

Hoofdsponsors



Bronzen sponsor



Andere sponsors



Resultaten EKE IHC 2023-2

De Wiest Bart

25 september 2023

OLV Ziekenhuis Aalst



Procedure panelbeoordeling

- Literatuurstudie m.b.t. antilichaam: NordiQC website, datasheets, guidelines, ...
 - 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
 - Evt. aanbevelingen protocol
- eindbeoordeling



EKE IHC 2023-2

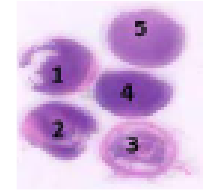
Antistoffen:

- ✓ BCL2: n=60*
- ✓ P63: n=62
- ✓ EMA: n=64
- ✓ MelanA: n=64

Panel:

- ✓ Scoring 19/06/2023
 - ✓ BCL2 en EMA
 - ✓ 2 pathologen
- ✓ Scoring 23/06/2023
 - ✓ MelanA en p63
 - ✓ 2 pathologen

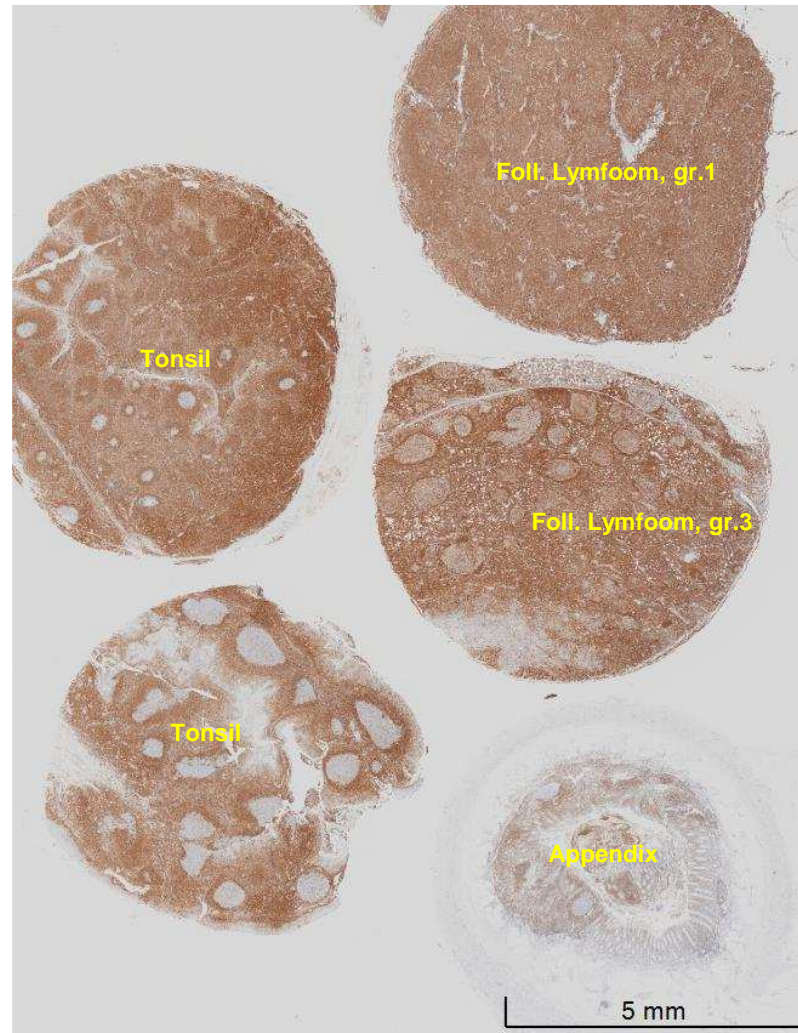
Antistof BCL2



- Scoringscriteria: cytoplasmatische aankleuring
 - Tonsil:
 - matig tot sterke (voornamelijk cytoplasmatische) aankleuring van bijna alle T-cellen en mantelzone B-cellen van de follikels
 - zwakke tot matige aankleuring van het basaal plaveiselcelepitheel (controle sensitiviteit)
 - geen aankleuring van de B-cellen in de kiemcentra (controle specificiteit)
 - Robuustheid: 24-44u fixatie
 - Appendix:
 - matig tot sterke aankleuring van bijna alle T-cellen en mantelzone B-cellen van de follikels
 - zwakke tot matige aankleuring van de epitheelcellen die het basale compartiment van de crypten begrenzen (controle sensitiviteit)
 - geen aankleuring van de luminale epitheelcellen (controle specificiteit)
 - Folliculair lymfoom, graad 3:
 - matig tot sterke aankleuring van de meeste neoplastische B-cellen
 - Folliculair lymfoom, graad 1:
 - matig tot sterke aankleuring van de meeste neoplastische B-cellen



Antistof BCL2 overzicht



Resultaatbespreking BCL2

- Algemeen
 - n=60
 - 1 labo niet beoordeelbaar (expressie appendix)
 - Algemeen 81% geslaagd, 56% optimaal

		EKE 2023		NQC 2019	
	n		suff	%	suff
Optimaal	33	56%	81%	64%	89%
Goed	15	25%		25%	
Borderline	8	14%	19%	9%	11%
Onvoldoende	3	5%		2%	

Resultaatbespreking BCL2

- Opgesplitst per clone producent
 - Concentrated: 83% optimaal

n=6	Abcam E17	% suff.	Dako 124	% suff
optimaal	1	-	1	83%
goed	0	-	4	
borderline	0	-	0	17%
onvoldoende	0	-	0	
Totaal suff.	1/1		100%	
<i>NQC 2019</i>	<i>0/2</i>		<i>94%</i>	

Concentrated antibodies	n	Vendor	Optimal	Good	Borderline	Poor	Suff. ¹	Suff. OPS ²
mAb clone 124	88	Dako/Agilent	76	14	4	2	94%	96%
	4	Cell Marque						
	2	Diagnostic BioSystems						
	1	Zeta Corporation						
	1	Enquire BioReagents						
mAb clone 100/D5	1	Biocare Medical	0	2	0	0	-	-
	1	Thermo Scientific						
mAb clone BCL2/100/D5	11	Leica/Novocastra	7	3	1	0	91%	100%
mAb clone BS94	1	Nordic Biosite	1	0	0	0	-	-
rmAb clone SP66	6	Cell Marque	2	4	0	0	100%	100%
rmAb clone E17	2	Cell Marque	0	0	2	0	-	-
rmAb clone EP36	1	Cell Marque	0	0	1	0	-	-

Nordic Immunohistochemical Quality Control, EMA run 28 2010



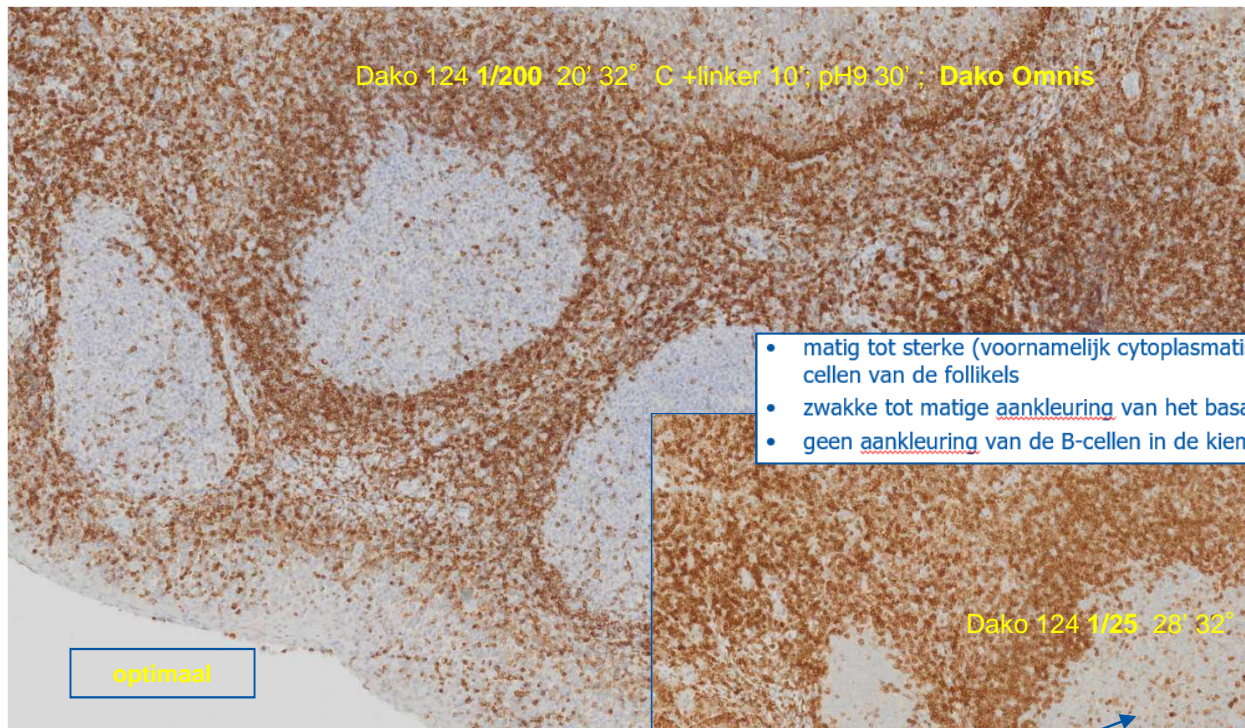
Antistof BCL2

Besluit:

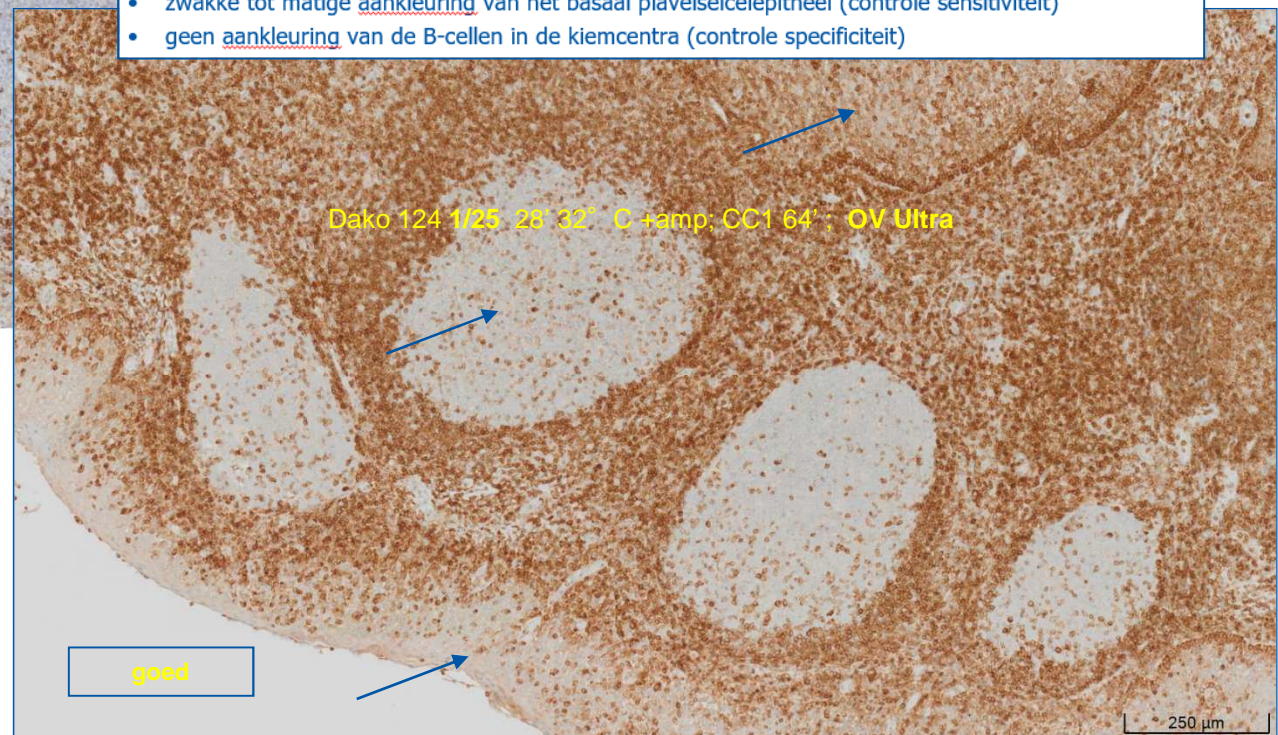
- Conc. AS:
 - 10% deelname, moeilijk te kalibreren, slechts 2/6 optimaal
- Robuustheid (tonsil): geen probleem
- Abcam clone E17:
 - Omnis
 - 1/200 20' en pH9 → optimaal
- Dako clone 124: op alle platformen gebruikt: spreiding AS verdunning!
 - BondIII: 1/500 15'RT → goed (achtergrond)
 - Omnis
1/200 20' +linker → optimaal
 - Ventana (n=3): spreiding AS tijd
 - UV: 1/18 92' of 1/50 32' +amp en CC1 64' → goed (zwak en/of achtergrond)
 - OV 1/25 28' en CC1 64' → goed (sterke achtergrond)

Antistof BCL2

- Conc. AS:

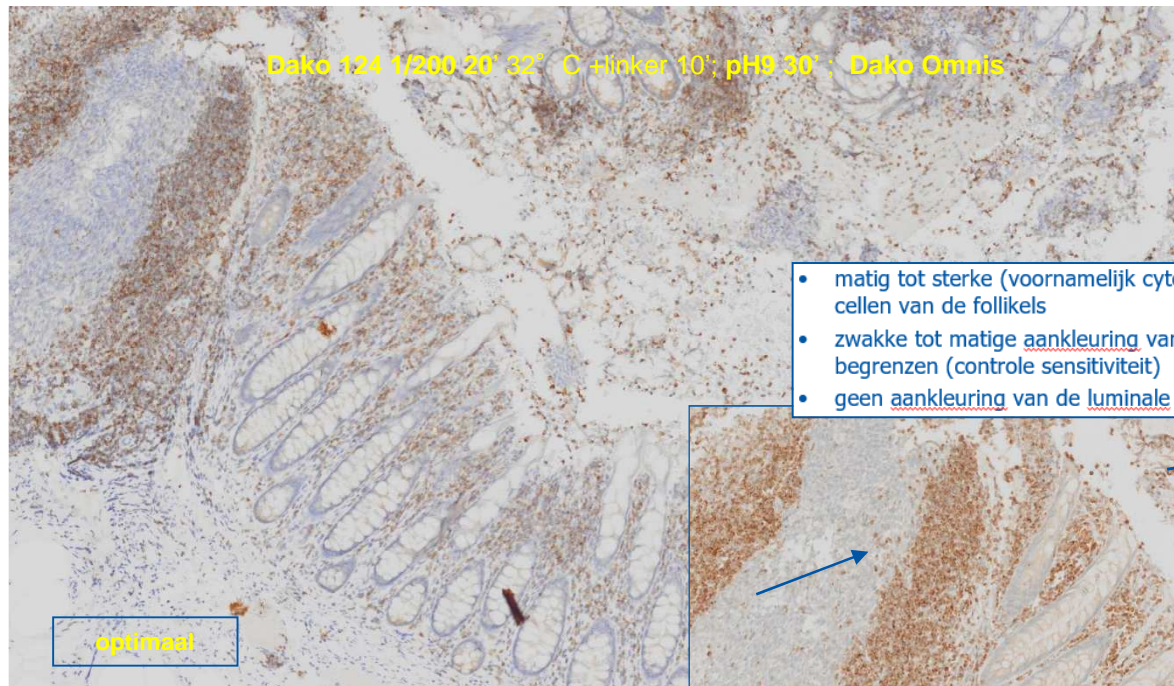


- matig tot sterke (voornamelijk cytoplasmatische) aankleuring van bijna alle T-cellen en mantelzone B-cellen van de follikels
- zwakke tot matige aankleuring van het basaal plaveiselcellepitheel (controle sensitiviteit)
- geen aankleuring van de B-cellen in de kiemcentra (controle specificiteit)

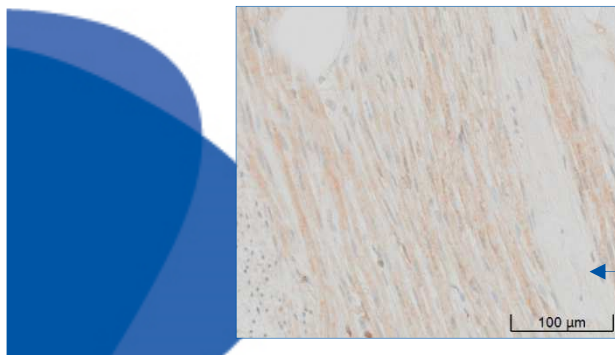
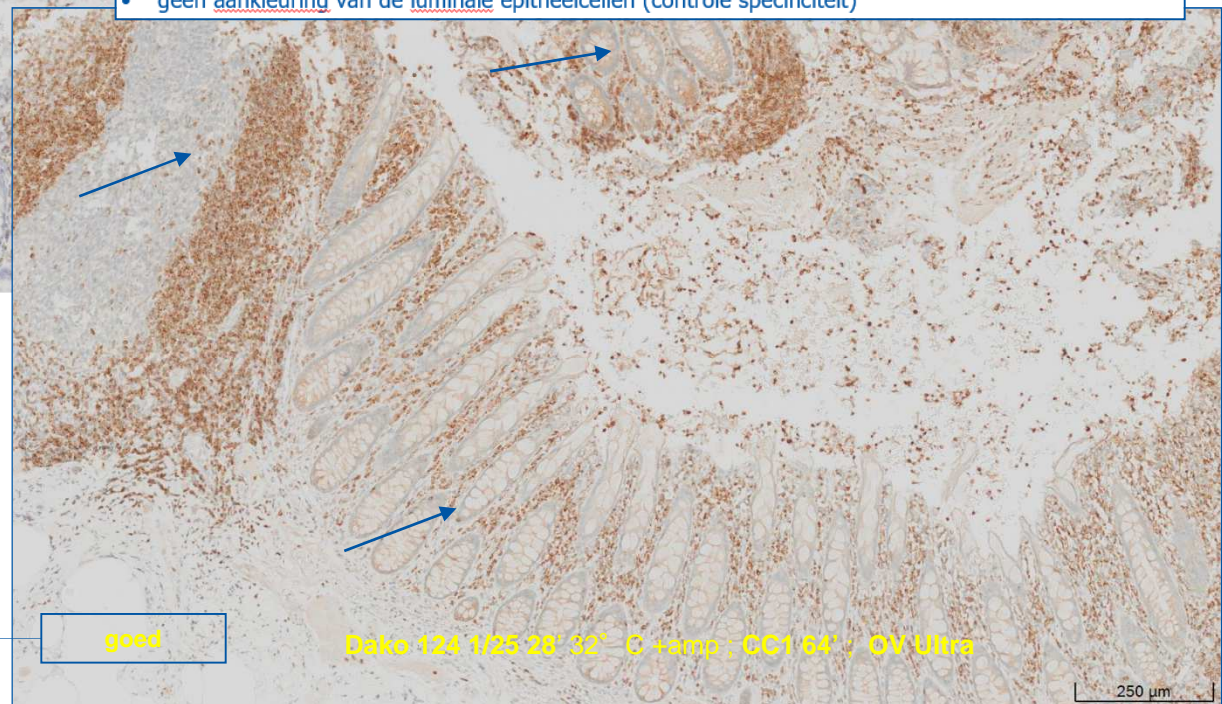


Antistof BCL2

- Conc. AS:

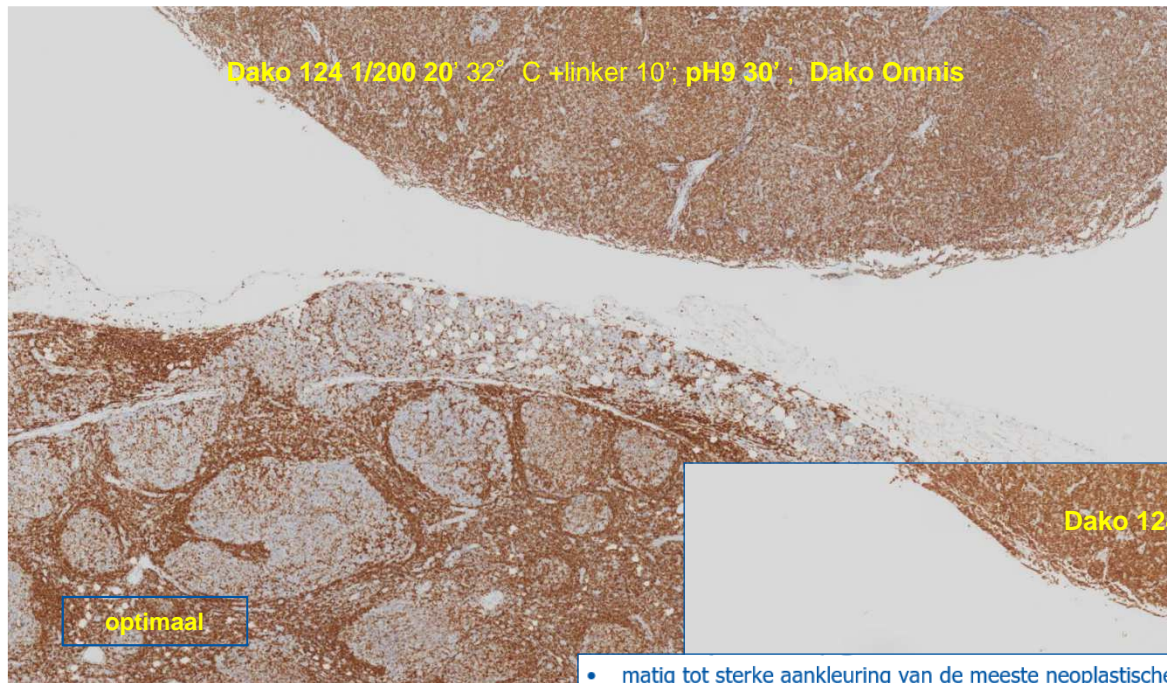


- matig tot sterke (voornamelijk cytoplasmatische) aankleuring van bijna alle T-cellen en mantelzone B-cellen van de follikels
- zwakke tot matige aankleuring van de epitheelcellen die het basale compartiment van de crypten begrenzen (controle sensitiviteit)
- geen aankleuring van de luminale epitheelcellen (controle specificiteit)



Antistof BCL2

- Conc. AS:



Resultaatbespreking BCL2

- Opgesplitst per clone producent
 - RTU: 60% optimaal ; suff. 81%

n=52	<i>Ventana 124</i>	<i>% suff</i>	<i>Dako 124</i>	<i>% suff</i>	<i>Ventana SP66</i>	<i>% suff</i>	<i>Leica 100/D5</i>	<i>% suff</i>
	n=21		n=22*		n=7		n=2	
optimaal	16	76%	7	32%	6	86%	2	-
goed	2	9,5%	8	36%	1	14%	0	-
borderline	2	9,5%	6	27%	0	-	0	-
onvoldoende	1	5%	1	5%	0	-	0	-
Totaal suff	86%		68%		100%			
<i>NQC 2019</i>	<i>87%</i>		<i>100%</i>		<i>2/2</i>		<i>2/2</i>	

* 1 niet beoordeelbaar



Antistof BCL2

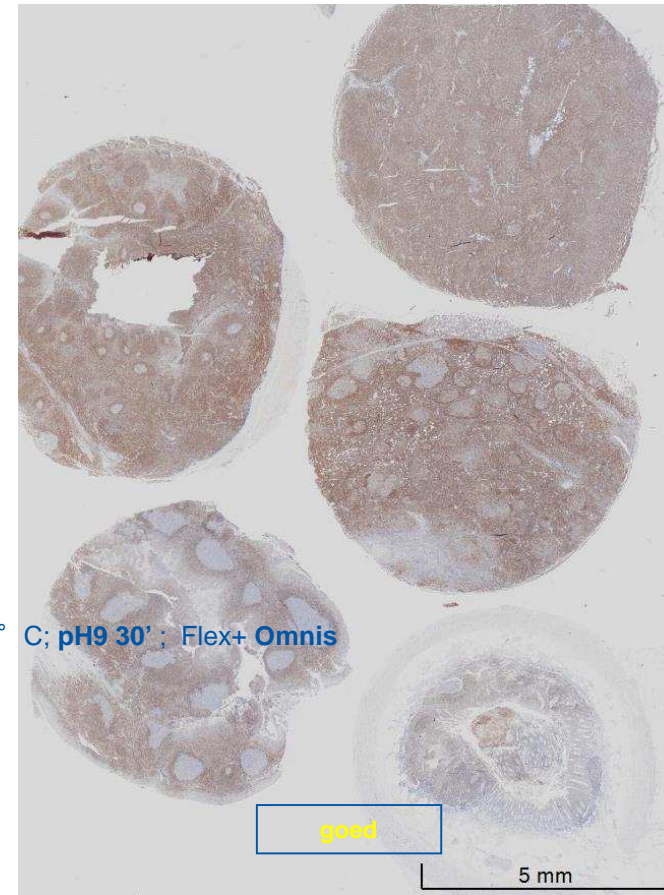
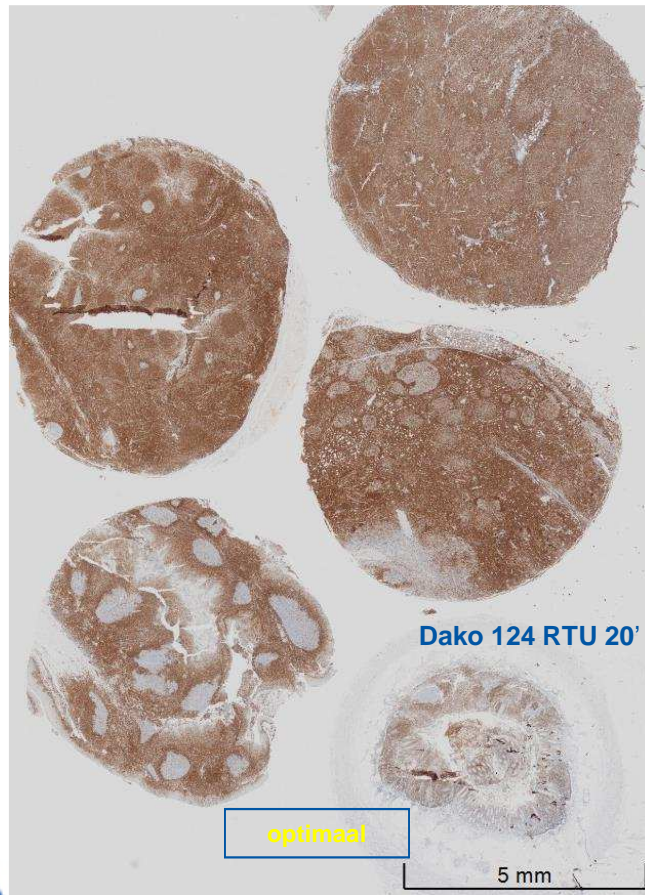
Besluit:

- RTU: Dako clone 124
 - Moeilijker te kalibreren :
 - 68% geslaagd
 - slechts 32% optimaal
 - Robuustheid (tonsil): geen probleem
 - Omnis
 - Slechts 4 optimaal
 - 35% niet geslaagd
 - Borderline: 59% achtergrond
 - AS 20-27' RT/32° C
 - Allen pH9
 - 3/17 linker → enkel 'goed' (achtergrond)
 - Gelijke settings: wisselend resultaat → oorzaak?
 - Autostainer
 - 3/3 optimaal
 - Gestandaardiseerd protocol: AS20' RT ; pH9

Antistof BCL2

Besluit:

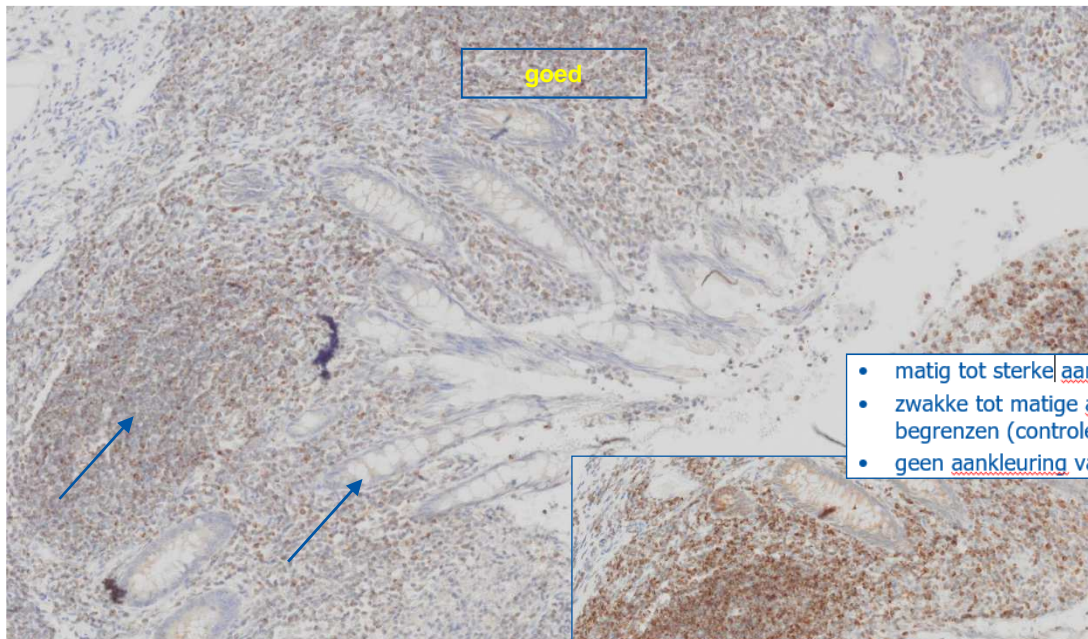
- RTU: Dako clone 124



Antistof BCL2

Besluit:

- RTU: Dako clone 124



Dako 124 RTU 20' 32° C; pH9 30' ; Flex+ Omnis

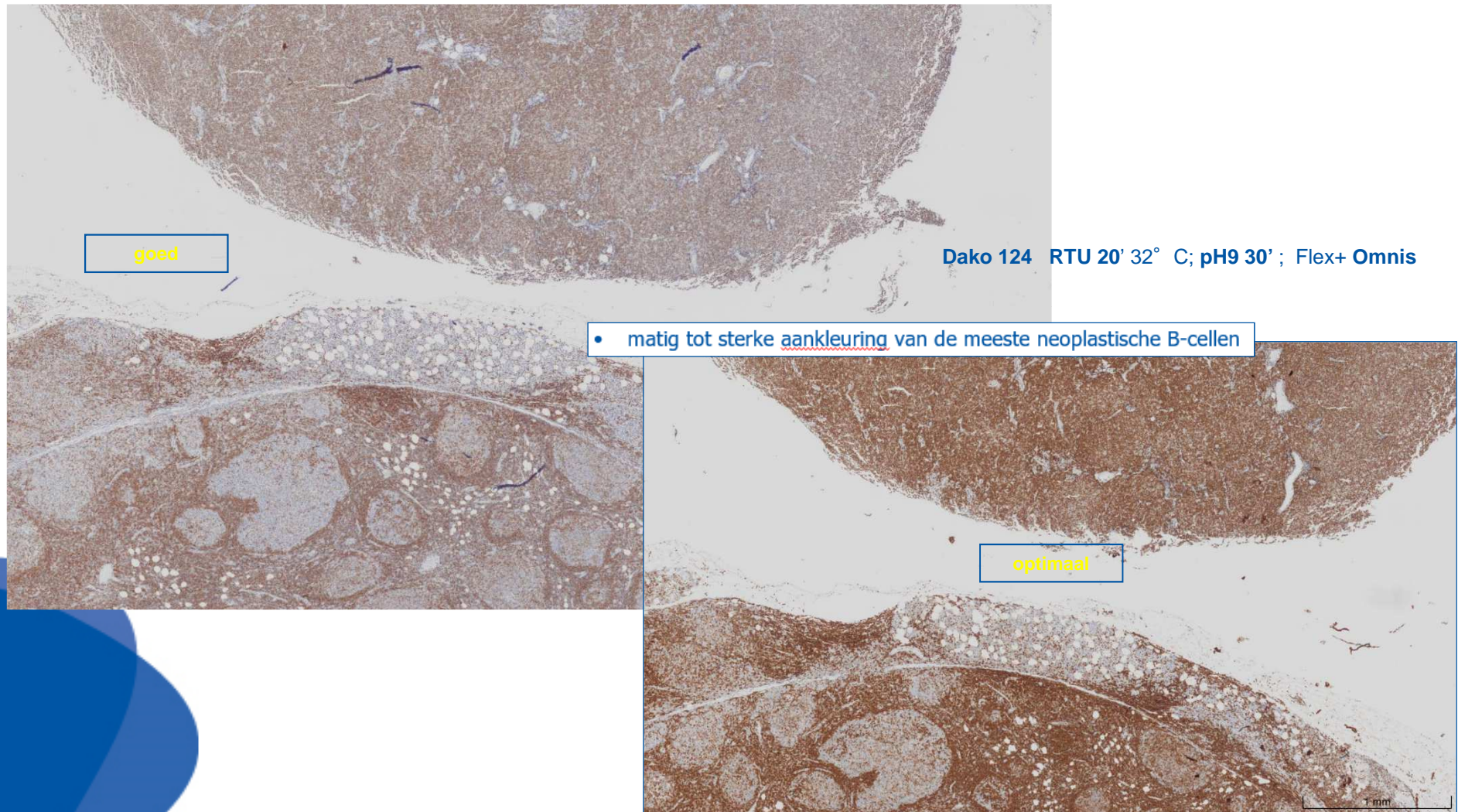
- matig tot sterke aankleuring van bijna alle T-cellen en mantelzone B-cellen van de follikels
- zwakke tot matige aankleuring van de epitheelcellen die het basale compartiment van de crypten begrenzen (controle sensitiviteit)
- geen aankleuring van de luminale epitheelcellen (controle specificiteit)



Antistof BCL2

Besluit:

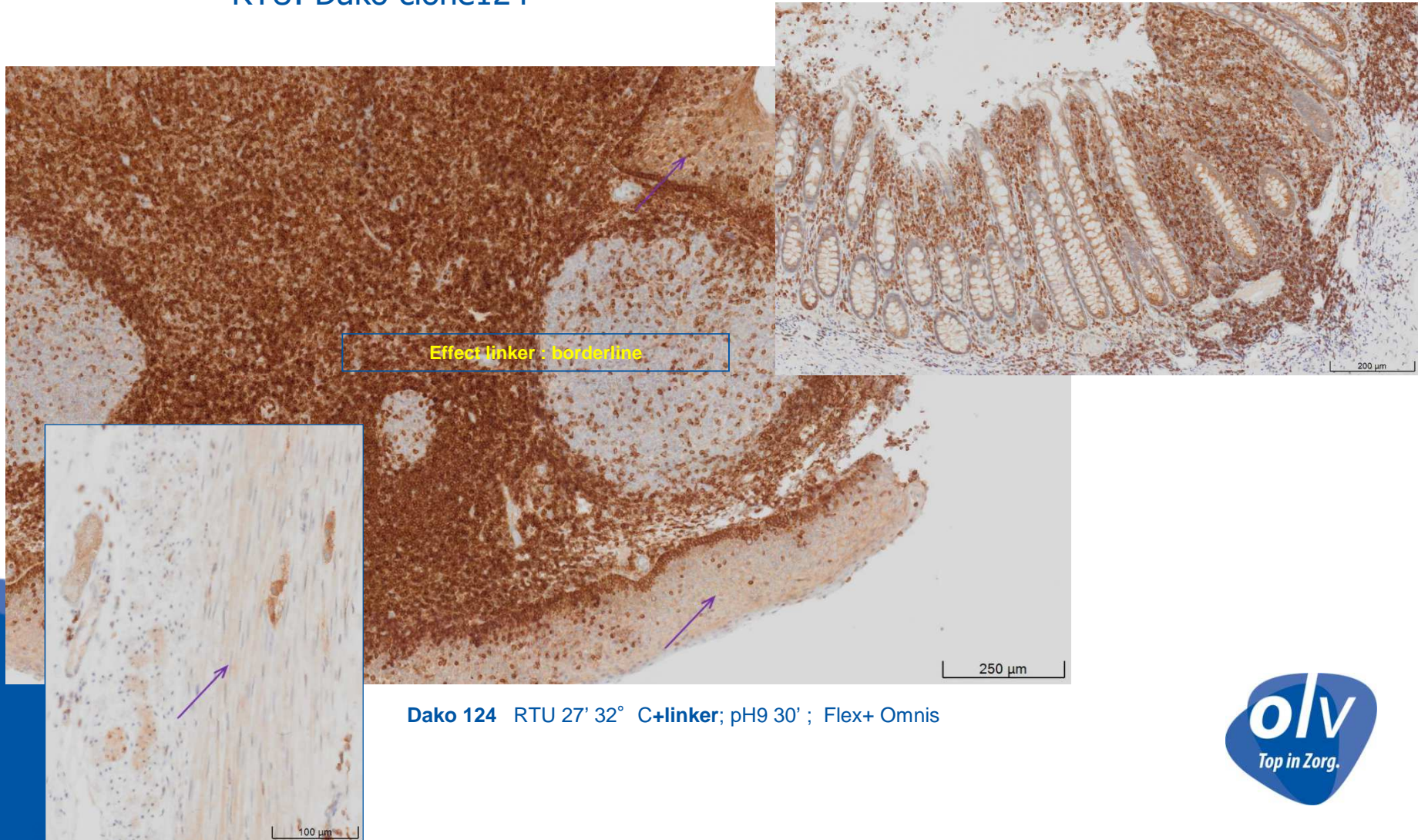
- RTU: Dako clone124



Antistof BCL2

Besluit:

- RTU: Dako clone124



Dako 124 RTU 27' 32° C+linker; pH9 30' ; Flex+ Omnis

Antistof BCL2

Besluit:

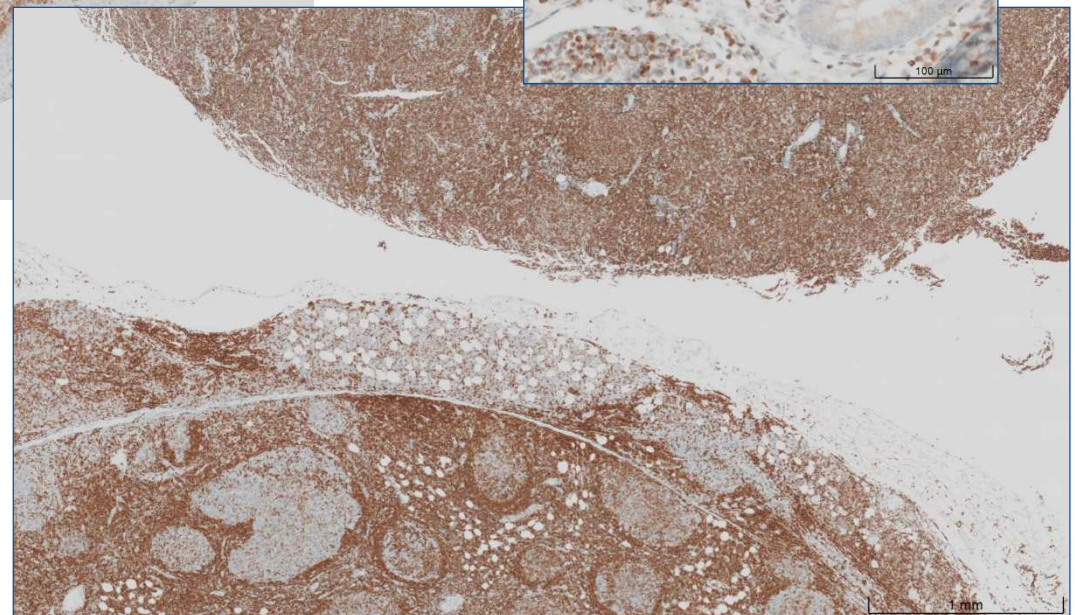
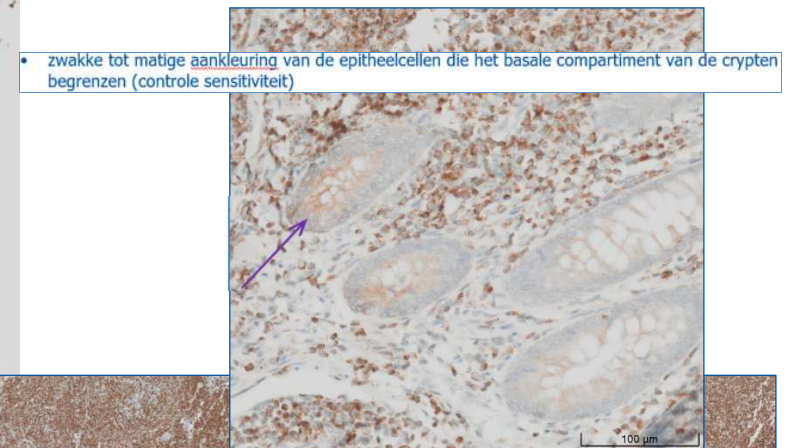
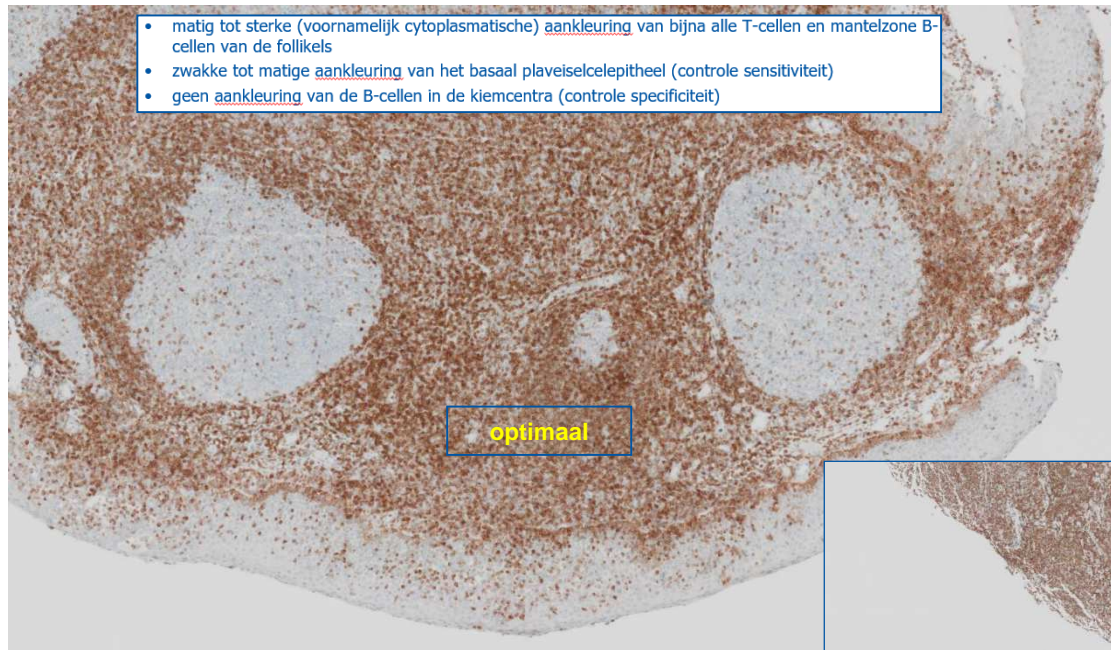
- RTU: Ventana 124
 - Iets robuuster dan Dako 124 clone
 - Geen issues met achtergrond
 - 86% geslaagd, 76% optimaal
 - UV: 4/17 niet geslaagd (appendix crypten én lymfoom gr.1) → geen duidelijke oorzaak
idem protocol= zeer wisselend result
amplifier = geen garantie op geslaagd result
spreiding: HIER tot 92' ; AS tot 60' +-ampl.
lange HIER én voldoende AS tijd → geslaagd vs datasheet CC1 64' ; AS16' → 2 gebruikers (1/2 geslaagd)
 - OV: allen optimaal (5/5)
datasheet: CC1 32' ; AS16' → geen gebruikers
wisselende settings = geen impact
 - RTU 1/5 verdund (1) → onvoldoende



Antistof BCL2

Besluit:

- RTU: Ventana clone 124



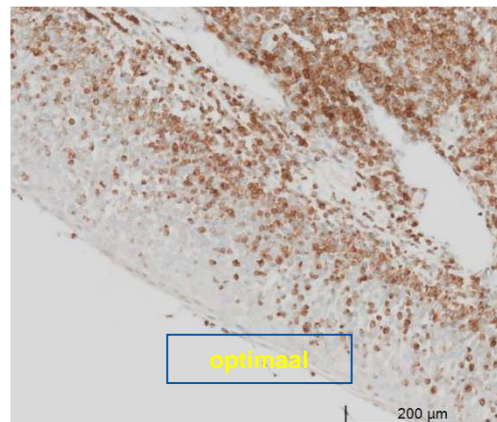
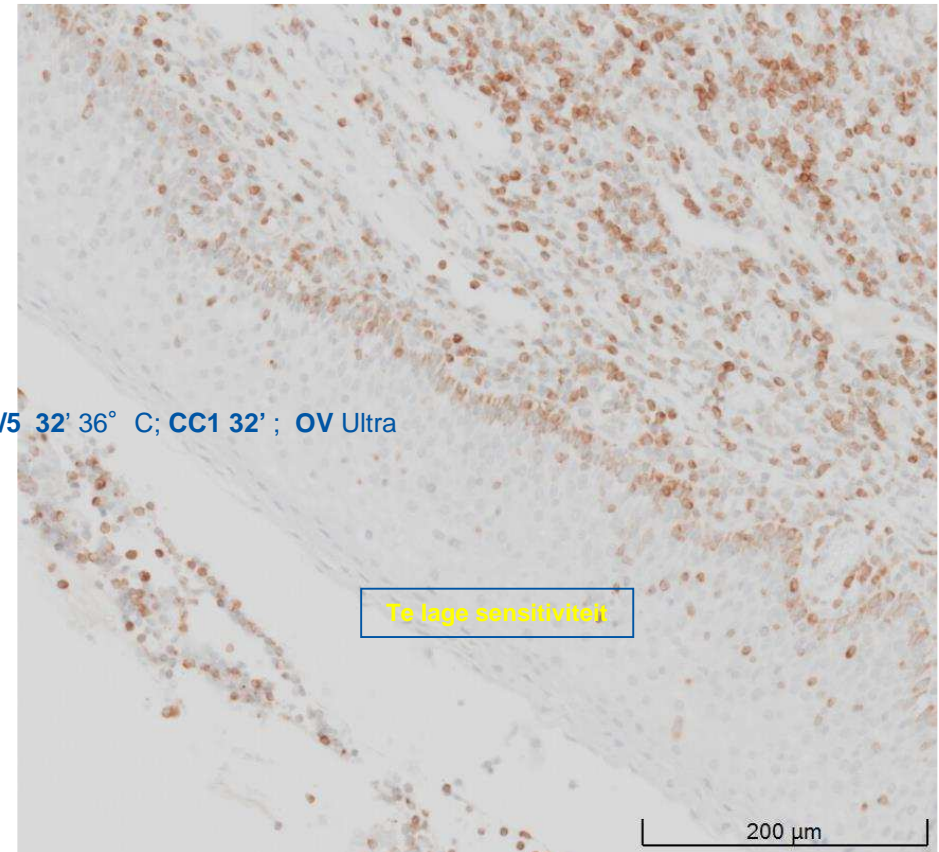
Ventana 124 RTU 52' 36° C; CC1 64'; OV Ultra



Antistof BCL2

Besluit:

- RTU: Ventana clone 124 verdund 1/5
 - Ook geen achtergrond maar...



Antistof BCL2

Besluit:

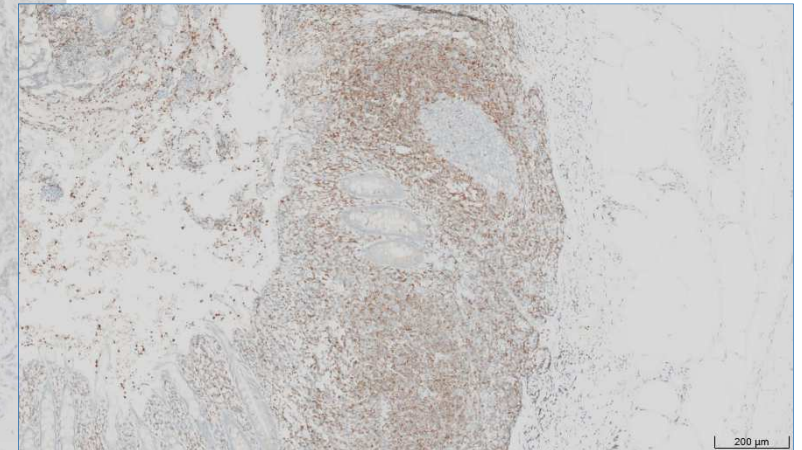
- RTU: Ventana clone 124 verdund 1/5
 - Geen achtergrond maar...

- matig tot sterke aankleuring van bijna alle T-cellen en mantelzone B-cellen van de follikels
- zwakke tot matige aankleuring van de epitheelcellen die het basale compartiment van de crypten begrenzen (controle sensitiviteit)
- geen aankleuring van de luminale epitheelcellen (controle specificiteit)

Te lage sensitiviteit

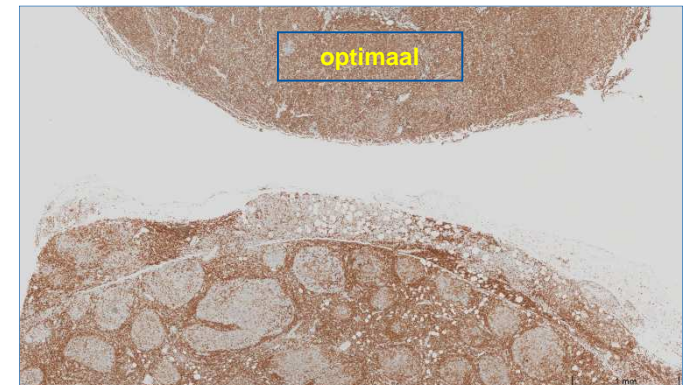
Te lage intensiteit

Onvoldoende



optimaal

Ventana 124 RTU 1/5 32' 36° C; CC1 32' ; OV Ultra



Antistof BCL2

Besluit:

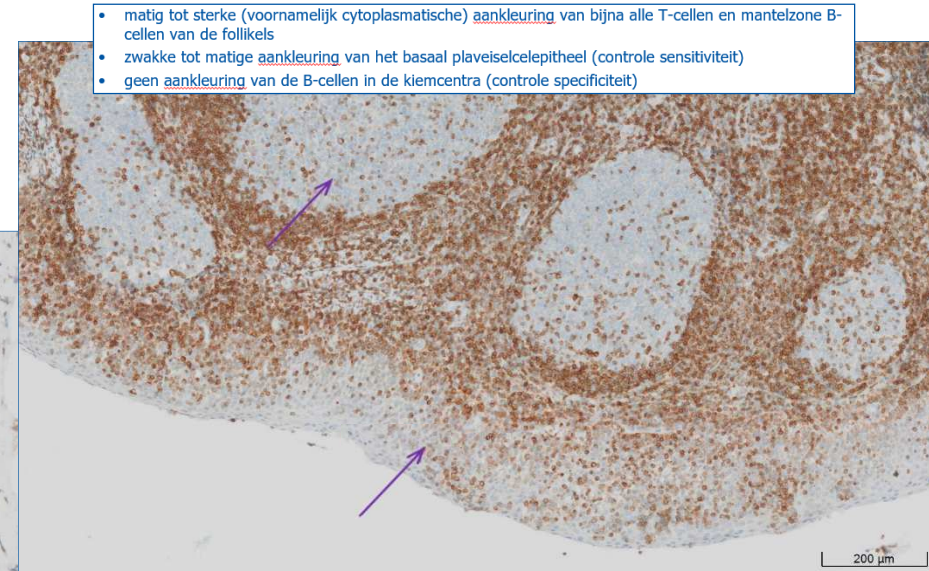
- RTU Ventana SP66:
 - 7/7 geslaagd
 - geen issues met achtergrond
- Protocolspreiding:
 - OV datasheet CC1 48' ; AS 16' → 1 gebruiker = optimaal
 - HIER 36-64' ; AS 16-52' → geen impact: robuuste clone
 - UV datasheet CC1 64' ; AS 24' → 3 gebruiker = optimaal/goed
 - HIER 36-64' ; AS 16-24' → geen impact: robuuste clone



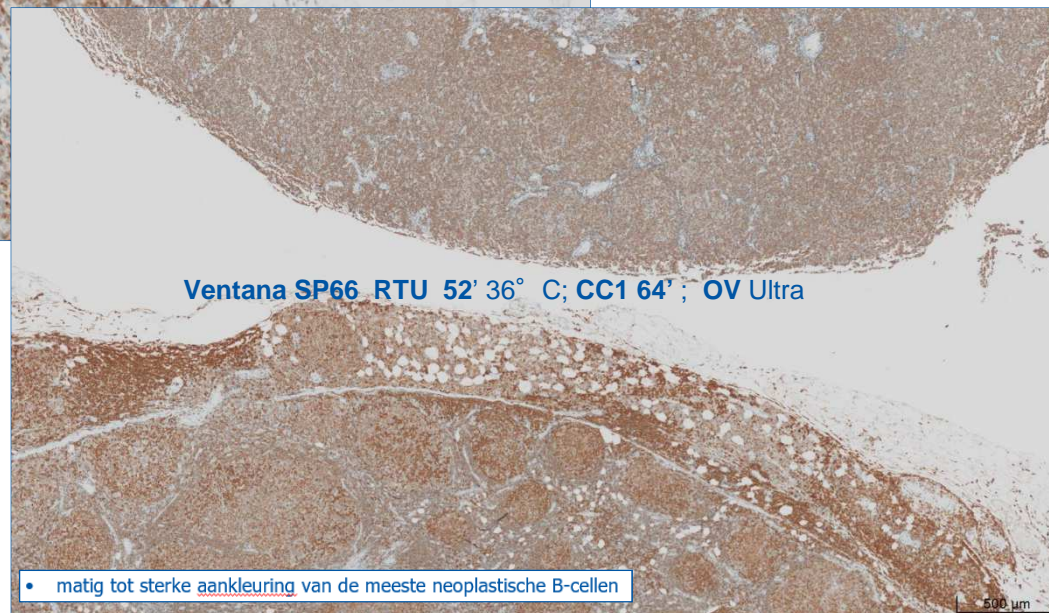
Antistof BCL2

Besluit:

- RTU Ventana SP66:



optimaal

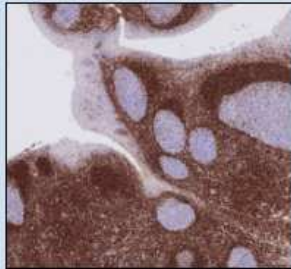
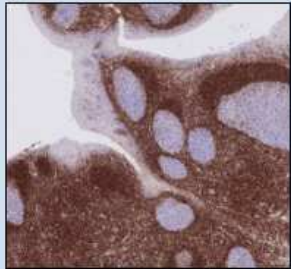
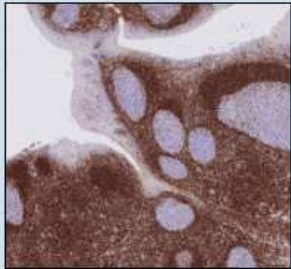


Antistof BCL2

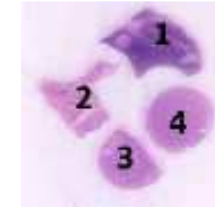
Besluit:

- Controles
 - 58%
 - Aanbevolen:

Bcl-2 - Bcl-2 protein

Control type	Positive tissue control High expression level	Positive tissue control Low expression levels	Negative tissue control
Tissue	Tonsil	Tonsil	Tonsil
Description	Virtually all peripheral T-cells and B-cells in the mantle zone of the reactive follicles must show a moderate to strong, predominantly cytoplasmic staining reaction.	The majority of basal squamous epithelial cells lining the tonsillar surface and crypts and intra-germinal center T-cells must show an at least weak to moderate, predominantly cytoplasmic staining reaction.	No staining in germinal center B-cells should be seen.
Example	 Click to enlarge	 Click to enlarge	 Click to enlarge

Antistof P63

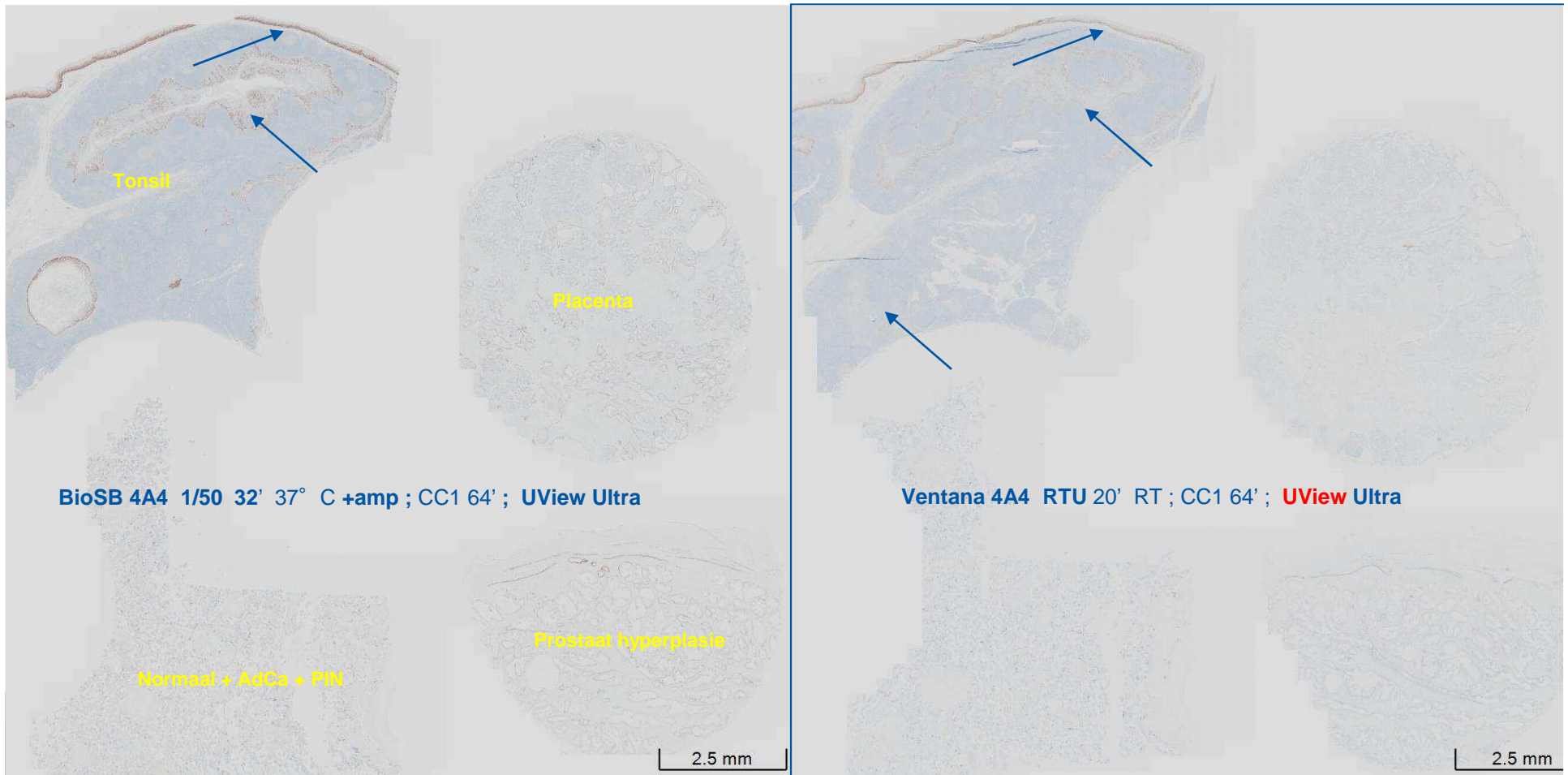


Scoringscriteria: nucleaire aankleuring

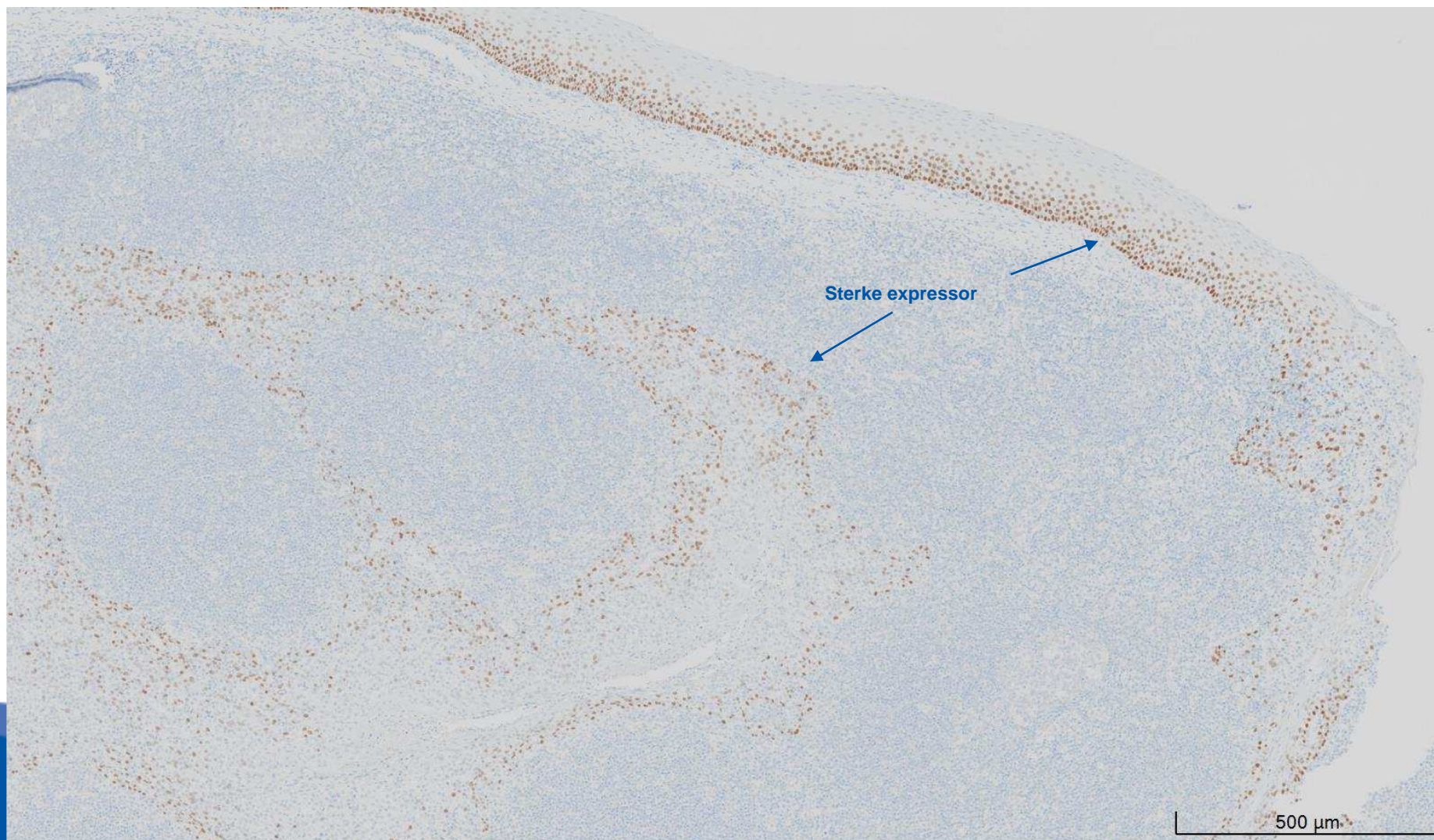
- **Tonsil :**
 - matig tot sterke aankleuring in bijna alle plaveiselcellen
 - minstens zwakke aankleuring in verspreide lymfocyten (sensitiviteit)
- **Placenta :**
 - minstens zwakke tot matige aankleuring van verspreide cytotrofoblastische cellen (sensitiviteit)
- **Prostaat hyperplasie :**
 - matig tot sterke aankleuring in de basale cellen van de hyperplastische klieren
 - geen aankleuring in de secreterende cellen van de hyperplastische klieren (specificiteit)
- **Normale prostaat + adenocarcinoom + PIN (prostaat intra-epitheliale neoplasie) :** sensitiviteit + specificiteit
 - matig tot sterke aankleuring in de basale cellen van de PIN
 - geen aankleuring in de secreterende cellen van de hyperplastische klieren
 - geen aankleuring in de neoplastische klieren

- Weefsels met sterke p63 expressie : geen of maximaal zwakke cytoplasmatische aankleuring

Antistof P63 overzicht



Antistof P63



Ventana 4A4 RTU 20' RT ; CC1 64' ; UView Ultra



Antistof P63

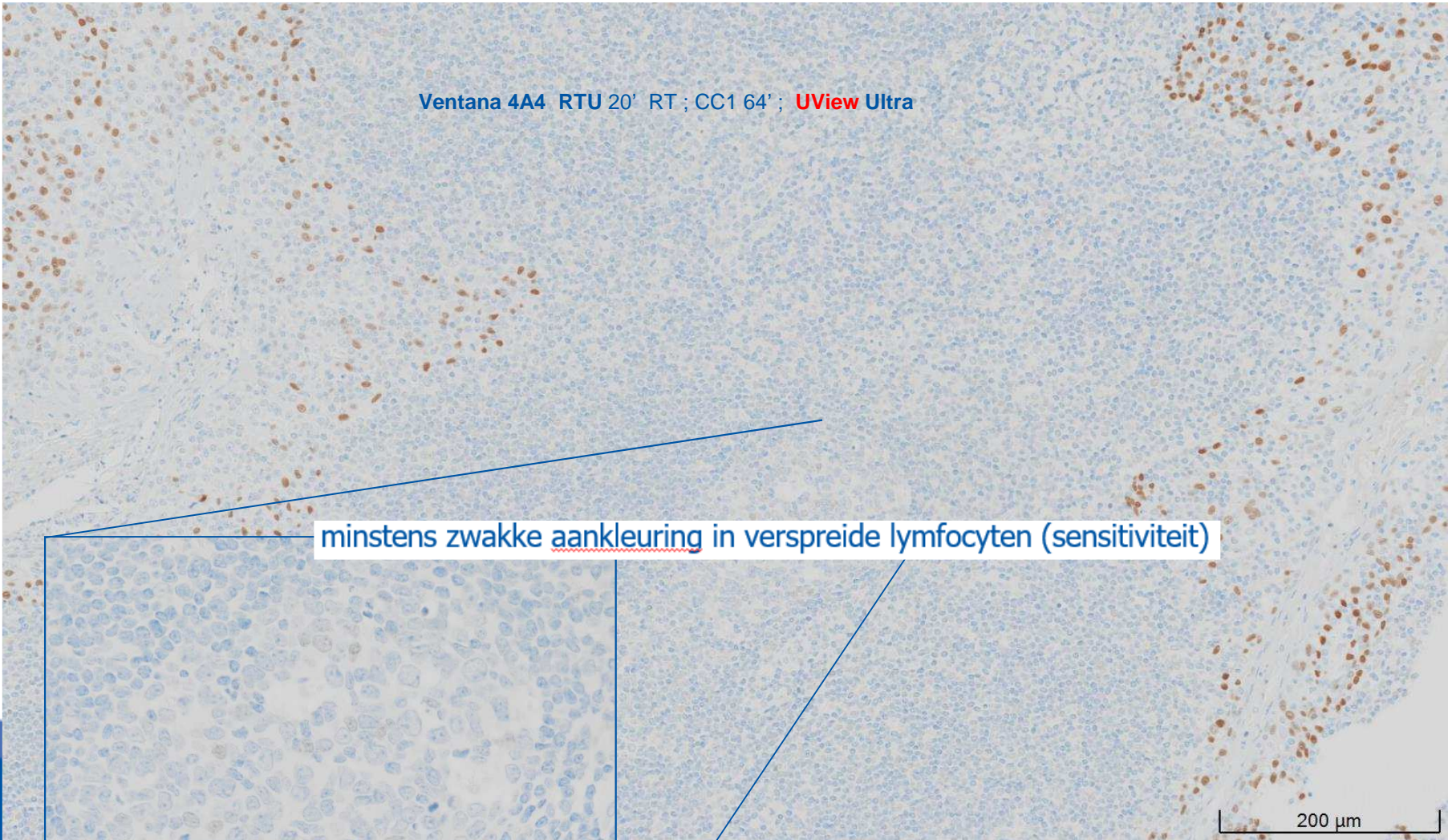
Ventana 4A4 RTU 20' RT ; CC1 64' ; UView Ultra

minstens zwakke aankleuring in verspreide lymfocyten (sensitiviteit)

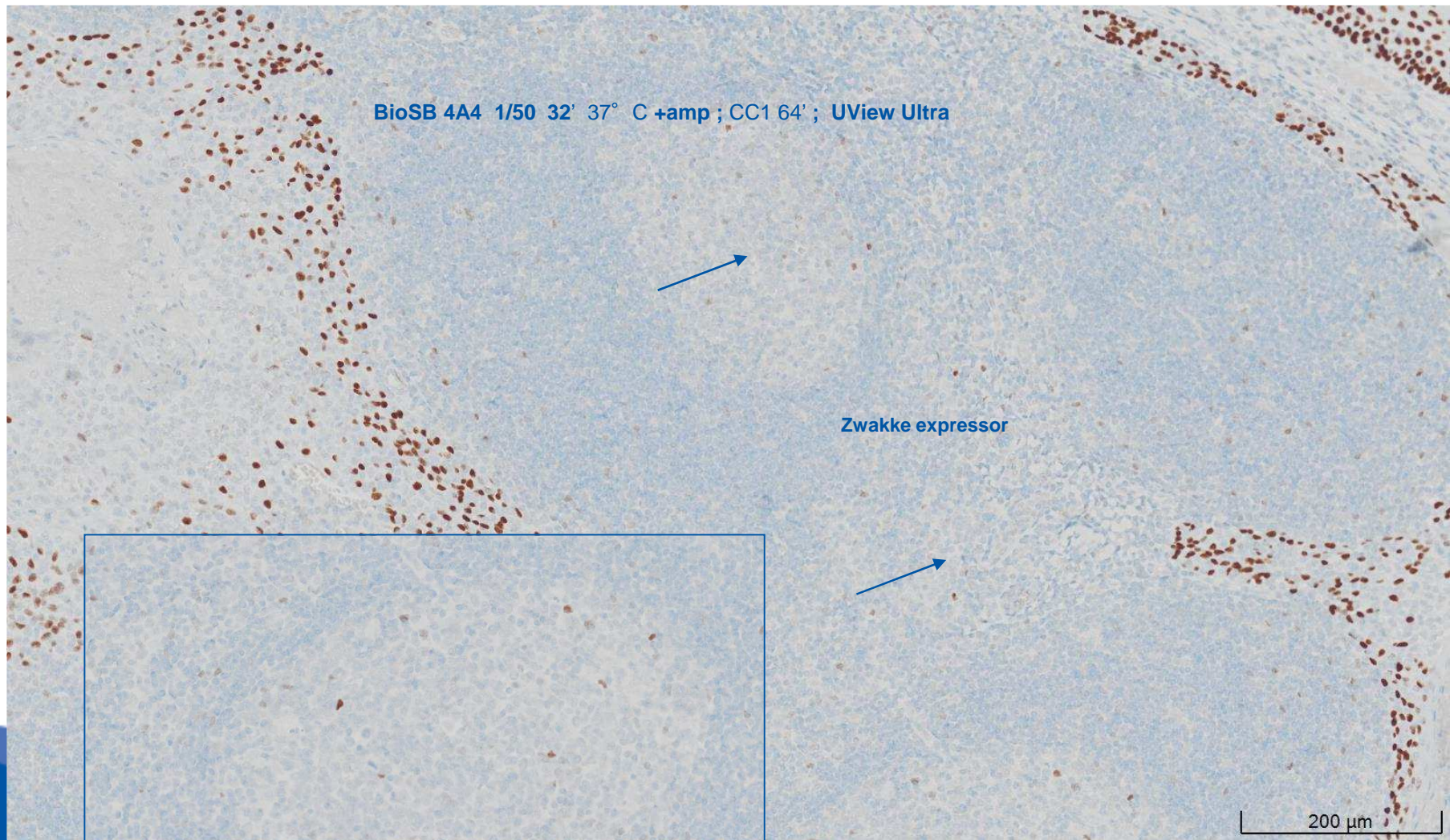
200 µm

50 µm

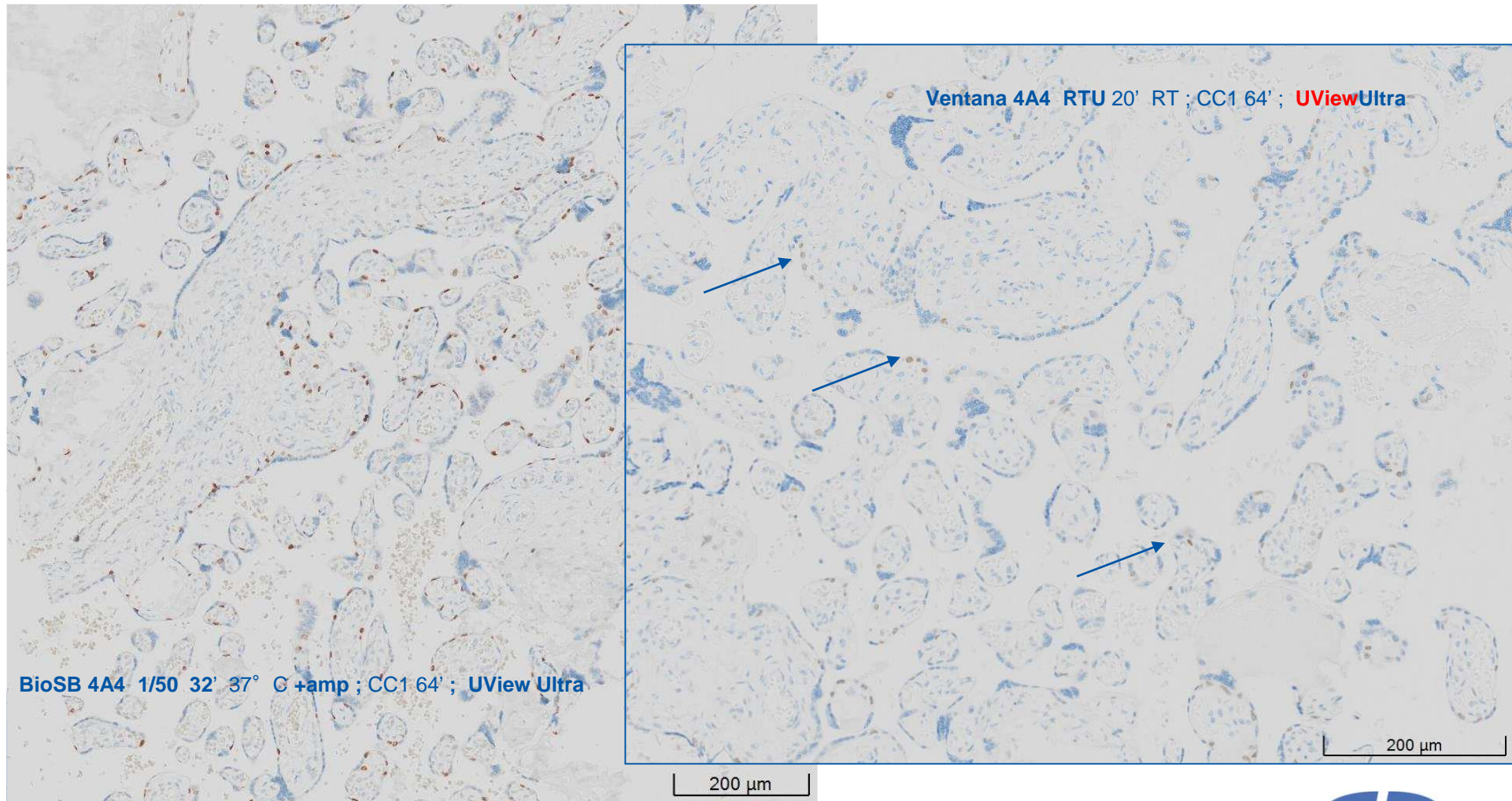
OIV
Top in Zorg.



Antistof P63



Antistof P63

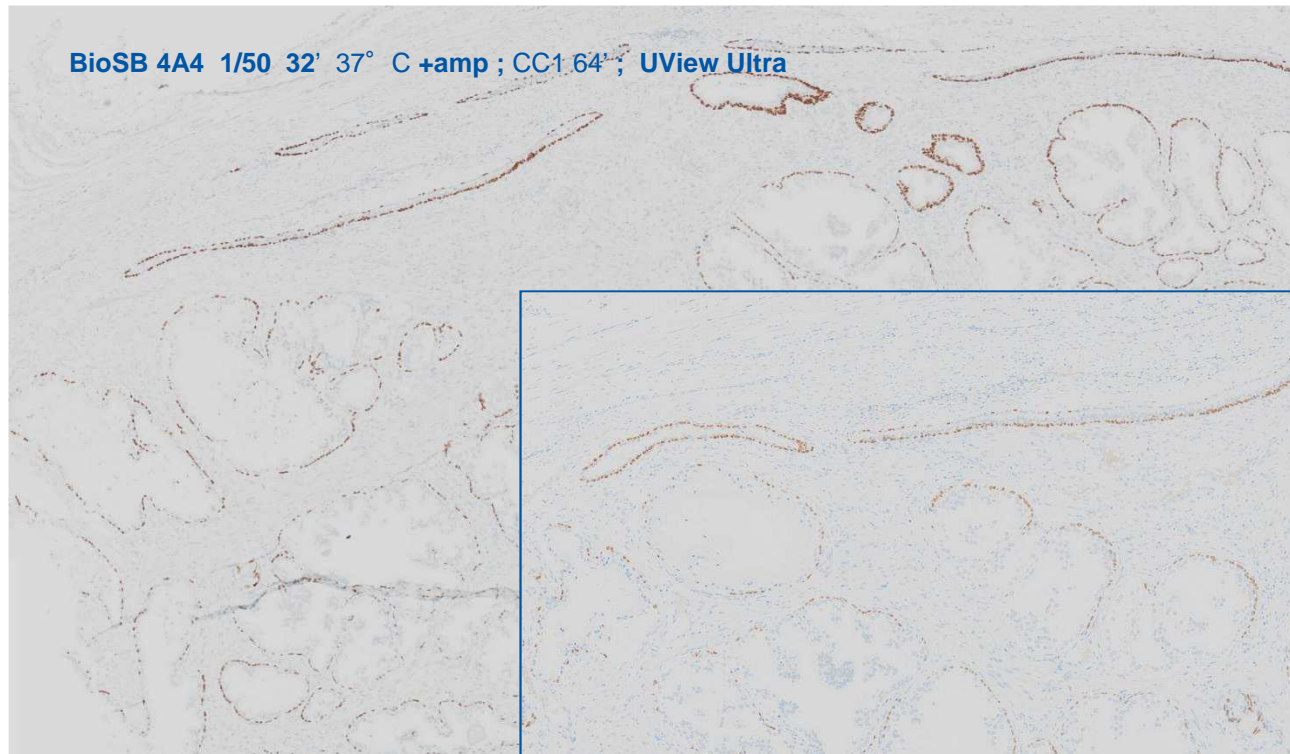


Zwakke/matige expressor

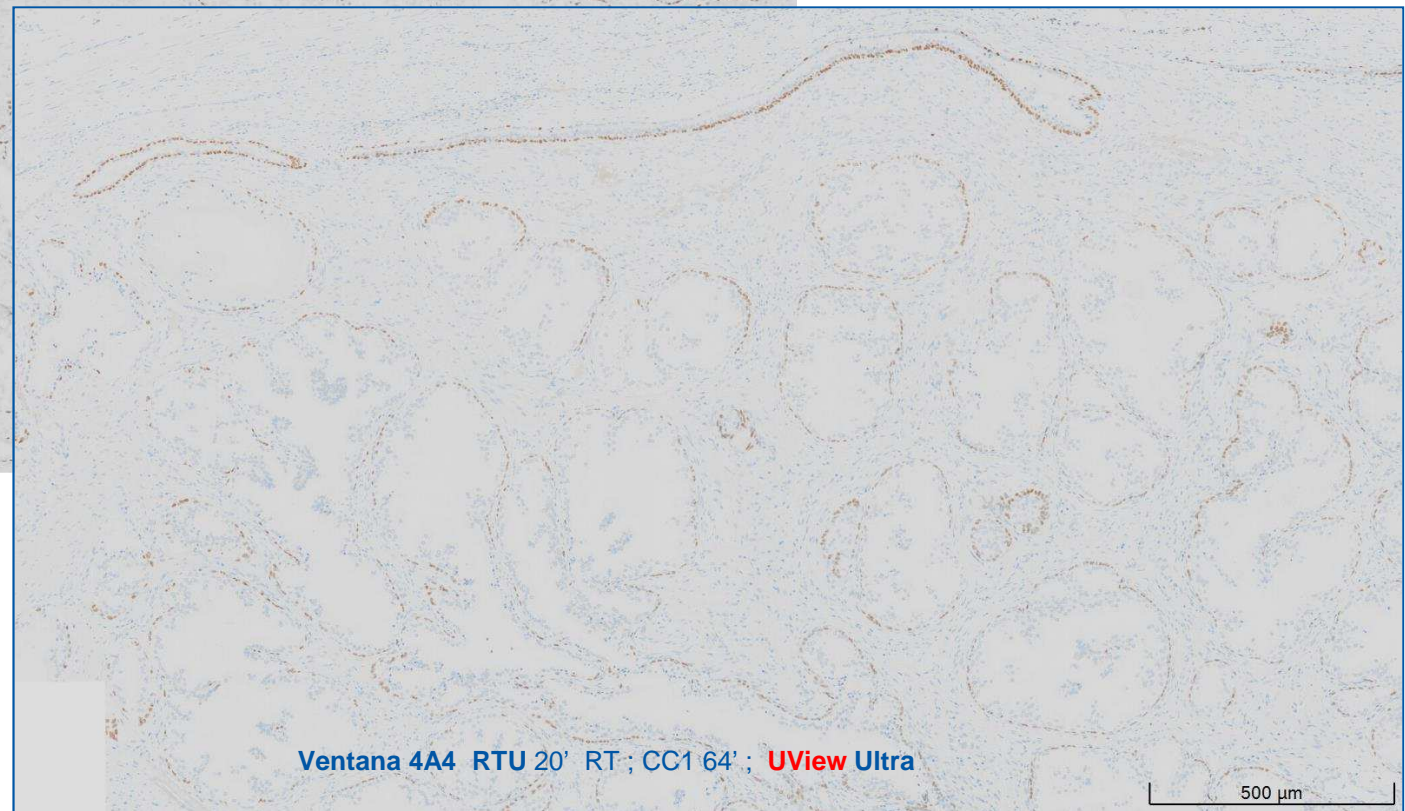
minstens zwakke tot matige (nucleaire) aankleuring van verspreide cytotrofoblastische cellen



Antistof P63 hyperplasie

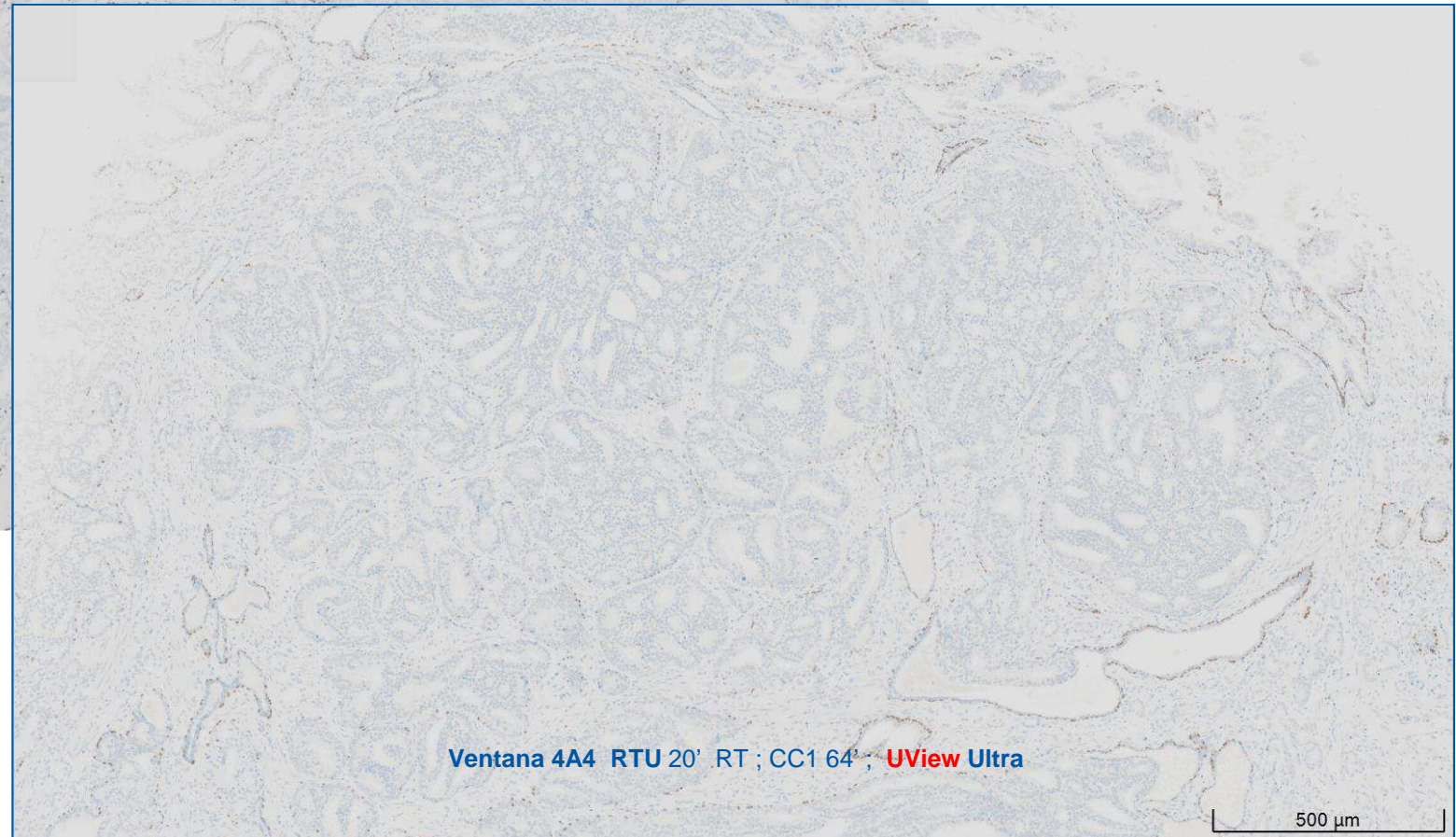
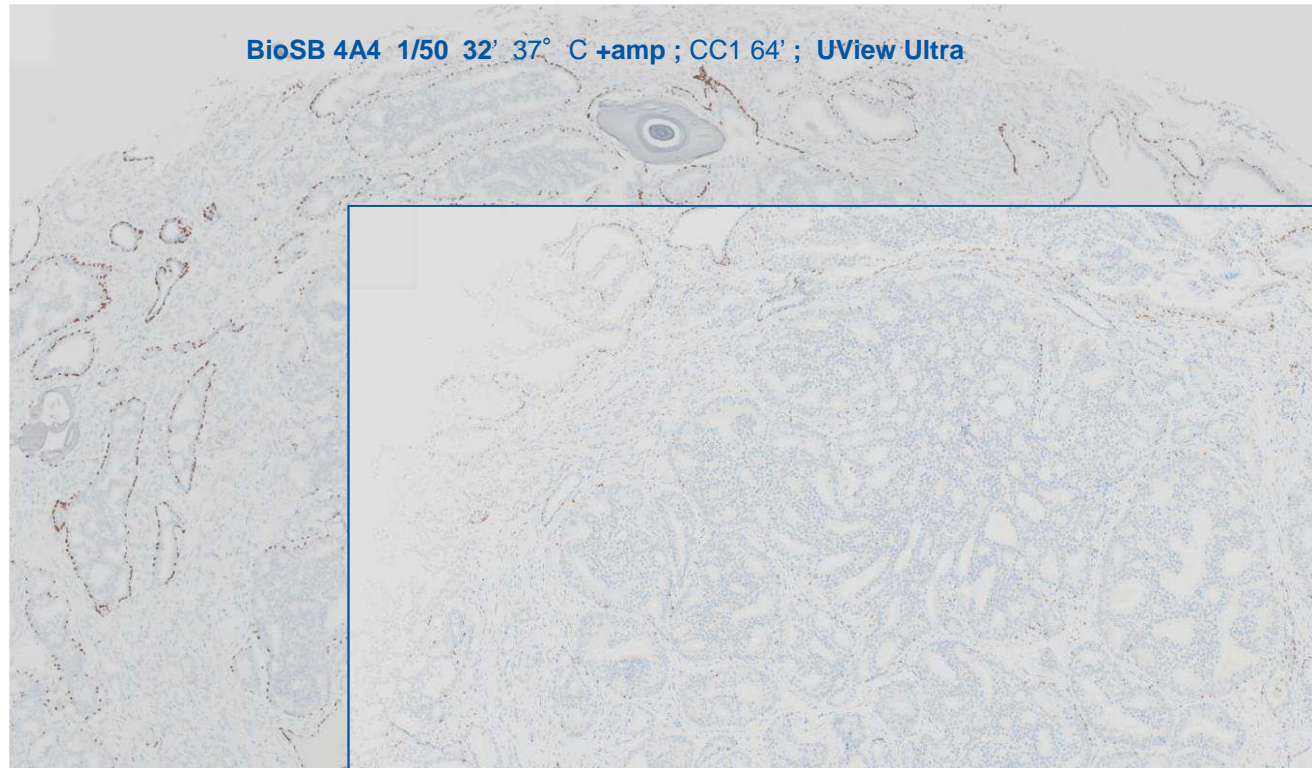


Matig / sterke expressor expressor



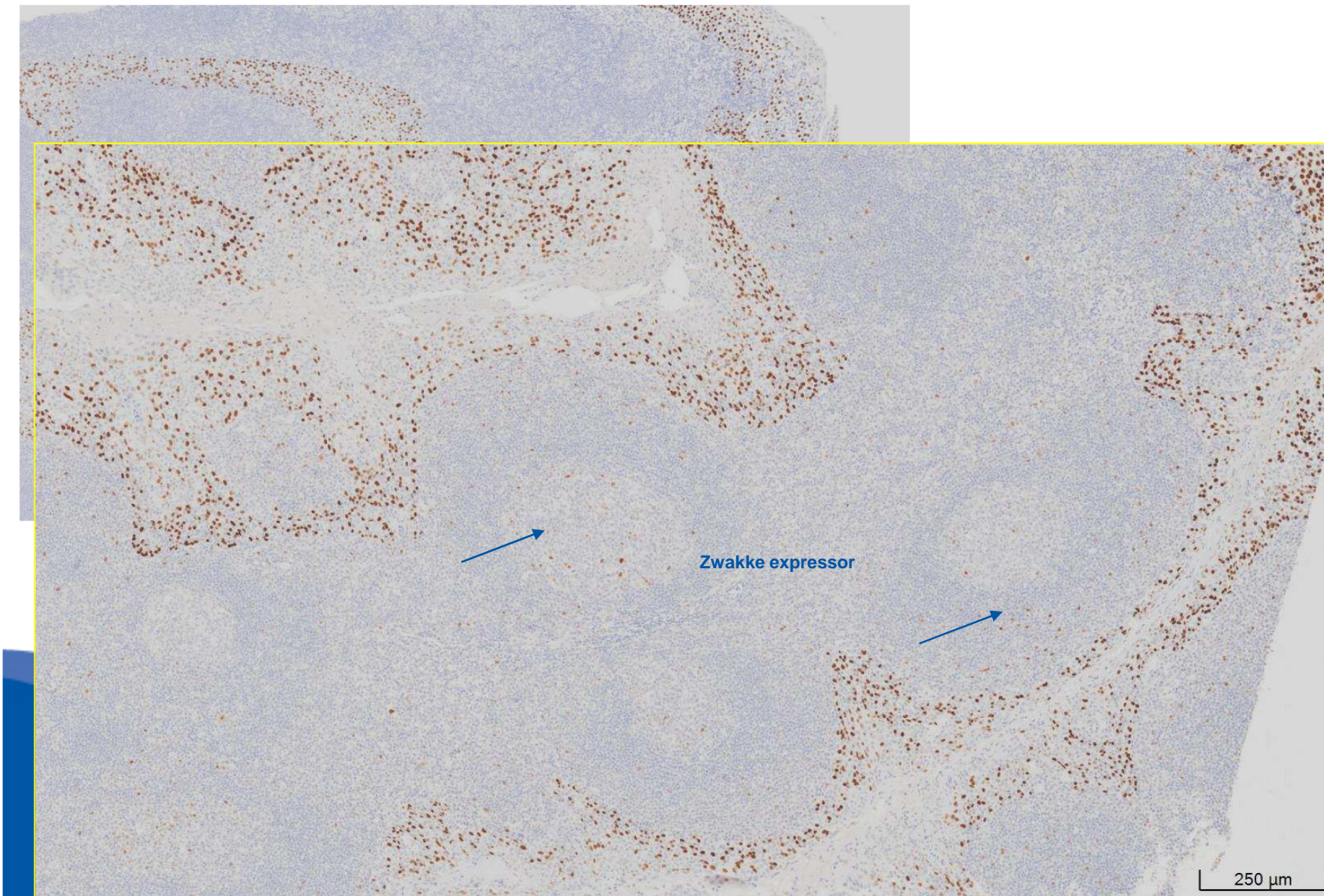
- matig tot sterke aankleuring in de basale cellen van de hyperplastische klieren
- geen aankleuring in de secreterende cellen van de hyperplastische klieren

Antistof P63 PIN+Adca

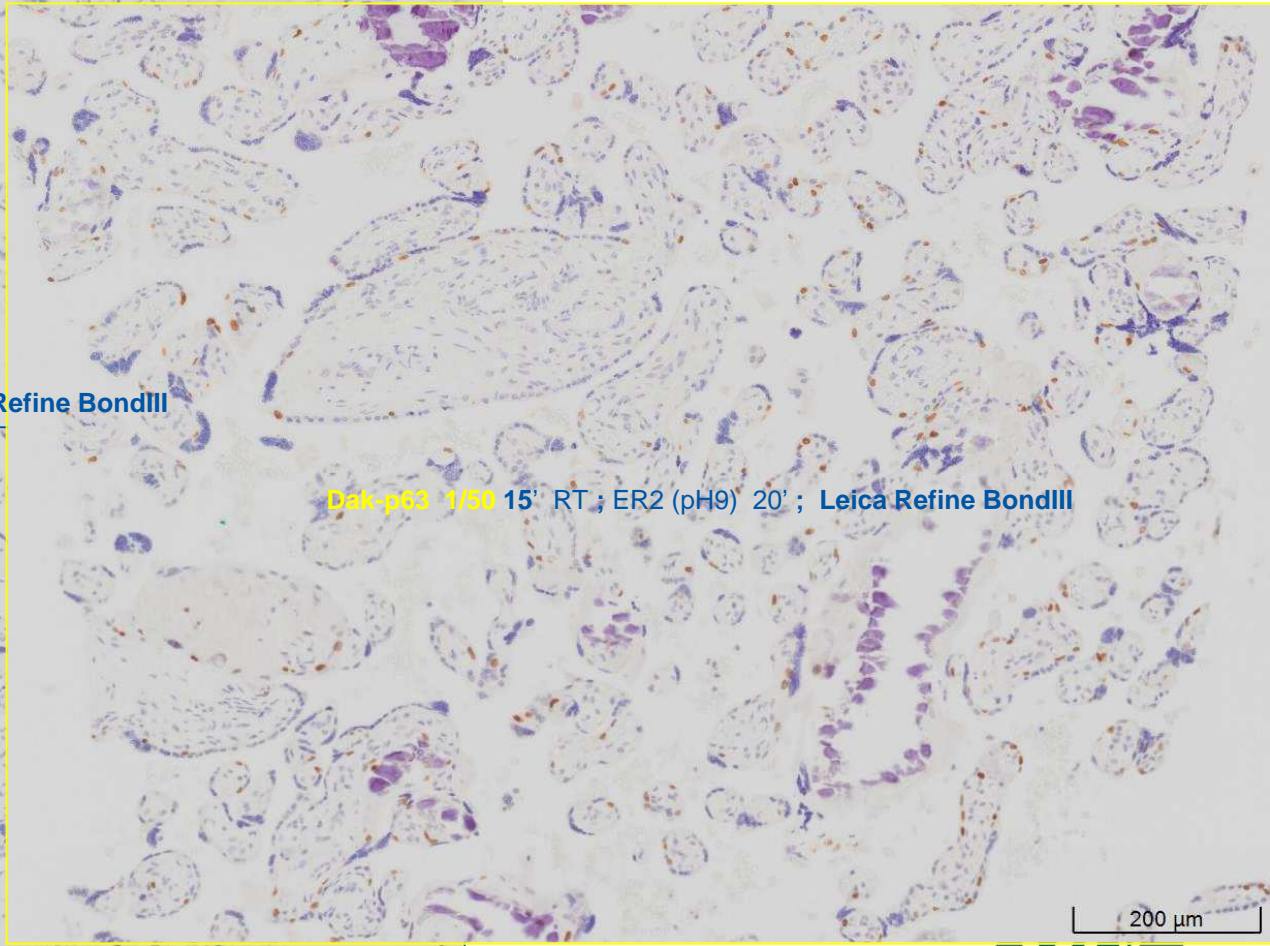
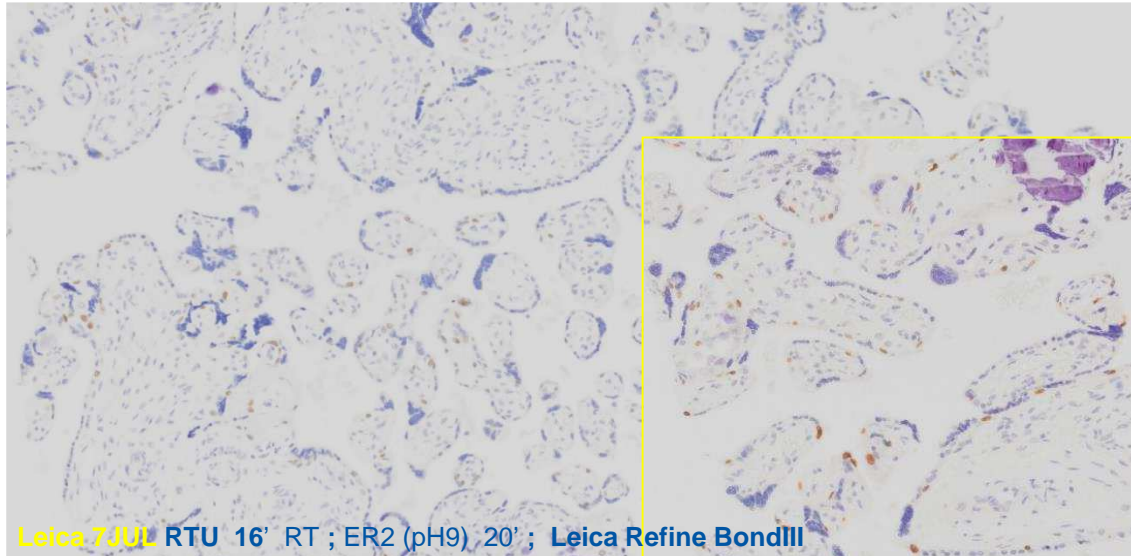


- matig tot sterke (nucleaire) aankleuring in de basale cellen van de PIN
- geen aankleuring in de secreterende cellen van de hyperplastische klieren
- geen aankleuring in de neoplastische klieren

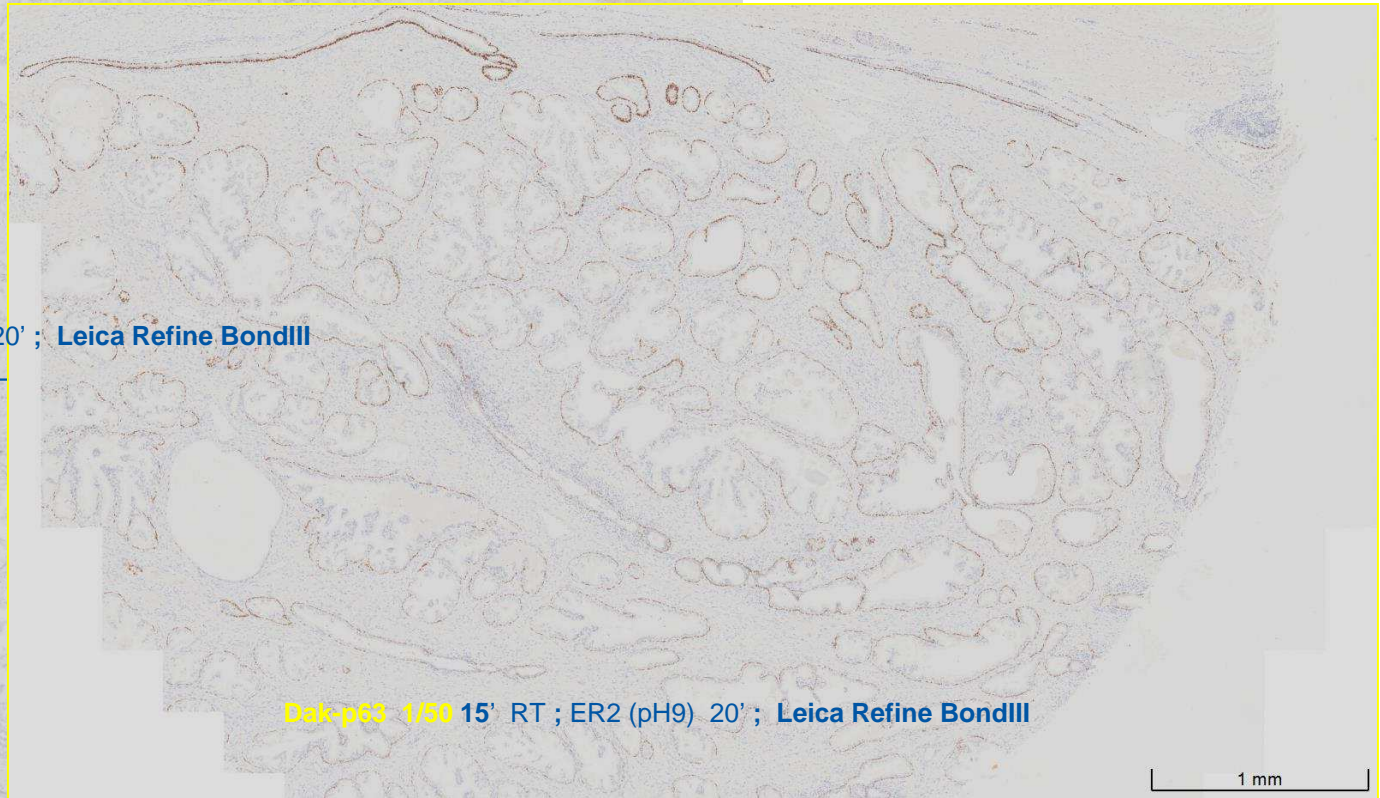
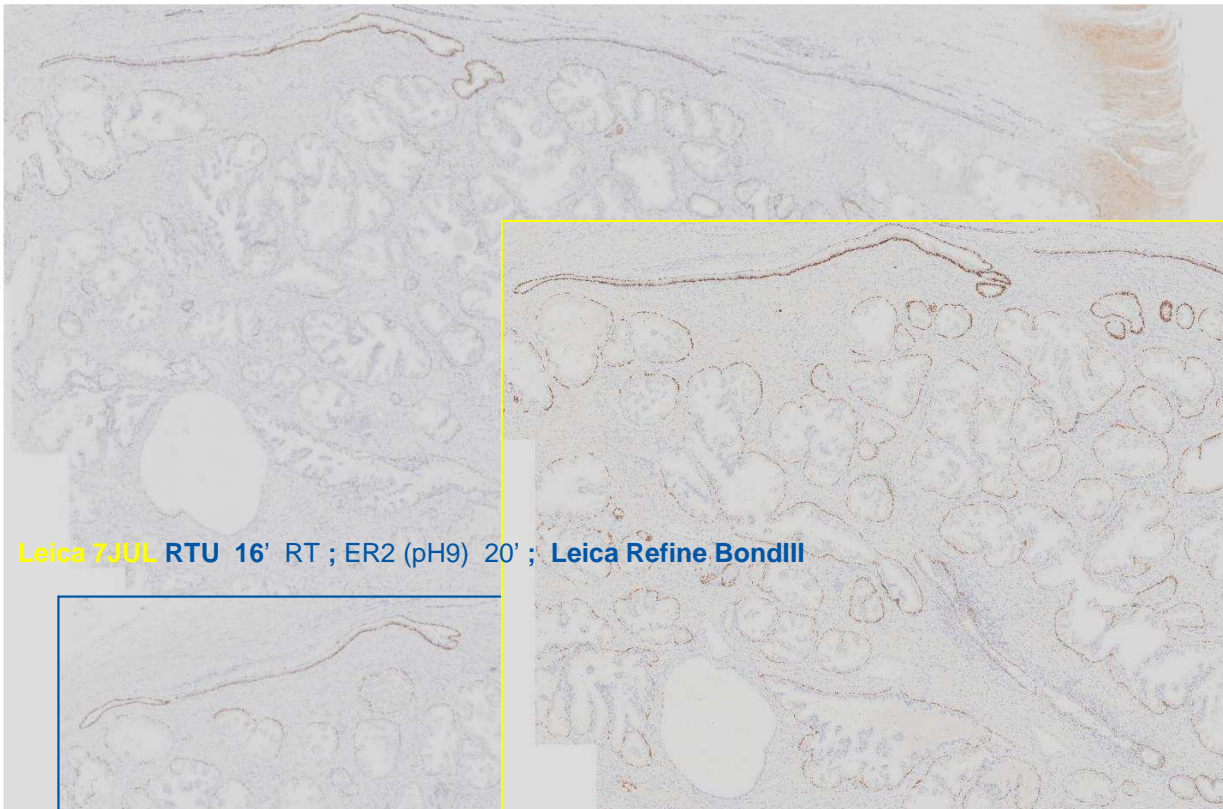
Antistof P63



Antistof P63



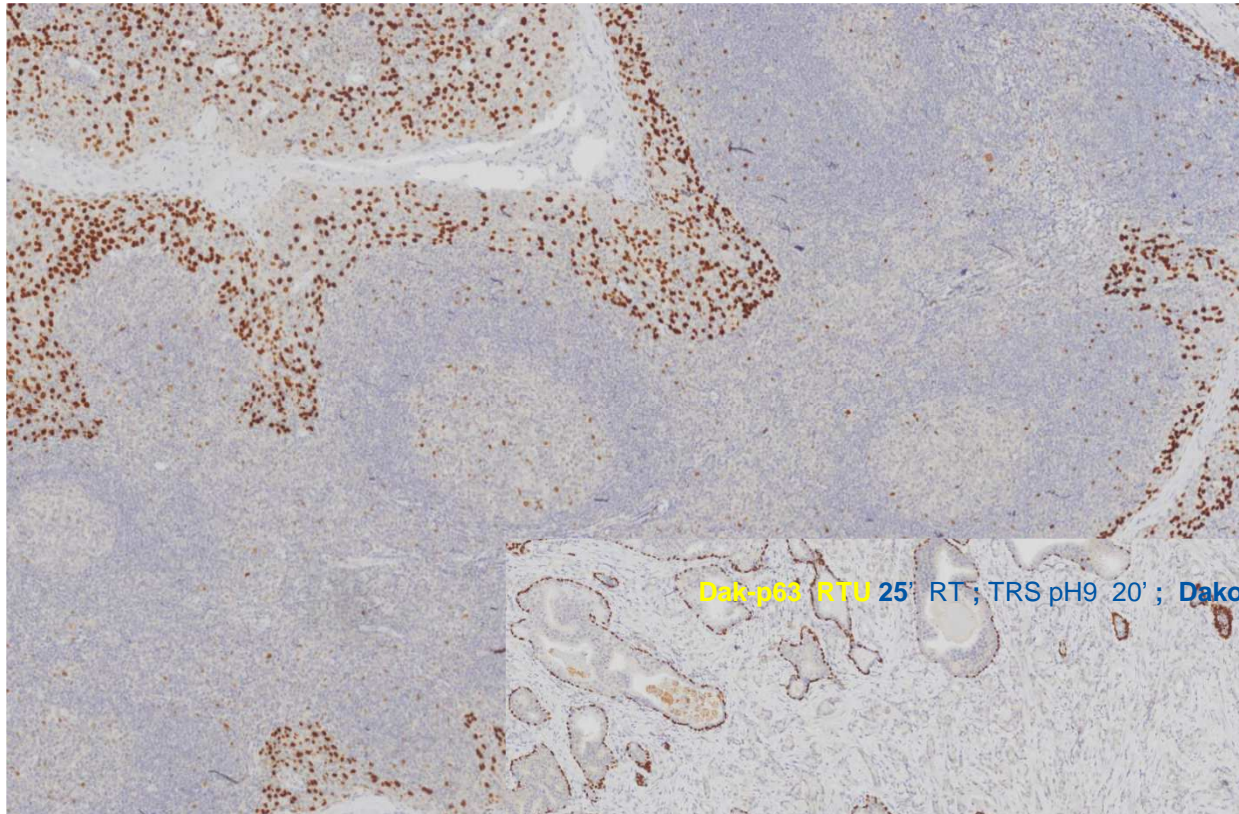
Antistof P63



1 mm

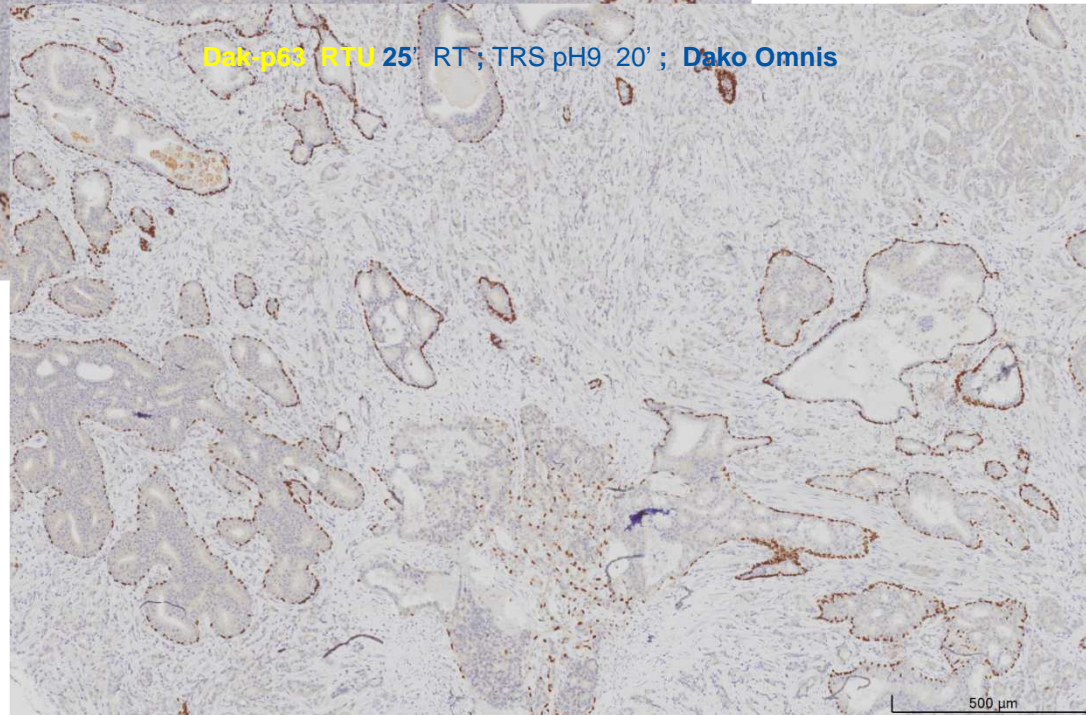


Antistof P63

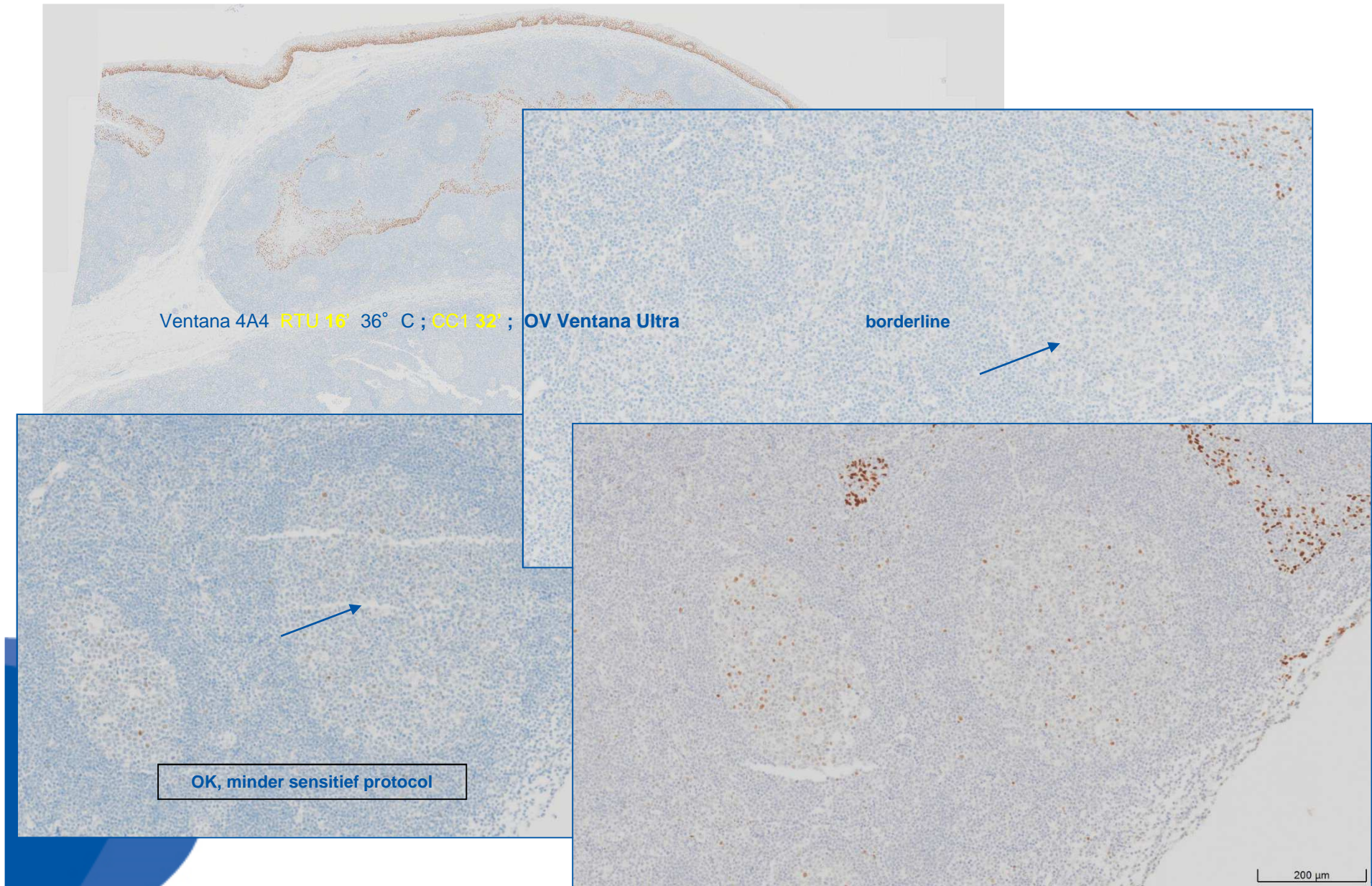


Dak-p63 RTU 25' RT ; TRS pH9 20' ; Dako Omnis

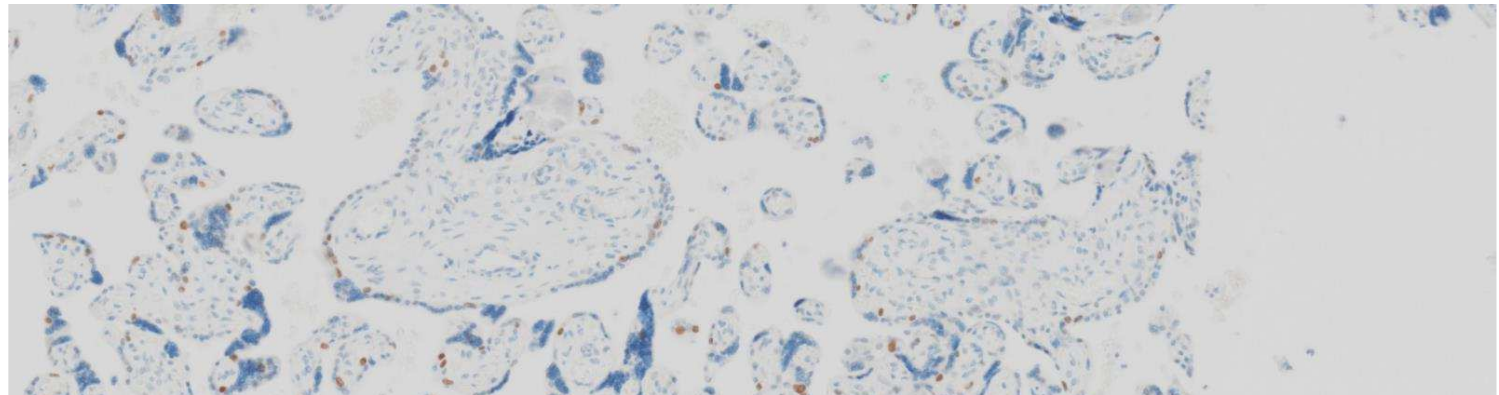
Poor signal-to-noise ratio → good



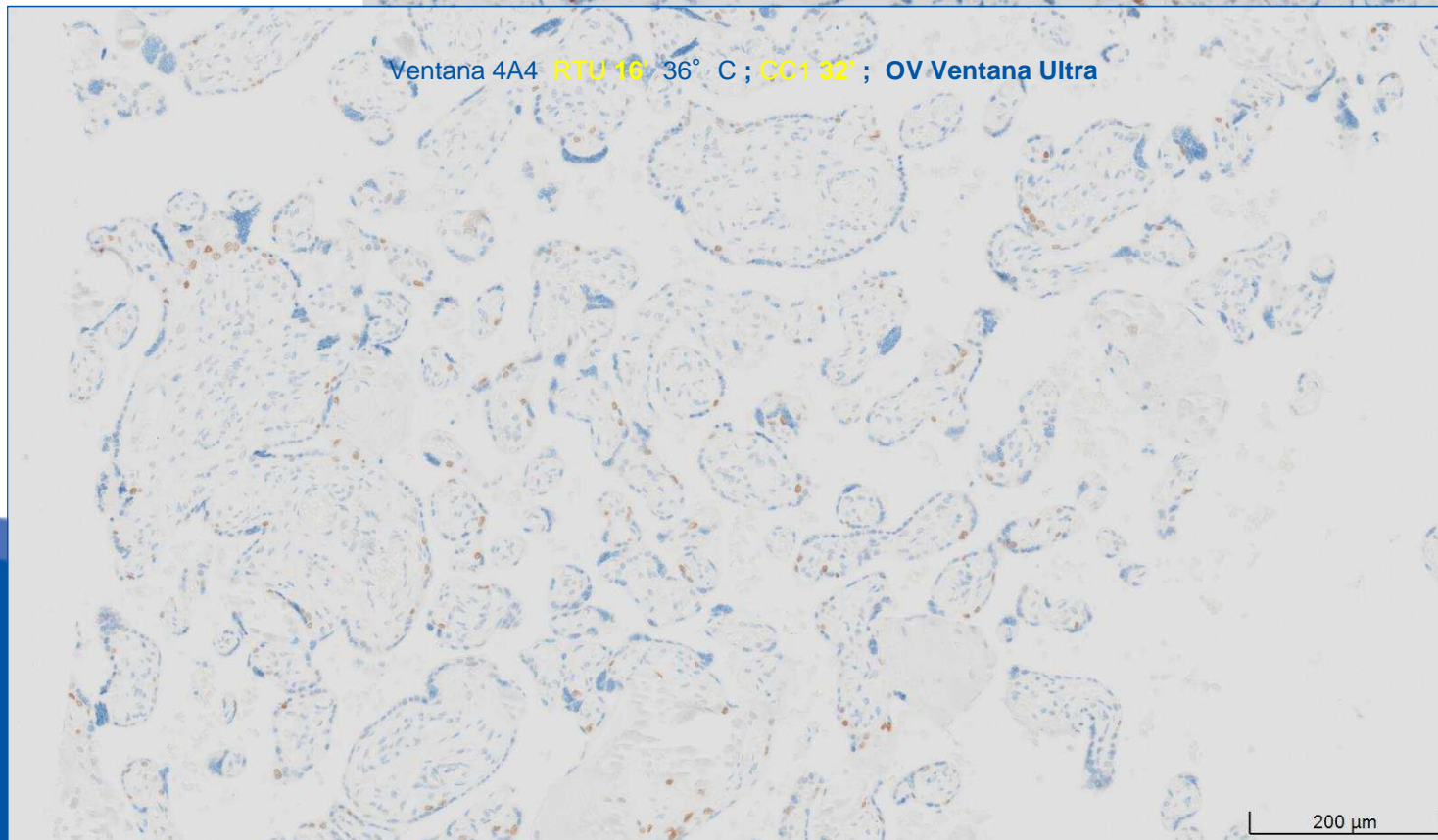
Antistof P63 same protocol



Antistof P63 same protocol



Ventana 4A4 RTU 16' 36° C ; CC1 32' ; OV Ventana Ultra

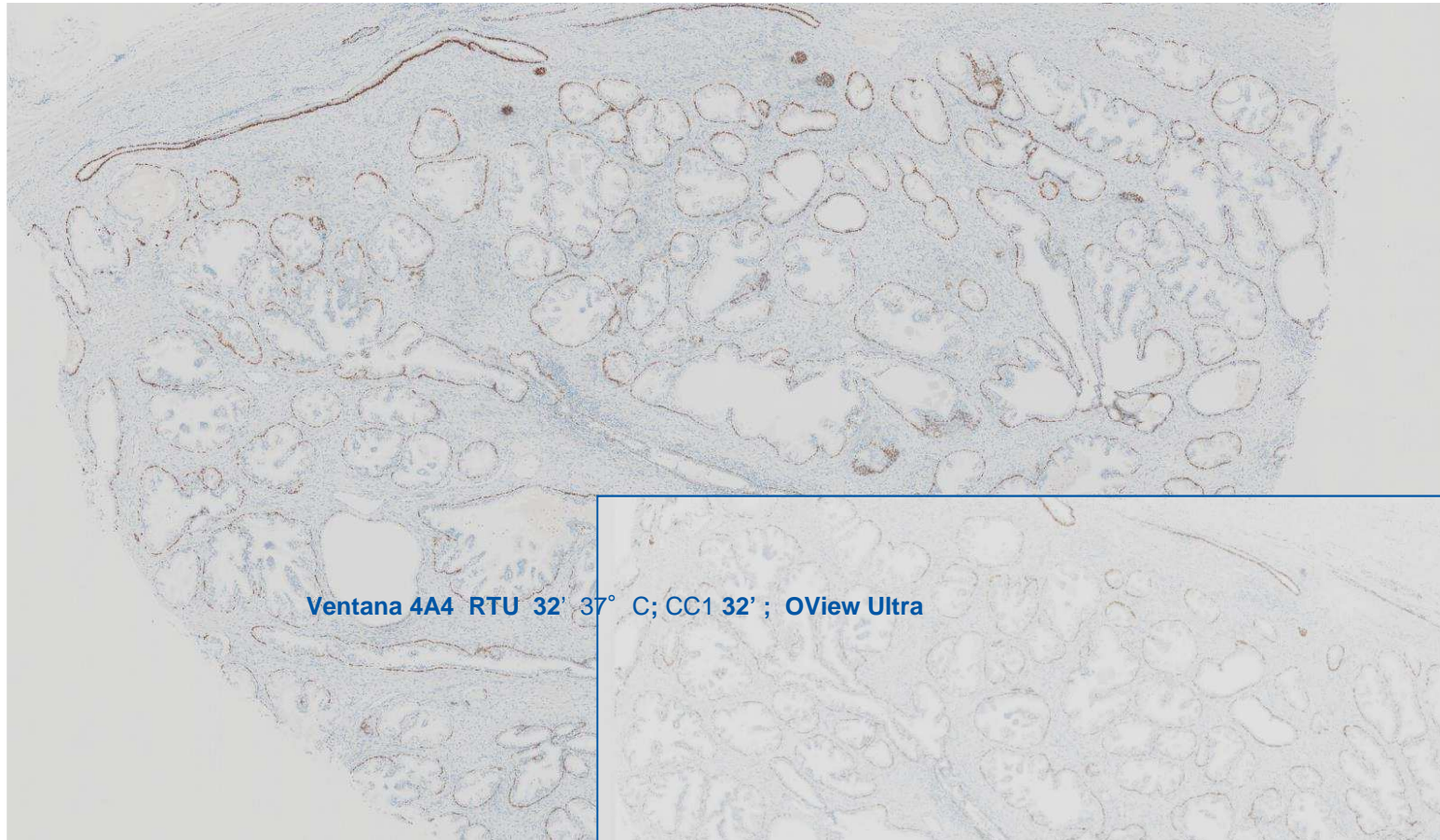


200 μm

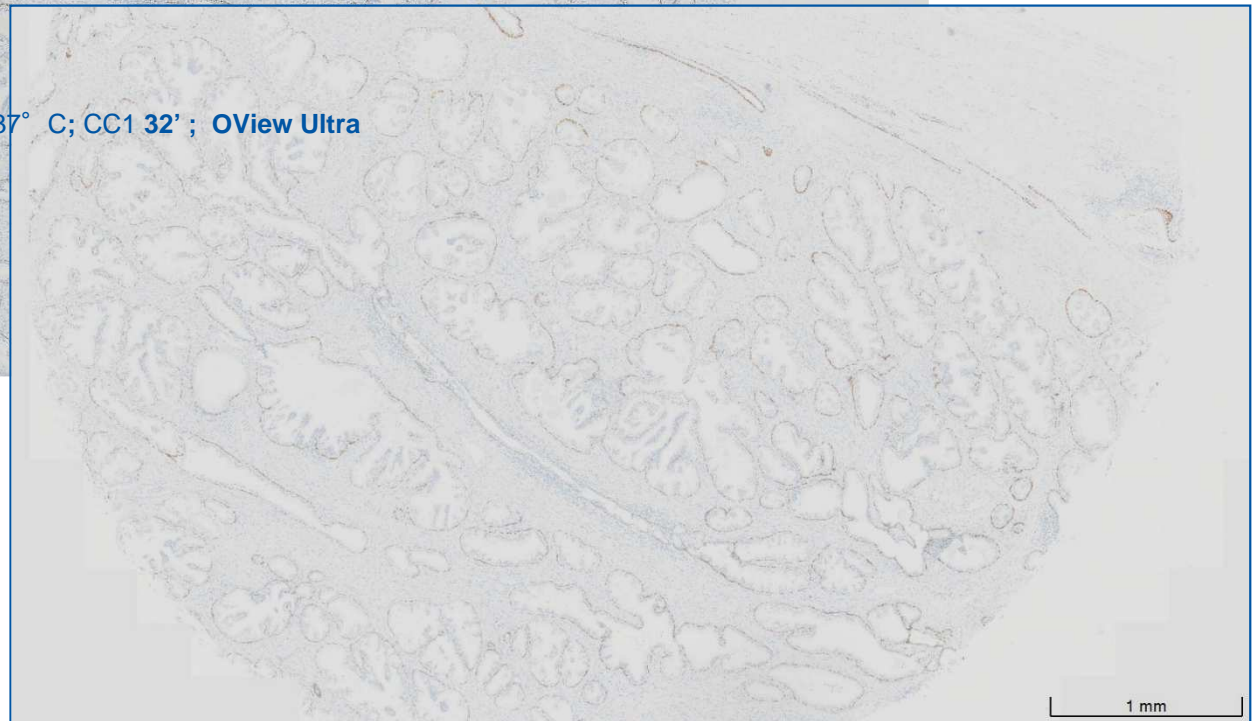
200 μm



Antistof P63 same protocol



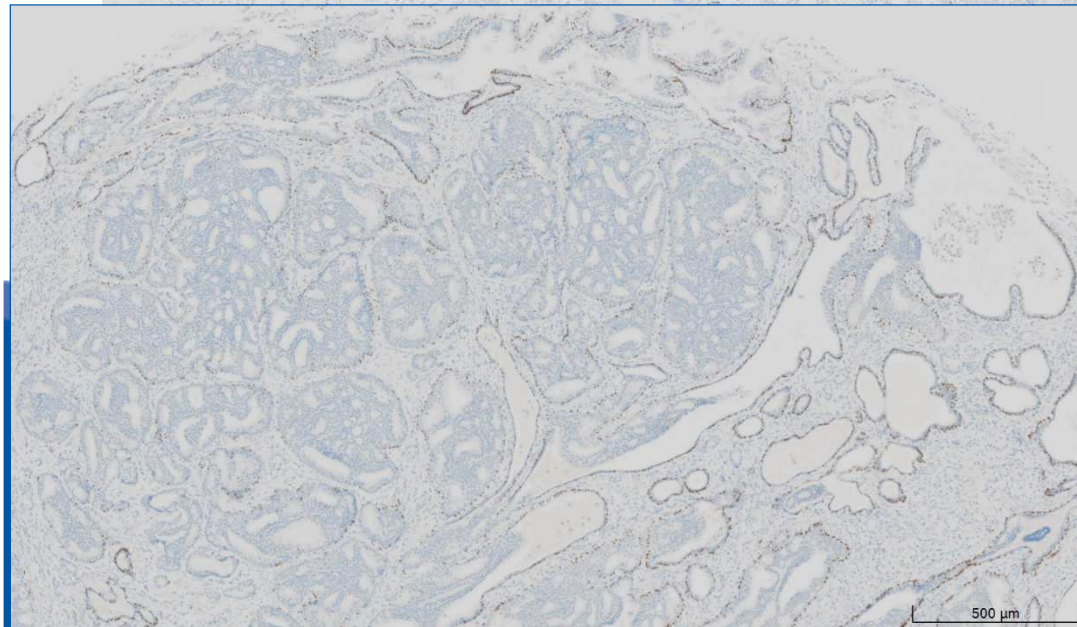
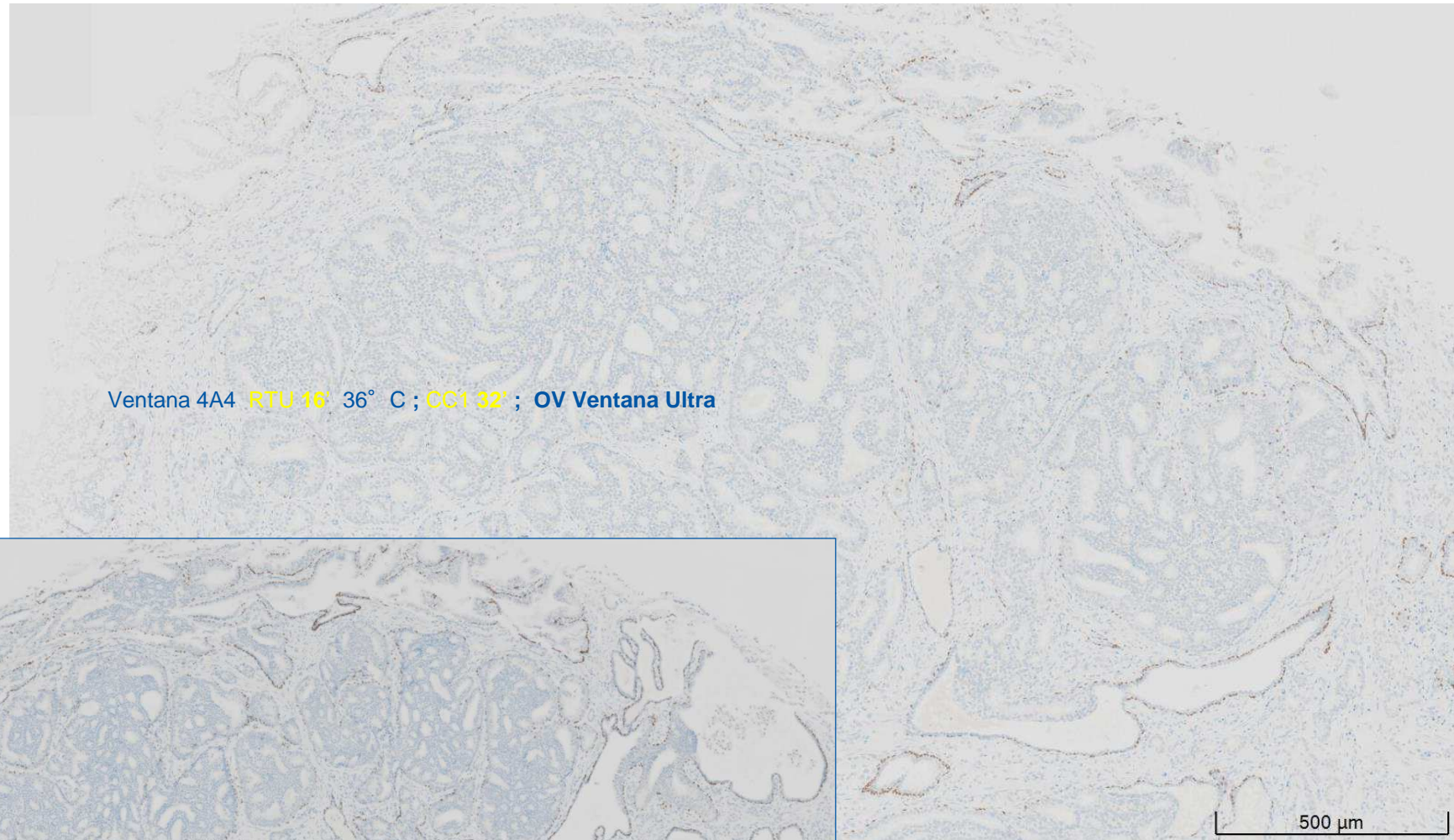
Ventana 4A4 RTU 32' 37° C; CC1 32' ; OView Ultra



1 mm



Antistof P63 same protocol



Resultaatbespreking p63

- Algemeen
 - n=62
 - Algemeen 89% geslaagd, 79% optimaal



		EKE 2023		OLV 2013		NQC 2021	
	n		suff	%	suff	%	suff
Optimaal	49	79%	89%	67%	75%	37%	79%
Goed	6	10%		8%		42%	
Borderline	4	6%		13%		16%	
Onvoldoende	3	5%	11%	8%		5%	

* slechts 25 labs: tonsil, prostaat, borst

Resultaatbespreking p63

- Opgesplitst per clone producent
 - Concentrated: 86% optimaal



n=7	Dako DAK-p63	% suff	4A4 BioSB	% suff	7JUL Leica	% suff
	n=5		n=1		n=1	
optimaal	5	100%	1	-	0	-
goed	0	-	0	-	0	-
borderline	0	-	0	-	0	-
onvoldoende	0	-	0	-	1	-
Totaal suff.	100%		1/1	-	0/1	-
<i>NQC 2021</i>	<i>85%</i>		<i>72%</i>		<i>1/10 (n=10)</i>	

Concentrated antibodies	Dako/Agilent Autostainer		Dako/Agilent Omnis		Ventana/Roche BenchMark GX / XT / Ultra		Leica Bond III / Max	
	TRS pH 9.0	TRS pH 6.1	TRS pH 9.0	TRS pH 6.1	CC1 pH 8.5	CC2 pH 6.0	ER2 pH 9.0	ER1 pH 6.0
mAb clone 4A4	0/3**	0/1	1/2	-	9/20 (45%)	-	1/7 (14%)	0/1
mAb clone DAK-p63	0/3	-	4/9 (44%)	0/1	17/24 (71%)	-	0/9	-
mAb clone 7JUL	-	-	-	-	0/4	-	0/6	0/1

* Antibody concentration applied as listed above, HIER buffers and detection kits used as provided by the vendors of the respective systems.

** (number of optimal results/number of laboratories using this buffer).

Nordic Immunohistochemical Quality Control, p63 run 61 2021



Antistof P63

Besluit:

- Conc. AS:
 - 11% deelname
 - 7JUL clone niet geslaagd (n=1)
 - 4A4 BioSB optimaal (n=1)
- Dako DAK-p63:
 - op alle platformen gebruikt (3/5 Ventana)
 - 1/50 – 1/200: 100% optimaal

mAb clone DAK-p63	47	Dako/Agilent	21	19	5	2	85%	45%
--------------------------	----	--------------	----	----	---	---	-----	-----

Bron NordiQC



Resultaatbespreking p63

- Opgesplitst per clone producent
 - RTU: 78% optimaal ; suff. 89%

n=55	Ventana 4A4	% suff	Dako Dak-p63	% suff	Leica 7JUL	% suff
	n=28		n=25		n=2	
optimaal	21	75%	22	88%	0	-
goed	3	11%	3	12%	0	-
borderline	4	14%	0	-	0	-
onvoldoende	0	-	0	-	2	-
Totaal suff	86%		100%		0/2	
<i>NQC 2021</i>	<i>88% VRPS</i>		<i>91-100% VRPS (Autostainer/Omnis)</i>		<i>1/10 (VRPS+LMPS)</i>	

RTU systems	Recommended protocol settings*		Laboratory modified protocol settings**	
	Sufficient	Optimal	Sufficient	Optimal
VMS Ultra/XT mAb 4A4 790-4509	57% (4/7)	0/7	88% (100/114)	52% (59/114)
Dako A548 mAb DAK-p63 IR662	91% (11/12)	17% (2/12)	57% (4/7)	0/7
Dako Omnis mAb DAK-p63 GA662	85% (17/20)	25% (5/20)	100% (13/13)	62% (8/13)
Leica Bond mAb 7JUL PA0103	1/4	0/4	0/6	0/6

* Protocol settings recommended by vendor – Retrieval method and duration, Ab incubation times, detection kit, IHC stainer/equipment.
 ** Significant modifications: retrieval method, retrieval duration and Ab incubation time altered, detection kit – only protocols performed on the specified vendor IHC stainer integrated.



Antistof P63

Besluit:

- RTU:
 - Dak-p63:
 - robuuste clone, 100% geslaagd, 88% optimaal
 - Autostainer (n=3): 100% gestandaardiseerd, 3/3 optimaal
 - Omnis: HIER gestandaardiseerd, AS 12-30', downgrade 'goed' owv achtergrond (AS tijden)

- 4A4:
 - 11% niet geslaagd

- 75% optimaal, 89% geslaagd → protocol:

- 3 goed: zwakke expressor kan beter

- 4 borderline: geen duidelijke oorzaak

UV:

algemeen onvoldoende aankleuring (zwakke
amplifier niet noodzakelijk, zelfs bij kortere I

OV:

8/9 optimaal

gelijke settings : opt. vs borderline → toestel
geen OV datasheet protocol



Nordic Immunohistochemical Quality Control
Institute of Pathology, Aalborg University Hospital, Ladegaardsgade 3, P.O.Box 561, DK-9100 Aalborg, Denmark

Recommended protocol for p63

Obtained in run 61

08 Dec 2020

Immunostainer

Type: Ventana Benchmark Ultra

Primary antibody

Clone: 4A4 1/9 deelnemer
Producer: Ventana
Product no. / lot no.: 790-4509 / G10176
Format: Ready-To-Use (prediluted)
Incubation time / temperature: 32 min. / 36°C

Epitope retrieval, HIER

Device: On Board / On Machine
Buffer: Ventana Ultra CC1
Heating time at max. temp.: 64 min.
Maximum heating temp.: 95°C

Visualization system

Producer: Ventana
Product / no: OptiView DAB IHC Detection Kit / 760-700
Incubation time linker: 8 min.
Incubation time polymer: 8 min.
Incubation temperature: 20°C



Antistof P63

Besluit:

- RTU:
 - 7JUL:
 - ER2 20' en AS 15' RT
 - 0/2 geslaagd
 - Onvoldoende aankleuring in alle weefsels

Nordic Immunohistochemical Quality Control, p63 run 61 2021

RTU systems	Recommended	Laboratory modified
-------------	-------------	---------------------

glands of prostate hyperplasia, PIN and scattered lymphocytes in the tonsil (Figs. 4a-4b). The mAb clone 7JUL also showed low pass rates in previous p63 assessments with no laboratories obtaining optimal marks. Consequently, laboratories using mAb clone 7JUL should consider changing to one of the more sensitive/robust clones, 4A4 or DAK-p63.

GA662				
DAKO BOND mAb 7JUL PA0103	1/4	0/4	0/6	0/6

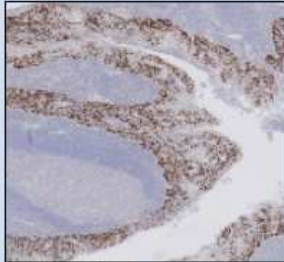

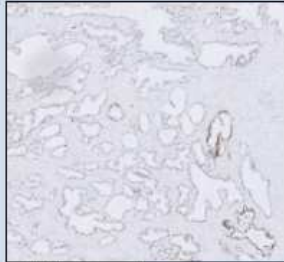
* Protocol settings recommended by vendor – Retrieval method and duration, Ab incubation times, detection kit, IHC stainer/equipment.
** Significant modifications: retrieval method, retrieval duration and Ab incubation time altered, detection kit – only protocols performed on the specified vendor IHC stainer integrated.

Antistof P63

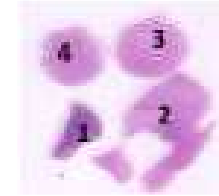
Besluit:

- Controles
 - 58%
 - Aanbevolen:

p63 - p63 protein

Control type	Positive tissue control High expression level	Positive tissue control Low expression levels	Negative tissue control
Tissue	Tonsil	Placenta	Prostate
Description	<p>Virtually all squamous epithelial cells must show a moderate to strong distinct nuclear staining reaction.</p> <p><i>Note, dispersed lymphocytes and endothelial cells in postcapillary venules should show a weak to moderate nuclear staining reaction due to low level p63 expression.</i></p>	<p>Dispersed cytotrophoblastic cells must show an at least weak to moderate, distinct nuclear staining reaction.</p>	<p>No staining reaction should be seen in the luminal epithelial and smooth muscle cells.</p> <p><i>Note, basal epithelial cells must be demonstrated and dispersed lymphocytes can show a weak to moderate nuclear staining reaction.</i></p>
Example	 <p>Click to enlarge</p>	 <p>Click to enlarge</p>	 <p>Click to enlarge</p>

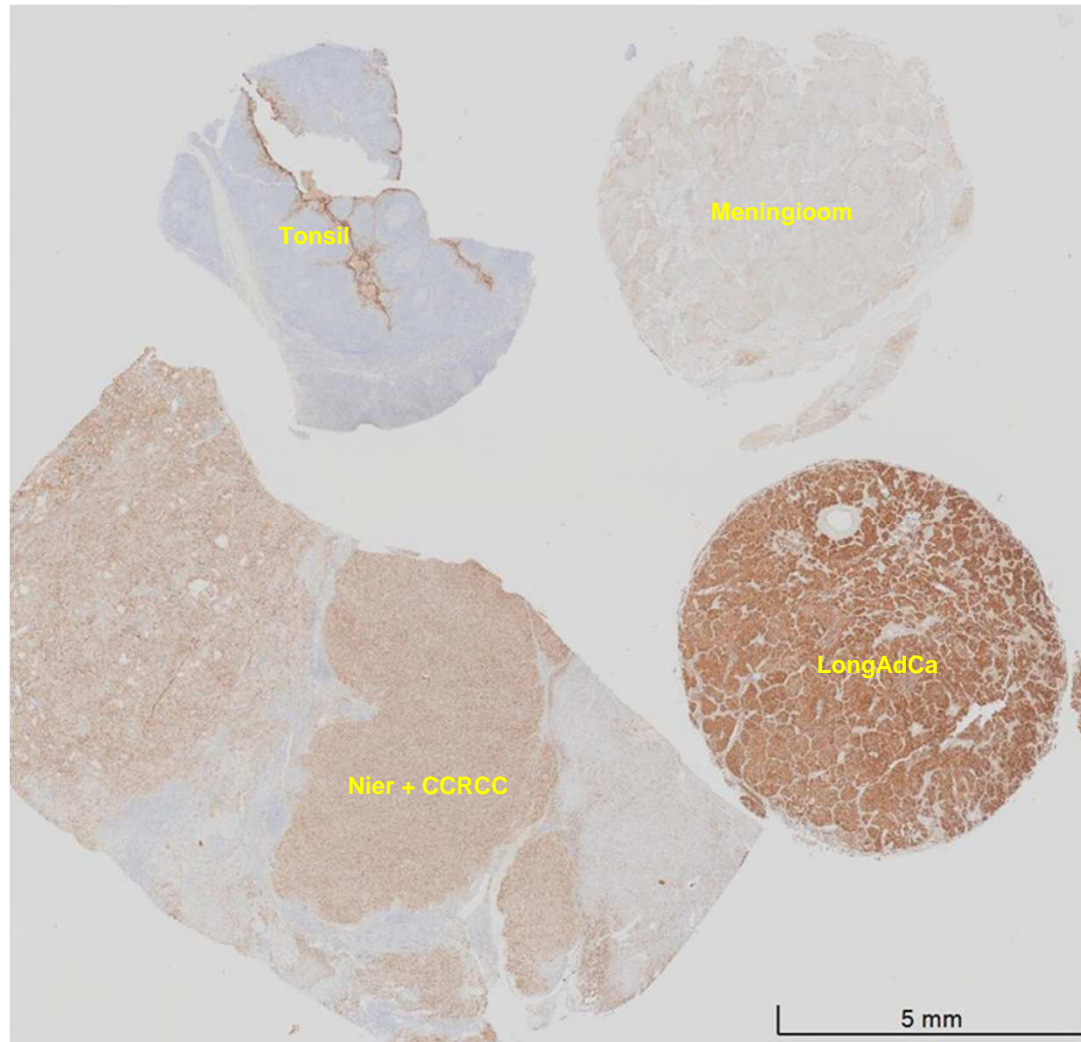
Antistof EMA



- Scoringscriteria: cytoplasmatisch/membranair aankleuring
 - Tonsil:
 - matig tot sterke (cytoplasmatische) aankleuring van de meeste intermediaire en oppervlakkige plaveiselcellen
 - minstens zwakke (voornamelijk membranaire) aankleuring van de plasmacellen (controle sensitiviteit)
 - Nier + CCRCC:
 - matig tot sterke (voornamelijk cytoplasmatische) aankleuring van de epitheelcellen van de collecterende tubuli
 - minstens zwakke tot matige (voornamelijk membranaire en 'dot-like' cytoplasmatische) aankleuring van de meeste neoplastische cellen (controle sensitiviteit)
 - geen aankleuring in de epitheelcellen van de proximale tubuli (controle specificiteit)
 - Long AdCa:
 - sterke (voornamelijk cytoplasmatische) aankleuring van bijna alle neoplastische cellen
 - Meningioom:
 - minstens zwakke tot matige (voornamelijk membranaire en 'dot-like' cytoplasmatische) aankleuring van de meeste neoplastische cellen (controle sensitiviteit)



Antistof EMA overzicht



Resultaatbespreking EMA

- Algemeen
 - n=64
 - Algemeen 88% geslaagd, 61% optimaal



		EKE 2023		OLV 2013		NQC 2010	
	n		<i>suff</i>	%	<i>suff</i>	%	<i>suff</i>
Optimaal	39	61%	88%	56%	75%	62%	94%
Goed	17	27%		36%		32%	
Borderline	8	12%	12%	4%		5%	
Onvoldoende	0	-		4%		1%	

* slechts 25 labs: tonsil/appendix, lever, meningioom

Resultaatbespreking EMA

- Opgesplitst per clone producent
 - Concentrated: 83% optimaal

n=6	Dako E29	% suff
optimaal	5	83%
goed	0	
borderline	1	17%
onvoldoende	0	
Totaal suff.	83%	
<i>NQC 2010</i>	<i>95%</i>	

Concentrated Abs	N	Vendor	Optimal	Good	Borderl.	Poor	Suff. ¹	Suff. OPS ²
mAb clone E29	108	Dako	76	34	5	1	95 %	99 %
	5	NeoMarkers						
	1	BioGenex						
	1	Cell Marque						
	1	Master Diagnostica						
mAb clone GP1.4	2	Novocastra	2	2	0	0	-	-
	2	NeoMarkers						
mAb clone Mc5	2	Biocare	1	1	1	0	-	-
	1	BioGenex						

Nordic Immunohistochemical Quality Control, EMA run 28 2010



Antistof EMA

Besluit:

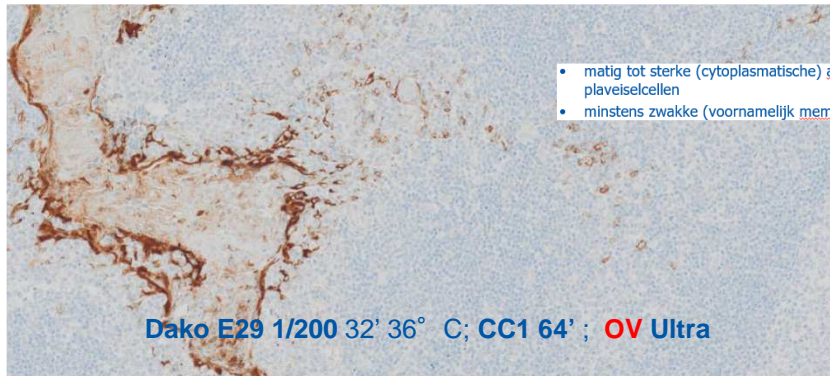
- Conc. AS:
 - 9% deelname
- Enkel Dako E29: op alle platformen gebruikt: AS verdunning!
 - BondIII: 1/800 15'RT → optimaal
 - Omnis
1/400 +linker → optimaal
- Ventana (n=8):
 - AS32' maar
 - UV: 1/50 - 1/200, CC1 8'
 - OV 1/200 CC1 64'
 - voldoende lange HIER én gekalibreerde verdunning= geslaagd



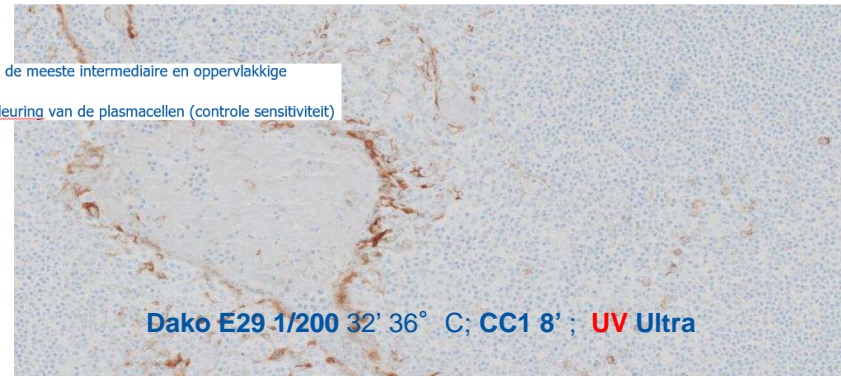
Antistof EMA

Besluit:

- Conc. AS:



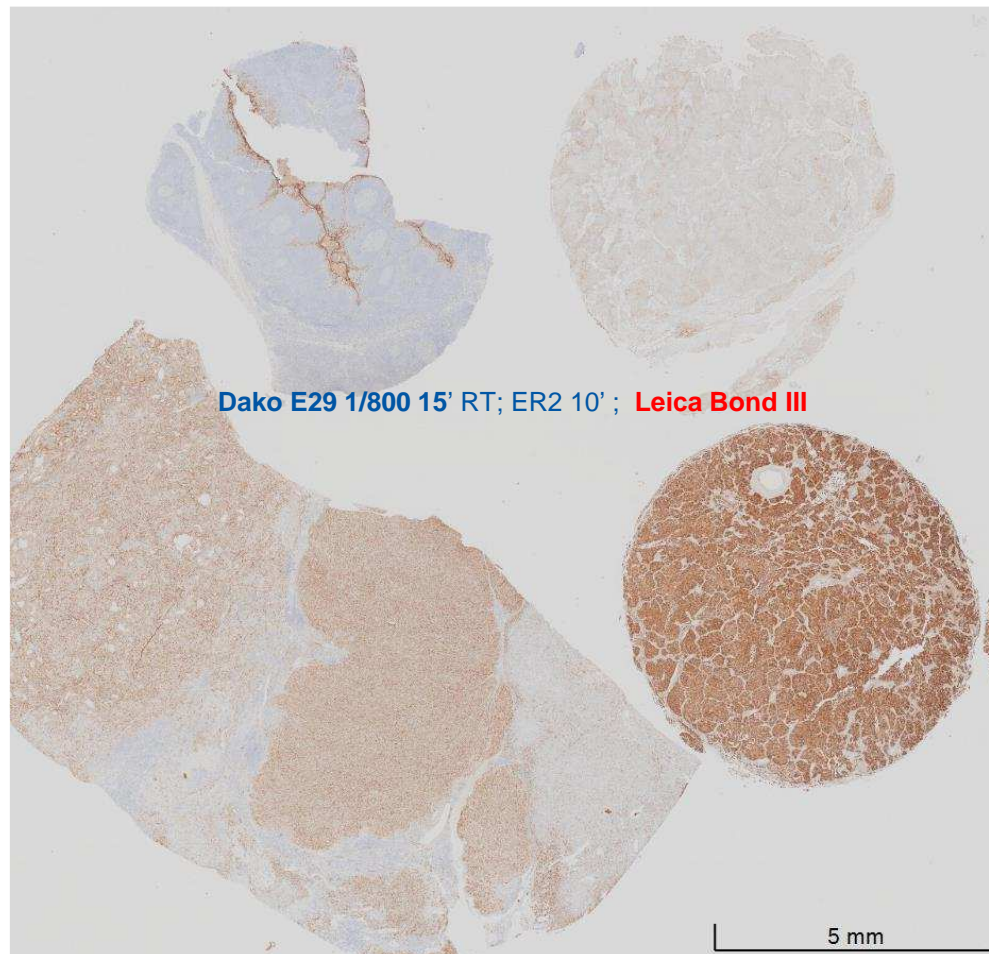
- matig tot sterke (cytoplasmatische) **aankleuring** van de meeste intermediaire en oppervlakkige plaveiselcellen
- minstens zwakke (voornamelijk **membranaire**) **aankleuring** van de plasmacellen (controle sensitiviteit)



Antistof EMA

Besluit:

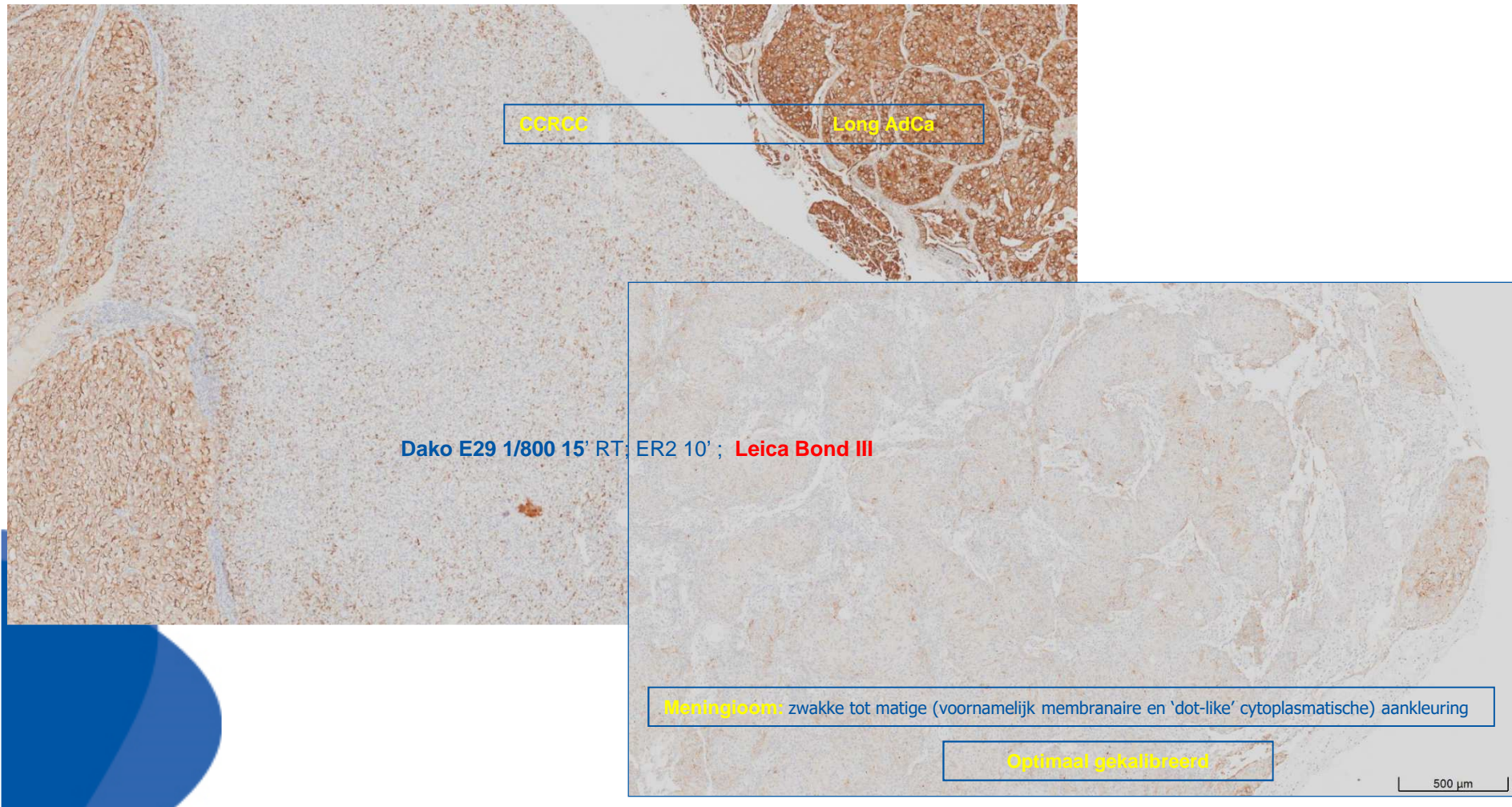
- Conc. AS:



Antistof EMA

Besluit:

- Conc. AS:



Resultaatbespreking EMA

- Opgesplitst per clone producent
 - RTU: 58% optimaal ; suff. 88%

n=58	<i>Ventana E29</i>	<i>% suff</i>	<i>Dako E29</i>	<i>% suff</i>	<i>Leica GP1.4</i>	<i>% suff</i>
	n=27		n=29		n=2	
optimaal	11	41%	21	72%	2	-
goed	13	48%	4	14%	0	-
borderline	3	11%	4	14%	0	-
onvoldoende	0	-	0	-	0	-
Totaal suff	89%		86%		2/2	
<i>NQC 2010</i>	<i>87%</i>		<i>100%</i>		<i>2/2</i>	

Antistof EMA

Besluit:

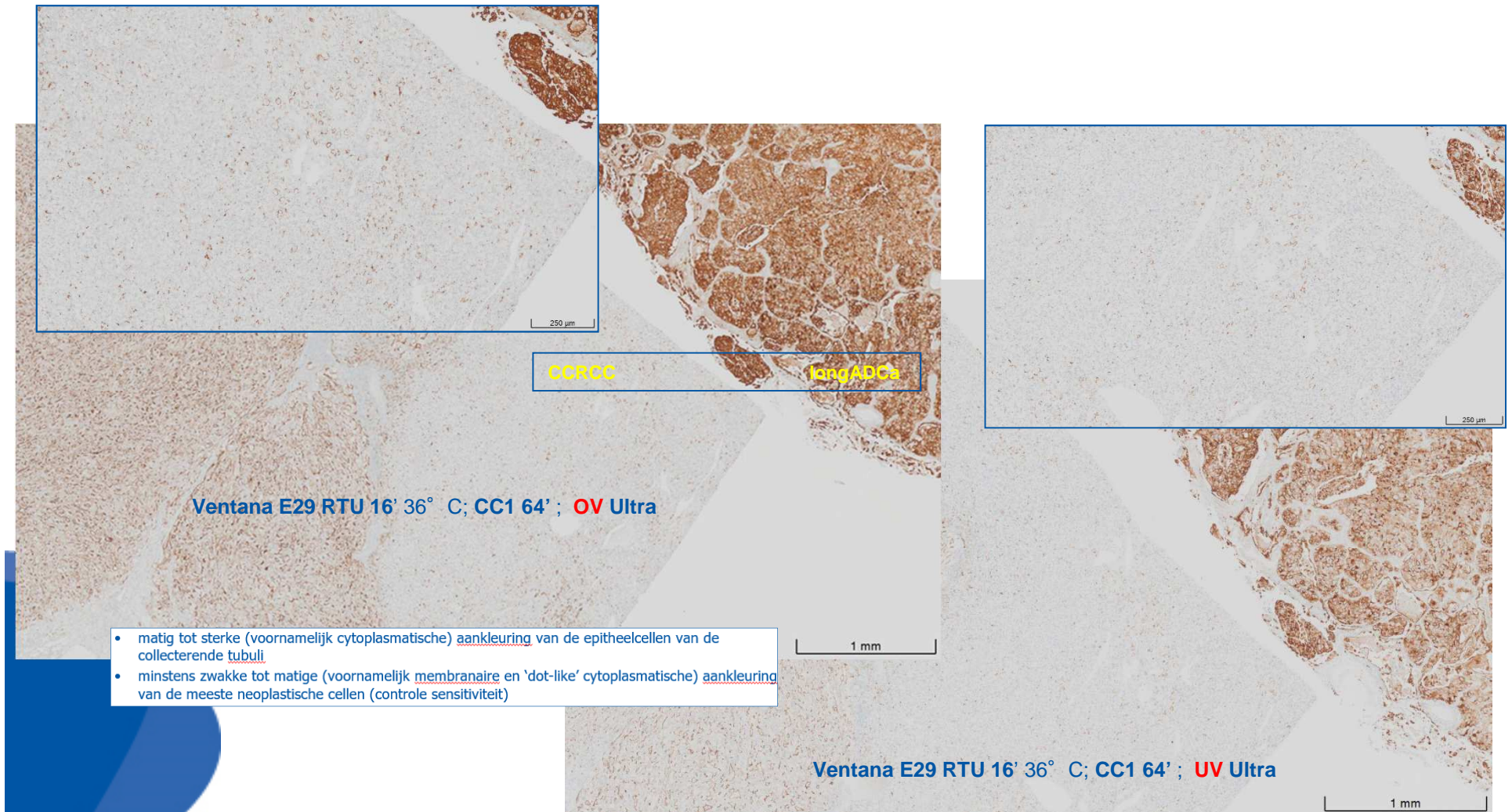
- RTU: UV Ventana E29
 - 4/24 niet geslaagd → borderline: meningioom NOK, zelfs met amplifier
 - 2/24 datasheet: AS20' (XT 16') ; CC1 64' → 1 optimaal
 - Langere AS tijd en/of amplifier : geen garantie op succes
 - Kortere HIER: net geslaagd, meningioom zwakker
 - geen OV? hoewel revisie 8/2022
- RTU: OV Ventana E29
 - 7/7 geslaagd
 - downgrade 'goed' owv meningioom zwak
 - ampl niet nodig voor optimaal result
 - voldoende HIER én AS = optimaal (bv. CC1 64, AS32)



Antistof EMA

Besluit:

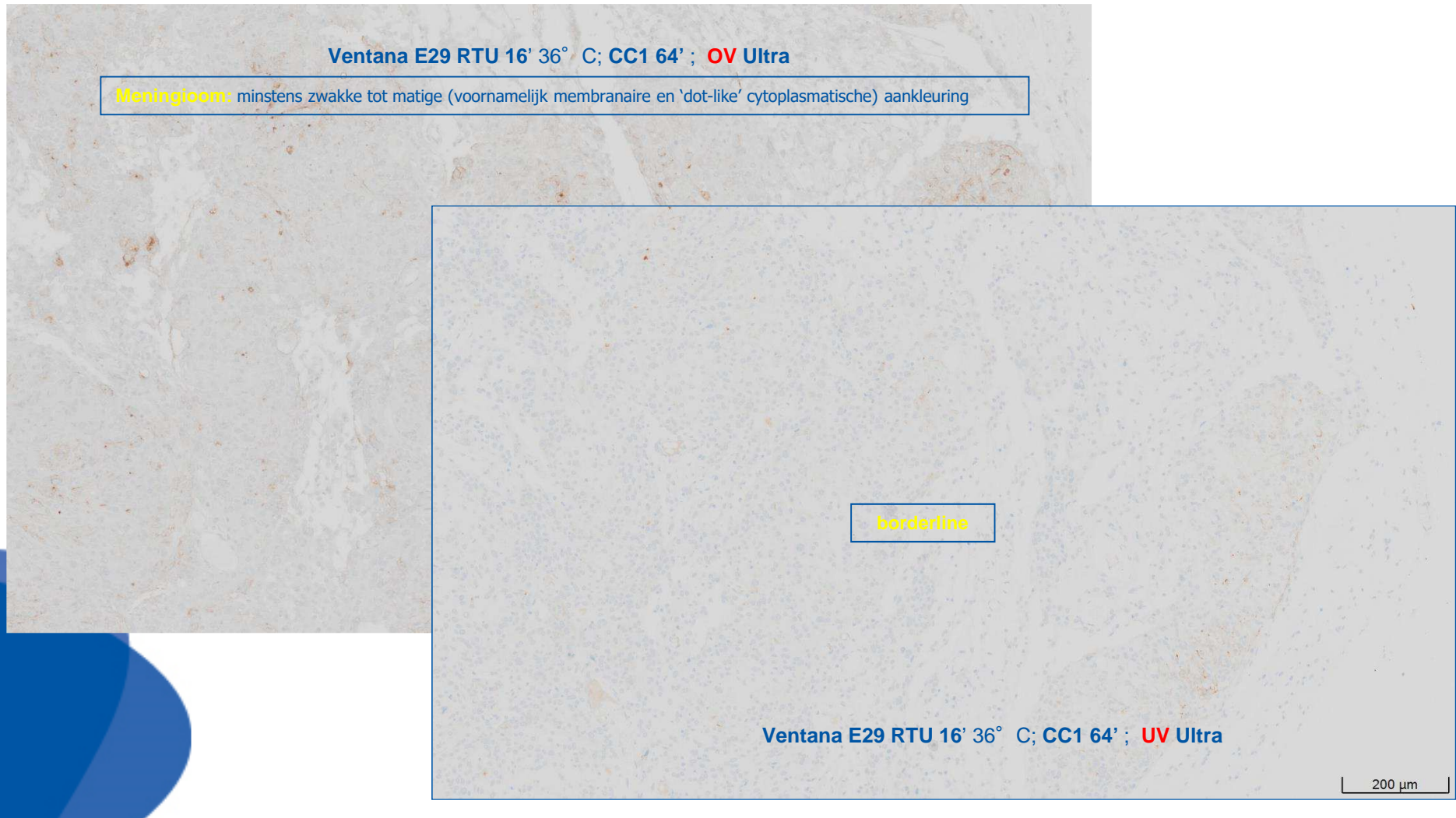
- RTU: Ventana E29



Antistof EMA

Besluit:

- RTU: Ventana E29



Antistof EMA

Besluit:

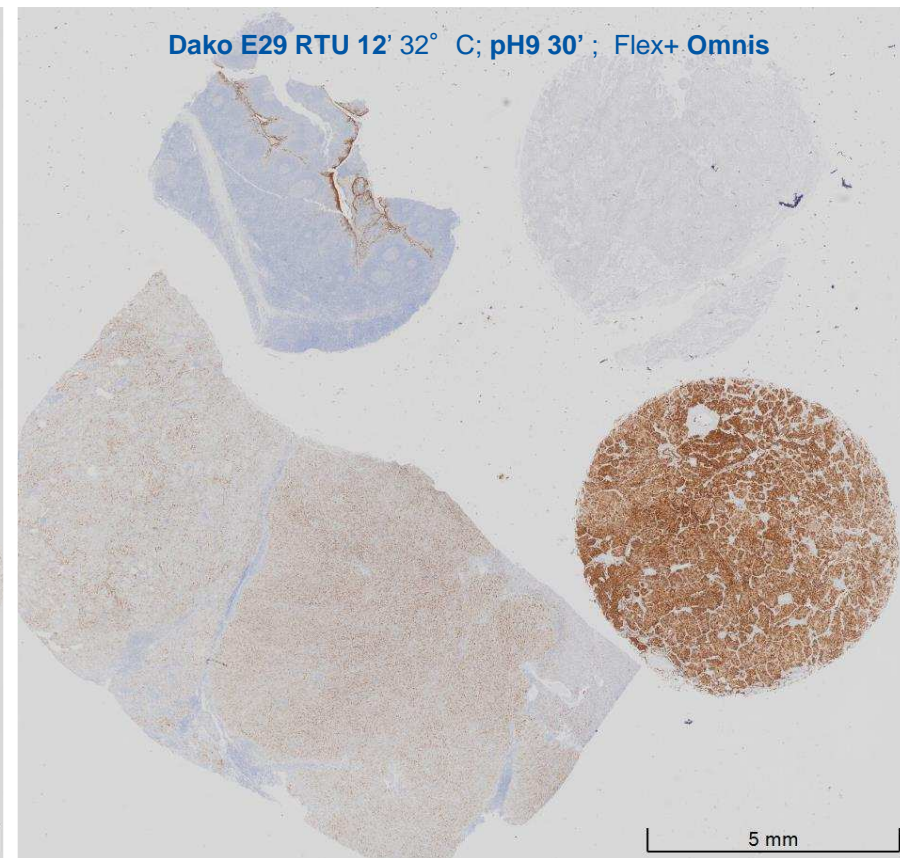
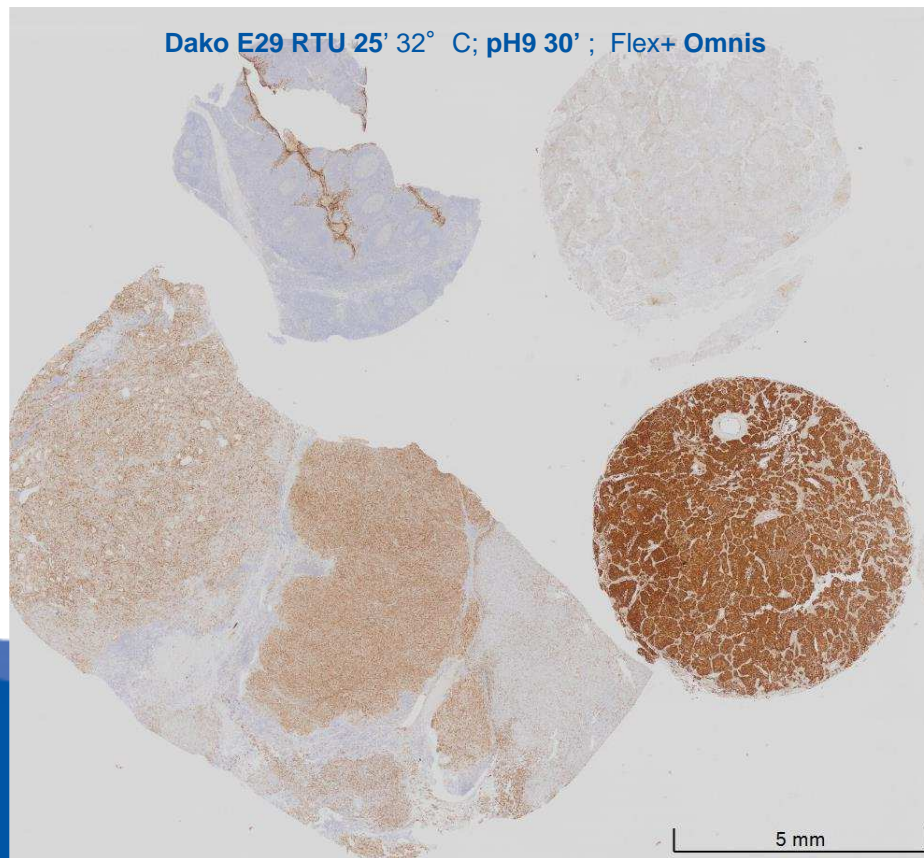
- RTU Dako E29:
 - 75% optimaal, 86% geslaagd → protocolspreiding
- Omnis
 - Gelijke settings = wisselend resultaat → AS20' ondergrens
 - 6/25 linker → allen optimaal, in combinatie met AS25' , cave achtergrond
 - Allen PH9
- Autostainer
 - 3/3 geslaagd
 - AS10' =te zwak meningioom <> AS20' =optimaal
 - Allen pH9



Antistof EMA

Besluit:

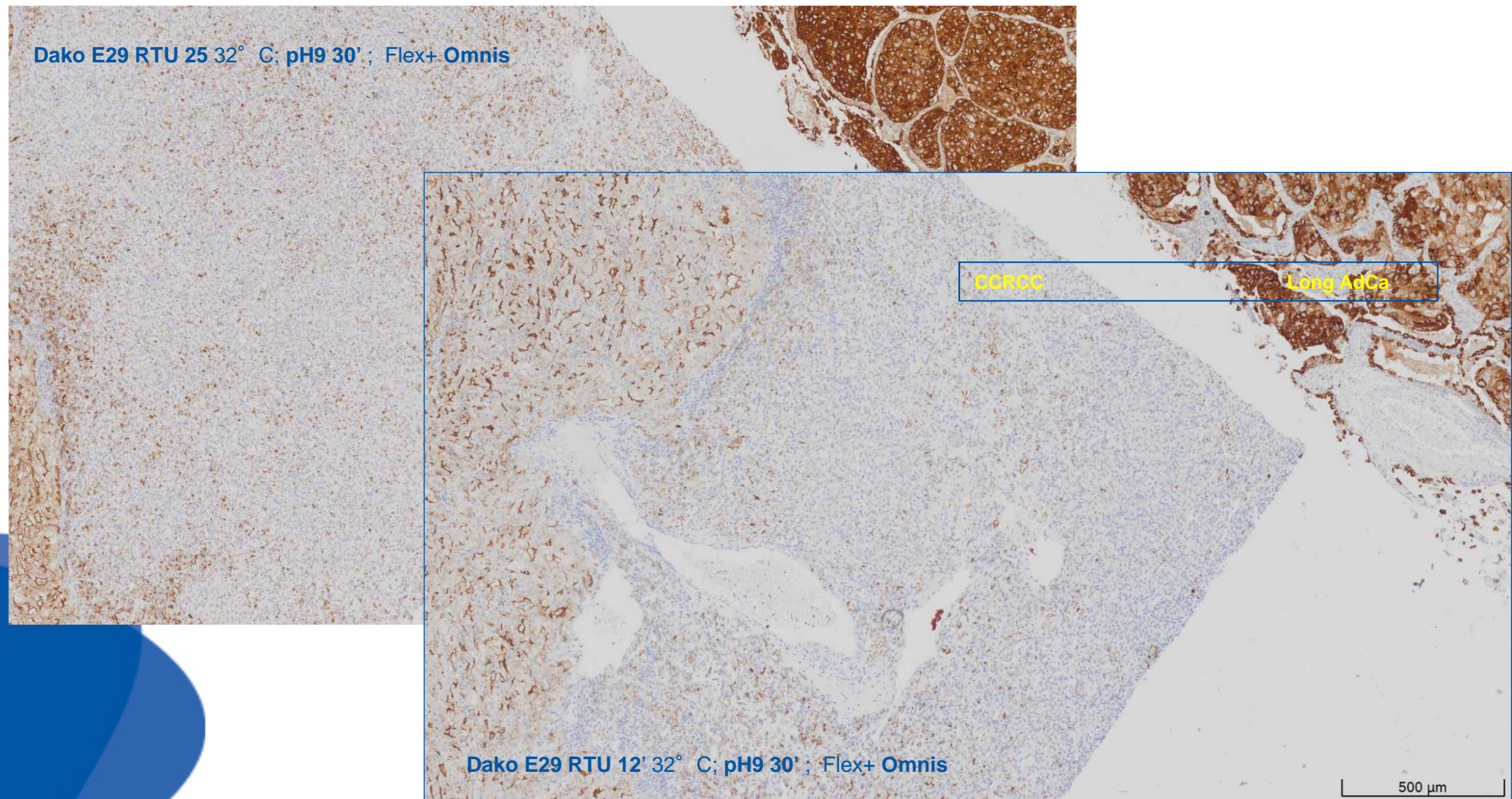
- RTU: Dako E29



Antistof EMA

Besluit:

- RTU: Dako E29



Antistof EMA

Besluit:

- RTU: Dako E29

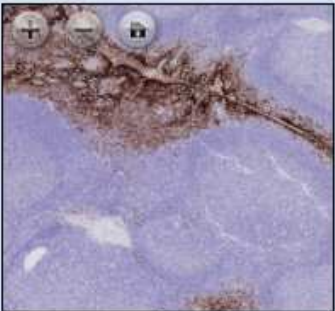
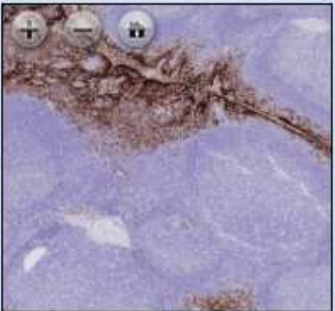


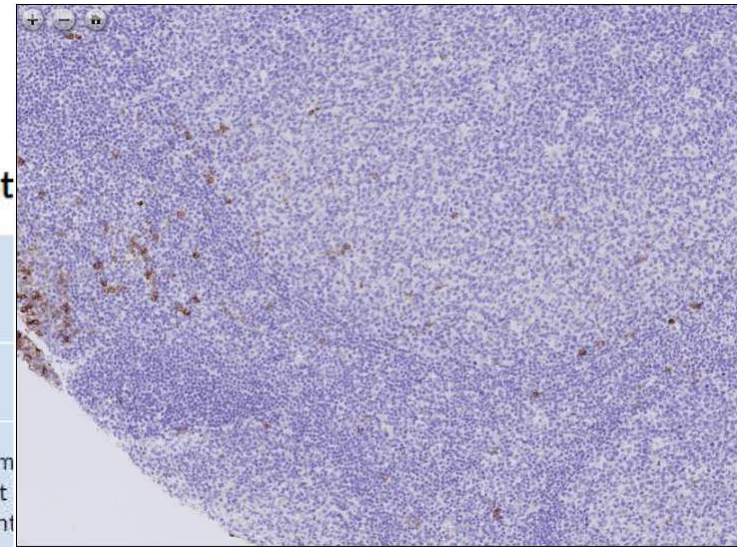
Antistof EMA

Besluit:

- Controles
 - 58%
 - Aanbevolen:

EMA - Epithelial Membrane Ant

Control type	Positive tissue control High expression level	Positive tissue control Low expression levels
Tissue	Tonsil	Tonsil
Description	The majority of the intermediate and superficial squamous epithelial cells must show a moderate to strong cytoplasmic staining reaction.	The vast majority of plasma cells must show a distinct at least weak predominant membranous staining reaction.
Example	 Click to enlarge	 Click to enlarge



The vast majority of plasma cells must show a distinct and at least weak predominantly membranous staining reaction.

Antistof Melan A

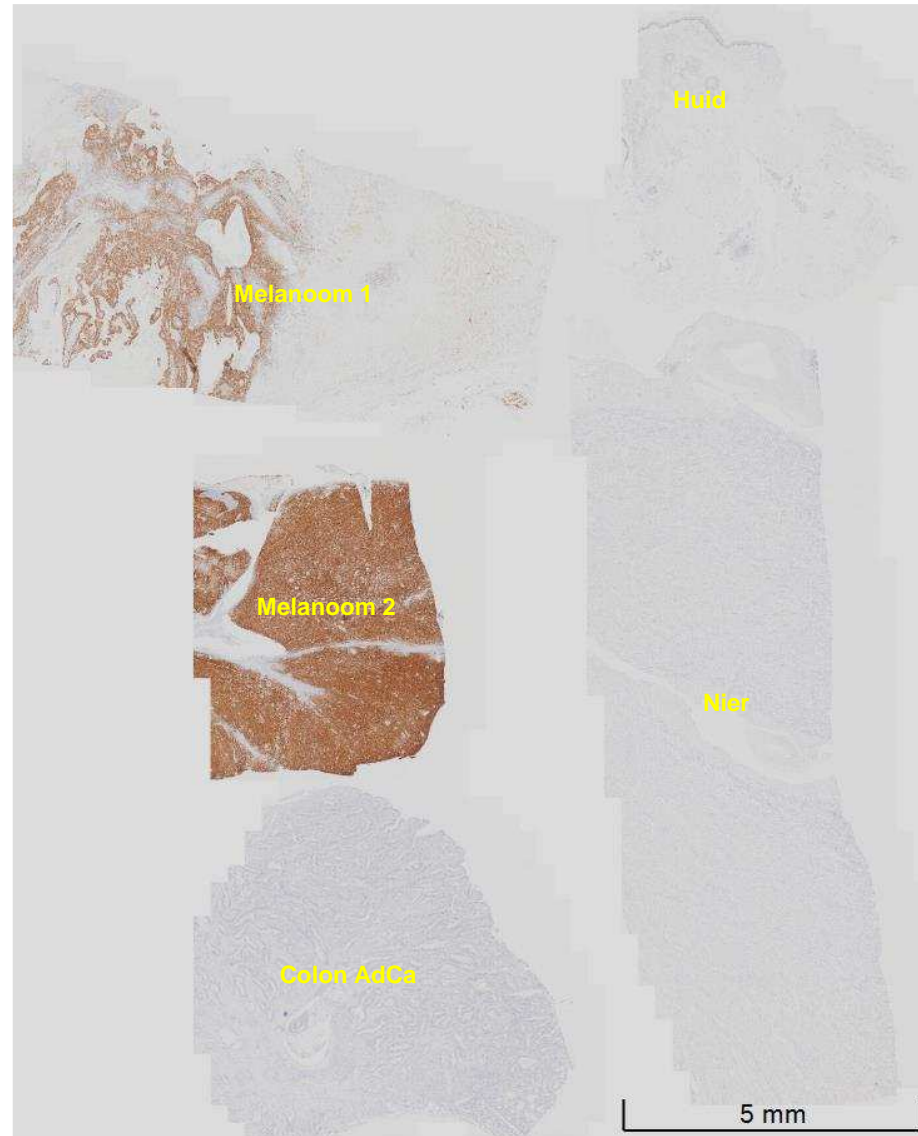


- Scoringscriteria: cytoplasmatische aankleuring
 - Nier:
 - geen aankleuring van epitheelcellen (controle specificiteit)
 - Huid:
 - matig tot sterke (cytoplasmatische) aankleuring van bijna alle melanocyten
 - dendrieten van de melanocyten moeten 'crisp' aangekleurd zijn (controle sensitiviteit)
 - Melanoom 1 en 2:
 - Sterke aankleuring van bijna alle neoplastische cellen
 - ColonAdCa:
 - Geen aankleuring van bijna alle neoplastische cellen (controle specificiteit)

Bron: NordiQC Run 60 2020



Antistof Melan A overzicht



Resultaatbespreking Melan A

- Algemeen
 - n=64
 - Algemeen 86% geslaagd, 52% optimaal

		EKE 2023		NQC 2020	
	n		suff	%	suff
Optimaal	33	52%	86%	26%	88%
Goed	22	34%		62%	
Borderline	9	14%	14%	11%	12%
Onvoldoende	0	-		1%	

Resultaatbespreking Melan A

- Opgesplitst per clone producent
 - Concentrated: 75% optimaal, 100% suff.

n=8	Epitomics EP43	% suff.	Dako A103	% suff
optimaal	1	-	5	100%
goed	0	-	2	
borderline	0	-	0	-
onvoldoende	0	-	0	
Totaal suff.	1/1		100%	
<i>NQC 2019</i>	<i>100%</i>		<i>90%</i>	

Concentrated antibodies	n	Vendor	Optimal	Good	Borderline	Poor	Suff. ¹	OR ²
mAb clone A103	57	Dako/Agilent	21	57	9	0	90%	24%
	19	Novocastra/Leica						
	6	Cell Marque						
	1	Abcam						
	1	Biocare						
	1	Monosan						
mAb clone BS52	3	Nordic Biosite	3	0	0	0	-	-
	1	Zytomed	1	0	0	0	-	-
	3	Biocare	2	1	0	0	-	-
mAb clone cocktail HMB45+MC-7310+M2-9E3+T311	1	Diagnostic Biosystems	0	0	0	1	-	-
mAb clone cocktail HMB45+A103+T311	1	Thermo F. Scientific	1	0	0	0	-	-
mAb clone cocktail M2-7C10+M2-9E3	1	Abcam	1	0	0	0	-	-
rmAb clone EP1442Y	9	Nordic Biotite	18	1	0	0	100%	95%
mAb clone EP43	9	Epitomics						
	1	Cell Marque						

Nordic Immunohistochemical Quality Control, EMA run 28 2010



Antistof Melan A

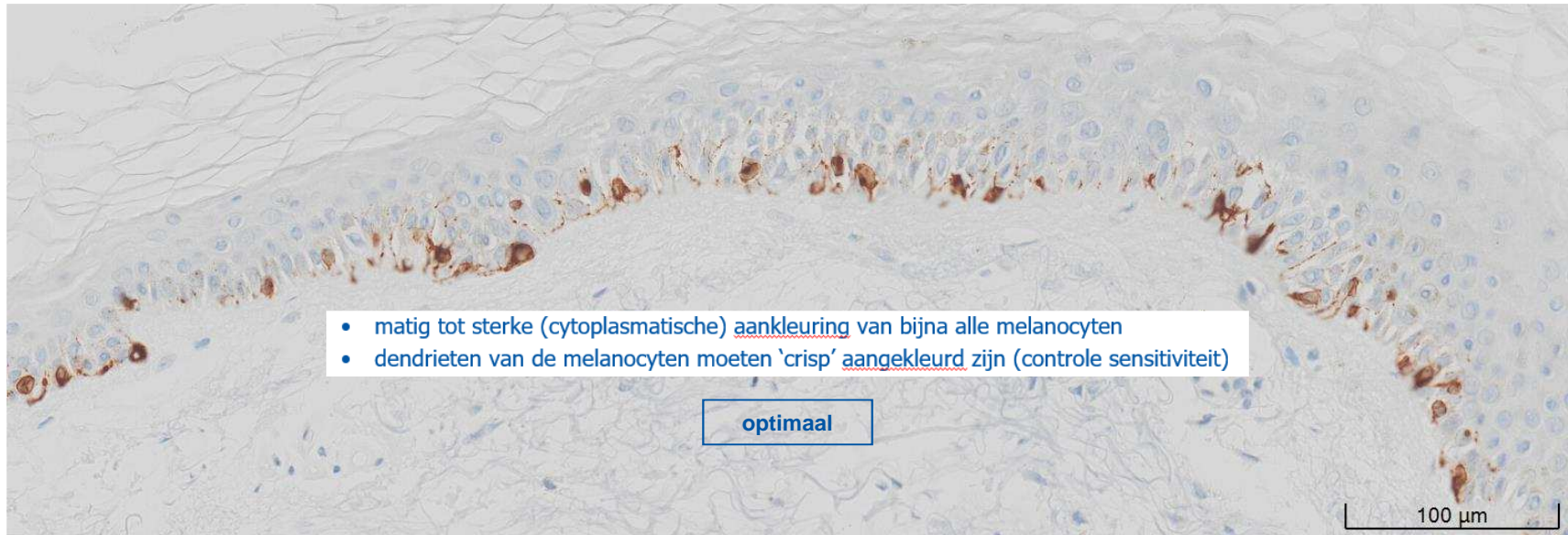
Besluit:

- Conc. AS:
 - 12,5% deelname
- Dako A103: robuuste clone
- Epitomics clone EP43: optimaal
 - OV Ultra
 - Combined retrieval: P3 + CC1 ;
 - AS 1/50 20'
- Dako clone A103: op alle platformen gebruikt: spreiding AS verdunning!
 - BondIII: 1/100 15'RT → goed (achtergrond)
 - Omnis
 - 1/100 20' RT → optimaal
 - 1/400 20' 32° C + linker → goed (achtergrond)
 - Ventana (n=3): enkel UV DAB/Red
 - AS 1/60 – 1/200 ; 28-52' ; +allen amplifier
 - CC1 36-64' → goed (zwak en/of achtergrond)
 - geen impact: allen optimaal

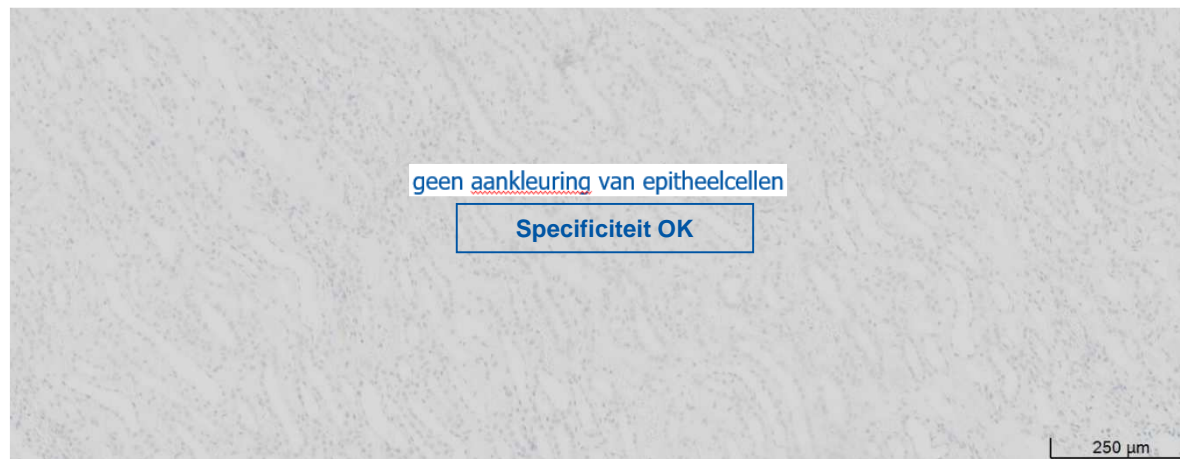


Antistof Melan A

- Conc. AS:



EP43 1/50 20' 32° C ; P3 4' + CC1 32' ; OV Ultra



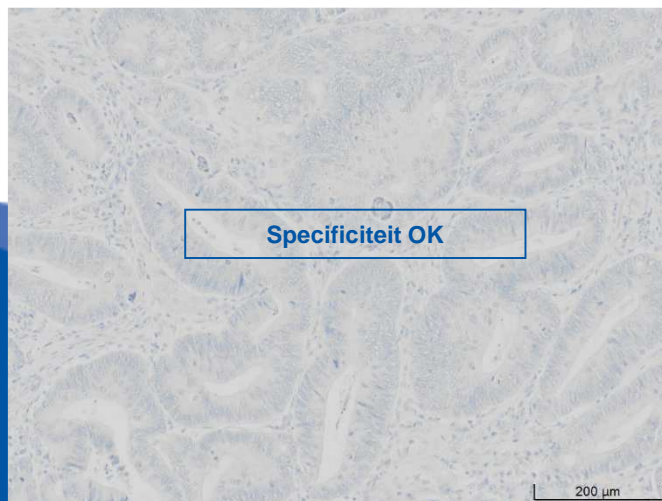
Antistof Melan A

- Conc. AS:

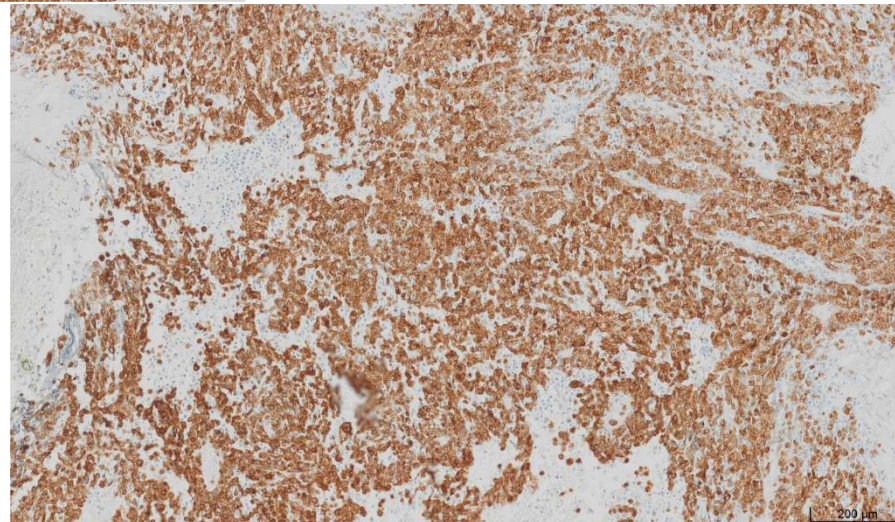


EP43 1/50 20' 32° C ; P3 4' + CC1 32' ; OV Ultra

Sensitiviteit OK



Specificiteit OK



Resultaatbespreking Melan A

- Opgesplitst per clone producent
 - RTU: 48% optimaal ; suff. 84%
 - vs conc. 75% optimaal, 100% suff

n=56	<i>Ventana A103</i>	<i>% suff</i>	<i>Dako A103</i>	<i>% suff</i>	<i>Leica A103</i>	<i>% suff</i>
	n=28		n=26		n=2	
optimaal	17	61%	8	31%	2	-
goed	7	25%	13	50%	0	-
borderline	4	14%	5	19%	0	-
onvoldoende	0	-	0	-	0	-
Totaal suff	87%		81%		2/2	
<i>NQC 2020</i>	<i>VRPS 0/3 vs LDT 85%</i>		<i>VRPS 100% vs LDT 85%</i>		<i>VRPS/LDT 100%</i>	

Antistof Melan A

Besluit:

- RTU: Dako clone A103
 - Moeilijker te kalibreren :
 - 81% geslaagd
 - slechts 31% optimaal
 - Resp. ~60-70% achtergrond nier/colon AdCa
- Omnis
 - Slechts 3 optimaal: AS20'
 - 24% borderline : achtergrond (allen Magenta kit)
 - AS 15-20-27' RT/32° C
 - Allen pH9
 - 5/21 linker → niet oorzaak achtergrond
 - Gelijke settings: wisselend resultaat → oorzaak?
- Autostainer
 - 3/3 optimaal (DAB/AEC)
 - Gestandaardiseerd protocol: AS20' RT ; pH9



Antistof Melan A

Besluit:

- RTU: Ventana A103
 - duidelijk robuuster dan Dako A103 clone
 - 15/28 gebruiken UV/AP Red:
 - ook issues met achtergrond
 - en/of te zwakke aankleuring huid → borderline
 - 87% geslaagd, 61% optimaal
 - UV/AP Red: 27% niet geslaagd (huid vals neg.) → minder sensitief?
geen duidelijke oorzaak
amplifier = geen garantie op geslaagd result
spreiding: HIER 36- 76' ; AS 12-40'
datasheet CC1 76' ; AS32' +blocker → 2 gebruikers: 1 niet geslaagd (huid)
licht kortere HIER én kortere AS tijd +- amplifier → ook optimaal mogelijk ?!
 - UV DAB
Geen datasheet
spreiding protocol: geen impact → allen geslaagd , 6/9 optimaal → vrij robuust
kortere HIER én korte AS zonder amplifier → goed
 - OV: allen optimaal (4/4)
datasheet: CC1 64' ; AS32' → geen gebruikers
minieme wijzigingen



Antistof Melan A

Besluit:

- RTU: Ventana clone A103

Ventana A103 RTU 40' 36° C; CC1 36' ; Fast Red kit Ultra

- matig tot sterke (cytoplasmatische) aankleuring van bijna alle melanocyten
- dendrieten van de melanocyten moeten 'crisp' aangekleurd zijn (controle sensitiviteit)

borderline

Sensitiviteit OK ?

Sensitiviteit OK

Specificiteit OK

200 µm

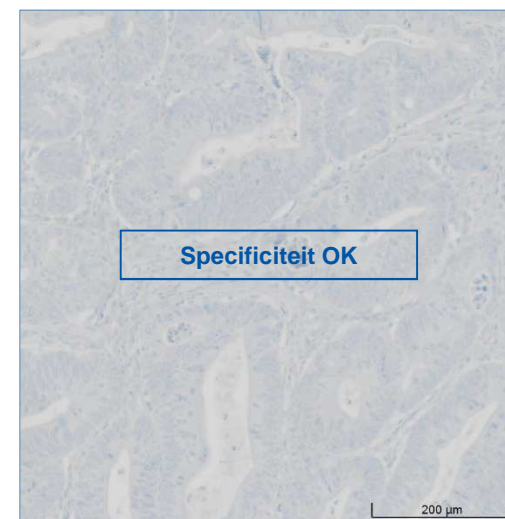
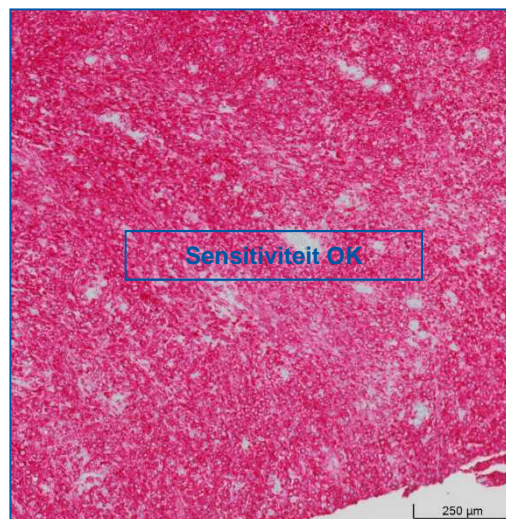
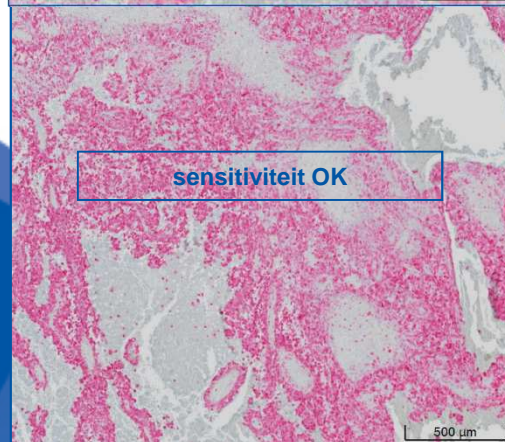
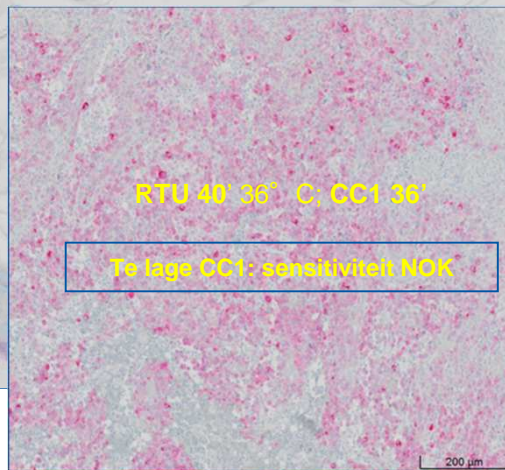
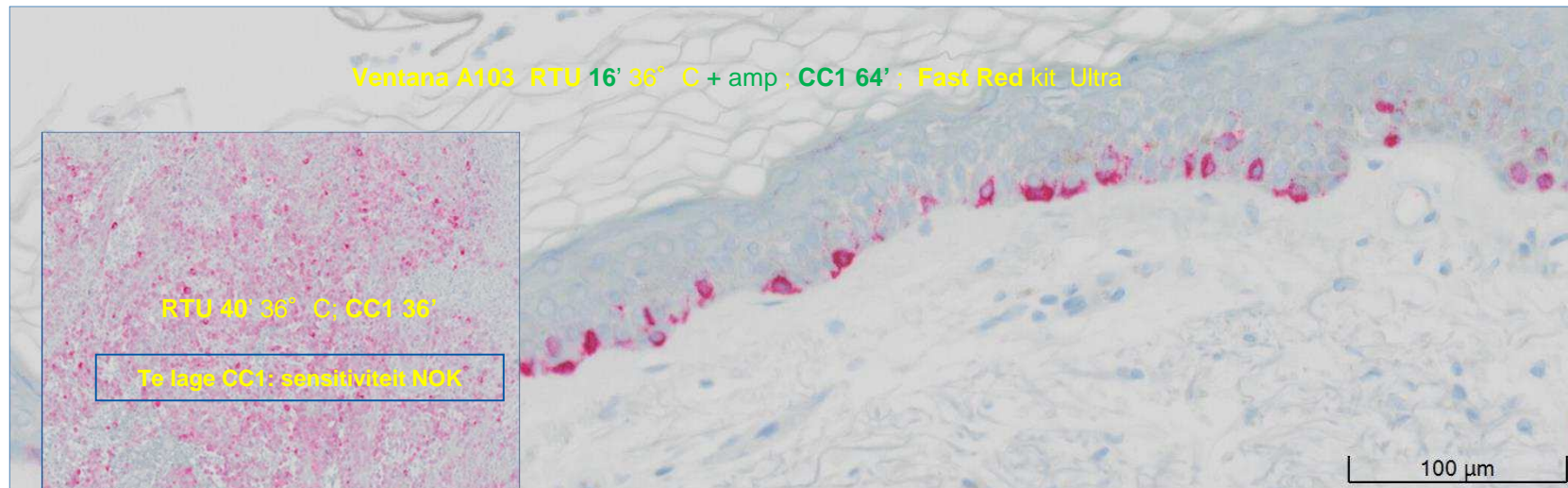
250 µm

200 µm

Antistof Melan A

Besluit:

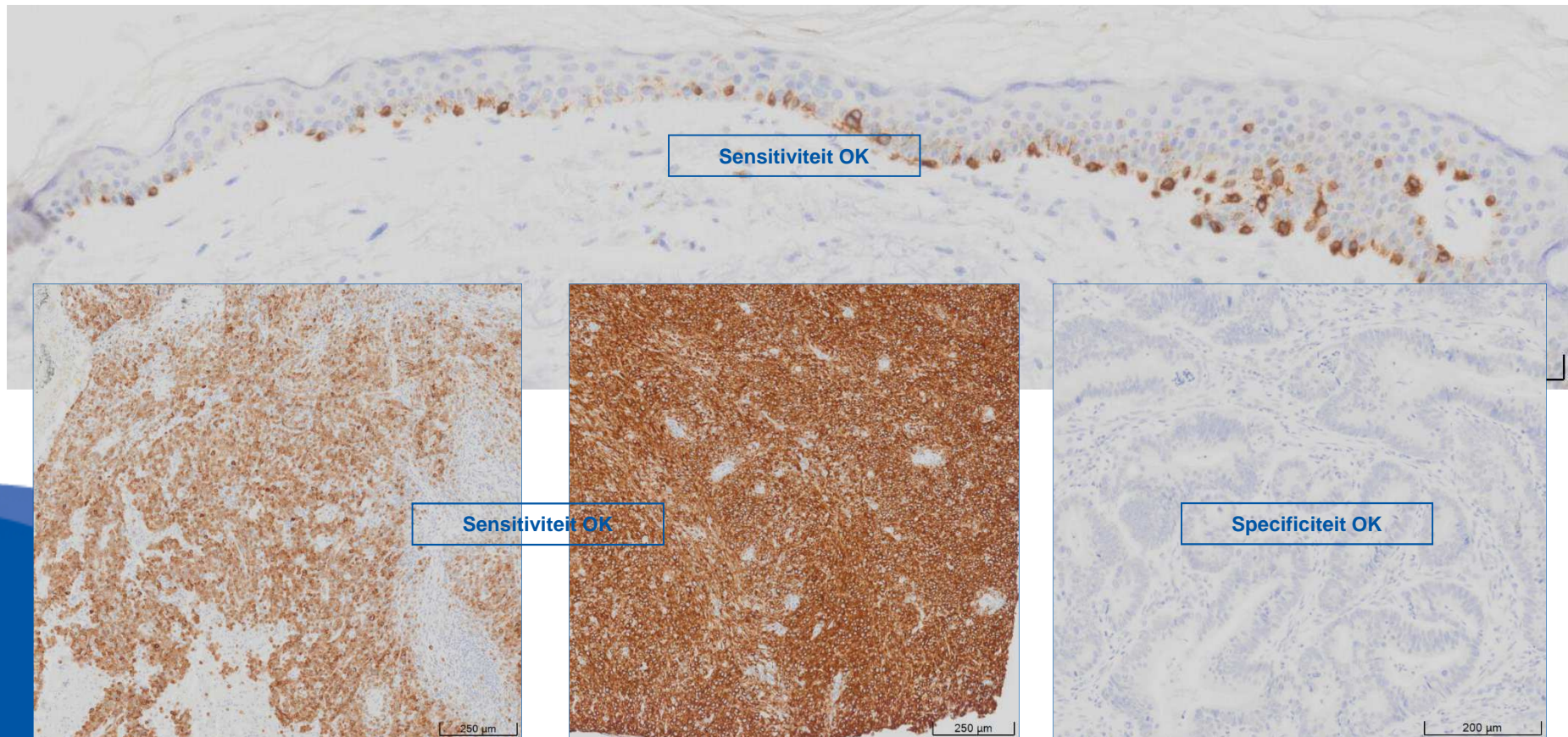
- RTU: Ventana clone A103



Antistof Melan A

Besluit:

- RTU Leica A103
 - 2/2 optimaal
- Standaardprotocol (DAB): 15' RT ; ER2 20'






Antistof Melan A

Besluit:

- Controles
 - 58%
 - Aanbevolen:

MLA - Melan-A

Control type	Positive tissue control High expression level	Positive tissue control Low expression levels	Negative tissue control
Tissue	Skin	Adrenal gland	Kidney
Description	<p>Virtually all melanocytes must show a moderate to strong cytoplasmic staining reaction. An at least weak to moderate staining reaction must be seen in the melanocytic dendrites.</p> <p><i>Note, no ideal tissue or cell with low level Melan A expression has been identified (except for mAb clone A103 cross reacting with steroid producing cells). Attention should therefore be addressed to the staining reaction of the melanocytic dendrites with reduced expression level compared to the cytoplasmic compartment.</i></p>	<p>Virtually all cortical epithelial cells must show an at least weak to moderate, granular cytoplasmic staining reaction.</p> <p><i>Note, staining pattern only applicable for mAb clone A103 cross reacting with steroid producing cells.</i></p>	<p>No staining reaction in the epithelial cells of tubules should be seen.</p> <p><i>Note scattered epithelial cells may show a granular staining reaction caused by lipofuscin.</i></p>
Example	 <p>Click to enlarge</p>	 <p>Click to enlarge</p>	 <p>Click to enlarge</p>

EKE planning

Externe kwaliteitsevaluatie	EKE 2023-1	EKE 2023-2	EKE 2023-3	EKE 2024-1	EKE 2024-2	EKE 2024-3
	ER Her2	Melan A EMA BCL2 p63	PR Her2	ER Her2 PDL1	CD30 CK20 Synapto SOX10	PR Her2
Rondzending coupes	02/2023	05/2023	09/2023	02/2024	05/2024	09-2024
Resultaatbespreking / symposium	25/09/2023		09/2024			



Hoofdsponsors



Bronzen sponsor



Andere sponsors

