

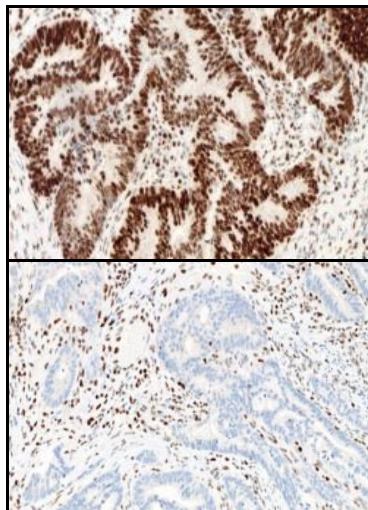
VENTANA anti-PMS2 (A16-4) Mouse Monoclonal Primary Antibody

Voor gebruik met het VENTANA MMR IHC Panel

REF 760-5094

08033692001

IVD  50



Afb. 1. VENTANA anti-PMS2 (A16-4) Mouse Monoclonal Primary Antibody-kleuring met Behoud (boven) of Verlies (onder) van expressie in darmkankerweefsel.

BEOOGD GEBRUIK

VENTANA anti-PMS2 (A16-4) Mouse Monoclonal Primary Antibody (VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam) is bedoeld voor de kwalitatieve detectie van PMS2-eiwit in in formale gefixeerde, in paraffine ingebedde weefselcoupons. Het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam is klaar voor gebruik op BenchMark ULTRA-, XT- en GX-instrumenten met de OptiView DAB IHC Detection Kit, OptiView Amplification Kit en hulpreagentia. Het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam maakt deel uit van het VENTANA MMR IHC Panel dat de volgende antilichamen omvat: VENTANA anti-MLH1 (M1) Mouse Monoclonal Primary Antibody, VENTANA anti-MSH2 (G219-1129) Mouse Monoclonal Primary Antibody, VENTANA anti-MSH6 (SP93) Rabbit Monoclonal Primary Antibody en VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) Mouse Monoclonal Primary Antibody.

Het VENTANA MMR IHC Panel is geïndiceerd voor de detectie van een niet-overeenkomend reparatie-eiwittekort als test voor de identificatie van personen die een risico lopen op het ontwikkelen van het syndroom van Lynch bij patiënten met de diagnose colorectale kanker (CRC) en, samen met de BRAF V600E-status, als hulpmiddel bij het maken van onderscheid tussen sporadisch en waarschijnlijk CRC met het syndroom van Lynch bij afwezigheid van MLH1-eiwitexpressie.

Deze producten dienen te worden geïnterpreteerd door een gekwalificeerd patholoog in combinatie met histologisch onderzoek, relevante klinische informatie en gepaste controles.

Bestemd voor in-vitrodiagnostiek (IVD).

SAMENVATTING EN UITLEG

Colorectale kanker is de derde meest voorkomende soort kanker en de vierde meest voorkomende doodsoorzaak als gevolg van kanker ter wereld.¹ De meeste CRC-gevallen vertonen chromosoominstabiliteit, maar in ongeveer 15% van de gevallen ontstaat de kanker via een ander pad dat wordt gekenmerkt door een verstoorde functie van het systeem voor DNA-mismatchreparatie (MMR). Door het MMR-tekort vertonen de tumoren microsatellietinstabiliteit (MSI) als gevolg van het feit dat de MMR-eiwitten geen DNA-replicatiefouten kunnen repareren.

CRC's met MMR-afwijkingen worden aangeduid als MMR-deficiënte (dMMR) tumoren. CRC's zonder MMR-afwijkingen worden daarentegen aangeduid als MMR-proficiënte (pMMR) tumoren. De dMMR colorectale kankers zijn vaak slecht gedifferentieerd en vertonen vaak proximale dampredominantie, mucineuze, medullaire of zegelring histologische kenmerken en een verhoogd aantal tumorinfiltrerende lymfocyten.^{2,3} Over het algemeen kan MMR-tekort worden veroorzaakt door kiembaanmutaties in een van de MMR-genen met daaropvolgend verlies van het overeenkomende normale allel door

genetische of epigenetische mechanismen, somatische mutaties in de allelen of door epigenetische inactivatie van het *MLH1*-gen door methylatie.⁴

De vier meest voorkomende gemuteerde MMR-genen zijn *MLH1*, *PMS2*, *MSH2* en *MSH6*. In normale cellen vormt het MLH1-eiwit een complex (heterodimeer) met het PMS2-eiwit. Het MSH2-eiwit vormt een complex met het MSH6-eiwit.^{5,6} Als er DNA-mismatches optreden, bindt het MSH2/MSH6-heterodimeer zich aan het mismatched DNA, wat leidt tot een conformatieverandering. Het MLH1/PMS2-heterodimeer bindt zich aan het DNA-gebonden MSH2/MSH6-complex, wat leidt tot excisie-reparatie van het getroffen DNA. De MLH1-, PMS2-, MSH2- en MSH6-eiwitten zijn klinisch belangrijke MMR-eiwitten die worden gecodeerd door genen die kunnen muteren in families waarin het syndroom van Lynch voorkomt.^{7,8} Draggers van deze mutaties hebben gedurende hun levensloop een hoog risico op het ontwikkelen van colorectale en andere kankers dankzij de ophoping van DNA-replicatiefouten in proliferatieve cellen. Het syndroom van Lynch veroorzaakt 1–6% van alle CRC's. Deze tumoren ontstaan door het erven van een autosomale, dominante kiembaanmutatie in een van de vier MMR-genen. MLH1-verlies treedt op in de meeste van deze met het syndroom van Lynch in verband gebrachte CRC's.^{5,9,10} Er zijn meer dan 300 verschillende mutaties in de eiwitten van de MMR-familie geïdentificeerd bij patiënten met het syndroom van Lynch. Het fenotype van tumoren die in verband worden gebracht met het syndroom van Lynch wordt over het algemeen gekenmerkt door immunohistochemisch verlies van expressie in MMR-eiwitten, met name in MLH1, PMS2, MSH2 en MSH6.^{10,11,12,13} Er is aangetoond dat MMR IHC-tests nuttig zijn bij het identificeren van het specifieke MMR-gen waarin het meest waarschijnlijk een kiembaan- of somatische verandering wordt gevonden.¹⁴

Als onderdeel van het VENTANA MMR IHC Panel helpt het VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) Mouse Monoclonal Primary Antibody (VENTANA anti-BRAF V600E (VE1)-antilichaam) bij het onderscheiden van een sporadisch en waarschijnlijk syndroom van Lynch CRC, als er geen MLH1-eiwitexpressie aanwezig is.^{15,16} Bij CRC is het verlies van het MLH1-eiwit vaak het gevolg van hypermethylatie van de *MLH1*-promoter, wat een sporadisch optreden aangeeft.¹⁷ De aanwezigheid van het BRAF V600E-eiwit is nauw verwant aan hypermethylatie van de *MLH1*-promoter. Een positief kleuringsresultaat met het VENTANA anti-BRAF V600E (VE1)-antilichaam geeft daarom sporadische CRC aan.

KLINISCH BELANG

Het syndroom van Lynch werd in de jaren '60 beschreven en identificeerde een verband tussen het verlies van MMR-functie en kanker.¹⁸ Het verlies van MMR-eiwitten (MLH1, PMS2, MSH2 of MSH6) kan leiden tot MSI en een hoger risico tijdens de levensloop op het ontwikkelen van niet alleen CRC, maar ook maag-, hersen-, pancreas-, huid-, endometrium- en eierstokkanker. Patiënten met het syndroom van Lynch hebben gedurende hun leven 50–80% kans op het ontwikkelen van CRC.^{5,19,20} Het syndroom van Lynch is anders dan andere erfelijke kankersyndromen, omdat het direct testen van tumorweefsel leidt tot identificatie van patiënten die risico lopen op het syndroom van Lynch. Het vormt ook een basis voor verdere genetische kiembaantests. Families waarin het syndroom van Lynch voorkomt, hebben baat bij geavanceerde kankerscreeningsprotocollen.

Er wordt door verschillende richtlijnen, waaronder de richtlijnen van het National Comprehensive Cancer Network (NCCN), aangeraden om alle CRC's te screenen op het syndroom van Lynch, om patiënten en families te identificeren die baat kunnen hebben bij verder genetisch testen en begeleiding.^{18,21,22,23,24} Het gebruik van het VENTANA MMR IHC Panel helpt bij het bepalen van de MMR-status van CRC's door deze classificeren als met behoud of met verlies van MMR-eiwitexpressie. De detectie van alle vier de MMR-eiwitten in de tumor geeft normale of behouden MMR aan. Het verlies van MLH1- of MSH2-expressie gaat bijna altijd gepaard met het verlies van de bijbehorende heterodimeerpartners, respectievelijk PMS2 of MSH6. Verlies van PMS2 of MSH6 leidt echter niet altijd tot verlies van MLH1 of MSH2. Verlies van PMS2, MSH2 en/of MSH6 is consistent met waarschijnlijk syndroom van Lynch en patiënten moeten worden doorverwezen voor aanvullende tests en begeleiding volgens de klinische praktijk.

Verlies van het MLH1-eiwit kan een sporadisch optreden van of mogelijk syndroom van Lynch aangeven. Verlies van het MLH1-eiwit is in 15% of meer van de sporadische CRC-gevallen het gevolg van hypermethylatie van de *MLH1*-promoter.^{5,25,26} Het is belangrijk om te weten dat er een BRAF V600E-mutatie wordt gevonden in ongeveer tweederde van de tumoren met verlies van MLH1-expressie als gevolg van hypermethylatie van de *MLH1*-promoter. De BRAF V600E-mutatie komt daarentegen zelden voor in tumoren bij het syndroom van Lynch.²⁵ Het VENTANA anti-BRAF V600E (VE1)-antilichaam kan de tumor daarom als sporadisch of waarschijnlijk syndroom van Lynch categoriseren als het resultaat van het VENTANA anti-MLH1 (M1) Mouse Monoclonal Primary Antibody

(VENTANA anti-MLH1 (M1)-antilichaam) verlies van het MLH1-eiwit aangeeft.^{5,27} Bij CRC geeft verlies van het MLH1-eiwit met een positieve BRAF V600E-status sterk aan dat de tumor het resultaat is van een sporadisch optreden, waardoor het syndroom van Lynch vrijwel kan worden uitgesloten als onderliggende oorzaak van de maligniteit.^{17,28} Als verlies van het MLH1-eiwit gepaard gaat met een negatieve BRAF V600E-status, dan is het MLH1-verlies consistent met een hoge waarschijnlijkheid op het syndroom van Lynch.²⁹

PRINCIPE VAN DE PROCEDURE

Het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam is een monokonaal muisantilichaam dat geproduceerd wordt tegen een recombinant humaan PMS2-eiwit. Het antilichaam VENTANA anti-PMS2 (A16-4) bindt zich aan het PMS2-eiwit in in formale gefixeerde, in paraffine ingebedde (FFPE)-weefselcoupes. Het antilichaam kan worden gelokaliseerd met behulp van een gehapteniseerd secundair antilichaam gevolgd door een multimeer anti-hapteen-HRP-conjugaat (OptiView DAB IHC Detection Kit, cat.nr. 760-700 / 06396500001) en de OptiView Amplification Kit (cat. nr. 760-099 / 06396518001 (50 tests) of 860-099 / 06718663001 (250 tests)). Het specifieke antilichaamenzymcomplex wordt vervolgens gevisualiseerd met een precipiterend enzymreactieproduct. Er wordt tijdens iedere stap bij een precieze temperatuur en voor een precieze tijd geïncubeerd. Na elke incubatiestap worden de coupes door het instrument gewassen om de reactie te stoppen en ongebonden materiaal te verwijderen dat de gewenste reactie in de volgende stappen zou hinderen. Er wordt ook ULTRA LCS (Predilute) (cat. nr. 650-210 / 05424534001) of LCS (Predilute) toegepast (cat. nr. 650-010 / 05264839001) om de verdamping van de waterige reagentia van het objectglaasje met het monster te minimaliseren.

GELEVERDE MATERIALEN

Het antilichaam VENTANA anti-PMS2 (A16-4) bevat voldoende reagens voor 50 tests.

Eén dispenser van 5 mL met VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam bevat ongeveer 5 µg monokonaal muisantilichaam.

Het antilichaam wordt verdund in 0.08 M PBS met 3% dragereiwit en 0.05% ProClin 300, een conserveermiddel.

De totale proteïneconcentratie van het reagens is ongeveer 3 mg/mL. De specifieke antilichaamconcentratie is ongeveer 1 µg/mL. Bij dit product is geen bekende niet-specifieke antilichaamreactiviteit waargenomen.

Het antilichaam VENTANA anti-PMS2 (A16-4) is een monokonaal muisantilichaam dat wordt geproduceerd als celcultuursupernatant.

Raadpleeg het methodeblad van de VENTANA-detectiekit voor gedetailleerde beschrijvingen van: Principes van de procedure, Materiaal en methoden, Monsterafname en monsterpreparatie voor analyse, Kwaliteitscontroleprocedures, Probleemoplossing, Interpretatie van de resultaten en Algemene beperkingen.

BENODIGDE, NIET-MEEGELEVERDE MATERIALEN

Kleuringsreagentia, zoals VENTANA-detectiekiten en bijbehorende onderdelen, waaronder objectglaasjes voor negatieve en positieve weefselcontrole, worden niet meegeleverd.

Mogelijk zijn niet alle in het methodeblad vermelde producten leverbaar in alle landen. Raadpleeg uw plaatselijke vertegenwoordiger.

Voor de kleuring kunnen de volgende materialen en reagens nodig zijn, die niet zijn meegeleverd:

1. Aanbevolen controleweefsel
2. Positief geladen objectglaasjes
3. VENTANA anti-MLH1 (M1) Mouse Monoclonal Primary Antibody (cat.nr. 760-5091 / 08033668001)
4. VENTANA anti-MSH2 (G219-1129) Mouse Monoclonal Primary Antibody (cat.nr. 760-5093 / 08033684001)
5. VENTANA anti-MSH6 (SP93) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (cat.nr. 760-5092 / 08033676001)
6. VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) Mouse Monoclonal Primary Antibody (cat.nr. 760-5095 / 08033706001)
7. Negative Control (Monoclonal) (cat. nr. 760-2014 / 05266670001)
8. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (cat. nr. 790-4795 / 06883380001)
9. OptiView DAB IHC Detection Kit (cat. nr. 760-700 / 06396500001)
10. OptiView Amplification Kit (cat. nr. 760-099 / 06396518001 (50 tests) of cat. nr. 860-099 / 06718663001 (250 tests))
11. EZ Prep Concentrate (10X) (cat. nr. 950-102 / 05279771001)
12. Reaction Buffer Concentrate (10X) (cat. nr. 950-300 / 05353955001)

13. ULTRA LCS (Predilute) (cat. nr. 650-210 / 05424534001)
14. LCS (Predilute) (cat. nr. 650-010 / 05264839001)
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (cat. nr. 950-224 / 05424569001)
16. Cell Conditioning Solution (CC1) (cat. nr. 950-124 / 05279801001)
17. Hematoxylin II (cat. nr. 790-2208 / 05277965001)
18. Bluing Reagent (cat. nr. 760-2037 / 05266769001)
19. Duurzaam afdekmedium
20. Dekglaasje
21. Geautomatiseerde coverslipper
22. Laboratoriumapparatuur voor algemeen gebruik
23. BenchMark IHC/ISH-instrument

OPSLAG EN STABILITEIT

Opslaan bij 2–8 °C na ontvangst en indien het product niet wordt gebruikt. Niet invriezen.

Doe telkens nadat de dispenser is gebruikt de dop er weer op en zet de dispenser vervolgens onmiddellijk rechtop in de koelkast om een juiste afgifte van het reagens en de stabiliteit van het antilichaam te waarborgen.

Op elke antilichaamdispenser wordt de uiterste gebruiksdatum vermeld. Bij juiste opslag is het reagens stabiel tot de op het etiket aangegeven datum. Gebruik het reagens niet na de uiterste gebruiksdatum.

MONSTERPREPARATIE

Normaal verwerkte FFPE-weefsels zijn geschikt voor gebruik bij dit primaire antilichaam wanneer dit wordt gebruikt in combinatie met de OptiView DAB IHC Detection Kit en BenchMark IHC/ISH-instrumenten.

Coupes moeten ongeveer 4 µm dik worden gesneden en op positief geladen objectglaasjes worden geplaatst. Vers gesneden coupes moeten worden gebruikt voor kleuring, aangezien de antigeniciteit van gesneden weefselcoupes met de tijd kan verminderen. Het wordt aangeraden om in de kleuringsronde van onbekende monsters ook positieve en negatieve controles uit te voeren.

Er wordt voor het VENTANA MMR IHC Panel aanbevolen om weefsel binnen 6 uur na het snijden te fixeren in 10% neutraal gebufferde formaline (NBF) gedurende 6–24 uur op de basis voor het kleuren in tonsil. Er werd ook acceptabele kleuring verkregen met fixatie in zinkformaline en Z-5-fixatieven gedurende 6–24 uur. Fixatieven op basis van alcoholformaline-azijnzuur (AFA), 95% ethanol en PREFER worden niet aangeraden voor gebruik met het VENTANA MMR IHC Panel omdat weefsel geen of variabele kleuring vertoont.

De gebruikte hoeveelheid fixatief moet 15 tot 20 keer het volume van het weefsel zijn. Geen enkel fixatief zal binnen een periode van 24 uur meer dan 2 tot 3 mm vast weefsel of 5 mm poreus weefsel doordringen. De fixatie kan bij kamertemperatuur (15–25 °C) worden uitgevoerd.^{30,31}

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Bestemd voor in-vitrodiagnostiek (IVD).
2. Uitsluitend voor professioneel gebruik.
3. **LET OP:** Volgens de Amerikaanse wetgeving mag dit hulpmiddel uitsluitend door of op voorschrift van een arts worden gekocht. (Rx Only)
4. Niet gebruiken na het gespecificeerde aantal tests.
5. Als conserveermiddel wordt in dit reagens een ProClin 300-oplossing gebruikt. Het is geclassificeerd als een middel dat irritatie en overgevoeligheid kan veroorzaken wanneer het in aanraking komt met de huid. Neem de benodigde voorzorgsmaatregelen bij de hantering. Vermijd contact van reagentia met de ogen, huid en slijmvliezen. Draag beschermende kleding en handschoenen.
6. Positief geladen objectglaasjes kunnen gevoelig zijn voor omgevingsstress, wat resulteert in onjuiste kleuring. Vraag uw vertegenwoordiger van Roche om meer informatie over hoe u deze soorten objectglaasjes moet gebruiken.
7. Menselijk of dierlijk materiaal moet als biologisch gevaarlijk materiaal worden behandeld en met gepaste voorzorgsmaatregelen worden afgevoerd. In geval van blootstelling moeten de gezondheidsrichtlijnen van de verantwoordelijke autoriteiten worden gevolgd.^{32,33}
8. Zorg ervoor dat reagentia niet met de ogen en slijmvliezen in aanraking komen. Indien de reagentia met gevoelige lichaamsdelen in aanraking komen, dient u deze met veel water te spoelen.
9. Voorkom microbiële contaminatie van reagentia; onjuiste resultaten kunnen hiervan het gevolg zijn.

10. Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het BenchMark IHC/ISH-instrument voor meer informatie over het gebruik van dit apparaat en voor instructies over het gebruik van alle vereiste onderdelen op dialog.roche.com.
11. Raadpleeg de plaatselijke en/of nationale autoriteiten voor de aanbevolen afvoermethode.
12. De veiligheidslabels van de productveiligheid volgen hoofdzakelijk de GHS-richtlijnen van de EU. Veiligheidsinformatieblad op verzoek verkrijgbaar voor professionele gebruikers.
13. Neem contact op met de plaatselijke vertegenwoordiger van Roche en de bevoegde autoriteit van de lidstaat of het land waarin de gebruiker is gevestigd om ernstige incidenten met betrekking tot dit apparaat te melden.

Dit product bevat onderdelen die als volgt zijn geclassificeerd volgens de richtlijn (EG) nr. 1272/2008:

Tab. 1. Gevareninformatie.

Gevaar	Code	Verklaring
	H317	Kan een allergische huidreactie veroorzaken.
	P261	Inademing van stof/rook/gas/nevel/damp/spuitnevel vermijden.
	P272	Verontreinigde werkkleding mag de werkruimte niet verlaten.
	P280	Draag beschermende handschoenen.
	P333 + P313	Bij huidirritatie of uitslag: onmiddellijk een arts raadplegen.
	P362 + P364	Trek verontreinigde kleding uit en was deze voordat u ze opnieuw aantrekt.
	P501	Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.

Dit product bevat CAS-nr. 55965-84-9, een mengsel van: 5-chloor-2-methyl-4-isothiazoline-3-on en 2-methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1).

KLEURINGSPROCEDURE

Het VENTANA anti-PMS2 (A16-4) -antilichaam is ontwikkeld voor gebruik op BenchMark IHC/ISH -instrumenten in combinatie met de OptiView DAB IHC Detection Kit, OptiView Amplification Kit en hulpreagentia. Raadpleeg tabel 2 voor het aanbevolen kleuringsprotocol.

Het effect van verschillende tijden en temperaturen voor het verkrijgen van antigenen op de robuustheid van het assay is onbekend. Afwijkingen van de aanbevolen omstandigheden voor het verkrijgen van antigenen zoals beschreven in het vermelde protocol kunnen de verwachte resultaten dus ongeldig maken. Er moeten passende controles worden gebruikt en gedocumenteerd. Gebruikers die afwijken van het vermelde protocol moeten de verantwoordelijkheid aanvaarden voor de interpretatie van patiëntresultaten. Dit antilichaam is geoptimaliseerd voor incubatie waarvan de duur vastligt, maar de gebruiker moet de met dit reagens verkregen resultaten valideren.

De parameters voor de geautomatiseerde procedures kunnen worden weergegeven, afgedrukt en aangepast op de in de gebruiksaanwijzing voor het instrument beschreven wijze. Raadpleeg het methodeblad van de OptiView DAB IHC Detection Kit voor meer informatie over immunohistochemische kleuringsprocedures.

Raadpleeg het methodeblad van de inline dispenser met betrekking tot onderdeelnr. 760-5094 voor meer informatie over het correcte gebruik van dit hulpmiddel.

Tab. 2. Aanbevolen kleuringsprotocol voor het antilichaam VENTANA anti-PMS2 (A16-4) met de OptiView DAB IHC Detection Kit en de OptiView Amplification Kit op BenchMark IHC/ISH-instrumenten.

Soort procedure	Methode		
	GX	XT	ULTRA
Deparaffineren	Geselecteerd	Geselecteerd	Geselecteerd
Celconditionering (Antigeendemaskering)	CC1 92 minuten	CC1, 92 minuten	ULTRA CC1, 92 minuten, 100 °C

Soort procedure	Methode		
	GX	XT	ULTRA
Voorbereidende peroxidaseremmer	Geselecteerd	Geselecteerd	Geselecteerd
Antilichaam (primaair)	52 minuten, 37 °C	44 minuten, 37 °C	32 minuten, 36 °C
OptiView HQ Linker	8 minuten (standaard)		
OptiView HRP Multimer	8 minuten (standaard)		
OptiView Amplification	Geselecteerd		
OV AMP H2O2/OV Amplifier	4 minuten		
OV AMP Multimer	4 minuten		
Tegenkleuring	Hematoxylin II, 4 minuten		
Tegenkleuring achteraf	Bluing, 4 minuten		

Afwijking van de aanbevolen omstandigheden, met name voor het verkrijgen van antigenen, zoals beschreven in het vermelde protocol kunnen de verwachte resultaten ongeldig maken. Wegens variatie in weefselfixatie en -verwerking en de algemene instrumenten en omgevingsomstandigheden in het lab, kan het nodig zijn de incubatietijd van het primaire antilichaam te verlengen of te verkorten, gebaseerd op het individuele monster en de voorkeur van de beoordelaar. Raadpleeg voor meer informatie over fixatievariabelen 'Immunohistochemistry: Principles and Advances'.³⁴

KWALITEITSCONTROLEPROCEDURES

Negatieve reagenscontrole

Naast kleuring met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam moet een tweede objectglaasje worden gekleurd met het negatieve, monoklonale muisreagens, Negative Control (Monoclonal). De negatieve reagenscontrole wordt gebruikt voor het beoordelen van niet-specifieke kleuring. De kleuringsparameters voor het negatieve reagenscontroleantilichaam moeten hetzelfde zijn als die van het primaire antilichaam.

Positieve weefselcontrole

Na elke kleuringsprocedure moet een positieve weefselcontrole worden uitgevoerd. Het is de optimale laboratoriummethode om een positieve controle op te nemen op hetzelfde objectglaasje als het patiëntweefsel. Dit helpt mogelijke problemen vast te stellen door reagentia op het objectglaasje toe te passen. Weefsel met zwakke positieve kleuring is het geschiktst voor de kwaliteitscontrole. De positief kleurende weefselcomponenten worden gebruikt om te bevestigen dat het antilichaam werd gebruikt en het instrument goed functioneerde. Controleweefsel kan zowel positief als negatief kleurende elementen bevatten en kan dienen als zowel positief als negatief controleweefsel. Controleweefsels moeten verse monsters zijn, afkomstig van autopsie, biopsie of chirurgie, en moeten zo snel mogelijk na afname zijn geprepareerd of gefixeerd, op dezelfde wijze als de te onderzoeken coupes. Dergelijke weefsels kunnen alle stappen van de procedure bewaken, van weefselpreparatie tot kleuring. Door een weefselcoupe te gebruiken die op een andere manier is gefixeerd of verwerkt dan het te onderzoeken monster, kunnen alle reagentia en methodestappen worden gecontroleerd, behalve de fixatie en de weefselverwerking.

Bekende positieve weefselcontroles mogen alleen worden gebruikt voor het controleren van de juiste werking van bewerkte weefsels en testreagentia en niet als hulpmiddel voor het vaststellen van een specifieke diagnose van patiëntmonsters. Als positieve weefselcontroles geen positieve kleuring vertonen, moeten de resultaten met de testmonsters als ongeldig worden beschouwd.

CRC-weefsel met een klinische PMS2-status Behouden of normaal darmweefsel dat is geprekwalificeerd met VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam kan worden gebruikt als positieve weefselcontrole. Normaal darmweefsel wordt als Behouden gekleurd voor PMS2 met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam. De positieve weefselcontrole moet overduidelijke kernkleuring vertonen in geschikte tumor- en/of normale darmweefselementen. Voor alle weefsels moeten interne positieve controlecellen (d.w.z. lymfocyten, fibroblasten of normaal epitheel in de buurt van de tumor) positief kleuren in de nucleus.

Negatieve weefselcontrole

Aangezien de MLH1-, PMS2-, MSH2- en MSH6-eiwitten in alle weefsels tot expressie komen, bestaat er geen normale negatieve weefselcontrole voor deze biomarkers. CRC-weefsel met een klinische PMS2-status Verlies dat is geprekwalificeerd met VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam kan echter worden gebruikt als negatieve weefselcontrole. De negatieve weefselcontrole mag alleen voor het controleren van de juiste werking van bewerkte weefsels, testreagentia en instrumenten worden gebruikt, en niet als hulpmiddel voor het bepalen van een specifieke diagnose van patiëntmonsters.

Assaycontrole

Voordat een antilichaam- of kleuringssysteem voor het eerst in een diagnostische procedure wordt gebruikt, moet de specificiteit van het antilichaam worden geverifieerd door het te testen op een serie weefsels met bekende IHC-prestatiekenmerken die weefsels met de klinische PMS2-status Behouden vertegenwoordigen. Raadpleeg de kwaliteitscontroleprocedures die eerder in dit methodeblad zijn beschreven en de aanbevelingen voor kwaliteitscontrole van het College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist³⁵ of de CLSI Approved Guideline.³¹

INTERPRETATIE VAN DE KLEURING/TE VERWACHTEN RESULTATEN

Het cellulaire kleuringspatroon voor het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam is nucleair in actief proliferatieve cellen. Aan CRC-monsters die zijn gekleurd met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam wordt een klinische status toegewezen door een getrainde patholoog op basis van diens evaluatie van de aan- of afwezigheid van specifieke kernkleuring in de tumor. Er wordt een klinische status Behouden toegewezen aan gevallen met overduidelijke kernkleuring in levensvatbare tumorcellen, in de aanwezigheid van acceptabele interne positieve controles (kernkleuring in lymfocyten, fibroblasten of normaal epitheel in de buurt van de tumor). Er wordt een klinische status Verlies toegewezen aan gevallen met overduidelijk verlies van of focaal zwakke twijfelachtige kernkleuring in levensvatbare tumorcellen, in de aanwezigheid van interne positieve controles zoals weergegeven in tabel 3.

Het assay moet als onacceptabel worden beschouwd en worden herhaald als er geen overduidelijke kernkleuring aanwezig is in interne positieve controles en/of achtergrondkleuring interpretatie in de weg staat. Gespikkelde kernkleuring van tumorcellen moet als negatief (Verlies) worden beschouwd. De casus mag, in het geval van focale tumorcelkleuring, alleen de klinische status Behouden krijgen als de intensiteit van de kernkleuring ten minste hetzelfde is als van de interne positieve controles samen met de confluerende/continue kleuring van de nucleï in een aantal epitheelklieren of -nesten. De casus krijgt de klinische status Verlies als niet aan deze condities is voldaan.

Tab. 3. Kleuringsinterpretatie voor het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam.

Klinische status	Beschrijving
Behouden PMS2-expressie	Overduidelijke kernkleuring in levensvatbare tumorcellen, in de aanwezigheid van interne positieve controles (kernkleuring in lymfocyten, fibroblasten of normaal darmepitheel in de buurt van de tumor).
Verlies van PMS2-expressie	Overduidelijk verlies van of focaal zwakke twijfelachtige kernkleuring in levensvatbare tumorcellen, in de aanwezigheid van interne positieve controles. Gespikkelde kernkleuring wordt als negatief beschouwd.

Casussen met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam worden gecategoriseerd als Behouden of Verlies op basis van de aan- of afwezigheid van specifieke kleuring in de tumor.

SPECIFIEKE BEPERKINGEN

Afwijking van de aanbevolen omstandigheden voor het verkrijgen van antigenen zoals beschreven in het vermelde protocol kan de verwachte resultaten ongeldig maken. Er moeten passende controles worden gebruikt en gedocumenteerd. Gebruikers die afwijken van het vermelde protocol moeten de verantwoordelijkheid aanvaarden voor de interpretatie van patiëntresultaten.

Sommige casussen kunnen uitermate moeilijk zijn door de volgende problemen:

- Niet-specifieke achtergrond: sommige monsters vertonen niet-specifieke achtergrondkleuring om onduidelijke reden. Evaluatie van een objectglaasje met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam moet daarom een vergelijking omvatten van het objectglaasje met het objectglaasje met de negatieve reagenscontrole om het niveau niet-specifieke achtergrondkleuring te bepalen. Cytoplasmatische kleuring, indien aanwezig, moet worden genegeerd bij de IHC-interpretatie van het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam.
- Focale kleuring: sommige monsters vertonen focale kleuring in de tumorcellen en de kleuringsintensiteit kan verschillen van zwak tot sterk. Op basis van het IHC-scoringsalgoritme voor het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam, moet overduidelijk focaal zwakke twijfelachtige kernkleuring in levensvatbare tumorcellen, in de aanwezigheid van interne positieve controles worden gecategoriseerd als Verlies. Het niveau van de kleuringsintensiteit kan verschillen en deze intensiteit kan door de tumor heen verschillen. Dit heeft echter geen invloed op de klinische PMS2-status.
- Gespikkelde kleuring: sommige monsters vertonen discrete gespikkelde kleuring in enkele nucleï van de tumor. De kleuringsintensiteit kan verschillen van zwak tot sterk. Dit kleuringspatroon moet worden genegeerd en een casus moet de klinische status Verlies worden toegewezen als de casus enkel dit type kleuringspatroon vertoont.
- Weefsel- of kleuringsartefact: Histologische artefacten die ontstaan door de monsterverwerking en microtomieprocessen kunnen het bepalen van de klinische IHC-status van het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam ook bemoeilijken. Deze artefacten omvatten, maar zijn niet beperkt tot, fixatiegradiënten en randeffecten, DAB-insluiting, nucleaire luchtbelletjes, gebrek aan kleuring in bepaalde gebieden van het weefsel, scheuren of vouwen van het weefsel en verlies van de weefselcoupe. In bepaalde gevallen kan herhaalde kleuring van nieuwe coupes of het nemen van een nieuw monster nodig zijn.

Alle assays zijn mogelijk niet op elk instrument geregistreerd. Neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Roche voor meer informatie.

PRESTATIEKENMERKEN

ANALYTISCHE PRESTATIES

Er zijn kleuringstests voor gevoeligheid, specificiteit en precisie uitgevoerd. Deze resultaten worden hieronder weergegeven.

Gevoeligheid en specificiteit

Positieve kleuring is nucleair tenzij anders aangegeven. Er werd geen onverwachte kleuring waargenomen met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam op de normale en neoplastische weefsels. Zoals verwacht, aangezien mismatchreparatie aanwezig is in alle actief proliferatieve cellen, vertoonden de meeste normale en neoplastische weefsels positieve kleuring.

Tab. 4. De gevoeligheid/specificiteit van het antilichaam VENTANA anti-PMS2 (A16-4) werd bepaald door het testen van normale FFPE-weefsels.

Weefsel	Aantal positieve/ totaal aantal gevallen	Weefsel	Aantal positieve/ totaal aantal gevallen
Cerebrum (grote hersenen)	3/3	Slokdarm	3/3
Cerebellum (kleine hersenen)	3/3	Maag	3/3
Bijnierklier	3/3	Dunne darm	3/3
Ovarium	4/4	Dikke darm	3/3
Pancreas	3/3	Lever	3/3
Lymfeklier	3/3	Tong/speekselklier	3/3
Hypofyse	3/3	Nier	3/3
Testis	3/3	Prostaat	3/3

Weefsel	Aantal positieve/ totaal aantal gevallen	Weefsel	Aantal positieve/ totaal aantal gevallen
Schildklier	4/4	Blaas	3/3
Borst	3/3	Bijschildklier	3/3
Milt	3/3	Endometrium	3/3
Tonsil	3/3	Cervix	3/3
Thymus	3/3	Skeletspier	2/3
Beenmerg	3/3	Huid	3/3
Long	3/3	Zenuw	4/4
Hart	2/3	Mesotheel	2/3

Opmerking: Mismatchreparatie-eiwitten zoals PMS2 zijn aanwezig in alle actief proliferatieve cellen. Voor alle weefsels werd positieve/negatieve kleuring bepaald voor weefsel-specifieke elementen in de aanwezigheid van positieve kleuring in normale controlecellen (lymfocyten, fibroblasten en epitheelcellen).

Tab. 5. De gevoeligheid/specificiteit van het antilichaam VENTANA anti-PMS2 (A16-4) werd vastgesteld door het testen van verschillende neoplastische FFPE-weefsels.

Pathologische bevinding	Aantal positieve/ totaal aantal gevallen
Glioblastoom (grote hersenen)	1/1
Ependymoom (grote hersenen)	1/1
Oligodendroglioom (grote hersenen)	1/1
Sereus adenocarcinoom (ovarium)	1/1
Adenocarcinoom (ovarium)	1/1
Neuro-endocrien neoplasma (pancreas)	1/1
Seminoom (testis)	2/2
Medullair carcinoom (schildklier)	1/1
Papillair carcinoom (schildklier)	1/1
Micro-invasief ductaal carcinoom (borst)	1/1
Ductaal carcinoom in situ (borst)	1/1
Invasief ductaal carcinoom (borst)	1/1
Kleincellig carcinoom (long)	1/1
Plaveiselcelcarcinoom (long)	1/1
Neuro-endocrien carcinoom (slokdarm)	1/1
Zegelringcelcarcinoom (maag)	1/1
Adenocarcinoom (dunne darm)	1/1
Stroomaal sarcoom (dunne darm)	1/1
Adenocarcinoom (dikke darm)	1/1

Pathologische bevinding	Aantal positieve/ totaal aantal gevallen
Adenocarcinoom (rectum)	1/1
Gastro-intestinale stromale tumor (GIST) (rectum)	1/1
Hepatoblastoom (lever)	1/1
Heldercellig carcinoom (nier)	1/1
Adenocarcinoom (prostaat)	1/1
Plaveiselcelcarcinoom (cervix)	1/1
Embryonaal rhabdomyosarcoom (gestreept spierweefsel)	1/1
Plaveiselcelcarcinoom (huid)	1/1
Neuroblastoom (retroperitoneum)	1/1
Mesothelioom (peritoneum)	1/1
B-cellymfoom; NOS (lymfeklier)	2/2
Hodgkinlymfoom (lymfeklier)	1/1
Leiomyosarcoom (blaas)	1/1
Osteosarcoom (bot)	1/1
Leiomyosarcoom (gladde spier)	1/1

Opmerking: Mismatchreparatie-eiwitten zoals PMS2 zijn aanwezig in alle actief proliferatieve cellen. Voor alle weefsels werd positieve/negatieve kleuring bepaald voor tumorcellen in de aanwezigheid van positieve kleuring in normale controlecellen (lymfocyten, fibroblasten en epitheelcellen).

Precisie

De herhaalbaarheid binnen een run en intermediaire precisie tussen dagen

De herhaalbaarheid en precisie van het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam werden beoordeeld op het BenchMark ULTRA-instrument in combinatie met de OptiView DAB IHC Detection Kit en de OptiView Amplification Kit.

De herhaalbaarheid binnen een run werd beoordeeld met behulp van 10 CRC-monsters (5 Behouden en 5 Verlies voor PMS2-expressie). Er werden op één dag vijf replicaglaasjes van de CRC-monsters gekleurd met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam op één BenchMark ULTRA-instrument. Elk met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam gekleurde objectglaasje werd toegewezen aan een met negatieve reagenscontrole gekleurd objectglaasje uit dezelfde casus. Alle objectglaasjes werden gerandomiseerd en vervolgens beoordeeld als Behouden of Verlies door een enkele patholoog, geblindeerd voor de casusdiagnose.

De intermediaire precisie tussen dagen werd ook beoordeeld met behulp van 10 CRC-monsters (5 Behouden en 5 Verlies voor PMS2-expressie). Er werden op vijf niet-opervolgende dagen replicaglaasjes van de CRC-monsters gekleurd met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam op een BenchMark ULTRA-instrument. Elk met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam gekleurde objectglaasje werd toegewezen aan een met negatieve reagenscontrole gekleurd objectglaasje uit dezelfde casus. Alle objectglaasjes werden gerandomiseerd en vervolgens beoordeeld als Behouden of Verlies door een enkele patholoog, geblindeerd voor de casusdiagnose.

Geen van de objectglaasjes die werden gekleurd met de negatieve reagenscontrole vertoonden specifieke kleuring en de achtergrondkleuring was ≤ 0.5 . Door middel van samengevoegde gegevens van alle mogelijke sets, toonden onderzoeken naar zowel herhaalbaarheid binnen een run als intermediaire precisie tussen dagen het volgende aan: 100% positief overeenstemmingspercentage (PPA), 100% negatief overeenstemmingspercentage (NPA) en 100% algeheel overeenstemmingspercentage (OPA). Een samenvatting van de resultaten is te vinden in tabel 6.

Tab. 6. Herhaalbaarheid binnen een run en intermediaire precisie tussen dagen van het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam zoals gemeten per klinische status (Behouden of Verlies).

Herhaalbaarheid/ Precisie	Klinische status	Overeenstemming			
		Type	n/N	%	95% CI
Herhaalbaarheid binnen een run	Behouden	PPA	25/25	100.0	(86.7, 100.0)
	Verlies	NPA	25/25	100.0	(86.7, 100.0)
	Totaal	OPA	50/50	100.0	(92.9, 100.0)
Intermediaire precisie tussen dagen	Behouden	PPA	50/50	100.0	(92.9, 100.0)
	Verlies	NPA	50/50	100.0	(92.9, 100.0)
	Totaal	OPA	100/100	100.0	(96.3, 100.0)

Opmerking: 95% CI's werden berekend met behulp van de Wilson-scoremethode.

Intermediaire precisie tussen instrumenten

De intermediaire precisie tussen instrumenten voor het BenchMark ULTRA-instrument voor het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam werd bepaald door het kleuren van replicaglaasjes van 10 CRC-monsters (5 Behouden en 5 Verlies voor PMS2-expressie) op 3 verschillende BenchMark ULTRA-instrumenten met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam met behulp van de OptiView DAB IHC Detection Kit en de OptiView Amplification Kit.

Elk met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam gekleurde objectglaasje werd toegewezen aan een met negatieve reagenscontrole gekleurd objectglaasje uit dezelfde casus. Alle objectglaasjes werden gerandomiseerd en vervolgens beoordeeld op klinische status (Behouden of Verlies) door een enkele patholoog, geblindeerd voor de casusdiagnose. Geen van de objectglaasjes die werden gekleurd met de negatieve reagenscontrole vertoonden specifieke kleuring en de achtergrondkleuring was ≤ 0.5 .

Voor de intermediaire precisie tussen instrumenten voor het BenchMark ULTRA-instrument werden paarsgewijze vergelijkingen van de klinische status van objectglaasjes voor ieder monster gemaakt tussen instrumenten. Er werd 100% PPA, NPA en OPA aangetoond. Een samenvatting van de resultaten is te vinden in Tab. 7.

Tab. 7. Intermediaire precisie tussen instrumenten voor het BenchMark ULTRA-instrument van het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam zoals gemeten per klinische status (Behouden of Verlies).

Precisie	Klinische status	Overeenstemming			
		Type	n/N	%	95% CI
Intermediaire precisie tussen instrumenten	Behouden	PPA	30/30	100.0	(88.6, 100.0)
	Verlies	NPA	30/30	100.0	(88.6, 100.0)
	Totaal	OPA	60/60	100.0	(94.0, 100.0)

Opmerking: 95% CI's werden berekend met behulp van de Wilson-scoremethode.

De intermediaire precisie tussen instrumenten voor het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam werd daarnaast bepaald door het kleuren van replicaglaasjes van 6 CRC-monsters (4 Behouden en 2 Verlies voor PMS2-expressie) op 3 verschillende BenchMark XT- en 3 verschillende BenchMark GX-instrumenten met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam met behulp van de OptiView DAB IHC Detection Kit.

Er vonden per casus 15 observaties plaats na het samenvoegen van de gegevens van de 3 instrumenten. De mediaan voor iedere casus werd bepaald aan de hand van deze 15 observaties. Individuele observaties van dezelfde casus werden als overeenkomend beschouwd met de mediane casussignaalintensiteit als deze binnen 0.5 signaalintensiteit lagen. Voor de intermediaire precisie tussen instrumenten voor het BenchMark XT- en BenchMark GX-instrument werden paarsgewijze vergelijkingen van de kleuringsintensiteitsscore van de tumor voor ieder monster gemaakt. Er werd 100% OPA aangetoond tussen 3 BenchMark XT-instrumenten en 100% OPA tussen 3

BenchMark GX-instrumenten. De achtergrondkleuring was acceptabel (≤ 0.5) voor alle objectglaasjes op zowel BenchMark XT- als BenchMark GX-instrumenten.

Overeenstemming tussen BenchMark IHC/ISH-instrumenten

De overeenstemming tussen de BenchMark IHC/ISH-instrumenten voor het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam werd bepaald door het kleuren van CRC-monsters met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam met behulp van de OptiView DAB IHC Detection Kit. De klinische status (Behouden/Verlies) van alle objectglaasjes werd beoordeeld door een enkele patholoog.

Er werden paarsgewijze vergelijkingen van de CRC-monsters gemaakt tussen platforms, waaronder tussen BenchMark GX- en BenchMark ULTRA-instrumenten (135 casussen Behouden en 32 Verlies), tussen BenchMark GX- en BenchMark XT-instrumenten (126 casussen Behouden en 30 Verlies) en tussen BenchMark ULTRA- en BenchMark XT-instrumenten (135 casussen Behouden en 31 Verlies). Alle paarsgewijze vergelijkingen tussen platforms toonden een gemiddelde positieve overeenstemming (APA), gemiddelde negatieve overeenstemming (ANA) en OPA van 100% aan.

Beoordelaarsprecisieonderzoeken

Precisie binnen één beoordelaar en tussen beoordelaars werd beoordeeld aan de hand van 20 CRC-monsters (13 casussen Behouden en 7 Verlies) die werden gekleurd met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam en de OptiView DAB IHC Detection Kit met de OptiView Amplification Kit. Elk met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam gekleurde objectglaasje werd toegewezen aan een met H&E en aan een met negatieve reagenscontrole gekleurd objectglaasje uit dezelfde casus.

Alle sets objectglaasjes werden gerandomiseerd en de klinische PMS2-status werd door 3 pathologen beoordeeld als Behouden of Verlies. De casusdiagnose werd geblindeerd voor de pathologen. Na een washout-periode van twee weken werden de objectglaasjes gekleurd met VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam opnieuw gerandomiseerd voor een tweede beoordeling van de klinische PMS2-status door elk van de 3 pathologen. Geen van de objectglaasjes die werden gekleurd met de negatieve reagenscontrole vertoonden specifieke kleuring en de achtergrondkleuring was ≤ 0.5 .

De precisie binnen één beoordelaar werd bepaald door het vergelijken van de oorspronkelijke en uiteindelijke beoordeling door een enkele patholoog, wat 20 CRC-objectglaasjesvergelijkingen per patholoog opleverde. De vergelijkingen van de 3 pathologen werden samengevoegd en toonde 100% APA, 100% ANA en 100% OPA aan voor de precisie binnen één beoordelaar. Een samenvatting van de resultaten is te vinden in Tab. 8.

Voor de precisie tussen beoordelaars werden alle objectglaasjesbeoordelingen (20 CRC x 2 beoordelingen/casus x 3 pathologen = 120 objectglaasjesbeoordelingen) vergeleken met een modale casusstatus voor iedere CRC-casus. De resultaten toonden 100% PPA, NPA en OPA aan voor de precisie tussen beoordelaars. Een samenvatting van de resultaten is te vinden in Tab. 8.

Tab. 8. Intermediaire precisie binnen één beoordelaar en tussen beoordelaars van het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam bij CRC-casussen zoals gemeten per klinische PMS2-status (Behouden of Verlies).

Precisie	Klinische Status	Overeenstemming			
		Type	n/N	%	95% CI
Binnen één beoordelaar	Behouden	APA	78/78	100.0	(95.3, 100.0)
	Verlies	ANA	42/42	100.0	(91.2, 100.0)
	Totaal	OPA	60/60	100.0	(94.0, 100.0)
Tussen beoordelaars	Behouden	PPA	78/78	100.0	(95.3, 100.0)
	Verlies	NPA	42/42	100.0	(91.6, 100.0)
	Totaal	OPA	120/120	100.0	(96.9, 100.0)

Opmerking: Voor de precisie binnen één beoordelaar, werden de APA en ANA 95% CI's berekend met de op Clopper-Pearson gebaseerde methode; het OPA 95% CI werd berekend met de percentuele bootstrapmethode. Voor de precisie tussen beoordelaars werden de 95% CI's berekend met behulp van de Wilson-scoremethode.

Precisie tussen partijen

De precisie tussen partijen voor het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam werd bepaald door het testen van 3 productiepartijen van het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam op driedovoudige objectglaasjes van 10 CRC-monsters (5 Behouden en 5 Verlies voor PMS2-expressie) op een BenchMark ULTRA-instrument met behulp van de OptiView DAB IHC Detection Kit en de OptiView Amplification Kit.

Elk met het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam gekleurde objectglaasje werd toegewezen aan een met negatieve reagenscontrole gekleurd objectglaasje uit dezelfde casus. De objectglaasjes werden gerandomiseerd en beoordeeld door een enkele patholoog, geblindeerd voor de casusdiagnose en het partijnummer van het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam. Geen van de objectglaasjes die werden gekleurd met de negatieve reagenscontrole vertoonden specifieke kleuring en de achtergrondkleuring was ≤ 0.5 .

Voor de precisie tussen partijen voor het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam werden alle objectglaasjesbeoordelingen vergeleken met een modale casusstatus voor iedere CRC-casus. De OPA tussen de partijen van het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam was 100%. Hiermee is aangetoond dat de VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaamkleuring reproduceerbaar is tussen verschillende antilichaampartijen.

Een overzicht van de resultaten voor de precisie tussen partijen van het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam wordt weergegeven in tabel 9.

Tab. 9. Precisie tussen partijen voor het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam zoals gemeten per klinische status (Behouden of Verlies).

Precisie	Klinische status	Overeenstemming			
		Type	n/N	%	95% CI
Tussen partijen	Behouden	PPA	44/44	100.0	(92.0, 100.0)
	Verlies	NPA	43/43	100.0	(91.8, 100.0)
	Totaal	OPA	87/87	100.0	(95.8, 100.0)

Opmerking: 95% CI's werden berekend met behulp van de Wilson-scoremethode.

Onderzoek naar inter-laboratoriumreproduceerbaarheid

Er werd een onderzoek naar de inter-laboratoriumreproduceerbaarheid van het VENTANA MMR IHC Panel voltooid om reproduceerbaarheid aan te tonen voor ieder VENTANA MMR IHC Panel-assay voor het bepalen van de klinische status. Het onderzoek omvatte 6 CRC-weefselmonsters (3 Behouden en 3 Verlies) voor ieder MMR-eiwit en 16 CRC-weefselmonsters (8 Positief en 8 Negatief) voor de BRAF V600E-run op 3 verschillende BenchMark ULTRA-instrumenten op 5 niet-openvolgende dagen over een periode van 21 dagen bij drie externe laboratoria. Elk met antilichaam gekleurd objectglaasje werd toegewezen aan een met H&E en aan een met negatieve reagenscontrole gekleurd objectglaasje uit dezelfde casus. Alle objectglaasjes werden gerandomiseerd en beoordeeld door in totaal 6 beoordelaars (2 beoordelaars per locatie), geblindeerd voor de klinische MMR-status van de onderzoeksset. Voor elk van de 40 casussen in het onderzoek werden 30 observaties uitgevoerd, verspreid over alle dagen, locaties en beoordelaars. De modale casusreferentiestatus werd voor iedere casus afgeleid uit de meest geobserveerde status uit de 30 observaties. Het onderzoek omvatte in totaal 1200 observaties voor alle vijf eiwitten. Het aanvaardbaarheidspercentage voor morfologie en achtergrond voor alle evalueerbare casussen in dit onderzoek was 100%. Er wordt een overzicht van de samengevoegde (alle vijf eiwitten) overeenkomststatistieken tussen de modale casusreferentiestatus en individuele observaties weergegeven in tabel 10.

Tab. 10. Overeenkomst tussen het VENTANA MMR IHC Panel en de modale casusreferentiestatus.

Inter-laboratorium-reproduceerbaarheid	Klinische status	Overeenstemming			
		Type	n/N	%	95% CI
Alle eiwitten	Behouden/Positief	PPA	598/600	99.8	(98.7, 100.0)
	Verlies/Negatief	NPA	593/600	98.9	(97.4, 99.5)
	Totaal	OPA	1191/1200	99.4	(98.6, 99.7)

Opmerking: De klinische status is gedefinieerd als Behouden of Verlies voor eiwitexpressie voor MMR-eiwitten en Positief of Negatief voor het BRAF V600E-eiwit. 95% CI's werden berekend met behulp van een gegeneraliseerd lineair gemengd model (GLMM).

Daarnaast werden er paarsgewijze vergelijkingen gemaakt tussen locaties, tussen dagen en tussen beoordelaars voor het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam. Deze onderzoeksset omvatte in totaal 180 observaties voor PMS2. Een samenvatting van de resultaten is te vinden in tabel 11. De gegevens geven assayreproduceerbaarheid aan over 5 dagen, 3 locaties en 6 beoordelaars.

Tab. 11. Paarsgewijze overeenstemmingspercentages voor inter-laboratoriumreproduceerbaarheid van het VENTANA anti-PMS2 (A16-4)-antilichaam zoals gemeten per klinische status (Behouden of Verlies).

Inter-laboratorium-reproduceerbaarheid		Overeenstemming			
		Type	n/N	%	95% CI
Tussen locaties (3 locaties)		APA	344/360	95.6	(90.7, 100.0)
		ANA	344/360	95.6	(90.7, 100.0)
		OPA	344/360	95.6	(91.1, 100.0)
Tussen dagen (5 niet- opeenvolgende dagen)	Locatie A	APA	120/120	100.0	(96.9, 100.0)
		ANA	120/120	100.0	(96.9, 100.0)
		OPA	120/120	100.0	(96.9, 100.0)
	Locatie B	APA	120/120	100.0	(96.9, 100.0)
		ANA	120/120	100.0	(96.9, 100.0)
		OPA	120/120	100.0	(96.9, 100.0)
	Locatie C	APA	104/120	86.7	(69.2, 100.0)
		ANA	104/120	86.7	(69.2, 100.0)
		OPA	104/120	86.7	(73.3, 100.0)
Tussen beoordelaars (2 pathologen per locatie)		APA	90/90	100.0	(95.9, 100.0)
		ANA	90/90	100.0	(95.9, 100.0)
		OPA	90/90	100.0	(95.9, 100.0)

Opmerking: 95% CI's werden berekend met de percentuele bootstrapmethode; in gevallen waar de puntschatting 100% was, werd de Wilson-scoremethode gebruikt.

Nauwkeurigheidsonderzoek: Methodevergelijking van VENTANA MMR IHC Panel-resultaten met moleculaire testen (DNA-sequentiëring en hypermethyliering van de MLH1-promoter)

Er werd een onderzoek uitgevoerd om de prestatie van het VENTANA MMR IHC Panel te vergelijken met moleculaire testen, waaronder een uitgebreid darmpanel met DNA-sequentiëring voor het identificeren van CRC's die (i) MMR-deficiënt (dMMR) zijn en (ii) de

BRAF V600E-mutatie bevatten. Het darmpanel met DNA-sequentiëring omvatte genomische analyse van aanwezige varianten in MMR-genen (*MLH1*, *PMS2*, *MSH2*, *MSH6*, *EPCAM*), *BRAF* en andere genen die belangrijk zijn bij carcinogenese (bijv. *PIK3CA*, *KRAS*, *NRAS*, *ERBB2*, etc.). Sequentiëring omvatte alle exonen, intronische en naastgelegen sequenties en grote deleties, duplicaties en mozaïcisme.

Voor het onderzoek werden sequentiële CRC-casussen gekleurd door H&E en geëvalueerd op indicaties van juiste fixatie en morfologie, waaronder de aanwezigheid van cellulaire elementen (tumor- en interne controlecellen). Iedere casus werd geëvalueerd om te bepalen of het monster minimaal 50% tumorinhoud bevatte, om voldoende representatie van tumorcellen in het monster te bieden zoals wordt aanbevolen voor moleculaire testen. Na de evaluatie werden 105 sequentiële casussen die aan de criteria voldeden, opgenomen in het onderzoek. Daarnaast werden 13 CRC-casussen met een via IHC aangetoonde klinische status Verlies opgenomen om ervoor te zorgen dat Verlies voor iedere marker in het onderzoek voorkwam. Coupes van alle casussen in het onderzoek werden via IHC gekleurd met het VENTANA MMR IHC Panel en de juiste negatieve reagenscontroles. Er werden aanvullende coupes onderworpen aan het darmpanel met DNA-sequentiëring. Hypermethylatie van de *MLH1*-promoter is een van de mechanismen die leidt tot verlies van *MLH1*-eiwitexpressie. Het wordt in verband gebracht met sporadische CRC, in plaats van met een mogelijke diagnose van het syndroom van Lynch. Alle casussen met *MLH1*-verlies in het onderzoek die via IHC werden geïdentificeerd, werden dus getest op hypermethylatie van de *MLH1*-promoter.

In de uiteindelijke onderzoeksset met 118 casussen, omvatte de analyse PPA en NPA voor alle samengevoegde markers (d.w.z. alle samengevoegde observaties) waarbij de moleculaire testen dienden als referentiestatus voor IHC-vergelijking. De analyse omvatte een vergelijking van de MMR-eiwitstatus (Behouden/Verlies) met de moleculaire status die was gedefinieerd als Normaal (geen pathogene mutatie[s], negatief voor hypermethylatie van de *MLH1*-promoter, en wildtype *BRAF* [geen *V600E*-mutatie]) of Abnormaal (aanwezigheid van pathogene mutatie[s], positief voor hypermethylatie van de *MLH1*-promoter en/of positief voor de *BRAF V600E*-mutatie). Binnen dit onderzoek werd een pathogene mutatie in de tumor gedefinieerd als een kiembaan- of somatische mutatie die naar verwachting zal leiden tot het verlies van MMR-eiwitexpressie. Puntschattingen waren 99.4% PPA, 93.5% NPA en 98.8% OPA, zoals weergegeven in Tab. 12.

Er werd ook een samengevoegde analyse uitgevoerd waarin de vier MMR IHC-markers (zonder het VENTANA anti-BRAF V600E (VE1)-antilichaam) werden vergeleken met moleculaire testresultaten. Puntschattingen waren 99.3% PPA, 89.7% NPA en 98.5% OPA, zoals samengevat in Tab. 13.

In een aanvullende analyse werden de vier MMR IHC-markerresultaten vergeleken met de moleculaire testresultaten voor de MMR-genen op het casusniveau om de status van alle markers op te nemen en een dMMR/pMMR-uitkomst voor de twee methoden te creëren. Deze analyse wordt weergegeven in Tab. 14 en toont een OPA van 97.4% aan tussen de twee methoden.

De IHC MMR-status en de moleculaire test MMR-status werden ook vergeleken op individuele MMR-markers binnen het onderzoek. De OPA voor iedere MMR-marker, wanneer deze werd vergeleken met de gecombineerde resultaten van het darmpanel met DNA-sequentiëring en de test voor hypermethylatie van de *MLH1*-promoter, was 100.0% voor het VENTANA anti-*MLH1* (M1)-antilichaam, 99.1% voor het VENTANA anti-*PMS2* (A16-4) Mouse Monoclonal Primary Antibody, 98.3% voor het VENTANA anti-*MSH2* (G219-1129) Mouse Monoclonal Primary Antibody en 96.6% voor het VENTANA anti-*MSH6* (SP93) Rabbit Monoclonal Primary Antibody.

De klinische *BRAF V600E*-status in CRC's die werd verkregen via IHC met het VENTANA anti-BRAF V600E (VE1)-antilichaam, werd ook vergeleken met de resultaten van de *BRAF*-mutatiestatus die werd bepaald aan de hand van DNA-sequentiëring. De PPA, NPA en OPA voor IHC-testen met gebruik van het VENTANA anti-BRAF V600E (VE1)-antilichaam met DNA-sequentiëring als referentie, waren allemaal 100% (Tab. 15). Er werden aanvullende tests uitgevoerd ter verificatie van de mogelijkheid van het VENTANA anti-BRAF V600E (VE1)-antilichaam om CRC-casussen die een verlies van *MLH1*-eiwitexpressie laten zien verder te stratificeren. Van de 23 positieve *BRAF V600E*-casussen, waren er 20 casussen met verlies van het *MLH1*-eiwit via IHC positief voor hypermethylatie van de *MLH1*-promoter. Deze gegevens zijn consistent met een nauw verband tussen een positieve *BRAF V600E*-status en een hypermethylatiestatus van de *MLH1*-promoter. De drie overgebleven casussen waren pMMR (behouden voor alle MMR-eiwitten). Alle positieve *BRAF V600E*-monsters werden geïdentificeerd als sporadisch CRC. De resultaten verifieerden dat het VENTANA anti-BRAF V600E (VE1)-antilichaam CRC's met de *BRAF V600E*-mutatie correct identificeert. De gegevens ondersteunden ook het gebruik van het VENTANA anti-BRAF V600E (VE1)-antilichaam voor het maken van onderscheid tussen sporadische CRC en CRC met waarschijnlijk het syndroom van Lynch bij afwezigheid van *MLH1*-expressie.

Tab. 12. Samengevoegde analyse voor VENTANA MMR IHC Panel-overeenstemming tussen IHC en moleculaire testen.

Status* (Moleculair/IHC)	Overeenstemming			
	Type	n/N	%	95% CI
Normaal/Behouden	PPA	523/526	99.4	(98.7, 100.0)
Abnormaal/Verlies	NPA	58/62	93.5	(87.1, 98.6)
Totaal	OPA	581/588	98.8	(98.0, 99.7)

* Voor IHC is de MMR-status voor eiwitexpressie Behouden of Verlies. Voor deze analyse werden *BRAF V600E*-negatieve en -positieve casussen opgenomen in respectievelijk de categorieën Behouden en Verlies. Moleculaire testen geven de afwezigheid (Normaal) of aanwezigheid (Abnormaal) van mogelijke pathogene mutaties of hypermethylatie van de *MLH1*-promoter aan. 95% CI's werden berekend met behulp van de percentuele bootstrapmethode.

Tab. 13. Samengevoegde analyse voor overeenstemming van vier MMR IHC-markers (zonder het VENTANA anti-BRAF V600E (VE1)-antilichaam) tussen IHC en moleculaire testen.

Status* (Moleculair/IHC)	Overeenstemming			
	Type	n/N	%	95% CI
Normaal/Behouden	PPA	428/431	99.3	(98.4, 100.0)
Abnormaal/Verlies	NPA	35/39	89.7	(79.4, 97.7)
Totaal	OPA	463/470	98.5	(97.3, 99.6)

* Voor IHC is de status voor eiwitexpressie Behouden of Verlies. Moleculaire testen geven de afwezigheid (Normaal) of aanwezigheid (Abnormaal) van mogelijke pathogene mutaties of hypermethylatie van de *MLH1*-promoter aan. 95% CI's werden berekend met behulp van de percentuele bootstrapmethode.

Tab. 14. Overeenstemming tussen de resultaten van de vier MMR IHC-markers en moleculaire testen voor de MMR-status (dMMR/pMMR).

MMR-status*	Overeenstemming			
	Type	n/N	%	95% CI
pMMR	PPA	79/80	98.8	(93.3, 99.8)
dMMR	NPA	35/37	94.6	(82.3, 98.5)
Totaal	OPA	114/117	97.4	(92.7, 99.1)

* Voor IHC wordt de pMMR-status voor een casus vertegenwoordigd door de status Behouden voor alle MMR-eiwitten, terwijl de dMMR-status wordt vertegenwoordigd door de status Verlies voor één of meer MMR-eiwitten. Voor moleculaire testen wordt de pMMR-status vertegenwoordigd door de afwezigheid van pathogene mutaties of hypermethylatie van de *MLH1*-promoter, terwijl de dMMR-status wordt vertegenwoordigd door de aanwezigheid van pathogene mutaties of hypermethylatie van de *MLH1*-promoter. 95% CI's werden berekend met behulp van de Wilson-scoremethode.

Tab. 15. Overeenstemming tussen IHC met het VENTANA anti-BRAF V600E (VE1)-antilichaam en moleculaire testen.

BRAF V600E Status (Moleculair/IHC)	Overeenstemming			
	Type	n/N	%	95% CI
Positief/Abnormaal	PPA	23/23	100.0	(85.7, 100.0)
Negatief/Normaal	NPA	95/95	100.0	(96.1, 100.0)
Totaal	OPA	118/118	100.0	(96.8, 100.0)

De BRAF V600E-status wordt gedefinieerd als Positief of Negatief voor IHC-resultaten en Abnormaal (aanwezigheid van de V600E-mutatie) of Normaal (wildtype BRAF) voor moleculaire testresultaten. 95% CI's werden berekend met behulp van de Wilson-scoremethode.

LITERATUUR

- Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013.
- Geiersbach KB, Samowitz WS. Microsatellite instability and colorectal cancer. Arch Pathol Lab Med. 2011;135(10):1269-1277.
- Wright CL, Stewart ID. Histopathology and mismatch repair status of 458 consecutive colorectal carcinomas. Am J Surg Pathol. 2003;27(11):1393-1406.
- Tiwari AK, Roy HK, Lynch HT. Lynch syndrome in the 21st century: clinical perspectives. QJM. 2016;109(3):151-158.
- Buza N, Ziai J, Hui P. Mismatch repair deficiency testing in clinical practice. Expert Rev Mol Diagn. 2016;16(5):591-604.
- Silva FCC, Torrezaan GT, Ferreira JRO, Oliveira LP, Begnami M, et al. Germline Mutations in MLH1 Leading to Isolated Loss of PMS2 Expression in Lynch Syndrome: Implications for Diagnostics in the Clinic. Am J Surg Pathol. 2017;41(6):861-864.
- Boyer JC, Umar A, Risinger JI, Lipford JR, Kane M, et al. Microsatellite instability, mismatch repair deficiency, and genetic defects in human cancer cell lines. Cancer Res. 1995;55(24):6063-6070.
- Lawes DA, Pearson T, Sengupta S, Boulous PB. The role of MLH1, MSH2 and MSH6 in the development of multiple colorectal cancers. Br J Cancer. 2005;93(4):472-477.
- Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. N Engl J Med. 2003;348(10):919-932.
- Peltomäki P. Role of DNA mismatch repair defects in the pathogenesis of human cancer. J Clin Oncol. 2003;21(6):1174-1179.
- Lynch HT, Smyrk T. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome). An updated review. Cancer. 1996;78(6):1149-1167.
- Caldes T, Godino J, Sanchez A, Corbacho C, De la Hoya M, et al. Immunohistochemistry and microsatellite instability testing for selecting MLH1, MSH2 and MSH6 mutation carriers in hereditary non-polyposis colorectal cancer. Oncol Rep. 2004;12(3):621-629.
- Shia J, Klimstra DS, Nafa K, Offit K, Guillem JG, et al. Value of immunohistochemical detection of DNA mismatch repair proteins in predicting germline mutation in hereditary colorectal neoplasms. Am J Surg Pathol. 2005;29(1):96-104.
- Cunningham JM, Tester DJ, Thibodeau SN. Mutation detection in colorectal cancers: direct sequencing of DNA mismatch repair genes. Methods Mol Med. 2001;50:87-98.
- Domingo E, Laiho P, Ollikainen M, Pinto M, Wang L, et al. BRAF screening as a low-cost effective strategy for simplifying HNPCC genetic testing. J Med Genet. 2004;41(9):664-668.
- Jin M, Hampel H, Zhou X, Schunemann L, Yearsley M, et al. BRAF V600E mutation analysis simplifies the testing algorithm for Lynch syndrome. Am J Clin Pathol. 2013;140(2):177-183.
- Deng G, Bell I, Crawley S, Gum J, Terdiman JP, et al. BRAF mutation is frequently present in sporadic colorectal cancer with methylated hMLH1, but not in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Clin Cancer Res. 2004;10(1 Pt 1):191-195.
- Giardiello FM, Allen JI, Axilbund JE, Boland CR, Burke CA, et al. Guidelines on Genetic Evaluation and Management of Lynch Syndrome: A Consensus Statement by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. Diseases of the Colon & Rectum. 2014;57(8):1025-1048.
- Egoavil C, Alenda C, Castillejo A, Paya A, Peiro G, et al. Prevalence of Lynch syndrome among patients with newly diagnosed endometrial cancers. PLoS One. 2013;8(11):e79737.
- Connell LC, Mota JM, Braghiroli MI, Hoff PM. The Rising Incidence of Younger Patients With Colorectal Cancer: Questions About Screening, Biology, and Treatment. Curr Treat Options Oncol. 2017;18(4):23.
- Provenzale D, Gupta S, Ahnen DJ, Bray T, Cannon JA, et al. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Colorectal Version 1.2016, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. J Natl Compr Canc Netw. 2016;14(8):1010-1030.
- Balmana J, Balaguer F, Cervantes A, Arnold D, Group EGW. Familial risk-colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. Ann Oncol. 2013;24 Suppl 6:v73-80.
- Evaluation of Genomic Applications in P, Prevention Working G. Recommendations from the EGAPP Working Group: genetic testing strategies in newly diagnosed individuals with colorectal cancer aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome in relatives. Genet Med. 2009;11(1):35-41.
- Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. J Natl Cancer Inst. 2004;96(4):261-268.
- Parsons MT, Buchanan DD, Thompson B, Young JP, Spurdle AB. Correlation of tumour BRAF mutations and MLH1 methylation with germline mismatch repair (MMR) gene mutation status: a literature review assessing utility of tumour features for MMR variant classification. J Med Genet. 2012;49(3):151-157.
- Shia J. Evolving approach and clinical significance of detecting DNA mismatch repair deficiency in colorectal carcinoma. Semin Diagn Pathol. 2015;32(5):352-361.
- Thiel A, Heinonen M, Kantonen J, Gylling A, Lahtinen L, et al. BRAF mutation in sporadic colorectal cancer and Lynch syndrome. Virchows Arch. 2013;463(5):613-621.
- Toon CW, Chou A, DeSilva K, Chan J, Patterson J, et al. BRAFV600E immunohistochemistry in conjunction with mismatch repair status predicts survival in patients with colorectal cancer. Mod Pathol. 2014;27(5):644-650.
- Koinuma K, Shioh K, Miyakura Y, Furukawa T, Yamashita Y, et al. Mutations of BRAF are associated with extensive hMLH1 promoter methylation in sporadic colorectal carcinomas. Int J Cancer. 2004;108(2):237-242.
- Carson FL, Hladik C, Cappellano CH, Pathology ASfC. Histotechnology: A Self-Instructional Text: American Society for Clinical Pathology; 2015.
- CLSI. Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunohistochemistry Assays: Approved Guideline-Second Edition. CLSI document I/LA28-A2 (ISBN 1-56238-745-6). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2011.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
- Roche PC, Hsi ED, Firfer BL. Immunohistochemistry: Principles and Advances. Manual of Molecular and Clinical Laboratory Immunology, 7th Edition: American Society of Microbiology; 2006.
- Rabinovitch A. The College of American Pathologists laboratory accreditation program. Accreditation and Quality Assurance. 2002;7(11):473-476.

OPMERKING: Er wordt in dit document altijd een komma gebruikt als het decimale scheidingsteken om de grens tussen het gehele getal en de fracties van een decimaal cijfer weer te geven. Er worden geen scheidingstekens gebruikt voor duizenden.

Een overzicht met betrekking tot de veiligheid en de prestaties is hier te vinden: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Symbolen

Ventana gebruikt de volgende symbolen en tekens naast die tekens die worden vermeld in de ISO 15223-1-standaard (voor de VS: zie [dialog.roche.com](https://www.dialog.roche.com) voor de definities van gebruikte symbolen):



Wereldwijd handelsproductnummer

INTELLECTUEEL EIGENDOM

VENTANA, BENCHMARK, OPTIVIEW en het VENTANA-logo zijn handelsmerken van Roche. Alle andere handelsmerken zijn eigendom van hun respectievelijke eigenaren.

Toevoegingen, schrappingen of wijzigingen worden aangegeven met een wijzigingsbalk in de kantlijn.

© 2020 Ventana Medical Systems, Inc.

CONTACTGEGEVENS



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany
+800 5505 6606

www.roche.com

