Couperondzending februari 2015

De Wiest Bart

29 mei 2015

OLV Ziekenhuis Aalst

Couperondzending februari 2015

- Deelnemers: 34
- Antistoffen:
  - CD3: n=32
  - CD20: n=33
  - CD45: n=32
  - CHROMO: n=31

Couperondzending februari 2015

- Panel:
  - Scoring 17/03/2015 (OLV Aalst)
  - Onafhankelijk, in consensus
  - 3 pathologen
    - Dr. C. Van den Broecke (AZ St-Lucas Gent)
    - Dr. M. De Vuyst (ASZ Aalst)
    - Dr. A.M. Schelfhout (OLV Aalst)

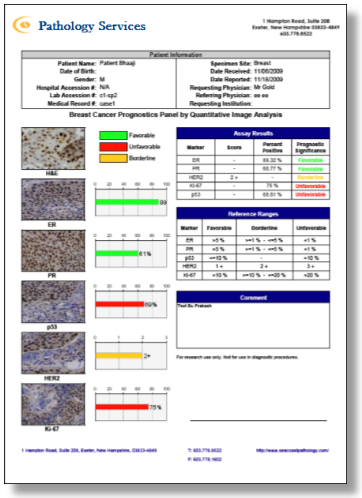
olv Top in Zorg.

Procedure panelbeoordeling

- Literatuurstudie m.b.t. antilichaam: NordiQC website, datasheets, websites, …
  - Wat moet / kan aankleuren?
  - Wat mag zeker niet aankleuren?
- Vastleggen criteria aankleuring per AS
- Beoordeling
  - Consensus binnen het panel
  - Reden voor afwijkend resultaat bij borderline/onvoldoende
- Scoreblad

Ventana Digital Pathology

Image Scanning, Case Analysis to an integrated Patient Report



Pathology Services

Patient Information

Breast Cancer Prognostics Panel by Quantitative Image Analysis

Assay Results

Reference Ranges

Comment

iScan HT

- High-throughput ~ 80 slides per hour at 20X
- 360 slide capacity, continuous and random access, walk away scanning
- STAT workflow support
- 20x and 40x magnifications
- Auto scan and manual scan
- Volume scanning (z-stacking) capability with configurable number of slices
- 1D and 2D barcode support
- Robust error recovery to allow for continuous operation
- Integrated with DaVinci, Diamic
- Integrated with Tribvn and Infologic
- Local expertise and fast service

Beoordelingscriteria

Optimaal: perfecte aankleuring in elk weefsel

Goed: voldoende aankleuring in elk weefsel maar wel minder goede intensiteit en/of signal-to-noise ratio

actie: evt. optimalisatie nodig

Borderline: algemeen te zwak ; onvoldoende aankleuring in <u>één</u> van de weefsels (vals negatieve aankleuring ; vals positieve aankleuring)

actie: optimalisatie nodig

Onvoldoende: slechte aankleuring in <u>meerdere</u> weefsels (vals negatieve/positieve aankleuring)

actie: dringend optimalisatie nodig

olv Top in Zorg.

Protocol CD3

- n=32
- DAKO:
  - polyclonaal: n=11 (Omnis T3)
- Ventana
  - Clone 2GV6: n=12
- Andere clones:
  - Thermo:
    - clone SP7 (n=2) RTU/conc.: inc. 30'-32' (resp. DAKO/Ventana stainer)
  - CellMarque
    - Clone MRQ39 (n=1) conc. 1/200 inc. 16' op Ventana stainer
  - Leica:
    - clone LN10 (n=2) RTU/conc. 1/300 op Leica stainer
    - clone PS1 (n=1) conc. 1/10 inc. 48' op Ventana stainer
- Onbekend: n=3

olv Top in Zorg.

Protocol CD3

- Polyclonaal:
  - DAKO: incubatietijd van 10’ -32’. Meest: 20’
  - Format:
    - RTU (n=10): 20’ (+Omnis linker) (1 deelnemer met 10’ en 15’)
    - Conc. (n=1): 1/90 inc. 28’ op Ventana stainer
- Clone 2GV6:
  - Format:
    - RTU rabbit monoclonal: n=9
    - Tijden: 16’ package insert (n=8, 1 met amplifier), max. tot 32’

Top in Zorg.

Protocol CD3

- Voorbehandeling:
  - Onbekend: n=3
  - Onduidelijk: n=2
  - HIER:
    - DAKO:
      - Hoge pH buffer (n=9): 45'-60'
      - Lage pH buffer (n=1 Omnis): 30' → datasheet
    - VENTANA: hoge pH
      - CC1 buffer: short (n=1)
      - CC1 buffer: mild +/- 30' (n=10) → datasheet
      - CC1 buffer: 40' (n=1) → optiView detectie
      - CC1 buffer: standard (n=2)
    - LEICA:
      - Hoge pH buffer (n=2): 20'

olv Top in Zorg.

Scoringscriteria CD3

Membranair

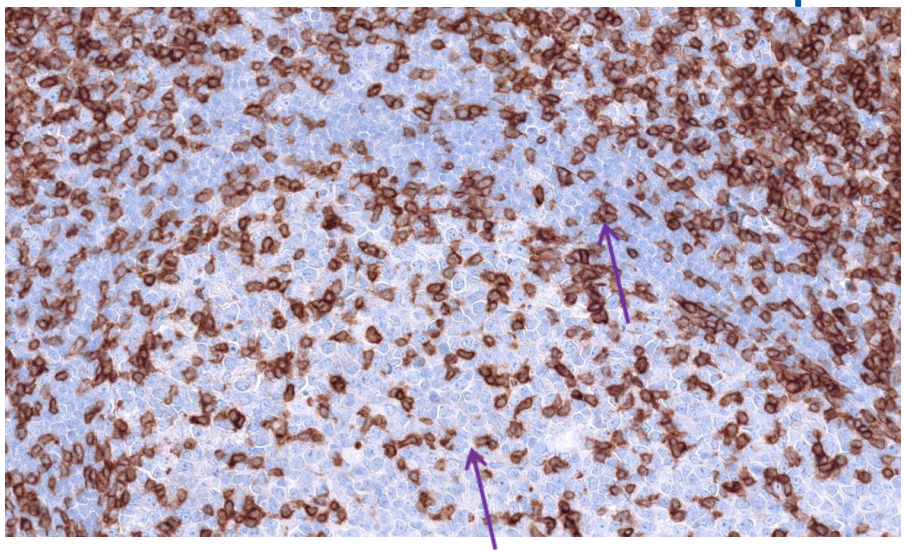
- Tonsil/appendix:
  - T-cellen in kiemcentra én interfolliculaire T-zones matig/sterk pos.
  - (intra-) epitheliale T cellen appendix/colon matig/sterk pos.
- T-cel lymfoom: meerderheid neoplastische cellen zwak/matig positief
- geen aankleuring in andere cellen, vnl. de B-cellen in tonsil moeten negatief zijn

NordiQC: verspreide T-cellen in mantelzone en kiemcentrum zwak = probleem bij CD3-laag expressie T-cel lymfoom

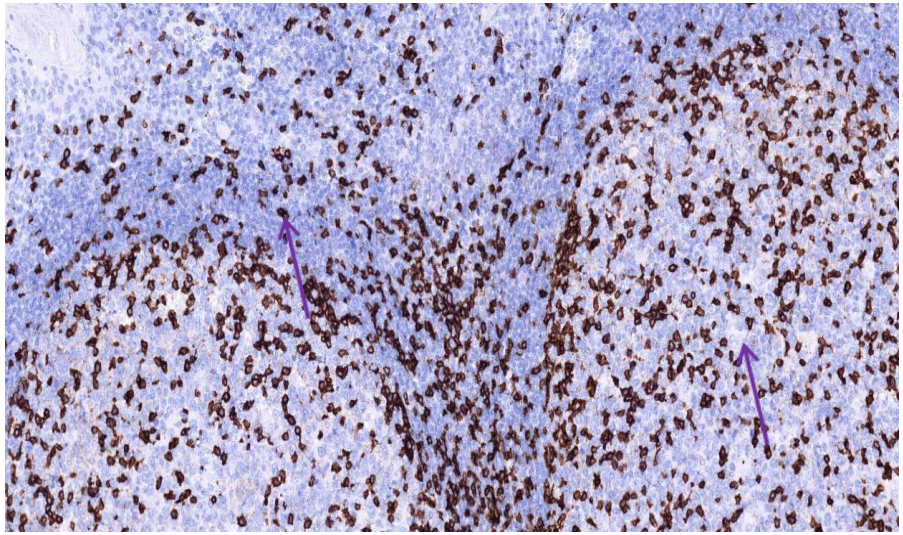
Top in Zorg.

Antistof CD3: tonsil

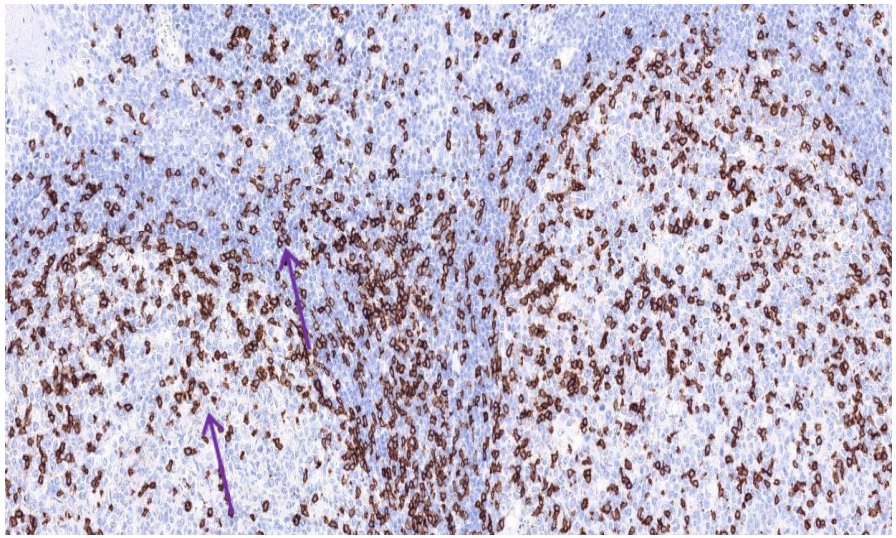
Optimaal



Ventana **2GV6** RTU16' **pH9** 30' Ventana stainer



DAKO **poly** RTU 20' **pH9** 50' DAKO stainer

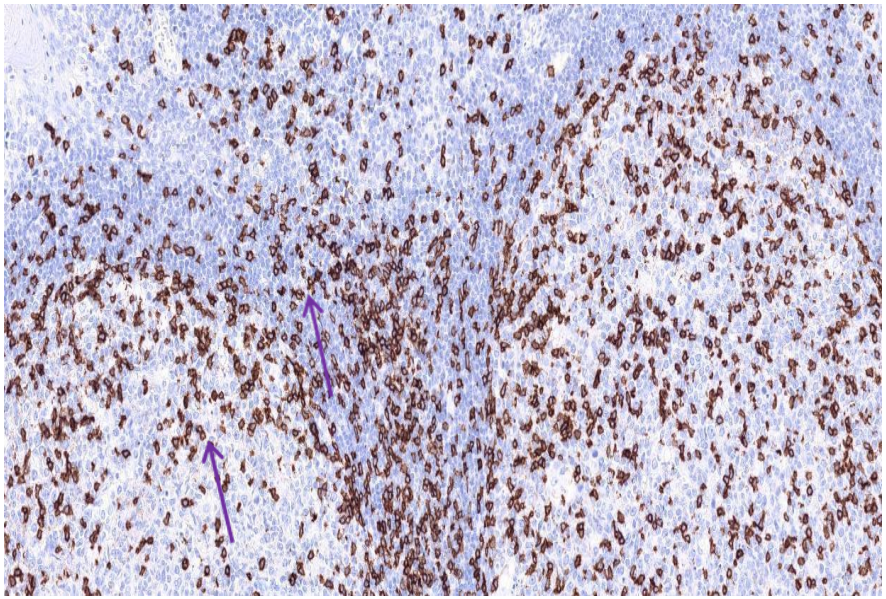


Thermo **SP7** RTU 15' **pH9** 50' Dako stainer

olv Top in Zorg.

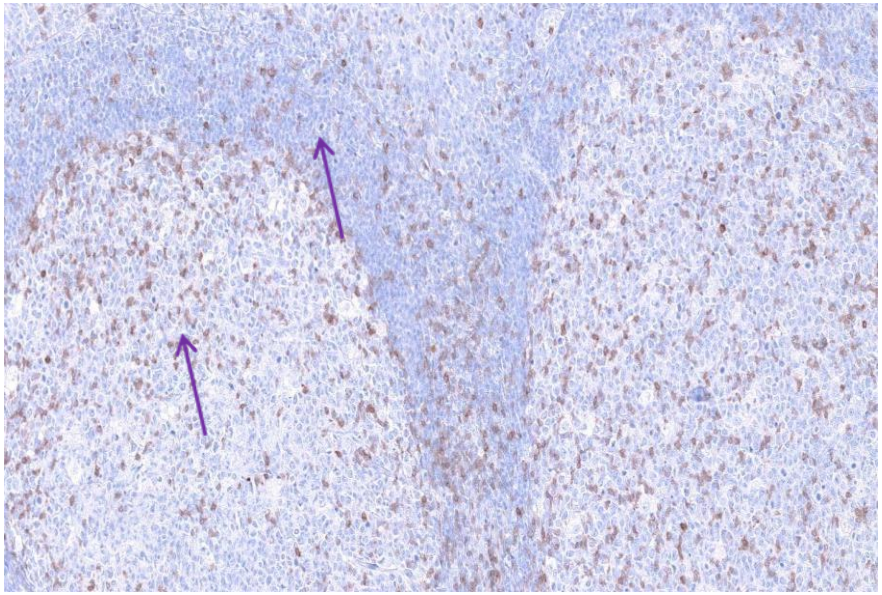
Antistof CD3: tonsil

Optimaal



Thermo **SP7 RTU** 15’ pH9 50’ Dako stainer

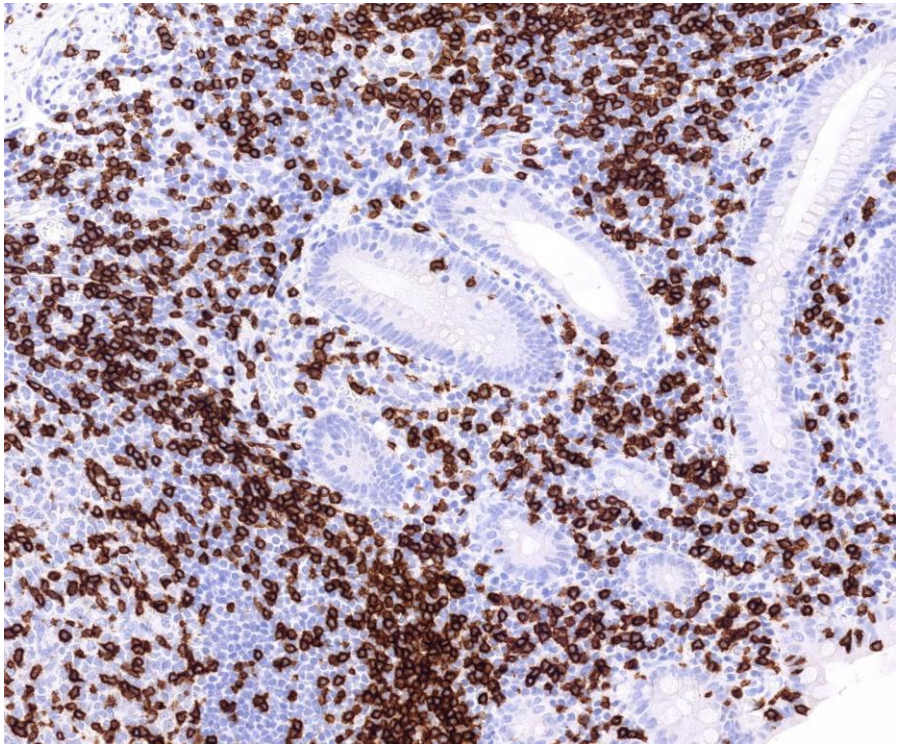
Goed



Thermo **SP7 1/300** 32’ **HIER?** 50’ Ventana stainer

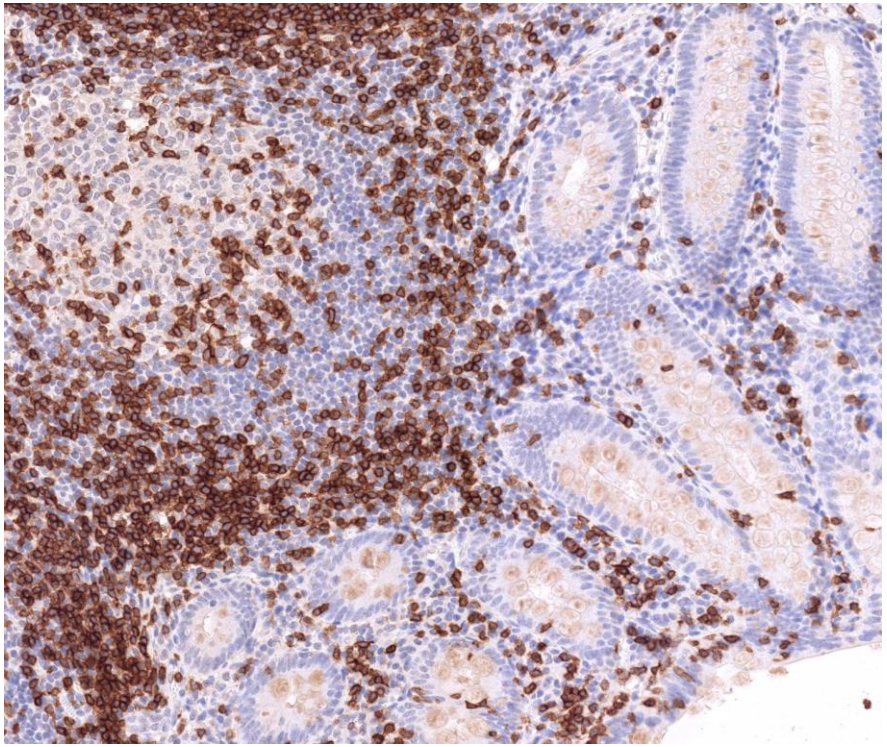
Antistof CD3: appendix

Optimaal



Leica **LN10 RTU** 15’ pH9 20’ Leica stainer

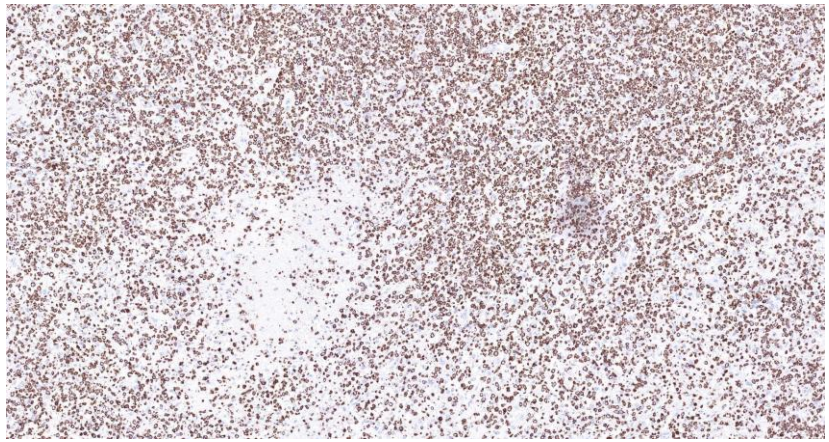
Goed



Leica **LN10 1/200** 15’ pH9 20’ Leica stainer

Antistof CD3: lymfoom

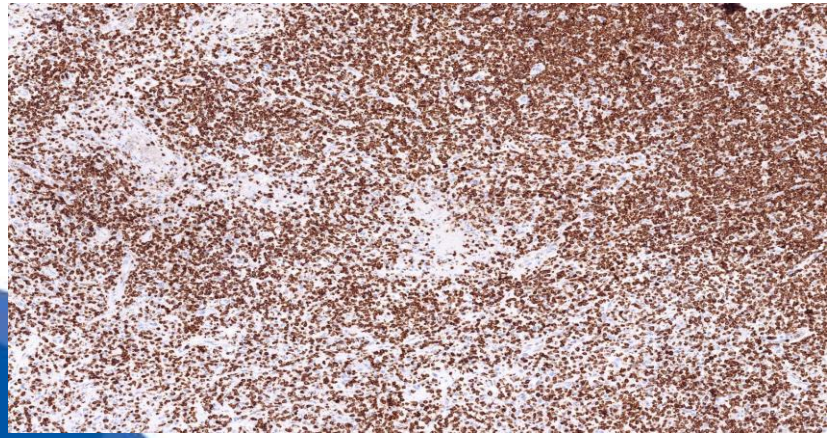
Optimaal



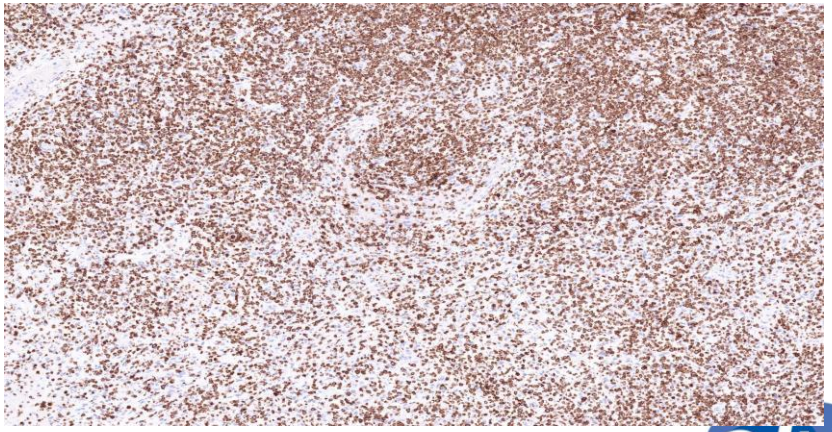
Thermo **SP7 RTU** 15’ pH9 50’ Dako stainer

Goed

Thermo **SP7 1/300** 32’ **HIER?** 50’ Ventana stainer



Leica **LN10 RTU** 15’ pH9 20’ Leica stainer



Leica **LN10 1/200** 15’ pH9 20’ Leica stainer

Resultaatbespreking CD3

Scoreformulier panel-beoordeling 17/03/2015

CD3 (appendix - tonsil- T-cell lymfoom)								
	Referentiecoupe			Eigen controlecoupe			Eindbeoordeling	Opmerkingen panel
	S	A	M	S	A	M	(optimaal / goed / borderline / onvoldoende)	
Labo 001	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 002	3	2	3	3	3	3	Optimaal	lichte achtergrond
Labo 003	3	3	3				Optimaal	
Labo 004	3	3	3				Optimaal	
Labo 005	3	3	3	3	3	2	Optimaal	eigen controle lichte achtergrond epitheel
Labo 006	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 007	3	2	3				Optimaal	lichte achtergrond
Labo 008	3	2	3				Optimaal	lichte achtergrond
Labo 009	3	2	3				Optimaal	lichte achtergrond
Labo 010	3	3	3				Goed	tonsil/appendix zwak ; tumor te zwak: moet sterker
Labo 011	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 012	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 013	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 014	3	2	3	3	3	3	Goed	appendix ++ achtergrond ; eigen controle OK
Labo 015	3	3	3	3	3	2	Goed	minder intens ; mag sterker
Labo 016	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 017	3	3	3				Optimaal	
Labo 018	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 019	3	3	3				Optimaal	
Labo 020	3	3	3	1	3	3	Optimaal	eigen controle NOK: toestel probleem?
Labo 021	3	3	3				Optimaal	
Labo 022								
Labo 023								
Labo 024	3	3	3	3	3	3	Optimaal	slechte ontwatering
Labo 025	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 026	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 027	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 028	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 029	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 030	3	3	3				Optimaal	
Labo 031	3	2	3	3	2	3	Optimaal	lichte achtergrond
Labo 032	3	3	3				Optimaal	
Labo 033	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 034	3	3	3	3	3	3	Optimaal	

olv Top in Zorg.

Resultaatbespreking CD3

- Algemeen

n=32				***NQC 2013***	
	n	*%*	*suff*	*%*	*suff*
optimaal	**29**	***91 %***	***100%***	***66 %***	***92 %***
goed	**3**	***9 %***		***26%***	
Borderline	0	-		*8 %*	
Onvoldoende	0	-		*0 %*	

Resultaatbespreking CD3

- Opgesplitst per clone

	DAKO **poly**	***% suff***	***VENTANA*** **2GV6**	***% suff***	***LEICA*** ***LN10***	***% suff***	***Thermo*** ***SP7***	***% suff***
	n=10		n=12		n=2		n=2	
optimaal	**10**	***100%***	**12**	***100%***	**1**	-	**1**	-
goed	**0**	***0%***	**0**	***0%***	**1**	-	**1**	-
borderline	0	*0%*	0	*0%*	0	-	**0**	-
onvoldoende	0	*0%*	0	*0%*	0	-	**0**	-
Totaal suff	***100%***		***100%***		**-**		**-**	
NQC 2013	*97%*		*100%*		*RTU 100%* *conc. 83%*		*Conc. 85%* *RTU geen data*	

- DAKO Omnis clone (n=1): optimaal resultaat. NQC geen data
- Cell Marque MRQ39 (n=1): optimaal resultaat. NQC geen data
- Leica clone PS1 conc. (n=1): optimaal resultaat. NQC geen data
- 3 deelnemers zonder antistof data (2 optimaal, 1 goed)

olv Top in Zorg.

Resultaatbespreking CD3

- Invloed AS
  - Alle gebruikte clones geven suff. resultaten
  - Alle clones: lichte achtergrond in epitheel appendix
  - RTU versus conc.:
    - Optimaal tot goed resultaat, onafhankelijk van stainer platform
    - Conc. 2/5 resultaat 'goed': te zwak / achtergrond
    - Leica PS1: 1/10 met lange inc. tijd AS ><NQC: 1/40-1/100
    - Leica LN10: 1/200 goed maar achtergrond ><NQC: 1/50-1/140
    - Conc. NQC 2013: 75-93% suff.

Top in Zorg.

Resultaatbespreking CD3

- Invloed incubatietijd
  - DAKO poly:
    - Incubatietijd 10’-20’: geen significante invloed voor optimaal resultaat
  - Ventana clone 2GV6:
    - Incubatietijd 16’-32’: geen significante invloed voor optimaal resultaat

- Invloed voorbehandeling HIER
  - Soort en duurtijd HIER : geen invloed op resultaat
  - pH6 (n=1): Omnis
  - 1 deelnemer: te zwakke aankleuring hoge expressors en tumor: HIER gebruikt of verdunning te groot?

Top in Zorg.

Resultaatbespreking CD3

Besluit:

- Suff. 100 %
- Sterke expressor: OK
- Zwakke expressor:
  - te zwakke aankleuring van sterke expressor = mogelijk probleem bij laag CD3- expresserende T-cel lymfomen
- Achtergrond:
  - ~19% deelnemers
  - Alle clones, onafhankelijk van stainer platform → optimalisatie nodig
- Aanbevolen controle:
  - Tonsil: T-cellen in kiemcentra én interfolliculaire T-zones minstens matig tot sterk positief

Top in Zorg.

Protocol CD20

- n=33
- Clone L26:
  - DAKO: n=13 ; 12’ (Omnis) - 20’ (meest)
  - Ventana: n=13 ; 16’ (datasheet) - 40’ (28’ meest)
  - CellMarque: n=1 ; conc. 1/100 op Ventana stainer
  - bioSB: n=1 ; conc. 1/2000 op Ventana stainer
  - Leica (NCL): n=1 ; conc. 1/400 op Leica stainer
- Clone MJ1
  - Leica: n=1 op Leica stainer
- Onbekend: 3 deelnemers

olv Top in Zorg.

Protocol CD20

- Voorbehandeling:
  - HIER:
    - DAKO:
      - Hoge pH buffer: n=11 (~50')
      - Lage pH buffer: n=1 (Omnis 30')
    - VENTANA: hoge pH buffer
      - CC1 buffer: short (n=1)
      - CC1 buffer: ~30' (n=13)
      - CC1 buffer: standard (n=1)
      - Ventana datasheet: geen HIER!

Tabel 1. Aanbevolen kleuringsprotocollen voor CONFIRM anti-CD20 (L26)

Soort Procedure	Platform of Methode	
	NexES IHC	BenchMark Series
Deparaffinering	Off Line	Selecteren
Cell Conditioning (Antigeendemaskering)	Niet nodig	Niet nodig
Enzym (Protease)	Niet nodig	Niet nodig
Antilichaam (Primair)	Ongeveer 16 minuten, 37 °C	Ongeveer 16 minuten, 37 °C

olv Top in Zorg.

Scoringscriteria CD20

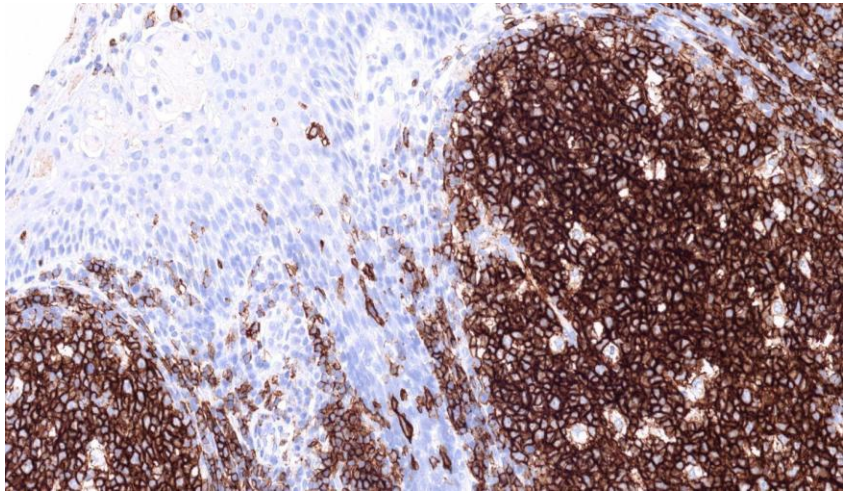
Membranaire aankleuring

- tonsil/appendix: B-cellen in kiemcentra, mantelzone en interfolliculair sterk positief
- grootcellig B-cel lymfoom: neoplastische cellen sterk positief
- CLL: neoplastische cellen minstens matig tot sterk positief
- plasmocytoom: negatief, enkel residuele normale B-cellen mogen aankleuren
- alle weefsels: geen aankleuring in alle andere celtypes

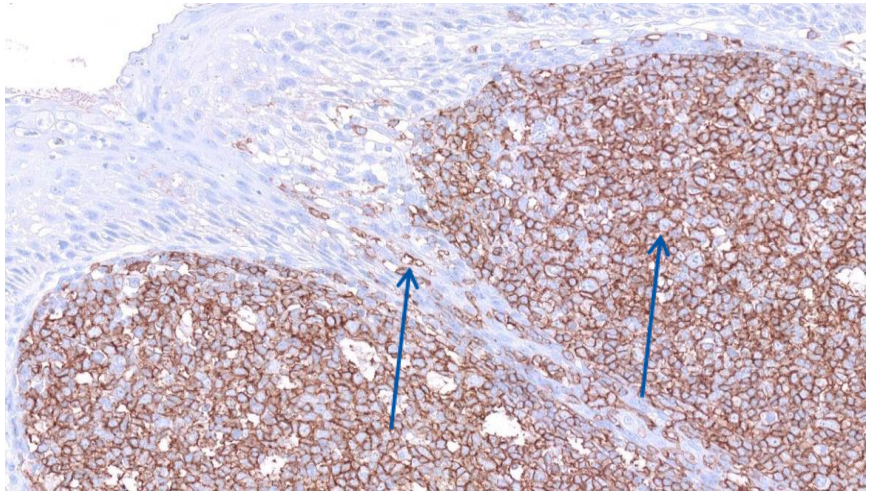
olv
Top in Zorg.

Antistof CD20: tonsil/appendix

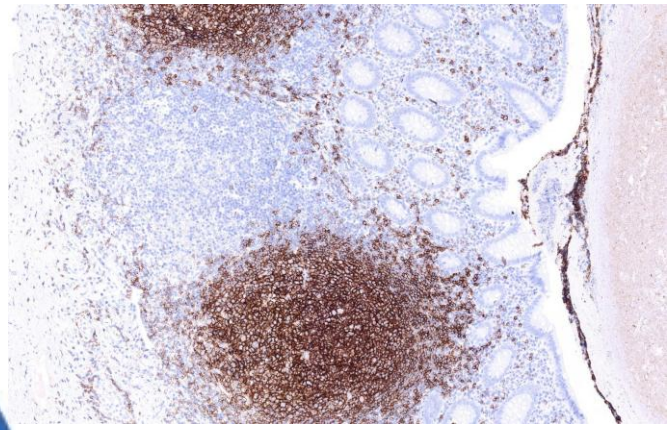
sterke expressor: B-cellen follikels / interfolliculair

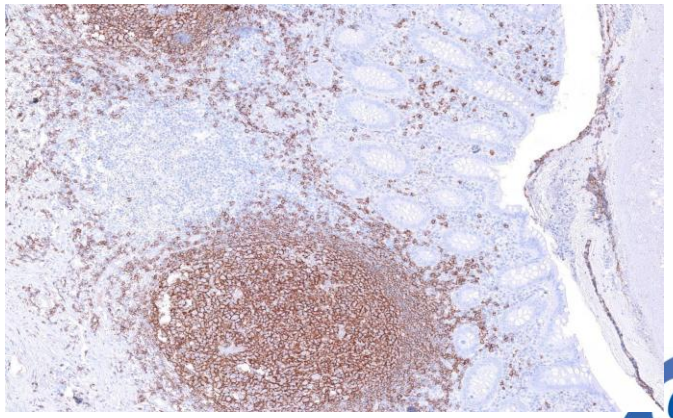


DAKO L26 **12' pH6 30'** DAKO Omnis



bioSB L26 **1/2000 32' geen HIER?** Ventana stainer

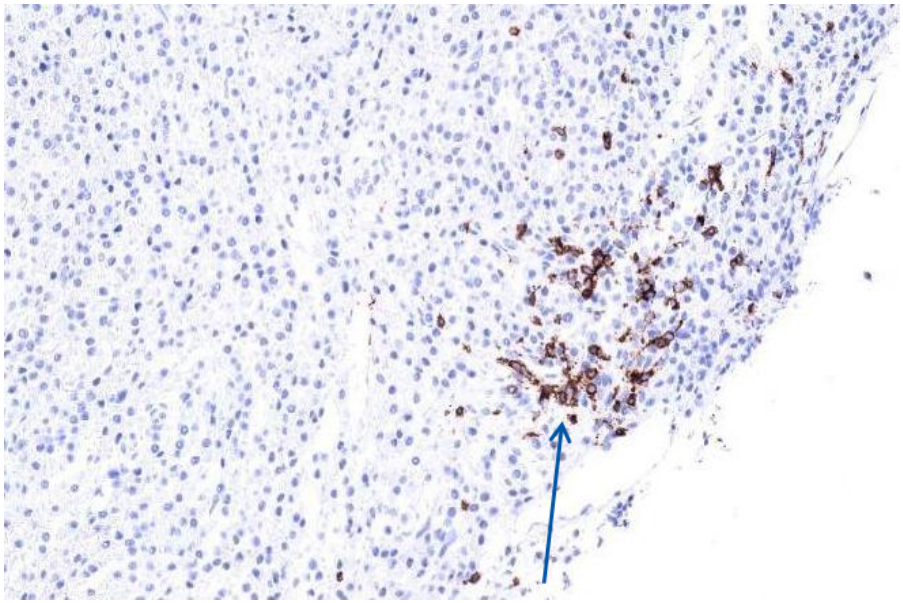




beiden OK??

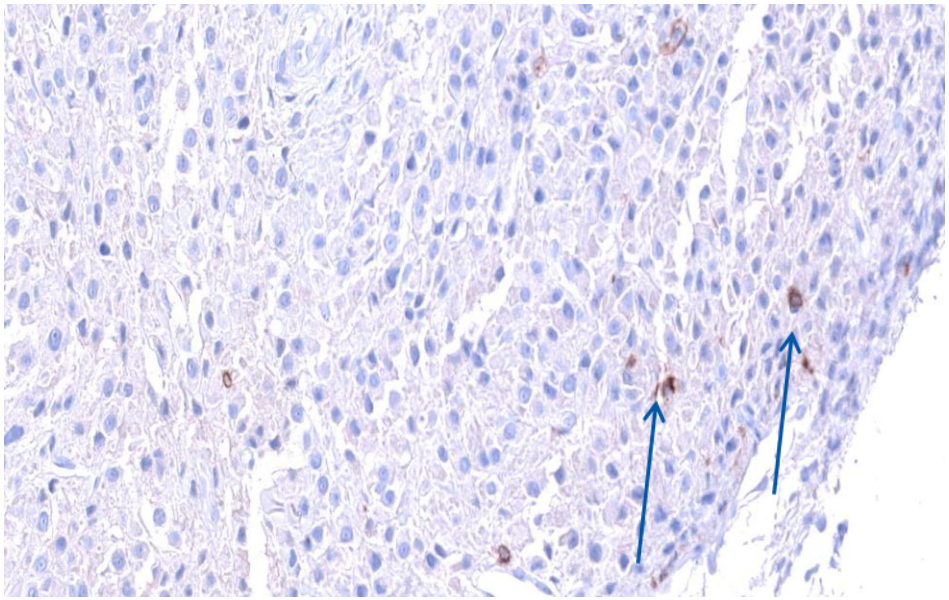
Antistof CD20: plasmocytoom

Optimaal



DAKO L26 **12' pH6 30'** DAKO Omnis

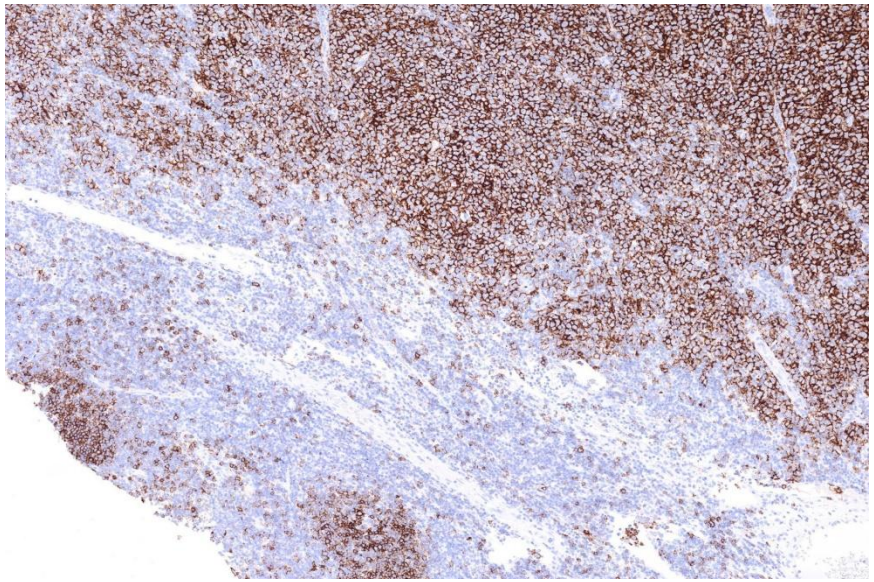
Borderline

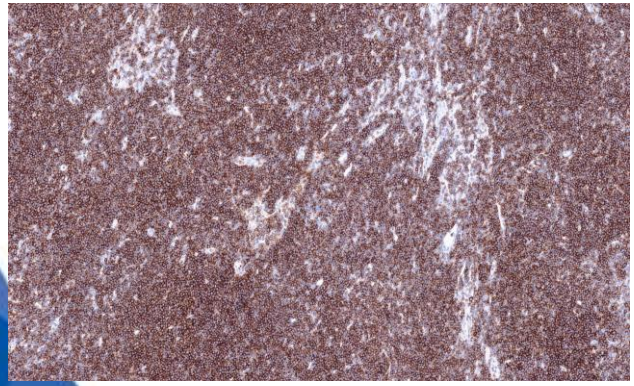


bioSB L26 **1/2000 32' geen HIER?** Ventana stainer

Antistof CD20: B-CLL / B-lymfoom

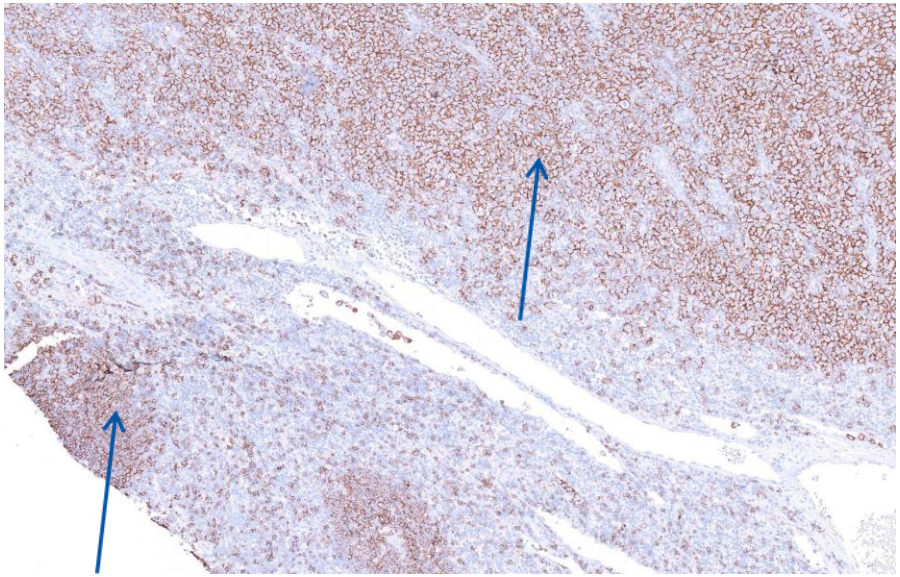
Optimaal

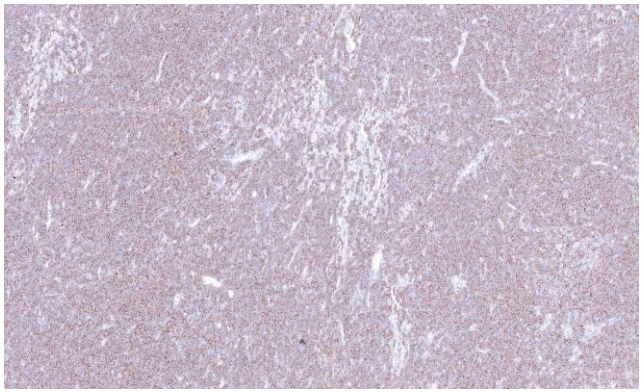




DAKO L26 **12' pH6 30'** DAKO Omnis

Borderline

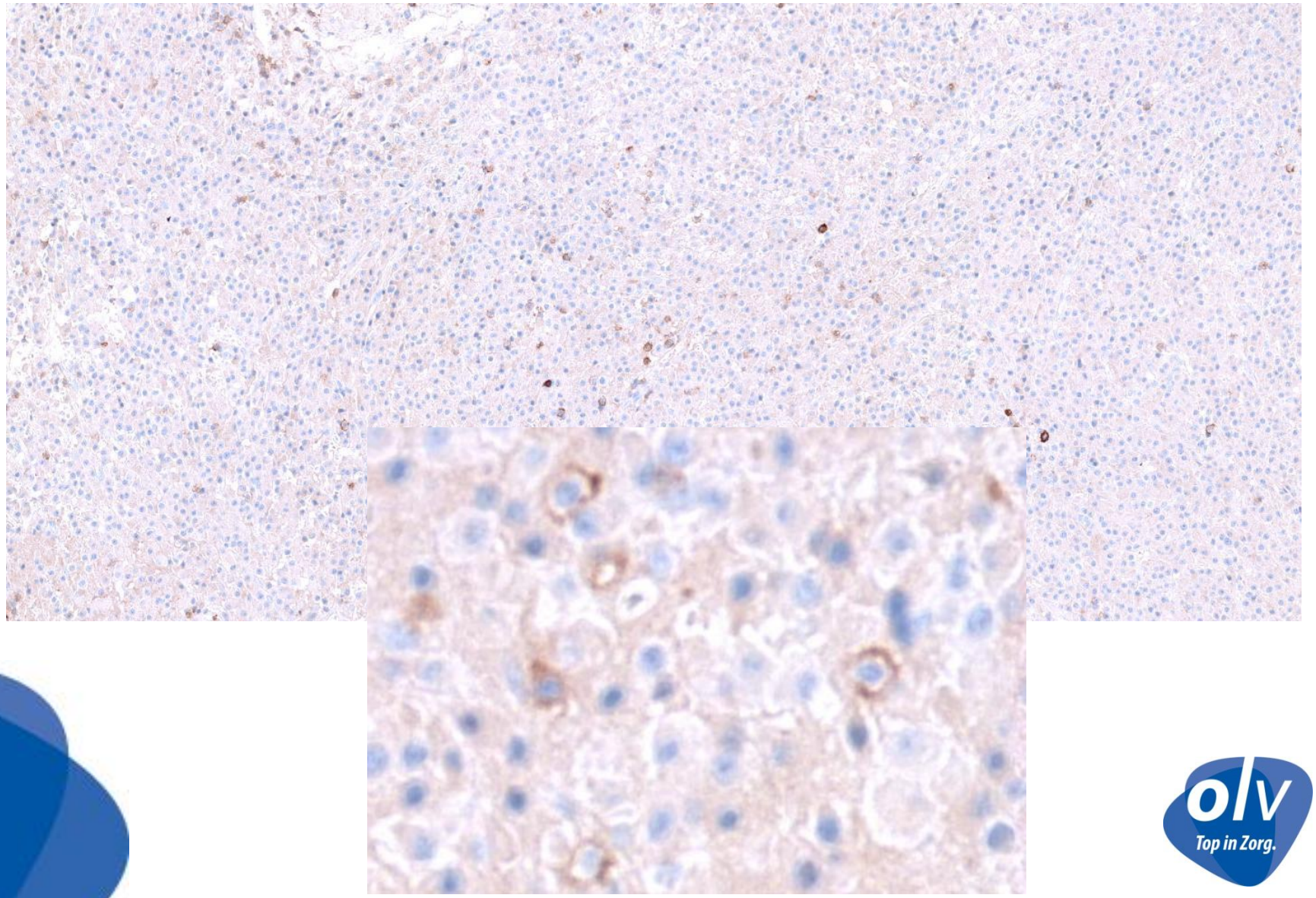




bioSB L26 **1/2000 32' geen HIER?** Ventana stainer

Quid laag CD20 expressie tumor??

Antistof CD20: plasmocytoom



Resultaatbespreking CD20

Scoreformulier panel-beoordeling 17/03/2015

CD20 (appendix - tonsil- grootcellig B cel lymfoom - CLL - plasmacytoom)								
	Referentiecoupe			Eigen controlecoupe			Eindbeoordeling	Opmerkingen panel
	S	A	M	S	A	M	(optimaal / goed / borderline / onvoldoende)	
Labo 001	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 002	3	3	3	3	3	3	Goed	plasmacytoom lichte achtergrond
Labo 003	3	3	3				Optimaal	
Labo 004	3	3	3				Optimaal	plasmocytoom: minder residuele B-cellen positief
Labo 005	3	3	3	3	3	3	Goed	minder intens, residuele B-cellen plasmacytoom OK
Labo 006	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 007	2	3	3				Goed	achtergrond
Labo 008	2	3	3				Borderline	plasmacytoom : residuele B-cellen bijna vals negatief /zwak --> moet sterker
Labo 009	3	3	3				Goed	achtergrond
Labo 010	2	3	3				Borderline	plasmacytoom: residuele B-cellen vals negatief ; achtergrond
Labo 011	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 012	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 013	2	3	3				Goed	
Labo 014	2	3	3	2	3	3	Goed	
Labo 015	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 016	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 017	3	3	3				Optimaal	
Labo 018	2	3	3	3	3	3	Goed	
Labo 019	2	3	3				Goed	
Labo 020	2	3	3				Goed	
Labo 021	3	3	3				Optimaal	
Labo 023	3	3	3	3	3	3	Optimaal	tech. Probleem? Coupe aan rand
Labo 024	3	3	3	3	3	3	Optimaal	slechte ontwatering
Labo 025	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 026	2	3	3	3	3	3	Goed	slechte ontwatering
Labo 027	3	3	3				Optimaal	
Labo 028	2	3	3	3	3	3	Goed	achtergrond
Labo 029	2	3	3	3	3	3	Goed	achtergrond
Labo 030	3	3	3				Optimaal	
Labo 031	2	3	3	3	3	3	Goed	achtergrond
Labo 032	2	3	3				Goed	achtergrond
Labo 033	3	3	3	3	3	3	Goed	lichte achtergrond
Labo 034	3	3	3				Optimaal	

Top in Zorg.

Resultaatbespreking CD20

- Algemeen

n=33				***NQC 2012***	
	n	*%*	*suff*	*%*	*suff*
optimaal	**16**	***48,5%***	***94%***	***77%***	***95%***
goed	**15**	***45,5%***		***18%***	
Borderline	2	*6%*		***4%***	
Onvoldoende	0	-		***<1%***	

Resultaatbespreking CD20

- Opgesplitst per clone/producent of format

	DAKO L26	*% suff*	*VENTANA* L26	% suff	*C. Marque L26*	*% suff*	*Leica MJ1*	*% suff*	*bioSB L26*	% suff
	n=13		n=13		n=1		n=1			
optimaal	**12**	***92%***	**1**	***8%***	**0**	**-**	**0**		**0**	-
goed	**1**	***8%***	**12**	***92%***	**1**	**-**	**0**		**0**	-
borderline	**0**	**-**	0	-	**0**	**-**	**1**		**1**	-
onvoldoende	**0**	**-**	0	-	**0**	**-**	**0**		**0**	-
Totaal suff	***100%***		***100%***		**-**		**-**		**-**	
NQC 2012	*100%**		*95%*		*0%*					

* Conc. format 94% suff.

Resultaatbespreking CD20

- AS format:
  - RTU (Ventana: n=13):
    - Slechts 1 optimaal resultaat
    - Intensiteit OK maar lichte achtergrond in tonsil=extra aankleuring in plasmocytoom→goed
  - RTU (DAKO: n=13):
    - Meestal optimaal resultaat
    - Omnis (n=2): AS 12’ lage pH 30’ / AS 20’ hoge pH 60’: OK
  - RTU (Leica: n=1):
    - Borderline: normale B-cellen bijna vals negatief: te zwak
    - NQC (n=2): beiden goed
  - Conc.:
    - bioSB clone L26 → 1:2000 geen HIER? borderline (normale B-cellen vals negatief): optimalisatie HIER en/of verdunning
    - Leica L26 →1:400 pH6: goed
    - C. Marque L26 → 1:100 mild CC1: goed (“extra aankleuring”)

NordiQC: HIER is mandatory to obtain an optimal result ; low pH conc. AB=increase antibody concentration

Resultaatbespreking CD20

- Invloed voorbehandeling:
  - 2 deelnemers met pH6 HIER:
    - Omnis: optimaal: HIER 30’ met korte AS incubatie en linker
    - Leica Bond III: goed: HIER 30’ met korte AS incubatie (1:400)
  - Ventana L26: korte of lange HIER: steeds “extra aankleuring”
  - NordiQC: ook optimaal resultaat met pH6 → AS concentratie moet dan wel hoger

Resultaatbespreking CD20

Besluit:

- Suff. 94 % (~NQC)
- L26 is goede clone
  - Ventana: OK, maar extra aankleuring in plasmacytoom
  - DAKO en Leica: OK
- Clone MJ1:
  - RTU in combinatie met pH6 niet goed? <> NQC: OK
- HIER:
  - Noodzakelijk voor optimaal resultaat: probleem zwak expresserende CD20 tumoren
  - Beide pH types OK
  - NQC: pH6= AS concentratie verhogen
- Aanbevolen controle: tonsil/appendix
  - Mantelzone en kiemcentrum B-cellen: zo sterk mogelijk zonder aspecifieke aankleuring

olv Top in Zorg.

Protocol CD45

- n=32
- Clone 2B11&PD7/26:
  - DAKO: n=16
    - RTU: 10’ (Omnis) - 20’ (meest)
    - conc.:
      - Ventana stainer: 1/1000 32’ ; 1/500 16’ en 1/250 24’
      - Leica stainer: 1/500 15’
  - Ventana: n=5; 16’ (datasheet) - 24’ -28’
- Clone RP2/18
  - Leica RTU: 15’ AS inc. tijd
  - Ventana RTU:
    - n=6 op Ventana stainer
    - Grote range AS inc. tijd: 12’-60’
- UCHL-1: niet geschikt → T-cel
- Onbekend: 3 deelnemers

Top in Zorg.

Protocol CD45

- Voorbehandeling:
  - Geen HIER: n=1
  - HIER:
    - Leica stainer:
      - Lage pH ; n=1 (30’)
      - Hoge pH ; n=1 (20’)
    - DAKO stainer:
      - hoge pH buffer: n=11 (30’ Omnis – Autostainer 45’-60’)
      - onbekend: n=1 (50’)
    - VENTANA stainer: hoge pH buffer
      - CC1 buffer: short (n=1)
      - CC1 buffer: ~mild (n=10) → datasheet
      - CC1 buffer 40’ (n=1): OV kit
      - CC1 buffer: standaard (n=2)

Top in Zorg.

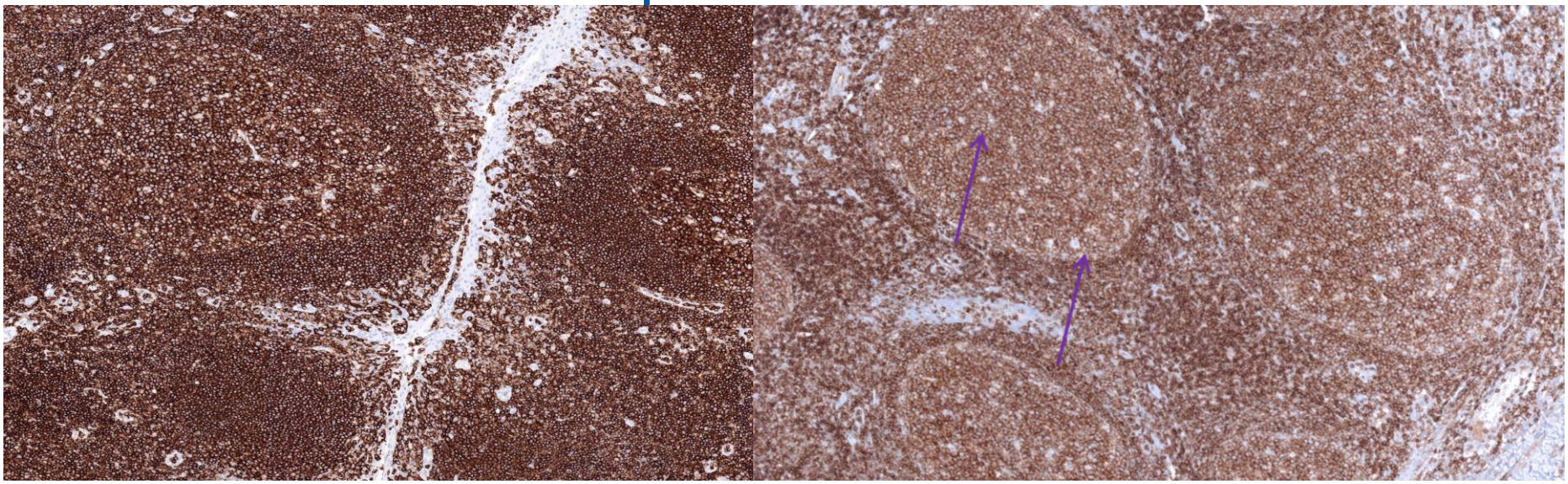
Antistof CD45

- Scoringscriteria: membranaire, cytoplasmatische aankleuring
  - Alle weefsels: alle lymfocyten matig tot sterk positief
  - Tonsil:
    - B- en T-cellen minstens matig tot sterk membranair positief
    - squameus epitheel negatief
  - Lever:
    - Kupffercellen: cytoplasma zwak tot matig positief
    - lymfocyten sterk membranair positief
    - hepatocyten negatief (cave lipofuchsine)
  - Hersenen normaal: microglia minstens zwak tot matig positief
  - B-CLL: neoplastische cellen zwak tot matig positief
  - grootcellig B-cel lymfoom: neoplastische cellen sterk positief

olv Top in Zorg.

Antistof CD45: tonsil

Optimaal?



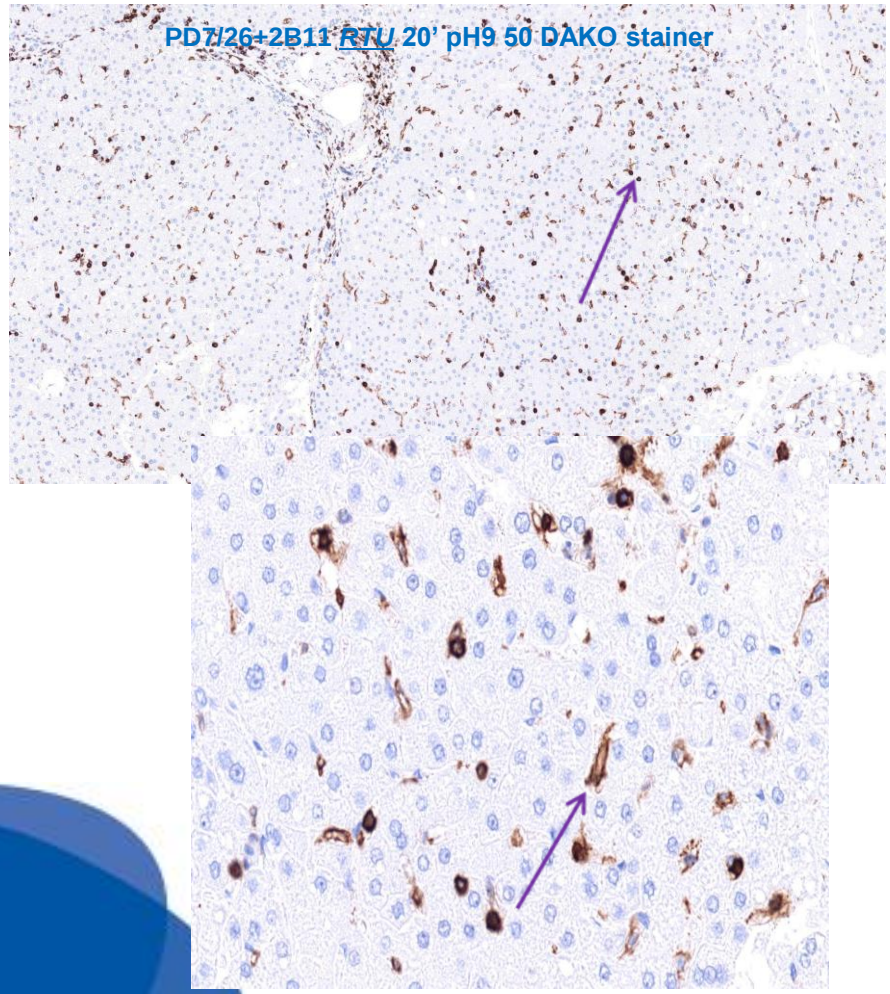
PD7/26+2B11 *RTU* 20' pH9 50 DAKO stainer

PD7/26+2B11 *1:500* 16' *CC1 60'* Ventana stainer

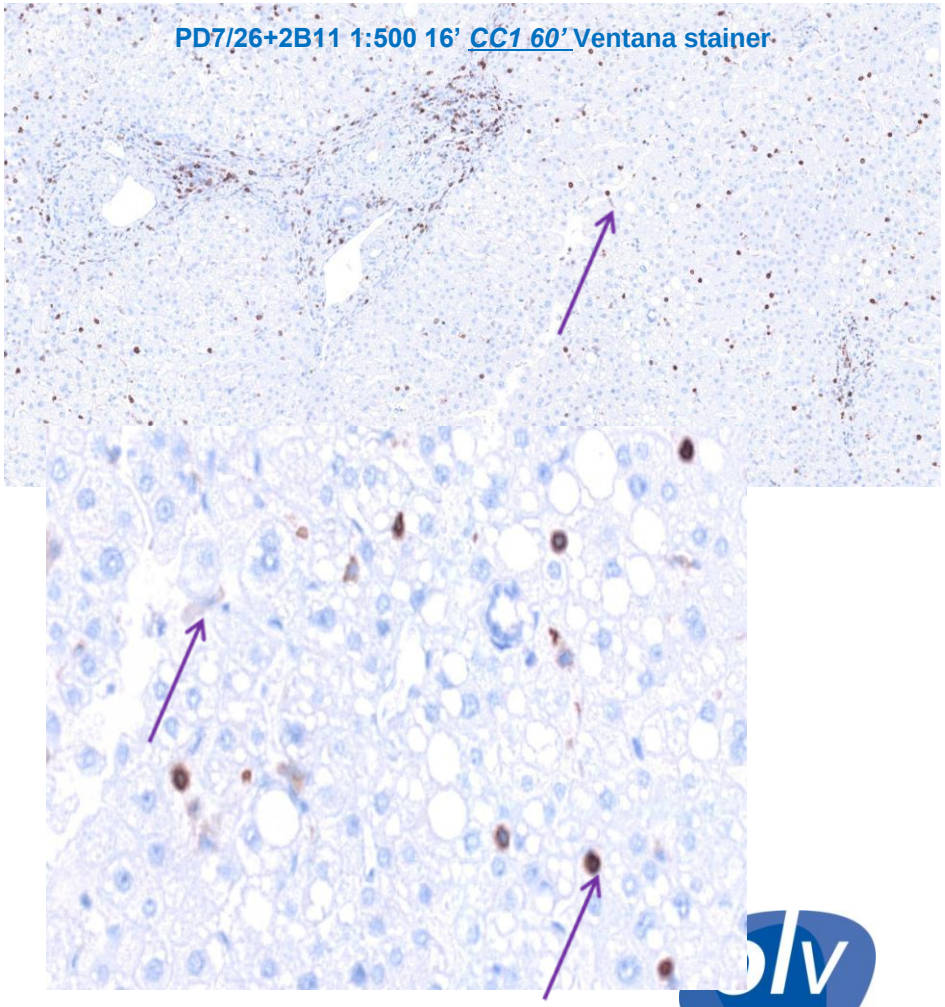
Sterke expressor: B- en T-cellen

Antistof CD45: lever

Optimaal



Onvoldoende

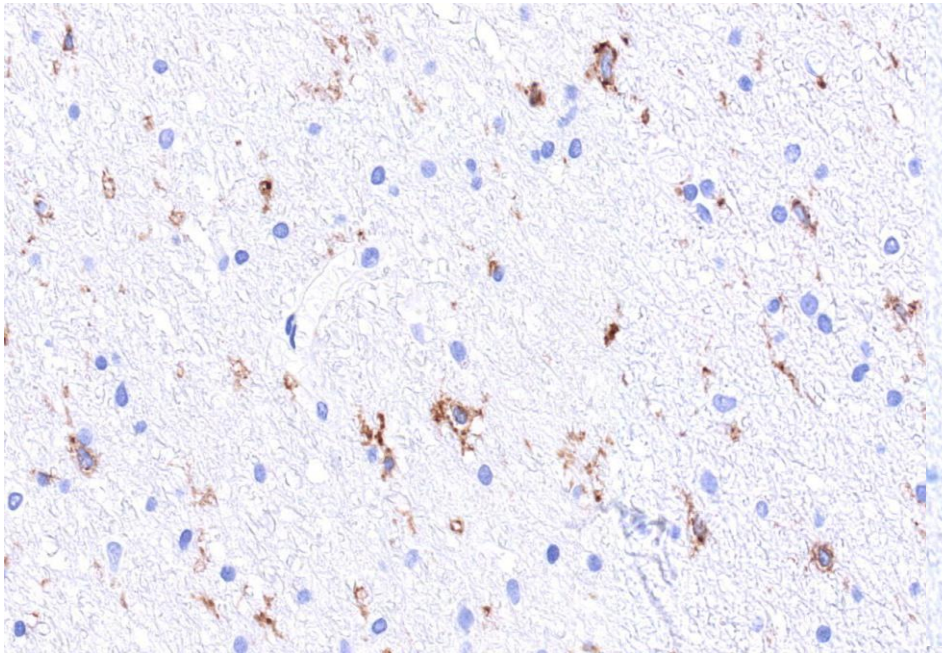


Sterke expressor: lymfocyten +++

Lage expressor: kupffercellen +/++ ; hepatocyten -

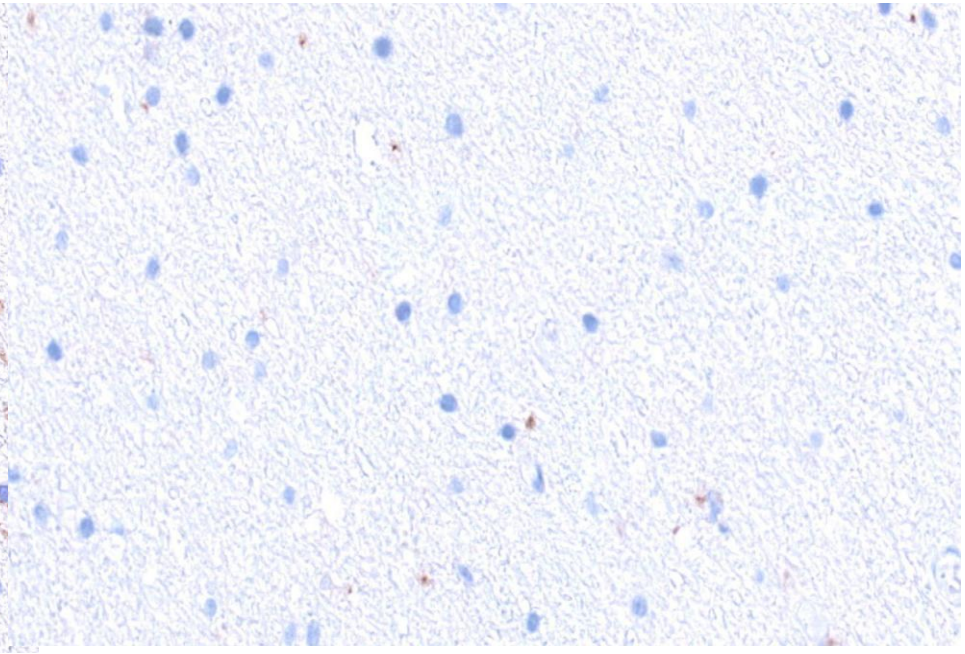
Antistof CD45: hersenen

Optimaal



PD7/26+2B11 *RTU* 20’ pH9 50 DAKO stainer

Onvoldoende

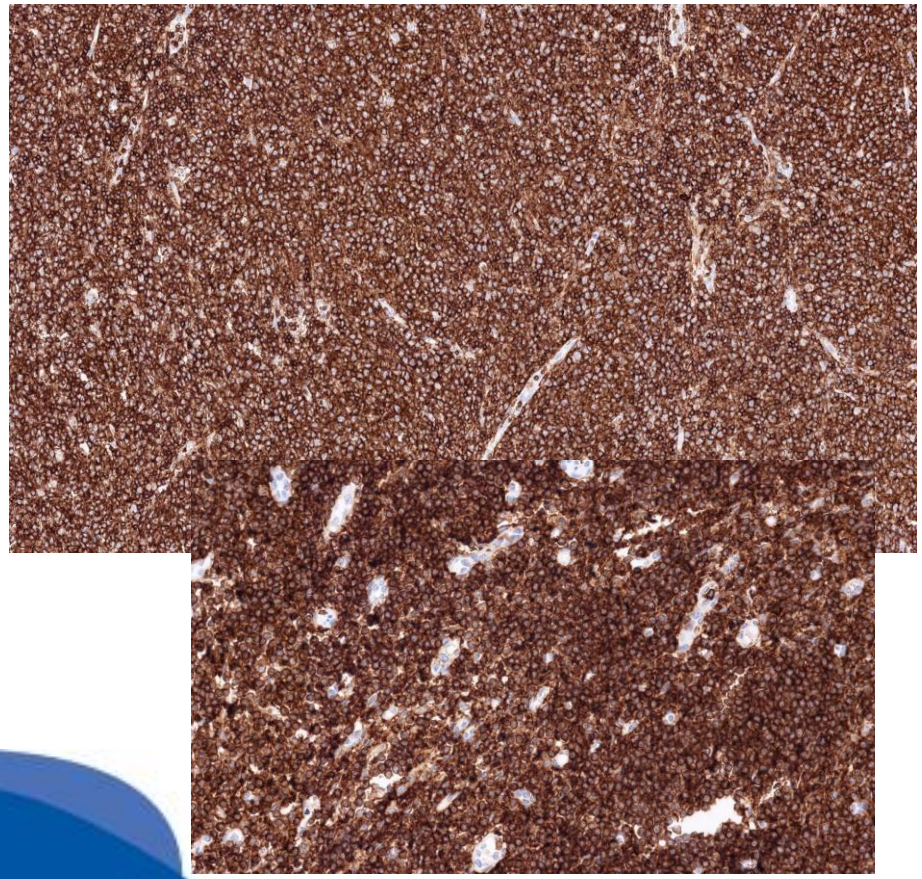


PD7/26+2B11 1:500 16’ *CC1 60’* Ventana stainer

Lage expressor: microglia

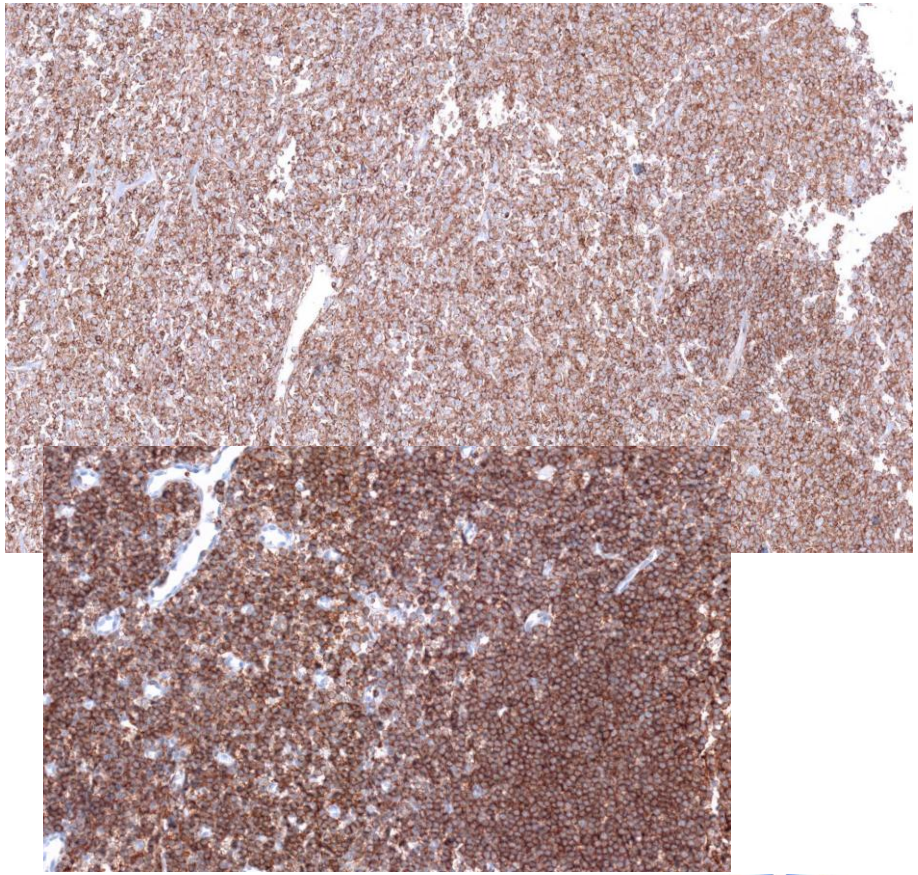
Antistof CD45: B-lymfoom/B-CLL

Optimaal



PD7/26+2B11 *RTU* 20' pH9 50 DAKO stainer

Onvoldoende



PD7/26+2B11 1:500 16' *CC1 60'* Ventana stainer

Quid laag CD45-expresserend lymfoom?

Resultaatbespreking CD45

Scoreformulier panel-beoordeling 17/03/2015

CD45 (tonsil- lever - hersenen - grootcellig B cel lymfoom - B-CLL)								
	Referentiecoupe			Eigen controlecoupe			Eindbeoordeling	Opmerkingen panel
	S	A	M	S	A	M	(optimaal / goed / borderline / onvoldoende)	
Labo 001	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 002	3	3	3	3	3	3	Goed	lever: Kupffercellen zwak, enkel lymfocyten sterk positief ; hersenen: microglia te zwak-> sterker
Labo 003	3	3	3				Optimaal	
Labo 004	3	3	3				Optimaal	
Labo 005	2	3	3	3	3	3	Borderline	hersenen: microglia veel te zwak, moet sterker
Labo 006	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 007	3	3	3				Optimaal	hersen: microglia zwak, mag sterker
Labo 008	3	3	3				Optimaal	hersenen: sterke aankleuring microgliacellen: OK ; astrocyten matig pos OK
Labo 009	2	3	3				Borderline	lever: geen Kupffercellen, enkel lymfocyten sterk positief ; hersenen: microglia te zwak->sterker
Labo 010	2	3	3				Onvoldoende	tonsil zwak ; lever:enkel lymfocyten positief ;hersenen: microglia veel te zwak
Labo 011	2	3	3	3	3	3	Goed	lever: Kupffercellen zwak, enkel lymfocyten sterk positief ; hersenen: microglia te zwak->sterker
Labo 012	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 013	3	3	3				Optimaal	
Labo 014	3	2	3	3	3	3	Goed	hersenen: lichte achtergrond
Labo 015	3	3	3	3	3	2	Optimaal	lever OK, doch minder intens
Labo 016	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 017	3	3	3				Optimaal	
Labo 018	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 019	3	3	3				Optimaal	
Labo 021	3	3	3				Optimaal	
Labo 023	3	3	3	3	3	3	Optimaal	tech probleem:positie weefsel ; te sterk
Labo 024	2	3	3	3	3	2	Borderline	lever: kupffercellen te zwak, enkel lymfocyten sterk positief ; hersenen: microglia vals negatief
Labo 025	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 026	3	3	3				Goed	Lever kupffercellen zwakker; hersenen microglia zwakker-> mag sterker ; ontwatering?
Labo 027	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 028	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 029	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 030	1	3	3	1	3	3	Onvoldoende	lever: kupffercellen vals negatief ; hersenen: microgliacellen vals negatief ; id. ctrl
Labo 031	1	3	2	1	3	2	Onvoldoende	lever hepatocyten vals positief; tonsil epitheel vals pos. ; hersenen overkleurd
Labo 032	3	3	3				Optimaal	
Labo 033	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 034	3	3	3	3	3	3	Optimaal	

olv Top in Zorg.

Resultaatbespreking CD45

- Algemeen

				NQC 2013	
	n	%	suff	%	suff
optimaal	**22**	***69 %***	***85%***	***56%***	***82 %***
goed	**5**	***16%***		***26%***	
Borderline	2	*6%*		*15%*	
Onvoldoende	3	*9%*		*3%*	

Resultaatbespreking CD45

- Opgesplitst per clone

	DAKO *2B11&PD 7/26*	***% suff***	***Ventana*** *2B11&PD7 /26*	***% suff***	***Ventana RP2/18***	***% suff***	***Leica RP2/18-RP2/22***	***% suff***
	n=16		n=5		n=6		n=1	
optimaal	**12**	***75%***	**1**	***20%***	**6**	***100%***	**1**	**-**
goed	**1**	***6%***	**3**	***60%***	**0**	**-**	**0**	**-**
borderline	1	*6%*	1	*20%*	0	-	0	-
onvoldoende	2	*13%*	0	-	0	-	0	-
Totaal suff	***81%****		***80%***		***100%***		**-**	**-**
NQC 2013	*100%**		*71%*		*67%*		*Geen data*	

*RTU: 85% optimaal ; 8% borderline ; 8% onvoldoende
*Conc.: 50% suff ; 50% onvoldoende >< NQC: 82% suff.

olv Top in Zorg.

Resultaatbespreking CD45

Besluit:

- Suff. 85 %
- Sterke expressor (tonsil B- en T-cellen): OK 31/32 deelnemers
- Sensitiviteit te laag
  - zwakke expressor: lever kupffercellen en hersenen microglia → enkel bij optimaal protocol
  - 25% deelnemers: lever/hersenen onvoldoende sensitiviteit
- Geen HIER: vals negatieve zwakke expressors (cf NQC)
- Leica clone RP2/18-RP2/22: sterke aankleuring microgliacellen, astrocyten matig positief
- Conc. AS versus RTU:
  - RTU duidelijk beter
  - Optimale verdunning is belangrijk → niet op tonsil ; cf lage expressors
- Aanbevolen controle:
  - Tonsil: B- en T-cellen sterk positief zonder aankleuring squameus epitheel
  - Lever: voor sensititief protocol → kupffer cellen

olv Top in Zorg.

Protocol Chromogranine

- n=31
- Gebruikte clones:
  - DAKO DAK-A3:
    - Conc. (n=1) 1:200 ; incubatietijd 30′ DAKO stainer
  - LK2H10
    - VENTANA RTU(n=16): 8′ (OV) ; 16′ (datasheet) - 32′ (+amp.)
    - Thermo conc. (n=1):1/1600 AS 20′ DAKO stainer
    - Biogenex conc. (n=1):1/100 AS 12′ Ventana stainer
    - Novocastra conc. (n=1):1/200 AS 20′ DAKO stainer
    - Neomarkers conc. (n=1):1/1000 AS 12′ Ventana stainer
    - Cell Marque conc. (n=1):1/200 AS 15′ Leica stainer
    - bioSB conc. (n=1):1/10000 AS 20′ Ventana stainer
  - Thermo SP12
  - Leica 5H7

olv Top in Zorg.

Protocol Chromogranine

- n=31
- Gebruikte clones:
  - DAKO DAK-A3:
  - LK2H10
  - Thermo SP12
    - n=1
    - RTU AS 20’ op DAKO stainer
  - Leica 5H7
    - n=1
    - RTU AS 15’ op Leica stainer
  - 3 DAKO AS zonder specificatie clone
  - 3 deelnemers geen data

Top in Zorg.

Protocol Chromogranine

- Voorbehandeling:
  - Geen data: n=3
  - HIER:
    - DAKO:
      - Hoge pH buffer: n=6 (45'-60')
      - Lage pH buffer (Omnis): n=1 (30')
      - Onbekend: n=2
    - Leica:
      - Lage pH buffer: n=1 (30')
      - Hoge pH buffer: n=1 (10')
    - VENTANA:
      - Geen HIER: n=3 → standaard protocol
      - CC1 buffer: short (n=1): 8'
      - CC1 buffer: mild (n=13): ~20'-30'

olv Top in Zorg.

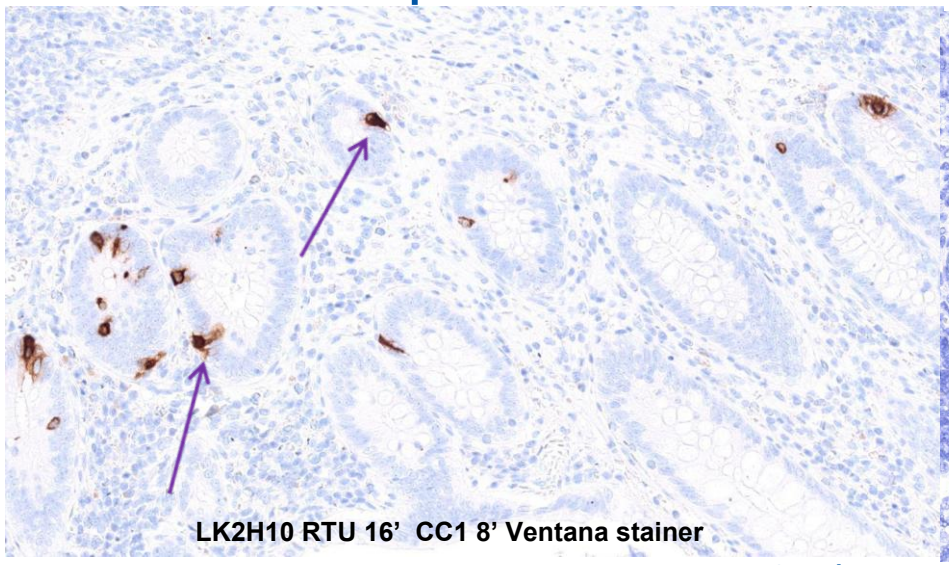
Resultaatbespreking Chromogranine

- Scoringscriteria: cytoplasmatisch
  - Appendix:
    - neuro-endocriene cellen in mucosa: matig tot sterk positief
    - ganglioncellen en axonen van perifere zenuwen (granulair): minstens zwak tot matig positief
    - gladde spier en epitheel negatief
  - Hersenen: corticale neuronen matig tot sterk positief
  - Medullair schildklier Ca / pancreas neuro-endocrien Ca/ Merkelcel Ca: neoplastische cellen minstens matig positief

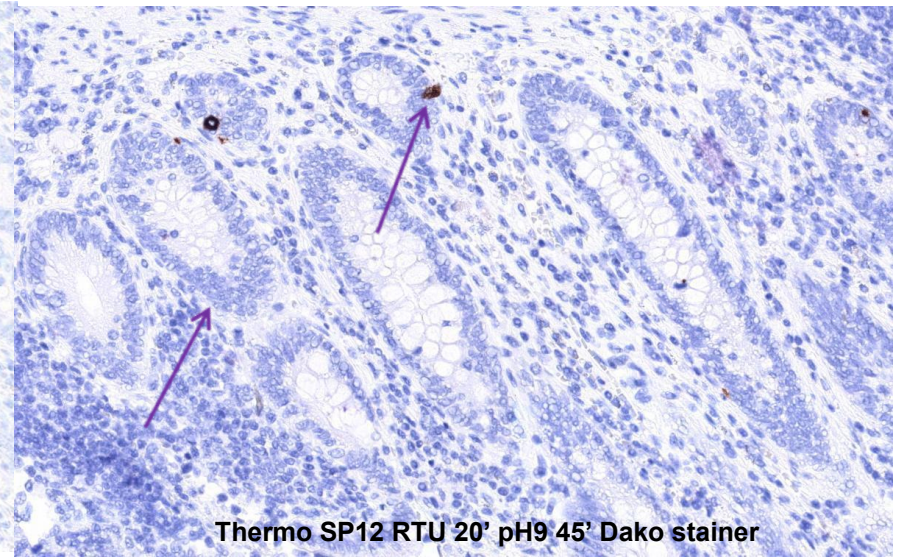
Top in Zorg.

Antistof CHROMO: appendix

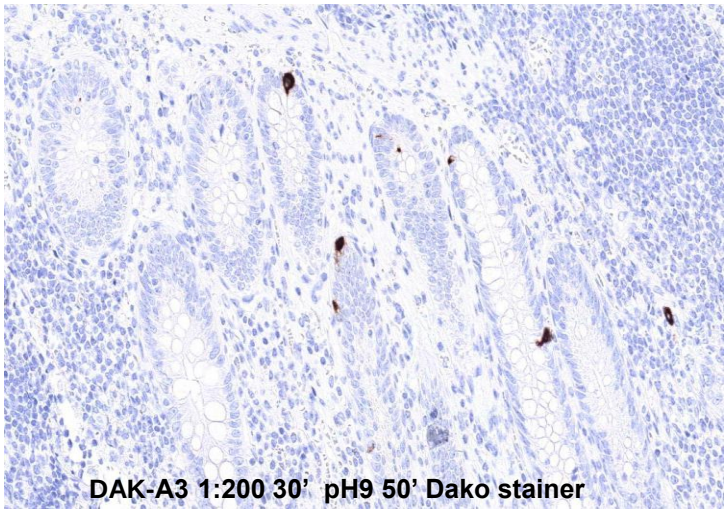
Optimaal



Onvoldoende

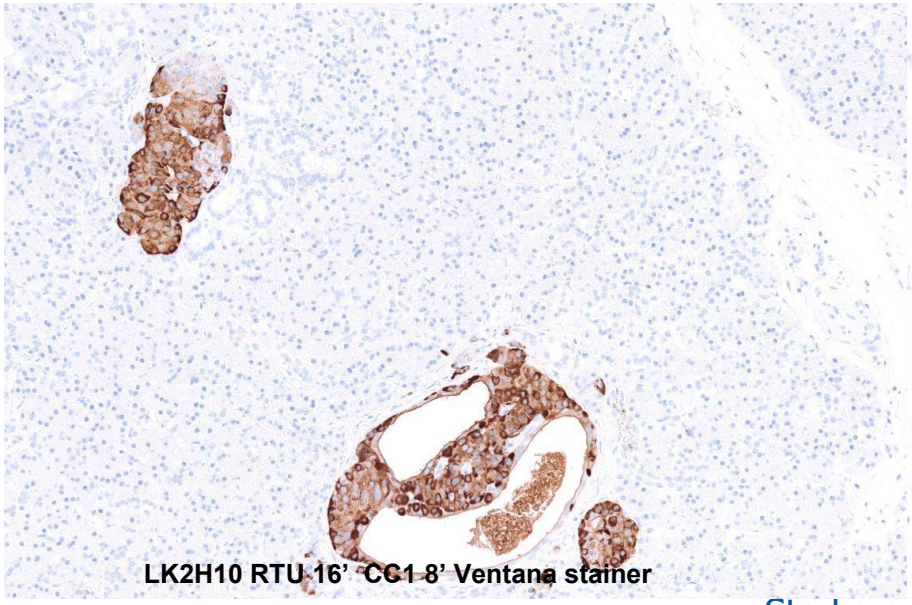


Sterke expressor



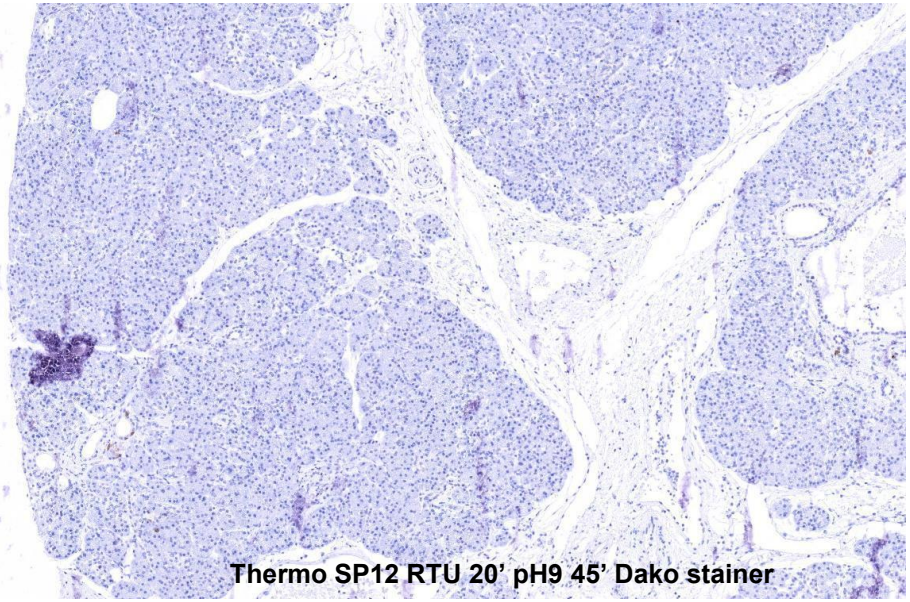
Antistof CHROMO: pancreas

Optimaal



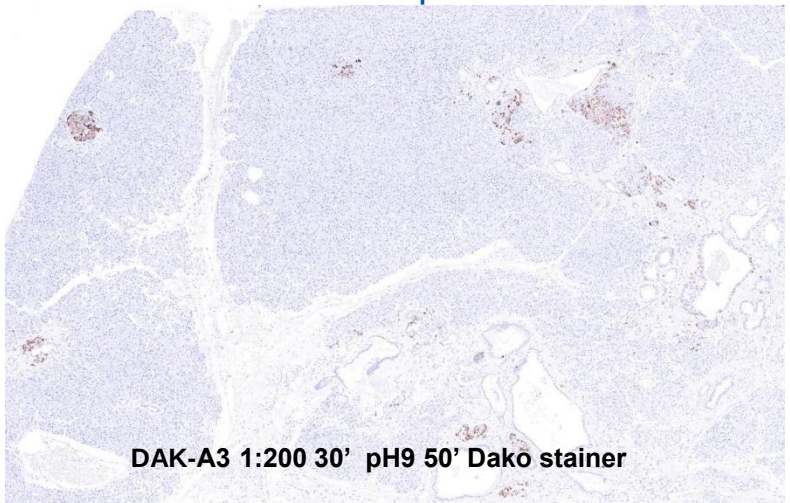
LK2H10 RTU 16’ CC1 8’ Ventana stainer

Onvoldoende



Thermo SP12 RTU 20’ pH9 45’ Dako stainer

Sterke expressor



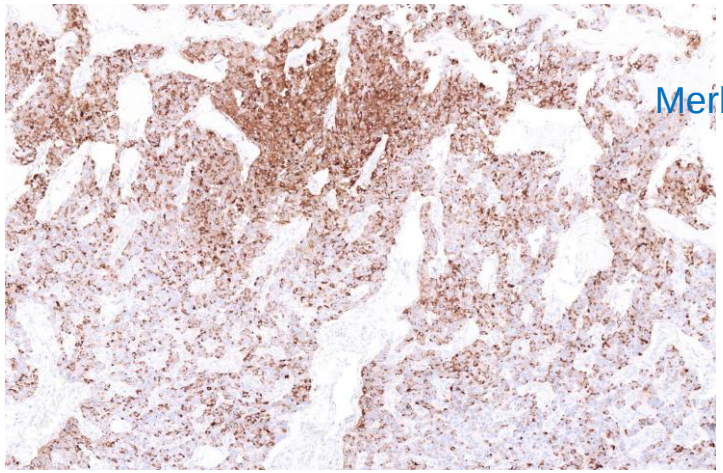
DAK-A3 1:200 30’ pH9 50’ Dako stainer

Antistof CHROMO: tumor

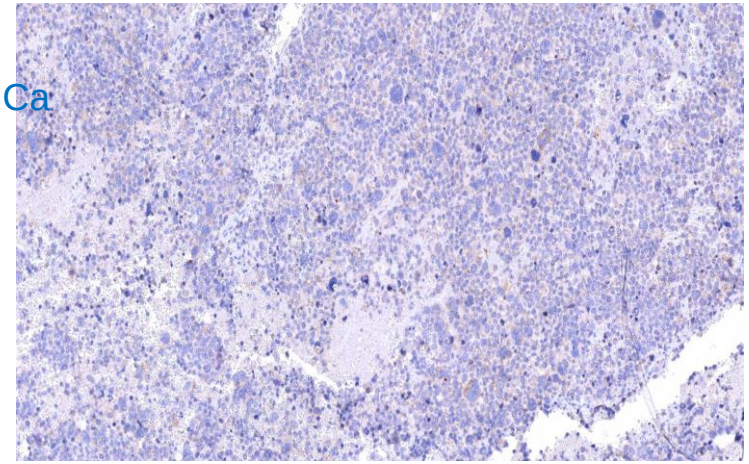
Optimaal

Onvoldoende

Merkelcel Ca

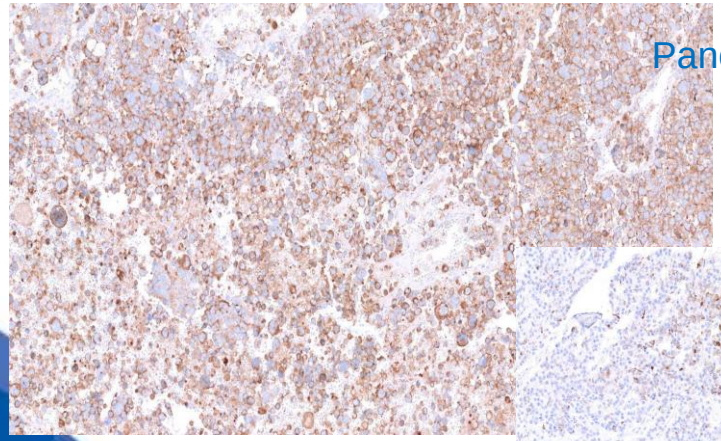


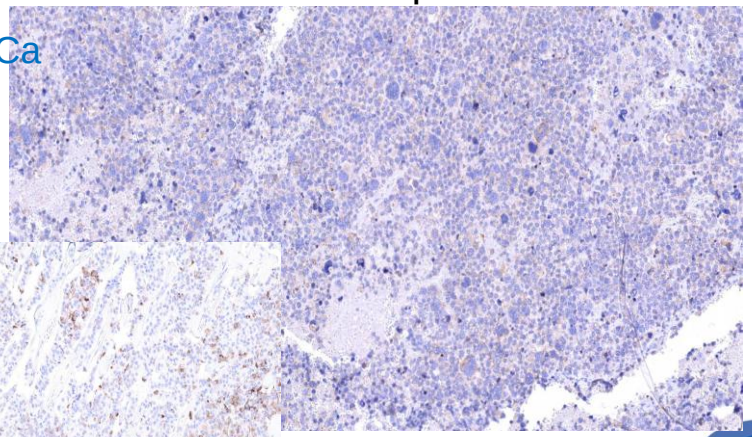
LK2H10 RTU 16’ CC1 8’ Ventana stainer

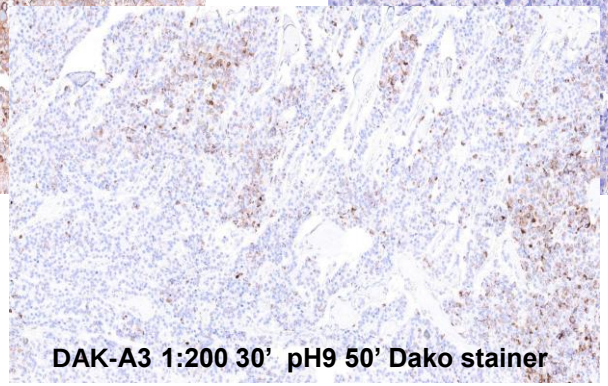


Thermo SP12 RTU 20’ pH9 45’ Dako stainer

Pancreas Ca



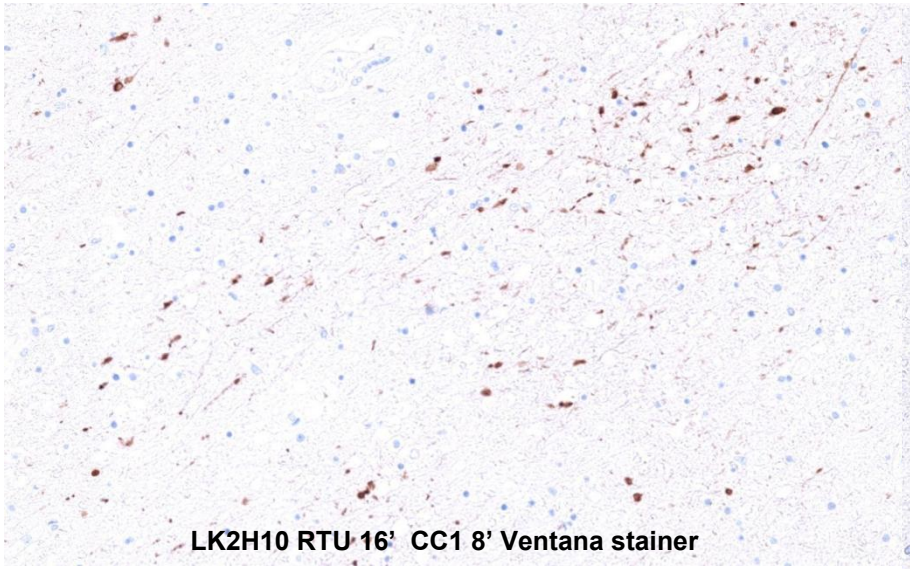




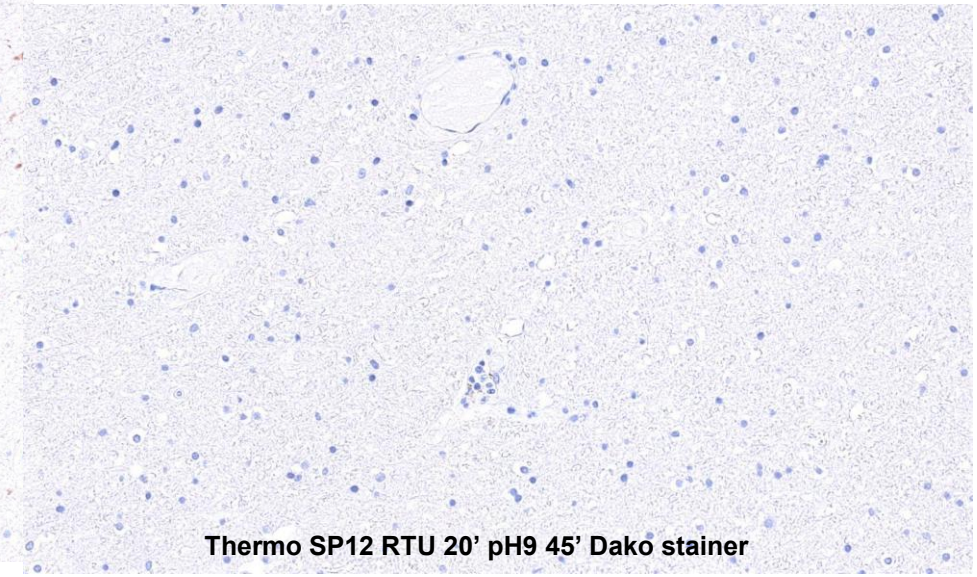
DAK-A3 1:200 30’ pH9 50’ Dako stainer

Antistof CHROMO: hersenen

Optimaal



Onvoldoende



sensitief protocol: corticale neuronen

Resultaatbespreking Chromogranine

Scoreformulier panel-beoordeling 17/03/2015

CHROMO (appendix - pancreas - hersenen - medullair schildklier Ca - NET pancreas - Merkelcel Ca)								
	Referentiecoupe			Eigen controlecoupe			Eindbeoordeling (optimaal / goed / borderline / onvoldoende)	Opmerkingen panel
	S	A	M	S	A	M		
Labo 001	2	3	3	2	3	3	Borderline	appendix: axonen te zwak ; hersenen: neuronen zwak ;tumor te zwak ; idem eigen ctrl
Labo 002	3	3	3	3	2	3	Optimaal	controle: achtergrond
Labo 003	3	2	3				Goed	appendix/pancreas OK ; hersenen en tumor: achtergrond
Labo 004	3	3	3				Optimaal	
Labo 005	2	2	3	2	2	3	Goed	appendix / pancreas / hersenen: zwak--> moet sterker ; achtergrond in hersen, tumor en ctrl ; ctrl:spier vals pos.
Labo 006	1	3	3	2	3	3	Onvoldoende	appendix: axonen vals neg. ; pancreas: veel te zwak ; hersenen:neuronen vals neg. ;tumor te zwak tot vals neg.
Labo 007	3	3	3				Optimaal	
Labo 008	1	3	3				Onvoldoende	appendix: axonen vals neg. ; pancreas te zwak ; hersenen:neuronen vals neg. ;tumor veel te zwak tot vals neg.
Labo 009	3	2	3				Goed	appendix OK maar lichte achtergrond (spier) ; pancreas OK; hersenen: neuronen te zwak
Labo 010	1	3	3				Onvoldoende	appendix: axonen heel zwak ; pancreas heel zwak ; hersenen: neuronen veel te zwak ; tumor te zwak/vals neg.
Labo 011	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 012	3	3	3	3	2	3	Optimaal	
Labo 013	3	3	3				Optimaal	
Labo 014	3	1	3	3	1	3	Goed	algemene achtergrond; ctrl idem
Labo 015	3	2	3	3	2	3	Goed	appendix te sterk ; pancreas OK ; hersenen neuronen neg? ; tumoren OK ; ctrl OK
Labo 016	3	2	3	3	3	3	Goed	appendix: zwak ; pancreas achtergond ; hersen: neuronen OK ; tumor OK
Labo 017	2	3	3				Borderline	hersen: vals negatief ; appendix/pancreas/tumoren OK ; zwakke tegenkleuring
Labo 018	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 019	2	3	3				Borderline	appendix mag sterker ; pancreas OK ;hersen vals negatief
Labo 021	3	2	3				Optimaal	hersen achtergrond
Labo 023	2	3	3	2	2	2	Borderline	toestelprobleem? ; 1 tumor zwak tot vals neg. ; normaal weefsel OK
Labo 024	2	3	2	3	3	1	Borderline	appendix: neuro-endocrien OK maar axonen zwak ; pancreas OK ; hersenen: neuronen veel te zwak ; tumor te zwak ; eigen ctrl OK
Labo 025	3	3	3				Goed	appendix: axonen zwak ; hersenen: neuronen OK ; pancreas OK ; Merkelcel tumor te zwak, rest OK
Labo 026	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 027	3	3	3	3	3	3	Optimaal	
Labo 028	3	3	3	3	3	3	Optimaal	appendix lichte achtergrond
Labo 029	3	3	3	3	3	3	Optimaal	slechte ontwatering (appendix)
Labo 030	3	3	3				Optimaal	
Labo 031	1	2	3	3	3	3	Onvoldoende	appendix: epitheel vals pos. ; pancreas vals pos. : hersenen en tumoren OK
Labo 032	2	3	3				Borderline	app: epitheel vals pos. ; pancreas vals pos. ; app en pancreas te zwak ; hersenen en tumoren OK ; zwakke tegenkleuring
Labo 033	3	3	3				Optimaal	

Top in Zorg.

Resultaatbespreking Chromogranine

- Algemeen

n=31				***NQC 2011***	
	n	*%*	*suff*	*%*	*suff*
optimaal	**14**	***45 %***		***35 %***	
goed	**7**	***23 %***	***67%***	***40 %***	***75%***
borderline	6	*19 %*		*20%*	
onvoldoende	4	*13 %*		*5 %*	

3 deelnemers: DAKO antistof RTU?? zonder clone specificaties : optimaal (1) – goed (2)

olv Top in Zorg.

Resultaatbespreking Chromogranine

- Opgesplitst per clone producent

	Ventana LK2H10	*% suff*	*andere LK2H10 conc.*	*% suff*	*DAKO DAK-A3**	*% suff*	*Thermo SP12*	*% suff*	*Leica 5H7*	*% suff*
	n=16		n=6		n=1		n=1		n=1	
optimaal	**9**	***56%***	**3**	***50%***	**0**	**-**	**0**	**-**	**0**	**-**
goed	**3**	***19%***	**1**	***17%***	**0**	**-**	**0**	**-**	**0**	**-**
borderline	3	*19%*	1	*17%*	1	-	0	-	0	-
onvoldoende	1	*6%*	1	17%	0	-	1	-	1	-
Totaal suff	***75%***		***67%***		**-**		-		-	
NQC 2011	*88%*		*75%*		*13%***		*0%*		*Geen data****	

* DAK-A3 monoclonaal ? NQC: NOK in laatste 5 runs
** NQC: DAK-A3 polyclonaal (A0430 conc.) is wel OK
*** NQC: clone 5H7: goed (n=2)

olv Top in Zorg.

Resultaatbespreking Chromogranine

Besluit:

- Invloed format AS
  - RTU clone LK2H10:
    - 75% pass rate
    - 2 niet suff. : epitheel aankleuring appendix /pancreas vals positief: met zelfde protocolsettings als andere deelnemer(s)→ oorzaak??

      opm.: enige met lot D10601
  - Conc. AS LK2H10 (n=6):
    - Pass rate lager dan RTU
    - 1/3 geen suff. resultaat
    - Grote range verdunning: 1/100 - 1/1600 (1/10000?)

Top in Zorg.

Resultaatbespreking Chromogranine

Besluit:

- Invloed HIER: clone LK2H10
  - Geen HIER RTU/conc. → Borderline/onvoldoende Cf NQC

Tabel 1. Aanbevolen kleuringsprotocollen voor Anti-Chromogranin A (LK2H10)

Type procedure	Platform / methode	
	ES of NexES	BenchMark of BenchMark XT
Deparaffinering	Off line	Geselecteerd
Celconditionering (antigeendemaskering)	Niet nodig	Niet nodig
Enzym (protease)	Niet nodig	Niet nodig
Antibody (primair)	16 minuten aanbevolen	16 minuten aanbevolen
A/P Block		

  - Korte HIER is reeds voldoende voor optimaal resultaat

Resultaatbespreking Chromogranine

Besluit:

- 67 % suff., iets lager NQC 2011
- Eerste rondzending voor CGA (9-2012):
  - 100% suff. (n=8)
  - Enkel normaal weefsel, geen zwakke expressoren
- Sterke expressor (appendix neuro-endocriene cellen): meestal OK
- Lagere expressor (hersenen corticale neuronen, axonen en ganglioncellen, neuro-endocrien Ca)

  → ~35% te zwak

  → ~16% hersenen vals negatief

olv Top in Zorg.

Resultaatbespreking Chromogranine

Besluit:

- HIER is noodzakelijk voor sensitief protocol
  - 4/31 deelnemers: zeer zwak/vals negatieve tumor
  - Geen HIER clone LK2H10
- LK2H10: OK
- Clone SP12 (NQC NOK) en clone 5H7 (NQC 2/2 goed)
- Clone mAS DAK-A3: algemeen te zwak (cf NQC)
- Aanbevolen controle: appendix
  - Perifere zenuwen: axonen en ganglioncellen minstens zwak tot matig
  - Mucosa:
    - Neuro-endocriene cellen sterk positief
    - epitheel en gladde spier negatief

Top in Zorg.

Resultaatbespreking besluit

SUFFICIENT		2015		NQC	
CD3	✓	100 %		92 %	*2013*
CD20	✓	94 %		95 %	*2012*
CD45	✓	85 %		82 %	*2013*
CHROMO	✓	67 %		75 %	*2011*

olv Top in Zorg.

Couperondzending vervolg

- Planning 2015
  - Rondzending coupes 9/2015
  - Beoordeling panel 10/2015
  - Presentatie resultaten 4/12/2015: LBC en IHC
  - AS:
    - Calretinine
    - Desmine
    - Podoplanine (D2-40)
    - PLAP

VENTANA
a member of the Roche Group
Roche

Dako

A.MENARINI
diagnostics

KLINIPATH
GOOD(S) IN PATHOLOGY

Leica
BIOSYSTEMS

Thermo
SCIENTIFIC
Part of Thermo Fisher Scientific

SAKURA

olv
Top in Zorg.