evaluează RE, RP

Tabelul 1 (reluat). Gradul nuclear al carcinomului ductal in situ

Caracteristică	Gradul I (Redus)	Gradul II (Intermediar)	Gradul III (Înalt)
Pleomorfism	Monoton (monomorfic)	Intermediar	Semnificativ pleomorfic
Dimensiune	1,5 până la 2 x dimensiunea unui RBC* normal sau a unui nucleu de celule epiteliale ductale normale	Intermediar	>2,5 x dimensiunea unui RBC normal sau a unui nucleu de celule epiteliale ductale normale
Cromatină	De obicei, cromatină difuză, dispersată fin	Intermediar	De obicei veziculară cu distribuție neregulată a cromatinei
Nucleoli	Numai ocazional		Proeminenți, adesea multipli
Mitoze	Numai ocazional	Intermediar	Pot fi frecvente
Orientare	Polarizată spre spațiile luminale	Intermediar	De obicei, nu este polarizată spre spațiul luminal

* RBC, eritrocit

- **Considerații speciale carcinom microinvaziv**

- Dimensiunea maxima a focarului invaziv este de 1 mm diametru

- Se notează numărul focarelor
- Se va specifica dacă au fost făcute colorații IHC pentru celulele mioepiteliale (CD10, p63, CK5/6, actina, S100, Calponină) sau pentru tipuri speciale de carcinom (Ex: E-caderina)
- Posibil ca dimensiunile reduse să nu permită aprecierea gradului Nottingham și a RE, RP, KI 67 și HER 2
- **Tipul histologic al carcinoamelor invazive conform OMS (2019):**
 - Fără carcinom invaziv rezidual
 - Carcinom invaziv no special type (ductal)
 - Carcinom microinvaziv
 - Carcinom lobular invaziv
 - Carcinom invaziv cu caracteristici mixte ductale și lobulare
 - Carcinom invaziv cu caracteristici de (specificare):
 - Carcinom tubular
 - Carcinom cribriform invaziv
 - Carcinom mucinos
 - Carcinom micropapilar invaziv
 - Adenocarcinom apocrin
 - Carcinom metaplastic:
 - Carcinom adenoscuamos de grad scăzut
 - Carcinomul metaplastic asemănător fibromatozei
 - Carcinom cu celule fuziforme
 - Carcinomul cu celule scuamoase
 - Carcinomul metaplastic cu diferențiere mezenchimală
 - Carcinom papilar încapsulat cu invazie
 - Carcinom papilar solid cu invazie
 - Adenocarcinom papilar intraductal cu invazie
 - Carcinom adenoid chistic
 - Tumori neuroendocrine:
 - Tumoră neuroendocrină, NOS (not otherwise specified)
 - Tumoră neuroendocrină, grad 1
 - Tumoră neuroendocrină, grad 2
 - Carcinoame neuroendocrine:
 - Carcinom neuroendocrin, NOS
 - Carcinom neuroendocrin cu celule mici
 - Carcinom neuroendocrin cu celule mari
 - Carcinom invaziv, tipul nu poate fi determinat
 - Carcinom papilar invaziv
 - Carcinom oncocitic
 - Carcinom bogat în lipide
 - Carcinom bogat în glicogen
 - Carcinom sebaceu
 - Cistadenocarcinom mucinos NOS
 - Carcinom cu celule acinare
 - Carcinom adenoid chistic clasic
 - Carcinom adenoid chistic solid-bazaloid
 - Carcinom adenoid chistic cu transformare de grad înalt
 - Carcinom secretor
 - Carcinom mucoepidermoid
 - Adenocarcinom polimorf
 - Carcinom cu celule înalte cu polaritate inversată
 - Adenomioepiteliom cu carcinom
 - Carcinom epitelial-mioepitelial
- **Grad histologic (Scorul histologic Nottingham)**

- *Diferențiere glandulară (acinară)/tubulară*
 - Scorul 1 (>75% din suprafața tumorii care formează structuri glandulare/tubulare)
 - Scorul 2 (10% până la 75% din suprafața tumorii care formează structuri glandulare/tubulare)
 - Scorul 3 (<10% din suprafața tumorii care formează structuri glandulare/tubulare)
 - Scorul nu poate fi determinat (se recomandă completarea cu explicații)
- *Pleomorfism nuclear*
 - Scorul 1 (nuclei mici, cu o creștere redusă în dimensiune în comparație cu celulele epiteliale mamare normale, contur regulat, cromatină nucleară uniformă, variații mici ale dimensiunii)
 - Scorul 2 (celule mai mari decât în mod normal, cu nuclei veziculoși deschiși, nucleoli vizibili și variabilitate moderată atât în dimensiune, cât și în formă)
 - Scorul 3 (nuclei veziculoși, adesea cu nucleoli proeminenți, prezentând o variație marcată a dimensiunii și formei, ocazional cu forme foarte mari și bizare)
 - Scorul nu poate fi determinat (se recomandă completarea cu explicații)
- *Rata mitotică (vezi Tabelul 2)*
 - Scorul 1
 - Scorul 2
 - Scorul 3
 - Scorul nu poate fi determinat (se recomandă completarea cu explicații)
- **Grad general** (rezultat prin adunarea scorului de diferențiere glandulară (acinară)/tubulară cu scorul pentru pleomorfism nuclear și scorul pentru rata mitotică)
 - Gradul 1 (scorurile 3, 4 sau 5)
 - Gradul 2 (scorurile 6 sau 7)
 - Gradul 3 (scorurile 8 sau 9)
 - Scorul nu poate fi determinat (se recomandă completarea cu explicații)

Tabelul 2 (reluat). Categoriile de scor în funcție de diametrul câmpului și numărul mitozelor

Categoriile de scor ale numărului de mitoze				
Diametrul câmpului (mm)	Suprafața (mm ²)	Numărul de mitoze pe 10 câmpuri corespunzătoare		
		Scorul 1	Scorul 2	Scorul 3
0,40	0,125	≤4	5 la 9	≥10
0,41	0,132	≤4	5 la 9	≥10
0,42	0,139	≤5	6 la 10	≥11
0,43	0,145	≤5	6 la 10	≥11
0,44	0,152	≤5	6 la 11	≥12
0,45	0,159	≤5	6 la 11	≥12
0,46	0,166	≤6	7 la 12	≥13
0,47	0,173	≤6	7 la 12	≥13
0,48	0,181	≤6	7 la 13	≥14
0,49	0,189	≤6	7 la 13	≥14
0,50	0,196	≤7	8 la 14	≥15
0,51	0,204	≤7	8 la 14	≥15

Categoriile de scor ale numărului de mitoze				
Diametrul câmpului (mm)	Suprafața (mm ²)	Numărul de mitoze pe 10 câmpuri corespunzătoare		
		Scorul 1	Scorul 2	Scorul 3
0,52	0,212	≤7	8 la 15	≥16
0,53	0,221	≤8	9 la 16	≥17
0,54	0,229	≤8	9 la 16	≥17
0,55	0,238	≤8	9 la 17	≥18
0,56	0,246	≤8	9 la 17	≥18
0,57	0,255	≤9	10 la 18	≥19
0,58	0,264	≤9	10 la 19	≥20
0,59	0,273	≤9	10 la 19	≥20
0,60	0,283	≤10	11 la 20	≥21
0,61	0,292	≤10	11 la 21	≥22
0,62	0,302	≤11	12 la 22	≥23
0,63	0,312	≤11	12 la 22	≥23
0,64	0,322	≤11	12 la 23	≥24
0,65	0,332	≤12	13 la 24	≥25
0,66	0,342	≤12	13 la 24	≥25
0,67	0,353	≤12	13 la 25	≥26
0,68	0,363	≤13	14 la 26	≥27
0,69	0,374	≤13	14 la 27	≥ 28

- **Clasificarea patologică a stadiului (pTNM, AJCC Ediția a 8-a)**

- **Descriptori TNM (necesari numai dacă este cazul)**

- m (focare multiple de carcinom invaziv)
- r (recurent)
- y (post-tratament)

- **Tumoră principală (pT)**

- pTX: Tumoră primară nu poate fi evaluată
- pT0: Nu există dovezi ale tumorii primare
- pTis (CDIS): Carcinom ductal in situ
- pTis (Paget): Boala Paget a mamelonului ce nu este asociată cu carcinomul invaziv și/sau CDIS în parenchimul mamar subiacent
- pT1: Tumoră cu o dimensiune maximă de ≤20 mm
- pT1mi: Tumoră cu o dimensiune maximă de ≤1 mm
- pT1a: Tumoră de >1 mm, dar cu o dimensiune maximă de ≤5 mm (rotunjiți orice măsurătoare >1,0 -1,9 mm până la 2 mm)
- pT1b: Tumoră de >5 mm, dar cu o dimensiune maximă de ≤10 mm
- pT1c: Tumoră de >10 mm, dar cu o dimensiune maximă de ≤20 mm
- pT2: Tumoră de >20 mm, dar cu o dimensiune maximă de ≤50 mm

- pT3: Tumoră cu o dimensiune maximă de >50 mm
- pT4: Tumoră de orice dimensiune, cu extindere directă la peretele toracic și/sau la nivelul pielii (ulcerații sau noduli cutanați)
- pT4a: Extindere la peretele toracic; invazia sau adrenea de mușchiul pectoral în absența invaziei structurilor peretelui toracic nu se califică ca T4
- pT4b: Ulcerații și/sau noduli sateliți macroscopici ipsilaterali și/sau edem cutanat (inclusiv peud'orange) care nu îndeplinesc criteriile carcinomului inflamator
- pT4c: Sunt prezenți atât T4a cât și T4b
- pT4d: Carcinom inflamator
- **Modificatorii regionali ai ganglionilor limfatici (doar dacă este cazul)**
 - (sn): Se evaluează ganglionul (ganglionii) sentinelă. Dacă se excizează 6 sau mai mulți ganglioni (sentinelă sau non-sentinelă), acest modificator nu trebuie utilizat
 - (f): Metastaza ganglionară confirmată prin aspirația cu ac fin sau biopsia tumorii prin puncție
- **Ganglionii limfatici regionali (pN)**
 - pNX: Ganglionii limfatici regionali nu pot fi evaluați
 - pN0: Nicio metastază regională în ganglionii limfatici nu a fost identificată sau numai celule tumorale izolate (CTI)
 - pN0 (i+): Numai CTI (grupuri de celule maligne care nu sunt mai mari de 0,2 mm) în ganglionii limfatici regionali
 - pN0 (mol+): Constatări moleculare pozitive prin RT-PCR; nu au fost detectate CTI-uri
 - pN1mi: Micrometastaze (aproximativ 200 celule, grupuri mai mari de 0,2 mm, dar nu mai mari decât 2,0 mm)
 - pN1a: Metastaze în 1 până la 3 ganglioni limfatici axilari, cel puțin 1 metastază mai mare de 2,0 mm
 - pN1b: Metastaze în ganglionii sentinelă mamari interni ipsilaterali, cu excepția CTI
 - pN1c: pN1a și pN1b combinat
 - pN2a: Metastaze în 4 până la 9 ganglioni limfatici axilari (cel puțin un depozit tumoral mai mare de 2,0 mm)
 - pN2b: Metastaze în ganglionii limfatici mamari interni detectați clinic, cu sau fără confirmare microscopică; cu ganglioni axilari negativi patologic
 - pN3a: Metastaze în 10 sau mai mulți ganglioni limfatici axilari (cel puțin un depozit tumoral mai mare de 2,0 mm) sau metastaze la nivelul ganglionilor infraclaviculari (ganglion limfatic axilar de nivel III)
 - pN3b: pN1a sau pN2a în prezența cN2b (ganglioni mamari interni pozitivi prin imagistică); sau pN2a în prezența pN1b
 - pN3c: Metastaze în ganglionii limfatici supraclaviculari ipsilaterali
- **Metastaze la distanță (pM) (necesară numai dacă se confirmă patologic)**
 - pM1: Metastaze dovedite histologic mai mari de 0,2 mm
- **Aprecierea răspunsului la terapie neoadjuvantă**
 - RCB (residual cancer burden) -parametri necesari :
 - dimensiunile patului tumoral rezidual: primele 2 dimensiuni (mm)
 - celularitatea patului tumoral rezidual (%)
 - proporția componentei de carcinom in situ (%)
 - numărul limfoganglionilor metastazați
 - diametrul celei mai mari metastaze limfoganglionare (mm)
 - calculator RCB : http://www.manderson.org/breastcancer_rcb
 - Sistemul Miller-Payne:

- Răspuns divizat în cinci categorii:
 - Grad 1: Fără modificări sau minime modificări ale unor celule individuale, dar fără reducere al celularității în ansamblu (pNR- fără răspuns patologic)
 - Grad 2: Pierdere minoră de celule tumorale (până la 30%), dar în ansamblu celularitatea este înaltă (pPR- răspuns patologic parțial)
 - Grad 3: Reducere a celularității între 30% și 90%- înaltă (pPR- răspuns patologic parțial)
 - Grad 4: Reducere marcată a celularității până la punctul în care se observă doar mici clustere sau celule individuale tumorale; 90% reducere a celularității (aproape pCR)
 - Grad 5: Fără celule tumorale invazive la nivelul patului tumoral (CDIS poate fi prezent) (pCR- răspuns patologic complet)
- **Raportare:**
 - Dimensiunea tumorii
 - Tipul histologic (conform Clasificării OMS în vigoare): se vor specifica dacă există mai multe tipuri histologice, procentul pe care îl ocupă fiecare și se vor grada separat dacă este posibil
 - Gradul Nottingham (inclusiv pentru cazurile tratate)
 - Focalitatea tumorii
 - Procentul din suprafața examinată ocupat de tumoră
 - Celularitatea în patul tumoral
 - Leziuni epiteliale asociate
 - Prezența embolilor intralimfatici/intravenoși (în colorația uzuală HE sau în colorația IHC pentru: D2-40, CD34)
 - Prezența infiltratelor tumorale perineurale
 - TILs- limfocite intratumorale (tumour-infiltrating lymphocytes): % din aria stromala tumorală ocupată de TILs conform protocolului OMS
 - Carcinom „in situ” asociat: se va specifica, tipul acestuia și cât reprezintă acesta din patul tumoral
 - Necroză tumorală
 - Microcalcificări
 - Infiltrare inflamatorie peritumorală
 - Mamelon : infiltrare tumorală, carcinom intraductal, boală Paget, ulcerare
 - Tegument : infiltrare tumorală, ulcerare, noduli sateliți, emboli
 - Se va specifica dacă au fost făcute colorații IHC pentru celulele mioepiteliale (CD10, p63, CK5/6, actină, S100, Calponină) sau pentru tipuri speciale de carcinoma (Ex: e-caderina, cromogranina)
 - Distanța față de margini (separat pentru componenta invazivă și pentru cea in situ) și starea musculaturii scheletice (infiltrată/liberă de tumoră) dacă este prezentă
 - Cazul va fi clasificat pTNM (dacă nu a beneficiat de terapie neoadjuvantă chemo-endocrină)
 - Pentru cazurile cu terapie neoadjuvantă chemo-endocrină (care nu au fost diagnosticate prin biopsie incizională):
 - se va calcula scorul RCB și clasa RCB (Residual Cancer Burden)
 - se va aprecia răspunsul la terapie folosind sistemul Miller-Payne, dacă biopsia inițială este disponibilă pentru revizuire comparativă sau pentru cazurile în care există date despre celularitatea în patul tumoral
 - se vor descrie modificările de la nivelul patului tumoral după terapie neoadjuvantă chemo-endocrină
 - cazul va fi clasificat ypTNM

3.3. Examinarea microscopică a limfoganglionilor axilari

- **Piesa de limfadenectomie axialară**
 - **raportare:**
 - Număr
 - Localizare, dacă a fost specificată de chirurg
 - Dimensiunea maximă a metastazelor macroscopic vizibile
 - Numărul total de limfoganglioni izolați
 - Numărul limfoganglioni cu metastaze
 - Prezența efracției capsulare
 - Diametrul celei mai mari metastaze limfoganglionare
 - Raportare conform clasificării TNM
- **Limfoganglionul santinelă**
 - fiecare limfoganglion va fi inclus și prelucrat în totalitate: secționat în tranșe de maxim 2 mm grosime
 - 3 secțiuni colorate HE la niveluri de 150 micrometri
 - IHC: CKAE1/AE3 sau CK8/18, la latitudinea medicului anatomopatolog
 - **raportare:**
 - descriere macroscopică: număr, dimensiuni, marcaje
 - numărul de limfoganglioni cu metastază/numărul total de limfoganglioni izolați
 - diametrul celei mai mari metastaze
 - prezența efracției capsulare
 - raportare conform clasificării TNM în vigoare utilizând sufixul “sn”

4. Studii complementare

4.1. Testarea IHC a statusului receptorilor hormonal

- **Indicațiile determinării RE și RP :**
 - la cazurile netratate de carcinom mamar invaziv
 - la recidive/metastaze de carcinom mamar invaziv
 - la cazurile tratate de carcinom mamar invaziv la indicația clinicienilor
 - la cazurile de carcinom ductal in situ

4.1.1. Statutul receptorilor estrogenici (ER)

- Se apreciază procentual numărul celulelor tumorale pozitive
- Se apreciază intensitatea (slab, moderat, intens)
- Se va specifica dacă există martori pozitivi
- Se calculează Scorul Allred și se specifică semnificația acestuia
- Se va menționa dacă există vicii de procesare tisulară ce pot afecta calitatea examinării
- **Raportare:**
- Există mai multe metode de raportare:
 - **Scorul ALLRED**
 - Scorul Allred combină procentul de celule pozitive și intensitatea observată în cea mai mare parte a carcinomului. Cele 2 scoruri sunt adăugate împreună pentru un scor final cu 8 valori posibile. Scorurile 0 și 2 sunt considerate negative. Scorurile de la 3 la 8 sunt considerate pozitive (tabelul 3)

Tabelul 3. Scorul Allred pentru evaluarea receptorilor estrogenici și progesteronici

Scor proporțional	Celule pozitive,%	Intensitate	Scor de intensitate
0	0	Niciunul	0
1	<1	Slab	1
2	1 la 10	Intermediar	2
3	11 la 33	Puternic	3
4	34 la 66		
5	≥67		

○ **ASCO/CAP**

- **Pozitiv**(>10% dintre celule demonstrează pozitivitate nucleară)
 - Se specifică procentul de celule cu pozitivitate nucleară sau intervalul (exemplu 11%-20%)
 - Se specifică intensitatea medie a colorației:
 - Slabă
 - Moderată
 - Intensă
- **Slab pozitiv (low positive)** (1-10% dintre celule cu pozitivitate nucleară)
 - Se specifică procentul de celule cu pozitivitate nucleară
 - Se specifică intensitatea medie a colorației:
 - Slabă
 - Moderată
 - Intensă
 - Se specifică statusul controalelor interne
 - Celulele de control intern sunt prezentate și colorate, conform așteptărilor
 - Celulele de control intern sunt absente
 - Alte observații
- **Negativ** (sub 1% dintre celule cu pozitivitate nucleară)
 - Celulele de control intern sunt prezente și colorate, conform așteptărilor
 - Celulele de control intern sunt absente
 - Alte observații
- **Nu se poate determina (nedeterminat)**
 - Celulele de control intern sunt prezente; nicio imunoreactivitate fie a celulelor tumorale, fie a controalelor interne
 - Alte observații
- **Note:**
 - Procentul de celule cu pozitivitate nucleară pentru ER poate fi raportat ca un număr specific sau un interval dacă este mai mare de 10%
 - Carcinoamele invazive cu 1 până la 10% din colorația celulelor pentru ER (nu pentru PgR) sunt raportate ca fiind „slab pozitive(low positive)”
 - Repartizarea slab pozitivă inferioară se aplică numai carcinomului invaziv și nu este utilizată pentru receptorul de progesteron sau CDIS
 - Pentru cazurile în care nu sunt prezente controale interne, iar rezultatul ER este fie negativ, fie pozitiv inferior, se recomandă includerea

următorului comentariu în raport: „Nu există controale interne, dar controalele externe sunt pozitive corespunzător. Testarea unei alte probe care conține controale interne poate fi necesară pentru confirmarea statutului ER, în cazul în care aceasta este necesară

- Atunci când o tumoră este negativă, dar nu sunt prezente celule de control intern, medicul anatomopatolog trebuie să exercite o judecată dacă analiza poate fi interpretată ca un adevărat negativă. Aceasta ar trebui să includă luarea în considerare a tipului și gradului histologic, a ischemiei reci și a timpilor de fixare și a statusului controalelor externe. Dacă medicul patolog decide că statusul receptorului hormonal nu poate fi determinat, testul trebuie raportat ca atare și repetat pe un alt bloc sau probă
- Problemele tehnice ce împiedică raportarea testului pot apărea dacă manipularea probei a fost inadecvată, dacă artefactele (artefacte de zdrobire sau de marginie) îngreunează interpretarea sau dacă testarea analitică a eșuat

4.1.2. Statutul receptorilor progesteronici (PR)

- Se apreciază procentual numărul celulelor tumorale pozitive
- Se apreciază intensitatea (slab, moderat, intens)
- Se va specifica dacă există martoripozitivi
- Se calculează Scorul Allred și se specifică semnificația acestuia
- Se va menționa dacă există vicii de procesare tisulară ce pot afecta calitatea examinării
 - **Scorul ALLRED**
 - Scorul Allred combină procentul de celule pozitive și intensitatea observată în cea mai mare parte a carcinomului. Cele 2 scoruri sunt adăugate împreună pentru un scor final cu 8 valori posibile. Scorurile 0 și 2 sunt considerate negative. Scorurile de la 3 la 8 sunt considerate pozitive (tabelul 3)

Tabelul 3 (reluat). Scorul Allred pentru evaluarea receptorilor estrogenici și progesteronici

Scor proporțional	Celule pozitive,%	Intensitate	Scor de intensitate
0	0	Niciunul	0
1	<1	Slab	1
2	1 la 10	Intermediar	2
3	11 la 33	Puternic	3
4	34 la 66		
5	≥67		

- **ASCO/CAP**
 - **Pozitiv** (>10% dintre celule demonstrează pozitivitate nucleară)
 - Se specifică procentul de celule cu pozitivitate nucleară sau sau intervalul (exemplu 11%-20%)
 - Se specifică intensitatea medie a colorației:
 - Slabă
 - Moderată
 - **Negativ** (sub 1% dintre celule cu pozitivitate nucleară)
 - Celulele de control intern sunt prezentate și colorate, conform așteptărilor
 - Celulele de control intern sunt absente

- Alte observații
- **Nu se poate determina (nedeterminat)**
 - Celulele de control intern sunt prezente; nicio imunoreactivitate fie a celulelor tumorale, fie a controalelor interne
 - Alte observații
- **Note:**
 - Procentul de celule cu pozitivitate nucleară pentru PR poate fi raportat ca un număr specific sau un interval dacă este mai mare de 10%
 - Atunci când o tumoră este negativă, dar nu sunt prezente celule de control intern, medicul anatomopatolog trebuie judece dacă analiza poate fi interpretată ca un adevărat negativă. Aceasta ar trebui să includă luarea în considerare a tipului și gradului histologic, a ischemiei reci și a timpilor de fixare și a statusului controalelor externe. Dacă medicul anatomopatolog decide că statusul receptorului hormonal nu poate fi determinat, testul trebuie raportat ca atare și repetat pe un alt bloc sau probă
 - Problemele tehnice ce împiedică raportarea testului pot apărea dacă manipularea probei a fost inadecvată, dacă artefactele (artefacte de zdrobire sau de margine) îngreunează interpretarea sau dacă testarea analitică a eșuat

4.2. Evaluarea Ki-67

- **Indicațiile determinării Ki 67:**
 - la cazurile netratate de carcinom mamar invaziv și recidive/metastaze
 - la cazurile tratate de carcinom invaziv la indicația clinicienilor
- Se apreciază procentual numărul celulelor tumorale (componenta invazivă) pozitive (se numără 500 nuclei cu obiectiv de 40x)
- Se va specifica dacă există martori (celule netumorale) pozitive (ex.limfocite)
- Se va menționa dacă există vicii de procesare tisulară ce pot afecta calitatea examinării

4.3. Evaluarea Her2

- **Indicațiile determinării Her 2**
 - la cazurile netratate de carcinom mamar invaziv
 - la recidive/metastaze de carcinom mamar invaziv
 - la cazurile tratate de carcinom mamar invaziv la indicația clinicienilor
- Testarea și interpretarea expresiei Her2 și a statusului genei HER2 se realizează conform recomandărilor ASCO/CAP in vigoare, cea mai recentă versiune fiind (la momentul redactării acestui document): J Clin Oncol. 2018;36(20):2105–2122
- Mai jos este prezentat un sumar al recomandărilor
- Este necesară consultare și completarea cu recomandările din documentul ASCO/CAP

4.3.1. Testare IHC a supraexpresiei Her2:

- scor0:absențamarcajuluisaumarcaj incomplet de intensitate slabă/abia perceptibilăîn<10%din celule = negativ
- scor1+:marcajmembranarincomplet de intensitatefoarte slabă/abia perceptibilă în>10%din celule = negativ
- scor2+:marcajmembranarcircumferențialdeintensitateslabă spre moderatăîn>10%din celuleletumorale=echivocnecesităconfirmarea amplificăriigeniceprin ISH;
- scor3+:marcajmembranarcircumferențialintensîn >10% din celulele tumorale = pozitiv
- Rezultat nedeterminat: nu se poate determina (se adaugă explicați asupra motivului)

- *Evaluarea intensității marcajului*
 - *intensitate puternică = marcaj vizibil la obiectiv 2-5x*
 - *intensitate slabă spre moderată = marcaj vizibil la obiectiv 10-20x*
 - *intensitate foarte slabă/abia perceptibilă = marcaj vizibil la obiectiv 40x*

4.3.3. Testarea HER2 prin metode de hibridizare in situ (ISH)

- Statusul HER2 poate fi determinat folosind țesut inclus în parafină fixat în formalină prin evaluarea expresiei proteice la nivelul membranei celulelor tumorale (componentă invazivă) folosind IHC sau prin evaluarea numărului de copii ale genei HER2 utilizând hibridizarea in situ (ISH). Atunci când atât IHC cât și ISH sunt efectuate pe aceeași tumoră, rezultatele ar trebui să fie corelate
- **Interpretarea rezultatelor testărilor prin hibridizare in situ folosind metode care utilizează o singură sondă pentru evaluarea HER2 (sonde care evaluează numărul de copii ale genei HER2)**
 - **Rezultat negativ:**
 - Numărul mediu al copiilor HER2 $<4,0$ semnale / celulă
 - Numărul mediu al copiilor HER2 $\geq 4,0$ și $<6,0$ semnale / celulă și scor concomitent la testarea IHC 0, 1+ sau 2+
 - Numărul mediu al copiilor HER2 $\geq 4,0$ și $<6,0$ semnale / celulă și rezultat concomitent la testare ISH cu sondă dublă concomitent Grup 5
 - **Rezultat pozitiv:**
 - Numărul mediu al copiilor HER2 $\geq 6,0$ semnale / celulă
 - Numărul mediu al copiilor HER2 $\geq 4,0$ și $<6,0$ semnale / celulă și scor concomitent la testarea IHC 3+
 - Numărul mediu al copiilor HER2 $\geq 4,0$ și $<6,0$ semnale / celulă și rezultat concomitent la testarea ISH cu sondă dublă Grup 1
 - **Rezultat nedeterminat:** nu se poate determina (se adaugă explicați asupra motivului)
- **Definiția grupurilor ISH pentru sonde duble**
 - Grup 1 = raport HER2 / CEP17 $\geq 2,0$; $\geq 4,0$ semnale HER2 / celulă
 - Grup 2 = raport HER2 / CEP17 $\geq 2,0$; $<4,0$ semnale HER2 / celulă
 - Grup 3 = raport HER2 / CEP17 $<2,0$; $\geq 6,0$ semnale HER2 / celulă
 - Grup 4 = raport HER2 / CEP17 $<2,0$; $\geq 4,0$ și $<6,0$ semnale HER2 / celulă
 - Grup 5 = raport HER2 / CEP17 $<2,0$; $<4,0$ semnale HER2 / celulă
- **Interpretarea rezultatelor testărilor prin hibridizare in situ folosind metode care utilizează sonde duale (sonde care evaluează CEP17 (regiunea centromerică a cromozomului 17) și gena HER2)**
 - **Rezultat negativ:**
 - Grup 5
 - **Rezultat negativ* (a se consulta comentariul):**
 - Grup 2 și scor concomitent la testarea IHC 0-1 + sau 2+
 - Grup 3 și scor concomitent la testarea IHC 0-1 +
 - Grup 4 și scor concomitent la testarea IHC 0-1 + sau 2+
 - **Rezultat pozitiv* (a se consulta comentariul):**
 - Grup 2 și scor concomitent la testarea IHC 3+
 - Grup 3 și scor concomitent la testarea IHC 2+ sau 3+
 - Grup 4 și scor concomitent la testarea IHC 3+
 - **Rezultat pozitiv:**

- Grup 1
- **Rezultat nedeterminat:** nu se poate determina (se adaugă explicații asupra motivului)
- **Note:**
 - Pentru grupurile 2-4 rezultatele ISH finale se bazează pe revizuirea concomitentă a IHC, cu o reevaluare a testului ISH de către un al doilea examinator dacă IHC este de 2+ (recomandări 2018 CAP / ASCO Update)
 - **Comentariu pentru grupul 2 - Rezultat negativ:** *Dovezile sunt limitate asupra eficacității terapiei țintite HER2 în subsetul mic de cazuri cu raport HER2 / CEP17 $\geq 2,0$ și un număr mediu de copii ale HER2 $< 4,0$ / celulă. În prima generație de trialuri clinice cu trastuzumab adjuvant, pacienții din acest subgrup care au fost randomizați la brațul trastuzumab nu au părut să beneficieze de o îmbunătățire a supraviețuirii libere de boală sau a supraviețuirii globale, dar au existat prea puține cazuri pentru a trage concluzii definitive. Expresia IHC a HER2 trebuie utilizată pentru a completa ISH și pentru a defini statusul HER2. Dacă rezultatul IHC nu este de 3+ pozitiv, este recomandat ca specimenul testat să fie considerat HER2 negativ din cauza numărului redus de copii ale HER2 identificat prin ISH și a lipsei supraexpresiei proteice*
 - **Comentariu pentru grupul 3 - Rezultat negativ:** *Nu există date suficiente referitoare la eficacitatea terapiei țintite HER2 în cazurile cu raport HER2 $< 2,0$ în absența supraexpresiei proteice, deoarece astfel de pacienți nu au fost eligibili pentru prima generație de trialuri clinice cu trastuzumab adjuvant. Atunci când rezultatele concomitente ale IHC sunt negative (0-1 +), se recomandă ca specimenul să fie considerat HER2 negativ.*
 - **Comentariu pentru grupul 4 - Rezultat negativ:** *Este incert dacă pacienții cu media semnalelor HER2 / celulă $\geq 4,0$ și $< 6,0$ medie și raport HER2 / CEP17 $< 2,0$ au beneficii în urma terapiei țintite HER2 în absența supraexpresiei proteice (IHC 3+). Dacă rezultatul testării specimenului este aproape de pragul raportului ISH pentru pozitiv, există o probabilitate ridicată ca în urma repetării testării să se obțină rezultate diferite doar datorită hazardului. Prin urmare, atunci când rezultatele IHC nu sunt 3+ pozitiv, se recomandă ca proba să fie considerată HER2 negativă, fără a se realiza teste suplimentare pe același specimen*

5. Bibliografie

1. Lott R, Tunnicliffe J, Sheppard E, Santiago J, Hladik C, Nasim M et al. Practical Guide to Specimen Handling in Surgical Pathology Version: 9.0. College of American Pathologists. [cited 2020 May 31]. Available from: <https://cap.objects.frb.io/documents/practical-guide-specimen-handling.pdf>
2. Fitzgibbons PL, Connolly JL, Edgerton M, Simpson R. Protocol for the Examination of Biopsy Specimens From Patients With Ductal Carcinoma In Situ (DCIS) of the Breast Version: Breast DCIS Biopsy 1.0.0.1. College of American Pathologists. [cited 2020 May 31]. Available from: <https://documents.cap.org/protocols/cp-breast-dcis-biopsy-20-1001.pdf>
3. Fitzgibbons PL, Connolly JL, Edgerton M, Simpson R. Protocol for the Examination of Biopsy Specimens From Patients With Invasive Carcinoma of the Breast Version: Breast Invasive Biopsy 1.1.0.0. College of American Pathologists. [cited 2020 May 31]. Available from: <https://documents.cap.org/protocols/cp-breast-invasive-biopsy-20-1100.pdf>
4. Fitzgibbons PL, Connolly JL, Bose S, Chen Y-Y, de Baca ME, Edgerton M, et al. Protocol for the Examination of Resection Specimens From Patients With Ductal Carcinoma In Situ (DCIS) of the Breast Version: Breast DCIS Resection 4.3.0.2. College of American Pathologists. [cited 2020 May 31]. Available from: <https://documents.cap.org/protocols/cp-breast-dcis-resection-20-4302.pdf>

5. Fitzgibbons PL, Connolly JL, Bose S, Chen Y-Y, de Baca ME, Edgerton M, et al. Protocol for the Examination of Resection Specimens From Patients With Invasive Carcinoma of the Breast Version: Breast Invasive Resection 4.4.0.0 [internet]. College of American Pathologists. [cited 2020 May 31]. Available from: <https://documents.cap.org/protocols/cp-breast-invasive-resection-20-4400.pdf>
6. Fitzgibbons PL, Bartley AN, Connolly JL. Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens From Patients With Carcinoma of the Breast Version: Breast Biomarkers 1.4.0.0. College of American Pathologists. [cited 2020 May 31]. Available from: <https://documents.cap.org/protocols/cp-breast-biomarker-20-1400.pdf>
7. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Breast tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2019. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 2)
8. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, Rajan R, Kuerer H, Valero V, Assad L, Poniecka A, Hennessy B, Green M, Buzdar AU. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*. 2007 Oct 1;25(28):4414-22
9. Ogston KN, Miller ID, Payne S, Hutcheon AW, Sarkar TK, Smith I, Schofield A, Heys SD. A new histological grading system to assess response of breast cancers to primary chemotherapy: prognostic significance and survival. *The Breast*. 2003 Oct 1;12(5):320-7
10. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of clinical oncology*. 1999 May 1;17(5):1474-81
11. Ellis IO, Al-Sam S, Anderson N, Carder P, Deb R, Girling A, Hales S, Hanby A, Ibrahim M, Lee AH, Liebmann R. Pathology reporting of breast disease in surgical excision specimens incorporating the dataset for histological reporting of breast cancer, June 2016. Published by The Royal College of Pathologists. 2016 Jun
12. Wolff AC, Hammond MEH, Allison KH, et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. *J Clin Oncol*. 2018;36(20):2105–2122. doi:10.1200/JCO.2018.77.8738
13. Amendoeira I, Perry N, Broeders M, de Wolf C, Törnberg S, Holland R, von Karsa L. European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis. European Commission; 2013.
14. Westra WH, Hruban RH, Phelps TH, Isacson C. *Surgical pathology dissection: an illustrated guide*: Springer Science & Business Media; 2003
15. Lester SC. *Manual of Surgical Pathology E-Book*: Elsevier Health Sciences; 2010