

HOVEDBUDSKAP

- Fire optimaliserte protokoller for primær-antistoffene anti-MLH1, anti-PMS2, anti-MSH2 og anti-MSH6 ble implementert ved Enhet for immunhistokjemi, Avdeling for patologi, St. Olavs hospital.
- De optimaliserte protokollene ga mer distinkt kjernefarge og mindre bakgrunnsfarge, hvilket gjorde det lettere å stille riktige diagnoser ved eventuelle bortfall av mismatch-repair-proteiner.
- Reproduserbarheten ble bedre ved bruk av de nye protokollene, særlig for PMS2 og MSH6.

SAMMENDRAG

Bakgrunn: Immunhistokjemisk farging av vevsnett kan påvise mismatch repair (MMR)-proteinene MLH1, PMS2, MSH2 og MSH6, som normalt uttrykkes i cellekjernen. Tap av en eller flere av disse kan indikere Lynch syndrom. Hensikten med studien var å optimalisere protokoller for å kunne detektere MMR-proteinene ved bruk av primærantistoffene anti-MLH1, anti-PMS2, anti-MSH2 og anti-MSH6.

Materiale og metode: Det ble benyttet formalinfikserte, parafininnstøpte vevsbiter fra 17 pasientprøver, hovedsakelig fra tykktarm, men også fra uterus, tynntarm, rektum og ventrikkel. Disse prøvene var tidligere vurdert, og åtte prøver hadde normalt proteinuttrykk for MLH1, PMS2, MSH2 og MSH6, mens de resterende ni prøvene hadde tap av MLH1 og PMS2 eller MSH2 og MSH6. Metoden som ble anvendt var immunhistokjemisk farging på BenchMark Ultra (Ventana/Roche).

Resultat: De fire primærantistoffene påviste MMR-proteinene, og det ble utarbeidet fire optimaliserte protokoller. Den mest optimale protokollen for anti-MLH1 har forbehandlingstid på 64 minutter, inkubasjonstid med antistoff på 32 minutter og amplifisering på 4 minutter. For anti-PMS2 ble forbehandlingstiden 92 minutter, inkubasjonstid med antistoff 40 minutter og amplifisering 8 minutter med den mest optimale protokollen. Videre ble forbehandlingstid på 64 minutter og inkubasjonstid med antistoff på 32 minutter mest optimalt for anti-MSH2. For anti-MSH6 ble en protokoll med forbehandlingstid på 64 minutter og inkubasjonstid med antistoff på 12 minutter mest optimalt.

Konklusjon: Det ble utarbeidet fire optimaliserte protokoller for hvert av de fire primærantistoffene i samråd med patolog. Protokollene ble verifisert og implementert i rutinediagnostikken av Lynch syndrom ved Enhet for immunhistokjemi, Avdeling for patologi, St. Olavs hospital.

Nøkkelord: Lynch syndrom, immunhistokjemi, BenchMark Ultra, mismatch repair-proteiner

Artikkelen er basert på en bacheloroppgave utført ved NTNU Trondheim i 2018.

- Bioingeniøren er godkjent som vitenskapelig tidsskrift. Denne artikkelen er fagfellevurdert og godkjent etter Bioingeniørens retningslinjer.

Immunhistokjemisk påvisning av mismatch repair-proteiner

Eirin Amundlien

Bioingeniør, Avdeling for medisinsk biokjemi, St. Olavs hospital

Renate Sandberg

Bioingeniør, masterstudent, NTNU Trondheim

Lise Eid Wålberg

Spesialbioingeniør, Avdeling for patologi, St. Olavs hospital

E-post: amundlien.eirin@gmail.com

I Norge er tykk- og endetarmskreft, eller tarmkreft, den nest hyppigste kreftformen (1,2). Det ses en familiehistorie med tarmkreft i flere av tilfellene (2). Lynch syndrom (LS), også kjent som hereditær non-polypøs tykk- og endetarmskreft (HNPCC), er det vanligste arvelige kreftsyndromet. Dette syndromet er forbundet med økt risiko for tarmkreft, og særlig økt risiko for å utvikle kreft i ung alder. I tillegg ses det en økt forekomst av flere andre primære tumorer i ventrikkel, hjerne, bukspyttkjertel, livmorhalsslimhinne, prostata og eggstokker (2-4).

Mismatch repair (MMR)-proteiner er enzymer som spiller en sentral rolle i å fremme stabilt DNA. Enzymene gjør dette ved å reparere DNA-replikasjonsfeil og hemme rekombinasjoner mellom ikke-identiske DNA-sekvenser etter replikasjon. Tap av disse proteinene, eller mutasjoner i genene for MMR-proteinene, kan resultere i opphopning av spontane mutasjoner i arvematerialet (5,6). Over tid kan opphopningen påvirke produksjonen av viktige cellulære proteiner, som igjen kan føre til kreft (3).

MLH1, PMS2, MSH2 og MSH6 er MMR-proteiner som normalt uttrykkes i cellekjerner. Mutasjon i et av genene som koder

for disse proteinene kan lede til LS. MLH1 og MSH2 er de vanligste genene å ha mutasjon i ved LS (7). Tap av MLH1- eller MSH2-proteinene ledsages som regel alltid av tap av heterodimer partner, henholdsvis PMS2 eller MSH6. Imidlertid fører ikke tap av PMS2 eller MSH6 til tap av MLH1 eller MSH2. Tap av PMS2, MSH2 og/eller MSH6 har sammenheng med mulig LS. Tap av kun MLH1 kan indikere sporadisk forekomst av kreft, eller potensielt LS (8-10). Vevsprøver kan farges med immunhistokjemi for å gi en indikasjon på om det foreligger en genfeil som har ført til eventuelt tap av disse proteinene (4).

Ved Enhet for immunhistokjemi, Avdeling for patologi, St. Olavs hospital, var det et ønske om å prøve ut nye primærantistoff for MLH1, PMS2, MSH2 og MSH6, ettersom de eksisterende primærantistoffene hadde varierende fargekvalitet, spesielt for PMS2 og MSH6. Den varierende kvaliteten førte til at farge-resultatene kunne være vanskelig å tolke. For å oppnå optimalt resultat ved immunhistokjemisk farging, er det viktig å optimalisere protokollene for hvert primærantistoff.

Hensikten med studien var å sikre høy kvalitet og pålitelige resultater ved å optimalisere protokoller for immunhistokjemisk farging med primærantistoffene anti-MLH1, anti-PMS2, anti-MSH2 og anti-MSH6 på BenchMark Ultra (Ventana/Roche). Utprøvingen ble utført ved Enhet for immunhistokjemi, Avdeling for patologi, St. Olavs hospital.

Materiale og metode

Prøvemateriale

Prøvematerialet som ble benyttet i studien var 17 formalinfikserte, parafininnstøpte

vevsprøver med kjente diagnoser som tidligere var farget og diagnostisert ved avdelingen. Prøvene ble hentet fra diagnostisk biobank ved avdelingen. Utvalgs-kriteriet var at de inneholdt både tumor- og normalvev. Åtte av prøvene hadde normalt proteinuttrykk for MLH1, PMS2, MSH2 og MSH6. De resterende ni hadde tap av MLH1 og PMS2, eller MSH2 og MSH6. Prøvene var hovedsakelig fra tykktarm, men det ble i tillegg anvendt vevsprøver fra uterus, tynntarm, rektum og ventrikkel, for å prøve ut fargingen på flere vevstyper. Ettersom prøvene ble benyttet til kvalitetssikring av nye analyser, var det ikke nødvendig med samtykke fra pasientene.

Kontroller

Det ble benyttet kontroller for å kontrollere den tekniske kvaliteten til immunfargingene. Disse kontrollene lages ved avdelingen. Kontrollmaterialet var multiblokk med formalinfiksert, parafininnstøpt vevsmateriale fra normal appendiks, tonsille, pankreas og lever. Normalvev fra disse organene skal være positivt for MLH1, PMS2, MSH2 og MSH6.

Intern vevskontroll ble også vurdert. Normalvev og tumorvev med normalt proteinuttrykk ble anvendt som positiv kontroll, mens tumor med kjent bortfall av proteinene ble brukt som negativ kontroll.

Primærantistoff

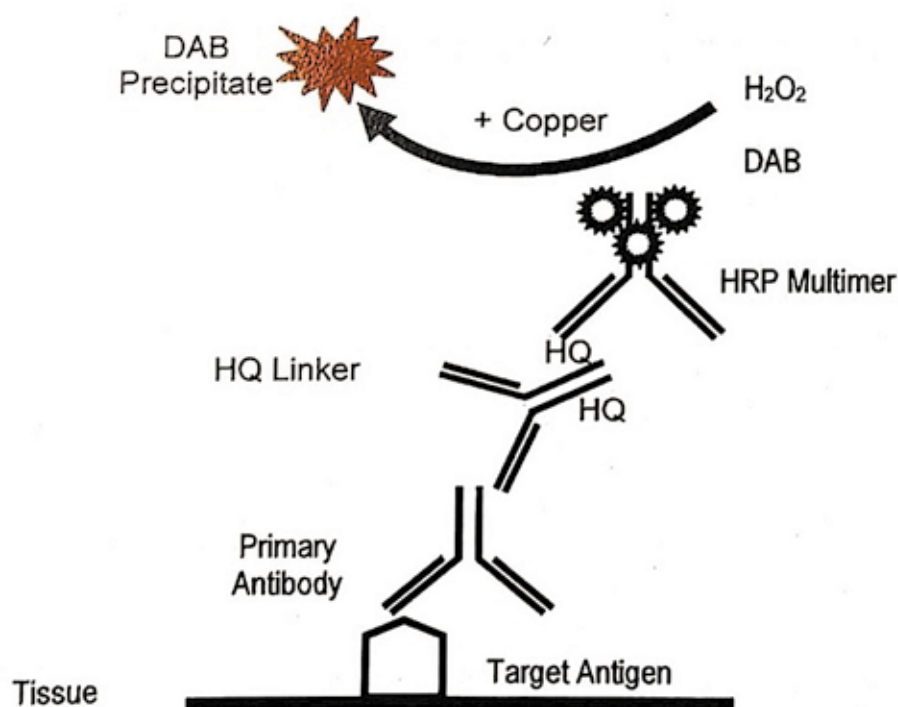
Informasjon om primærantistoffene som tidligere ble benyttet og primærantistoffene som ble anvendt i studien finnes i tabell 1.

I tabell 2 ses en oversikt over de protokollene som ble benyttet på de tidligere analysene for MLH1, PMS2, MSH2 og MSH6.

Prinsipp

Immunhistokjemi (IHC) er en teknikk som benyttes til diagnostiske formål ved medisinske laboratorier. Metoden benyttes for å påvise biomarkører i ulike vev, og går ut på å lokalisere antigen i vevssnitt ved hjelp av primære antistoff som er spesifikke mot en epitop (11).

Formalin danner kryssbindinger i vevet slik at det skal holde seg stabilt. Disse kryssbindingene maskerer antigenene, og snittene må derfor forbehandles for å



FIGUR 1. Reaksjonsprinsipp for OptiView DAB IHC Detection Kit (gjengitt med tillatelse fra Ventana/Roche) (11).

TABELL 1. Oversikt over primærantistoffene som tidligere ble benyttet ved Avdeling for patologi, St Olavs hospital, og over primærantistoffene som ble benyttet i studien. Primærantistoffene er ready-to-use (RTU) antistoff fra produsenten Ventana/Roche.

	Navn primærantistoff	Klon	Produkt--nummer
Gammel metode	Anti-MLH1 Mouse Monoclonal Primary Antibody	M1	790-4535
	Anti-PMS2 Rabbit Monoclonal Antibody	EPR3947	760-4531
	Anti-MSH2 Mouse Monoclonal Antibody	G129-1129	760-4265
	Anti-MSH6 Mouse Monoclonal Primary Antibody	44	790-4455
Ny metode	Anti-MLH1 Mouse Monoclonal Primary Antibody	M1	760-5091
	Anti-PMS2 Mouse Monoclonal Primary Antibody	A16-4	760-5094
	Anti-MSH2 Mouse Monoclonal Primary Antibody	G129-1129	760-5093
	Anti-MSH6 Rabbit Monoclonal Primary Antibody	SP93	760-5092

TABELL 2. Oversikt over protokollene til de tidligere analysene for MMR-proteinene.

Analyse	Forbehandling	Forbehand-lingstid	Inkubasjonstid antistoff	Deteksjons-kit	Amplifiserings-kit
MLH1	CC1	64 min	32 min	OptiView DAB IHC	4 min
PMS2	CC1	64 min	48 min	OptiView DAB IHC	8 min
MSH2	CC1	64 min	32 min	OptiView DAB IHC	4 min
MSH6	CC1	64 min	32 min	OptiView DAB IHC	4 min

TABELL 3. Oversikt over varierende parametere ved optimalisering av MLH1-protokoll.

	Første runde	Andre runde	Tredje runde
Antall prøver	3	3	14
Forbehandlingstid med CC1 ved 100°C (min)	32		
	64	64	64
	92		
Inkubasjonstid med antistoff (min)	24	32	32
		40	
Amplifiseringstid (min)	-	-	4

TABELL 4. Oversikt over varierende parametere ved optimalisering av PMS2-protokoll.

	Første runde	Andre runde	Tredje runde
Antall prøver	3	3	14
Forbehandlingstid med CC1 ved 100°C (min)	64		
	92	92	92
Inkubasjonstid med antistoff (min)	32	32	40
		40	
Amplifiseringstid (min)	4	8	8

TABELL 5. Oversikt over varierende parametere ved optimalisering av MSH2-protokoll.

	Første runde	Andre runde	Tredje runde
Antall prøver	3	3	14
Forbehandlingstid med CC1 ved 100°C (min)	40	64	64
	92		
Inkubasjonstid med antistoff (min)	12	32	32
Amplifiseringstid (min)	-	-	-

TABELL 6. Oversikt over varierende parametere ved optimalisering av MSH6-protokoll.

	Første runde	Andre runde
Antall prøver	3	14
Forbehandlingstid med CC1 ved 100°C (min)	32	64
	64	
	92	
Inkubasjonstid med antistoff (min)	12	12
Amplifiseringstid (min)	-	-

bryte bindingene slik at epitopene demaskeres. Heat-induced epitope retrieval (HIER) brukes til dette. Ved HIER benyttes buffer og varme for å bryte bindingene (12).

For denne studien ble primærantistoff fra mus og kanin anvendt. OptiView DAB IHC Detection Kit benytter en blanding av sekundære antistoff for påvisning av primærantistoff fra mus og kanin, se figur 1. De sekundære antistoffene er dekket av

syntetiske molekyler (HQ-hapten) med høy affinitet til det tertiære antistoffet, HRP Multimer. Det tertiære antistoffet er merket med enzymet HRP (horseradish peroxidase). HRP katalyserer reaksjonen mellom H₂O₂ (hydrogenperoksidsubstrat) og 3,3'-diaminobenzidin tetrahydroklorid (DAB) kromogen hvor H₂O₂ oksiderer DAB-kromogenet. Det blir da produsert en brunfarget utfelling av DAB. Kobber vil reagere med oksidasjonsproduktet

av DAB, og gjøre brunfargen mørkere og mer distinkt. Dette reaksjonsproduktet kan ses ved bruk av lysmikroskop. Etter som MMR-proteinene finnes i cellekjerne, er det kjernene som vil farges brune (11, 13)

Fremgangsmåte

Det ble snittet 3 µm tykke snitt på SuperFrost Plus-glass. Snittene ble inkubert i varmeskap ved 60 °C i 1 time før snittene ble farget i BenchMark Ultra (Ventana/Roche). Snittene ble først varmet opp til 60 °C i 8 minutter, og deretter deparafinert i EZ Prep, som er en mild detergent. Videre ble snittene forbehandlet med Cell Conditioner 1 (CC1), en tris-basert buffer med basisk pH, ved 100 °C med varierende lengde. For informasjon om lengde på forbehandling, se avsnitt «Optimalisering av primærantistoffene». Deteksjonskitet som ble benyttet var OptiView DAB IHC Detection Kit (Ventana/Roche) der alle reagensene som trengs for å farge immunhistokjemi inngår. Det ble også testet ut amplifiseringstrinn med OptiView Amplification Kit (Ventana/Roche). Etter farging i instrumentene ble snittene vasket i EZ Prep for å fjerne LCS fra snittene. LCS er organiske oljemolekyler som danner et kammer for å hindre fordampning av reagenser under fargeprosessen. Videre ble snittene kontrastfarget med hematoxylin (egenprodusert ved avdelingen) i 20 sekunder, blånet i lunke vann i 4 minutter, samt dehydrert før det ble lagt på dekkglass. Snittene ble tørket i varmeskap ved 60 °C i 10 minutter før de ble vurdert i mikroskop.

Optimalisering av primærantistoffene

Parameterne som ble optimalisert var forbehandlingstid, inkubasjonstid for primærantistoff og bruk av amplifiseringskit. Under optimaliseringen av parameterne ble det tatt utgangspunkt i leverandøren sine anbefalinger.

Anti-MLH1. Primærantistoffet anti-MLH1 ble utprøvd i tre runder med ulike forbehandlingstider, inkubasjonstider med antistoff og ved tillegg av et amplifiseringstrinn, se tabell 3. De samme tre prøvene ble benyttet i første og andre utprøving, mens i tredje utprøving ble det brukt 14 nye prøver.

Anti-PMS2. Primærantistoffet anti-PMS2 ble utprøvd i tre runder med ulike

forbehandlingstider, inkubasjonstider med antistoff og amplifiseringstid, se tabell 4. I første og andre utprøving ble de tre samme prøvene benyttet, mens i tredje utprøving ble det brukt 14 nye prøver.

Anti-MSH2. Primærantistoffet anti-MSH2 ble utprøvd i tre runder med ulike forbehandlingstider og inkubasjonstider med antistoff, se tabell 5. De tre samme prøvene ble anvendt i første og andre utprøving, mens i tredje utprøving ble det brukt 14 nye prøver.

Anti-MSH6. Primærantistoffet anti-MSH6 ble utprøvd i to runder med ulike forbehandlingstider og inkubasjonstider med antistoff, se tabell 6. Det ble anvendt tre prøver ved første utprøving, og 14 andre prøver i den andre utprøvingen.

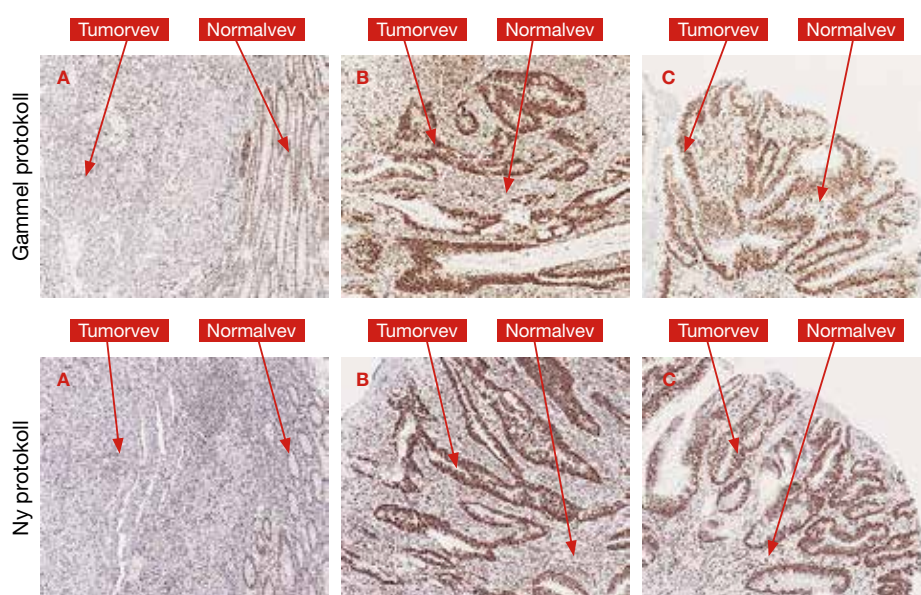
Resultater

Etter flere utprøvinger med ulike utprøvsvariabler ble de mest optimale protokollene for primærantistoffene funnet. Ved vurdering av resultatene ble det lagt vekt på farging av riktige strukturer, fargeintensitet, hvor godt morfologien var bevart og om det var bakgrunnsfarge/ uspesifikk farging. Det var ønskelig at fargingen av cellekjernene skulle være sterkt brun, distinkt og uten bakgrunnsfarge for positive resultater. Positivt tumorvev og normalvev ble farget som forventet. Negativt tumorvev fremsto som fargeløse eller blå.

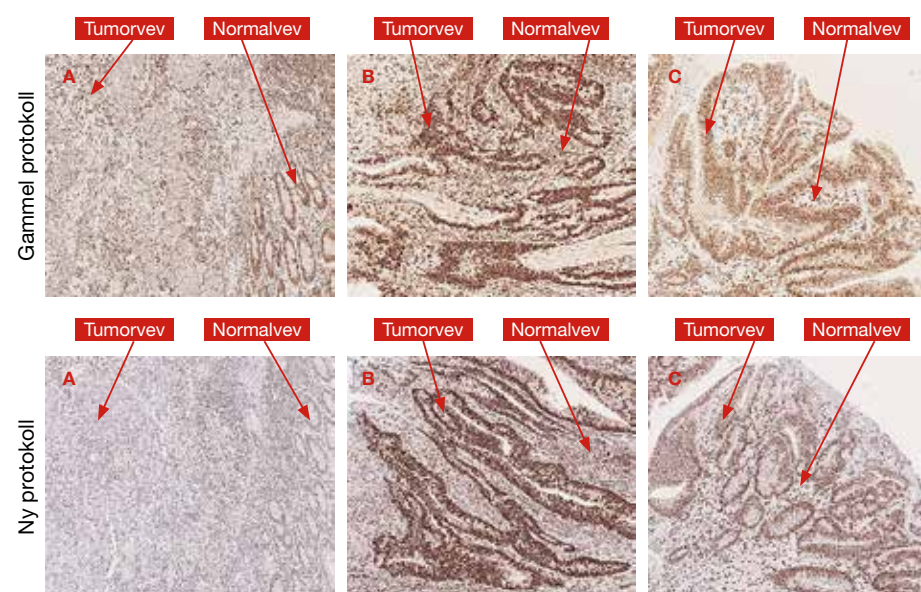
Det var totalt 17 prøver med i utprøvingen, men det er valgt ut tre representative prøver som vises med bilder fra gammel og ny protokoll. Fra tidligere vurdering var det kjent at prøve A hadde tap av MLH1- og PMS2-proteiner, prøve B hadde normalt proteinuttrykk for alle fire MMR-proteinene, mens prøve C hadde tap av MSH2- og MSH6-proteiner.

Anti-MLH1. Ved sammenligning av ny og gammel protokoll for anti-MLH1 ble forskjellen i fargekvalitet vurdert som minimal (figur 2). Patologen ved avdelingen vurderte likevel den nye protokollen som mer optimal ettersom den ga tydeligere og mer distinkt kjernefarge.

Anti- PMS2. Den nye protokollen for anti-PMS2 ga mindre bakgrunnsfarge og tydeligere kjernefarge, hvilket gjør preparatene enklere å vurdere (figur 3). Det viste seg at reproduserbarheten ved bruk av den gamle protokollen var dårligere enn ved bruk av den nye protokollen.



FIGUR 2. Immunohistokjemisk farging av MMR-proteinuttrykk ved gammel og ny protokoll for anti-MLH1. Bildene viser normalvev og positiv tumor som er farget brunt i kjernene (forventet pga. normalt proteinuttrykk), mens negativ tumor er uten brunfarge (forventet pga. manglende proteinuttrykk). Kontrastfarget med hematoxylin. A: Proteinuttrykk med negativ tumor. B: Proteinuttrykk med positiv tumor. C: Proteinuttrykk med positiv tumor. 100x forstørrelse.

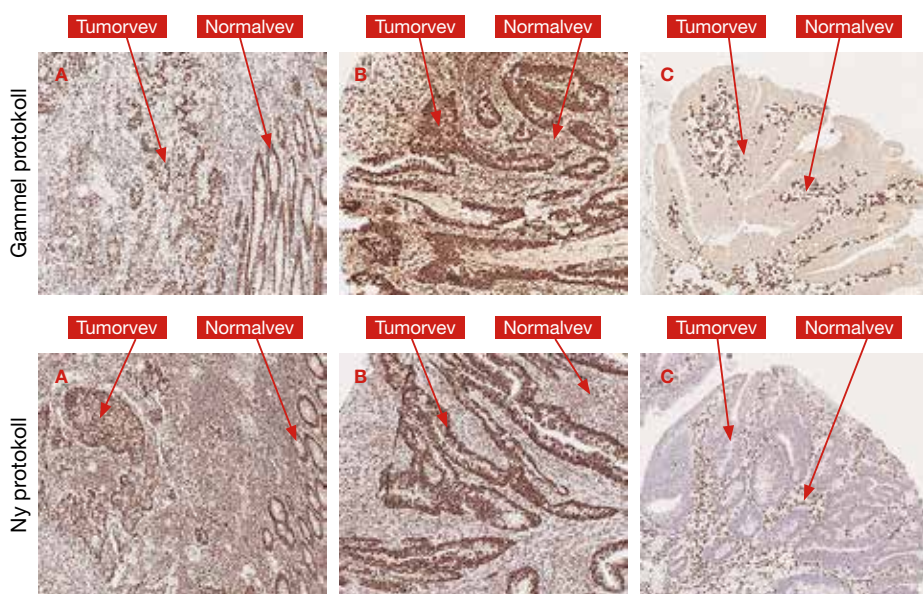


FIGUR 3. Immunohistokjemisk farging av MMR-proteinuttrykk ved gammel og ny protokoll for anti-PMS2. Bildene viser normalvev og positiv tumor som er farget brunt i kjernene (forventet pga. normalt proteinuttrykk), mens negativ tumor er uten brunfarge (forventet pga. manglende proteinuttrykk). Kontrastfarget med hematoxylin. A: Proteinuttrykk med negativ tumor. B: Proteinuttrykk med positiv tumor. C: Proteinuttrykk med positiv tumor. 100x forstørrelse.

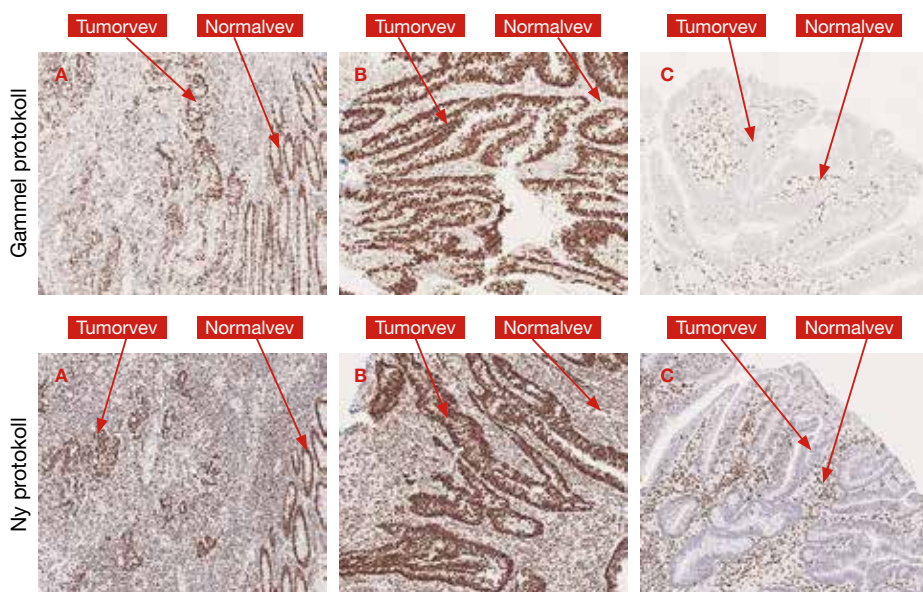
Anti-MSH2. For anti-MSH2 viste det seg at farging med ny protokoll ga mindre bakgrunnsfarge enn ved anvendelse av den gamle protokollen (figur 4). Den nye protokollen ga også tydeligere og mer dis-

tinkt kjernefarge.

Anti-MSH6. En tydeligere og mer distinkt farging ble også funnet ved bruk av ny protokoll for anti-MSH6 (figur 5). I tillegg var reproduserbarheten bedre mel- ▶



FIGUR 4. Immunohistokjemisk farging av MMR-proteinuttrykk ved gammel og ny protokoll for anti-MSH2. Bildene viser normalvev og positiv tumor som er farget brunt i kjernene (forventet pga. normalt proteinuttrykk), mens negativ tumor er uten brunfarge (forventet pga. manglende proteinuttrykk). Kontrastfarget med hematoxylin. A: Proteinuttrykk med positiv tumor. B: Proteinuttrykk med positiv tumor. C: Proteinuttrykk med negativ tumor. 100x forstørrelse.



FIGUR 5. Immunohistokjemisk farging av MMR-proteinuttrykk ved gammel og ny protokoll for anti-MSH6. Bildene viser normalvev og positiv tumor som er farget brunt i kjernene (forventet pga. normalt proteinuttrykk), mens negativ tumor er uten brunfarge (forventet pga. manglende proteinuttrykk). Kontrastfarget med hematoxylin. A: Proteinuttrykk med positiv tumor. B: Proteinuttrykk med positiv tumor. C: Proteinuttrykk med negativ tumor. 100x forstørrelse.

lom fargingene ved bruk av denne protokollen sammenliknet med den gamle protokollen.

Oppsummerende ble den mest opti-

male protokollen for anti-MLH1 med forbehandlingstid på 64 minutter, inkubasjonstid med antistoff på 32 minutter og 4 minutter med amplifisering. For

anti-PMS2 ble forbehandlingstiden på 92 minutter, inkubasjonstid med antistoff på 40 minutter, og amplifisering på 8 minutter. Anti-MSH2 krevde forbehandlingstid på 64 minutter, og inkubasjonstid med antistoff på 32 minutter. For anti-MSH6 ble en protokoll med forbehandlingstid på 64 minutter og inkubasjonstid med antistoff på 12 minutter mest optimalt. Anti-MSH2 og anti-MSH6 krevde ikke amplifiseringstrinn.

Diskusjon

Formålet med denne studien var å optimalisere protokollene for primærantistoffene anti-MLH1, anti-PMS2, anti-MSH2 og anti-MSH6 til diagnostikk av LS. Å optimalisere protokoller er viktig for å kunne stille riktige diagnoser til pasienter med eventuelle mutasjoner i mismatch repair-gener som fører til bortfall av ett eller flere MMR-proteiner. Tap av disse proteinene kan, som tidligere nevnt, lede til Lynch syndrom.

Leverandøren oppga anbefalte protokoller for hvert av primærantistoffene, men ut ifra tidligere erfaringer gjort ved avdelingen er det kjent at disse ikke nødvendigvis gir optimalt resultat. Det ble derfor prøvd ut ulike protokoller med utgangspunkt i leverandøren sine anbefalinger. Det var flere faktorer som gjorde at fargeresultatene varierte, slik som vevstype, fiksering av vevet før farging, forbehandlingstid, inkubasjonstid med antistoff og eventuelt bruk av amplifiseringskit. Vevsprøvene som ble benyttet var hentet fra diagnostisk biobank og fikseringstiden til prøvene kunne dermed ikke endres i denne studien. Etter utprøving av de fire primærantistoffene var det kun protokollen til anti-MSH6 som ble lik den som er anbefalt fra leverandøren. Dette viser viktigheten av å optimalisere protokollene før de implementeres i rutinediagnostikk.

Kontrollene ble godkjent dersom de viste positivt proteinuttrykk. På grunn av for dårlig fiksering og fremføring av levervevet som ble benyttet i kontrollen, hadde denne vevsbiten negativt proteinuttrykk og ble derfor ikke vurdert. Det vil si at dersom appendiks, tonsille og pankreas viste normalt proteinuttrykk, ble kontrollfarging godkjent. Optimalt burde det vært benyttet tumorvev med normalt proteinuttrykk, og tumor med bortfall av MMR-

proteinene i kontrollen, men på grunn av lettere tilgang til restmateriale fra normalvev benytter avdelingen dette i kontrollen.

Protokollene for primærantistoffene rettet mot de ulike MMR-proteinene er vanskelige å optimalisere, ettersom disse analysene benyttes til farging av både nye prøver og prøver som har vært lagret over lang tid. De preanalytiske faktorene, slik som fiksering og fremføring, er nemlig forskjellige. Dette er en feilkilde. Med dette tatt i betraktningen, ser vi likevel at farging med de nye protokollene ga mer stabil fargekvalitet og bedre reproduserbarhet i de fleste tilfellene. Det var i tillegg enklere å tolke fargerresultatene på grunn av mer distinkt og tydelig kjernefarge, i tillegg til mindre bakgrunnsfarge. Avdelingen hadde, som tidligere nevnt, størst problemer med farging av PMS2 og MSH6-proteinene, og analysen forbedret seg med de nye protokollene.

Det er verdt å nevne at fargerresultatet avhenger av hvilket fargeinstrument som blir benyttet, reagenser, primærantistoffenes klon og fremgangsmåte. Det kan derfor være variasjoner ved ulike laboratorier. Immunhistokjemiske metoder gir ikke et bestemt fasitsvar. Fargekvaliteten og fargerresultatet vurderes individuelt ved mikroskopering av preparatene. Det vil derfor være variasjoner i hva som anses å være et optimalt resultat. Det foregår kontinuerlig et tverrfaglig samarbeid mellom bioingeniører og patologer for å oppnå det mest optimale resultatet.

Konklusjon

Det ble utarbeidet fire optimale protokoller for hvert av de fire primærantistoffene i samråd med patolog. Disse analysene ble verifisert og implementert i rutinediagnostikken av Lynch syndrom ved avdelingen i august 2018, men på grunn av for få analyser til å vurdere spesifisitet, sensitivitet og total nøyaktighet ved implementering, ble primærantistoffene prøvd ut videre ved avdelingen i perioden august 2018 – februar 2019 for å se om protokollene ga tilfredsstillende resultater på flere prøver. I denne perioden ble det farget 88 pasientprøver med de optimale protokollene. Det ble ikke oppdaget noen avvik grunnet protokollene i denne perioden og analysene er ferdig verifisert. ■

Referanser

1. Oterholt KK, Grønlie MG. Resultater og forbedringstiltak fra Nasjonalt kvalitetsregister for tykk- og endetarmskreft. Kreftregisteret – institutt for populasjonsbasert kreftforskning. 2017
2. Hofslie E, Sjørusen W. Markører av betydning for diagnostikk og behandling av tarmkreft. *Bioingeniøren*. 2009;4:6-10.
3. Cox VL, Saeed BAA, Foo WC, Gupta S, Yedururi S, Garg N et al. Lynch Syndrome: Genomics Update and Imaging Review. *Radiographics: a review publication of the Radiological Society of North America, Inc.* 2018;38(2):483-99.
4. Tiwari AK, Roy HK, Lynch HT. Lynch syndrome in the 21st century: clinical perspectives. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians.* 2016;109(3):151-8.
5. Harfe BD, Jinks-Robertson S. DNA mismatch repair and genetic instability. *Annual review of genetics.* 2000;34:359-99.
6. Hsieh P, Yamane K. DNA mismatch repair: Molecular mechanism, cancer, and ageing. *Mechanisms of ageing and development.* 2008;129(7-8):391-40.
7. Barnetson RA, Tenesa A, Farrington SM, Nicholl ID, Cetnarskyj R, Porteous ME, et al. Identification and survival of carriers of mutations in DNA mismatch-repair genes in colon cancer. *The New England journal of medicine.* 2006;354(26):2751-63.
8. Buza N, Ziai J, Hui P. Mismatch repair deficiency testing in clinical practice. *Expert review of molecular diagnostics.* 2016;16(5):591-604.
9. 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. *Journal of medical genetics.* 2012;49(3):151-7.
10. Shia J. Evolving approach and clinical significance of detecting DNA mismatch repair deficiency in colorectal carcinoma. *Seminars in diagnostic pathology.* 2015;32(5):352-61.
11. RocheDiagnostics. OptiView DAB IHC Detection Kit. In: Ventana Medical Systems I, editor. 2011.
12. RocheDiagnostics. Cell Conditioning Solution (CC1). In: Ventana Medical Systems I, editor. 2009.
13. RocheDiagnostics. OptiView Detection Chemistry. In: Ventana Medical Systems I, editor. 2011.

Skriv FAG resymé!

■ Kjenner du noen som har publisert en interessant fagartikkel i et annet tidsskrift enn *Bioingeniøren*? Har du kanskje selv gjort det? Da burde du skrive et FAG resymé for *Bioingeniøren* – et kort sammendrag av artikkelen.

■ Et FAG resymé skal bestå av en tittel, kort ingress, selve sammendraget som kort redegjør for bakgrunn, metoder, resultater og hva de kan bety for gjeldende praksis. Omfanget skal ikke overskride 4000 tegn (inkludert mellomrom). Det kan gjerne følge med en illustrasjon.

Les mer i *Bioingeniørens* retningslinjer på www.bioingenioren.no.