

# Validatie van antilichamen voor IHC-kleuring op DAKO Omnis

Chloë Corijn, Pathologische Ontleedkunde UZ Leuven (Leuven)

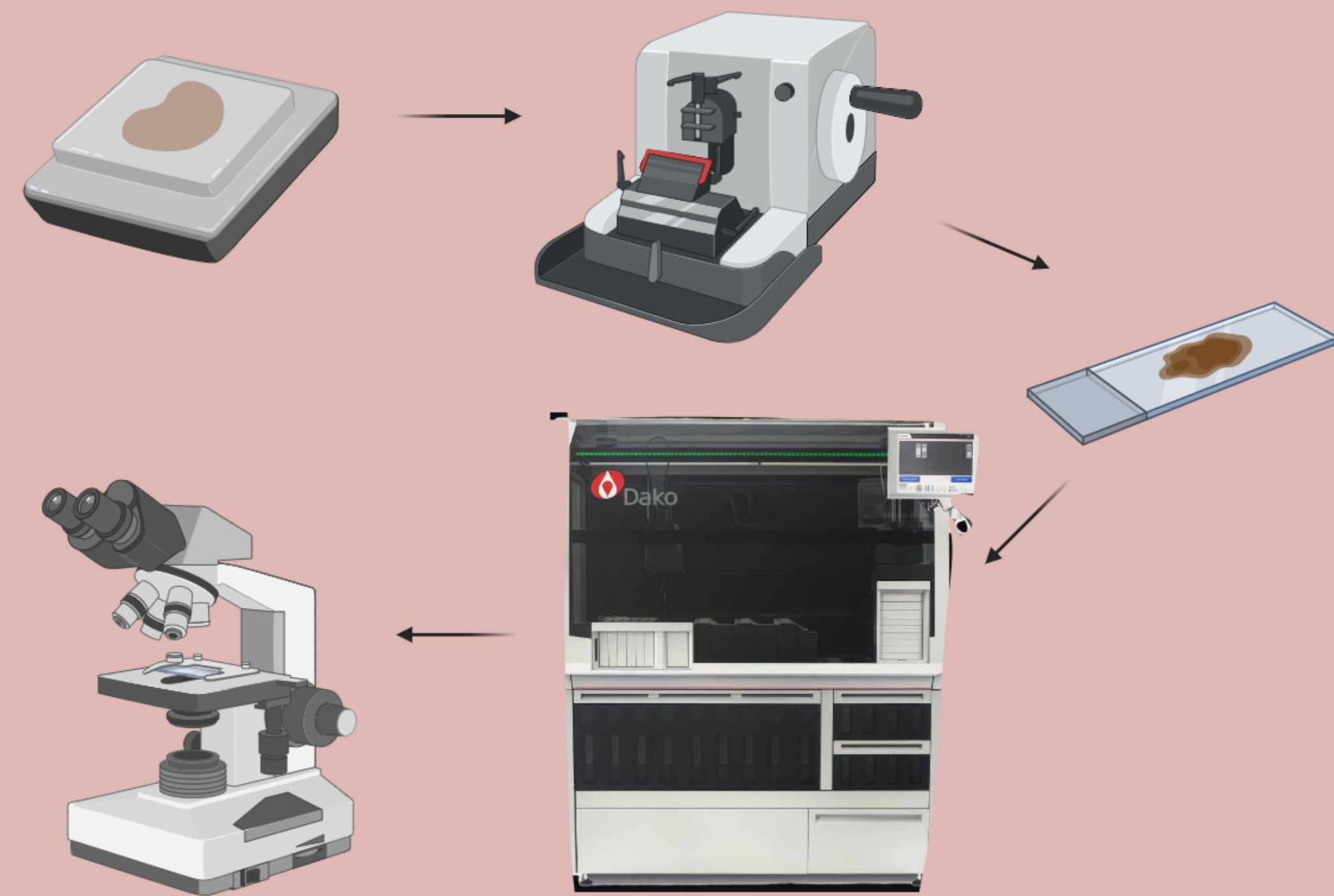
## Introductie

Om de kwaliteit van een immunohistochemische (IHC)-kleuring te garanderen bij gebruik op de DAKO Omnis, moeten de antilichamen gevalideerd worden.

Bij een validatie wordt de werking van nieuwe antilichamen getest op een positief controle weefsel om te zien of de IHC-kleuring optimaal is.

Wanneer de IHC-kleuring niet is zoals gewenst, dan kan het protocol gewijzigd worden om de optimale omstandigheden te hebben voor de werking van de antilichamen.

## Materialen en methoden



Figuur 1 De workflow van een IHC-kleuring op Dako Omnis.

**Stap 1** FFPE-blokje uit staalbewaring nemen.

**Stap 2** Versnijden van het FFPE-blokje met een microtoom.

**Stap 3** Coupes aanbrengen op draagglasjes.

**Stap 4** Verwerking en IHC-kleuring van de coupes in het DAKO Omnistoeel (indirecte detectiemethode).

**Stap 5** Microscopische controle van het IHC-kleuring door de patholoog.

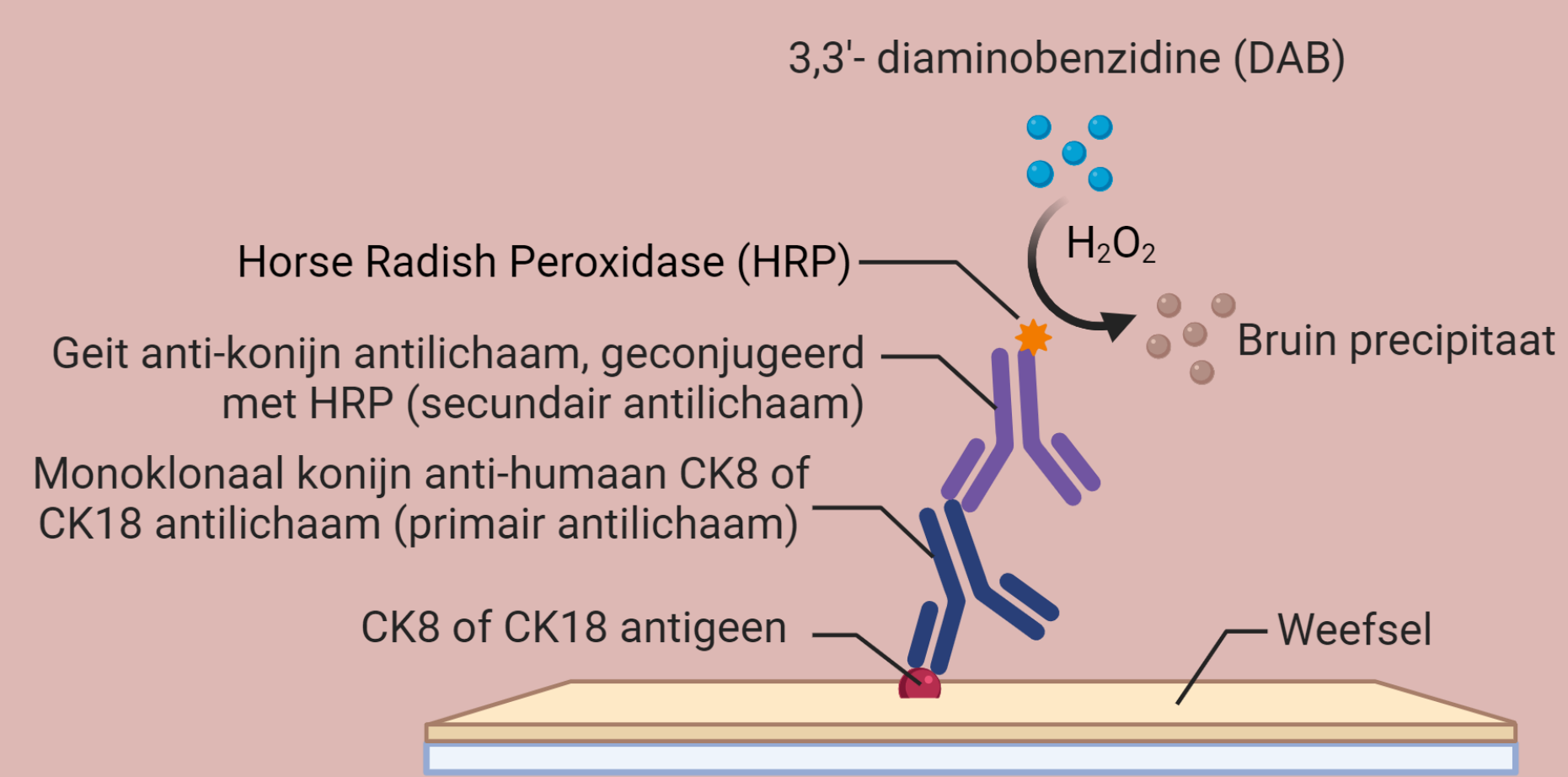
### Validatie van 2 antilichamen

#### Monoklonale konijn anti-cytokeratine 8/18

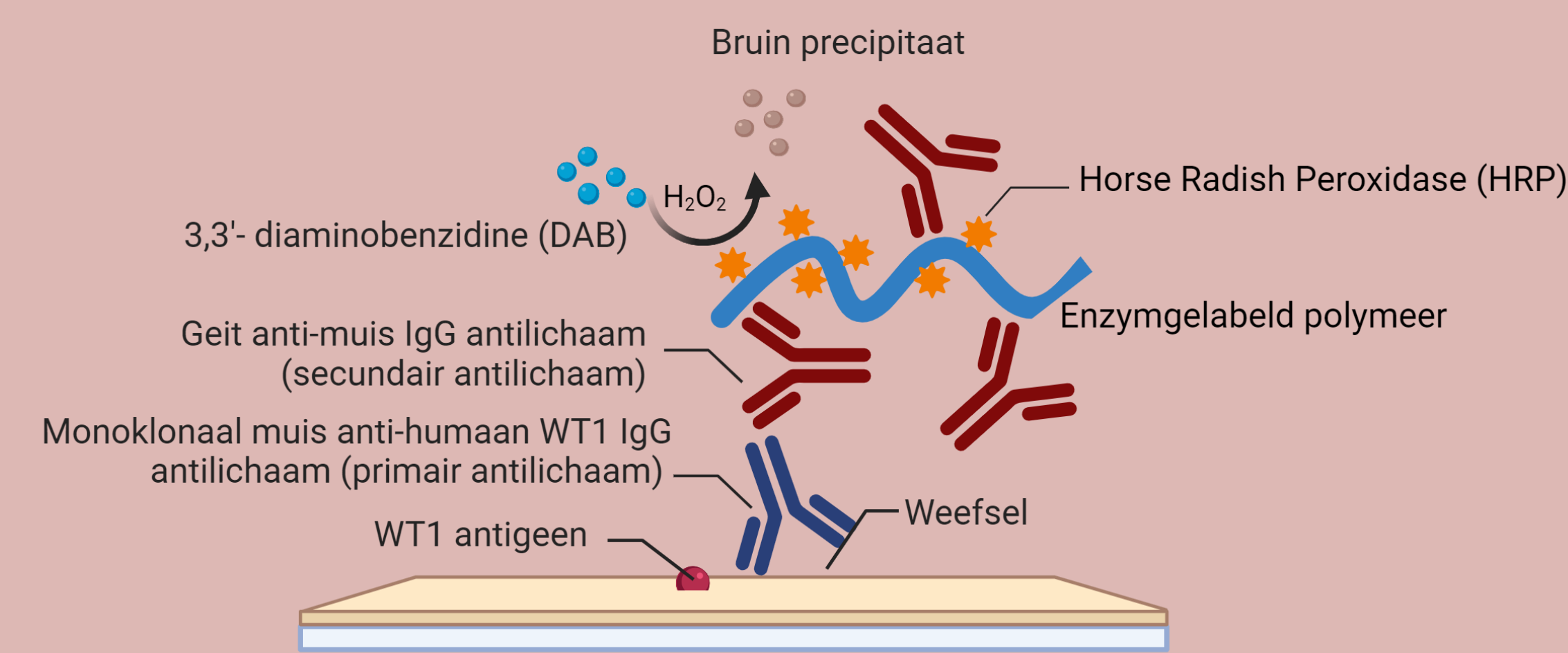
- Epitheliale tumoren opsporen door cytokeratine 8 en 18 aan te kleuren in filamenten van het membraan van epiteelcellen
- Ready-to-use antilichaam
- IHC-kleuring van een leverpunctie

#### Monoklonale muis anti-Wilms' tumoreiwit 1

- Urogenitale tumoren opsporen (voornamelijk Wilms' tumor)
- Te optimaliseren antilichaam: concentraat antilichamen verdunnen en eventueel polymeer linker gebruiken
- IHC-kleuring van een niercarcinoom en tubacarcinoom



Figuur 2 Schematische representatie van indirecte detectiemethode bij IHC met gebruik van HRP.

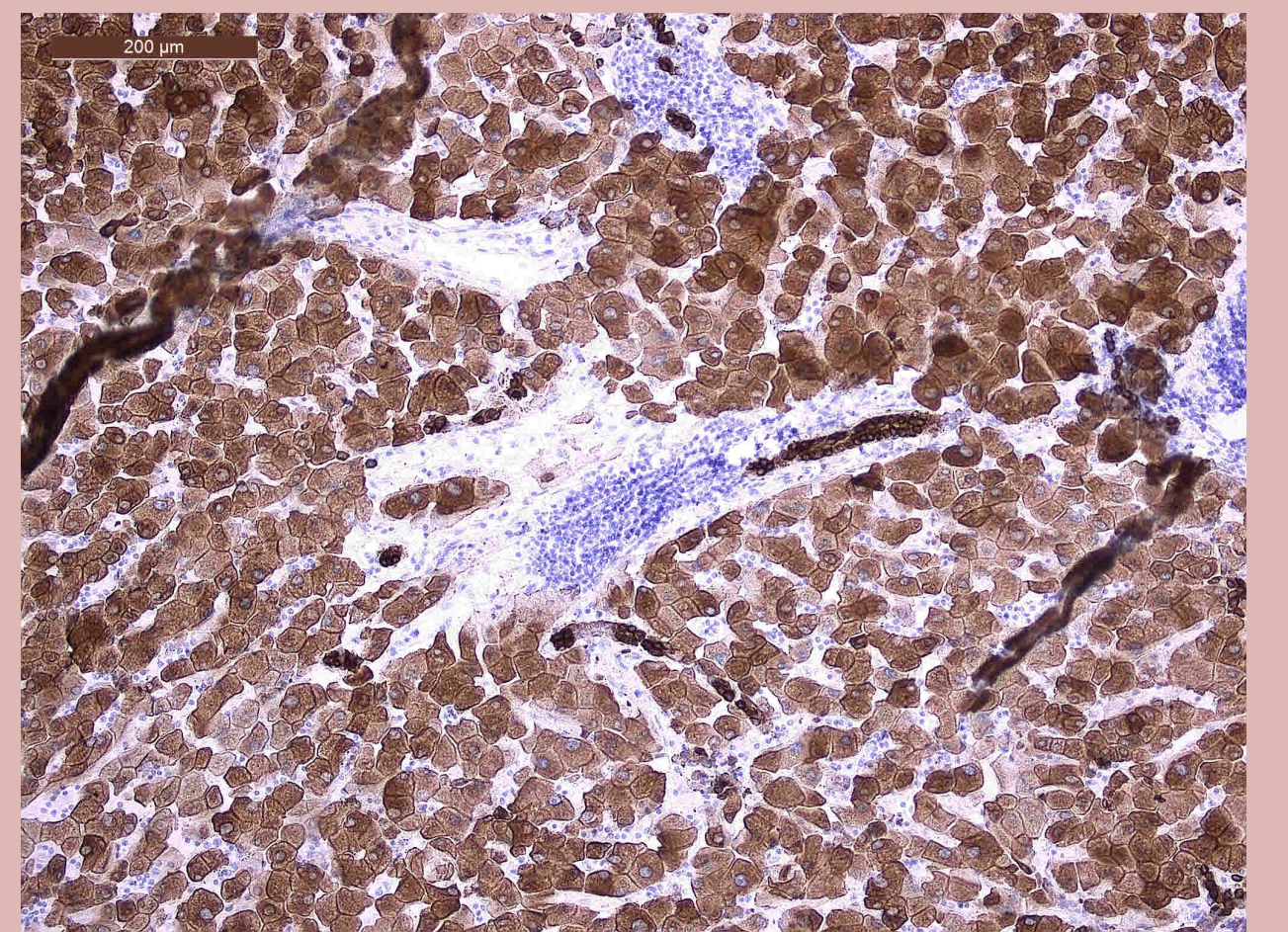


Figuur 3 Schematische representatie van de polymeerketting indirecte detectiemethode bij IHC met gebruik van HRP.

## Resultaten

### Cytokeratine 8/18

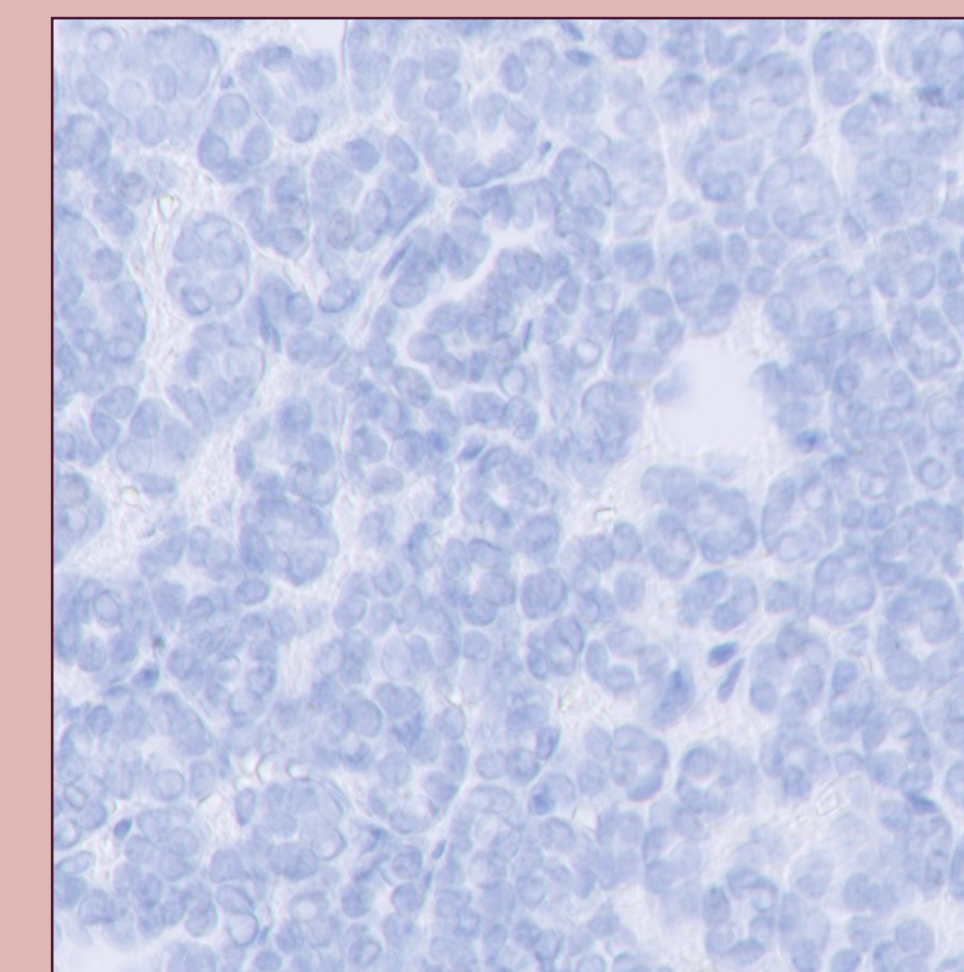
Het RTU-antilichaam blijkt direct een goede immunohistochemie (IHC)-kleuring op de levercoupes te geven, volgens de patholoog. De Cytokeratine 8 (CK8) en Cytokeratine 18 (CK18) in de filamenten van de hepatocyten vertonen een bruine kleur. Bovendien is de achtergrond gekleurd met hematoxyline, waardoor de celkernen blauw tot paars kleuren. Dit stelt de patholoog in staat om de hepatocyten duidelijk te onderscheiden van andere celtypen.



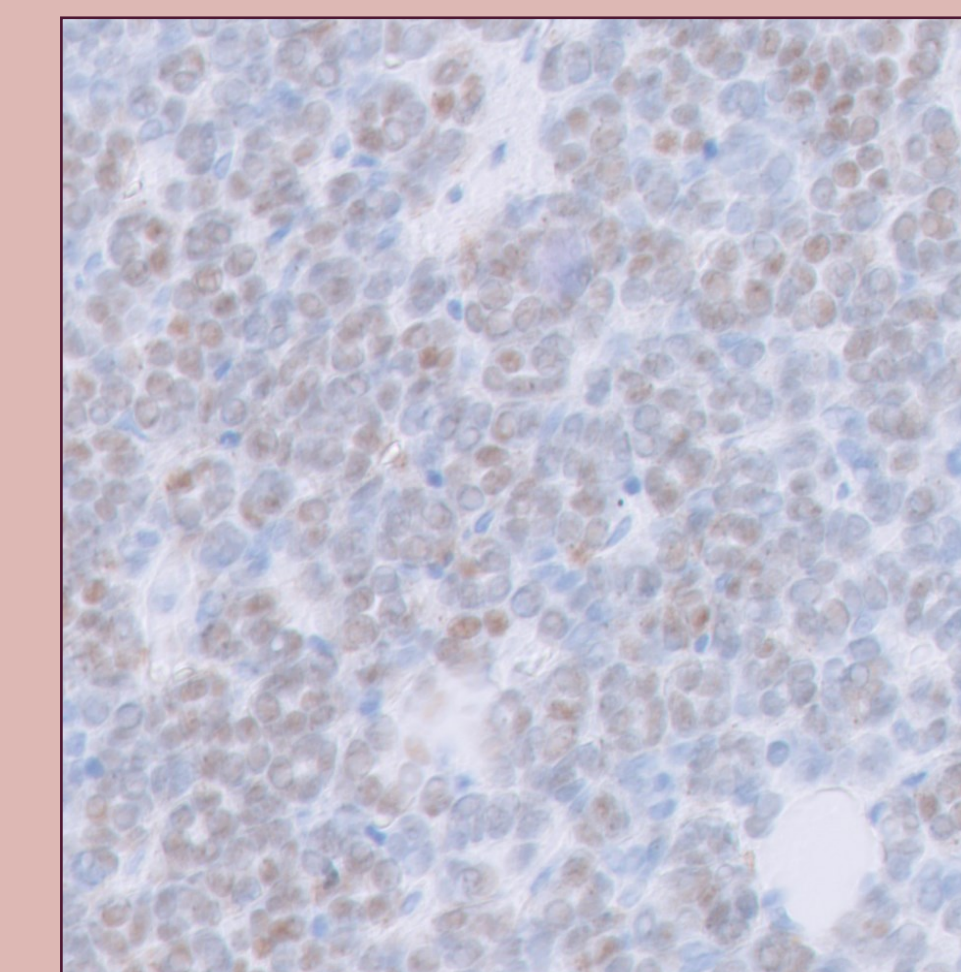
100x

### Wilms' Tumoreiwit 1

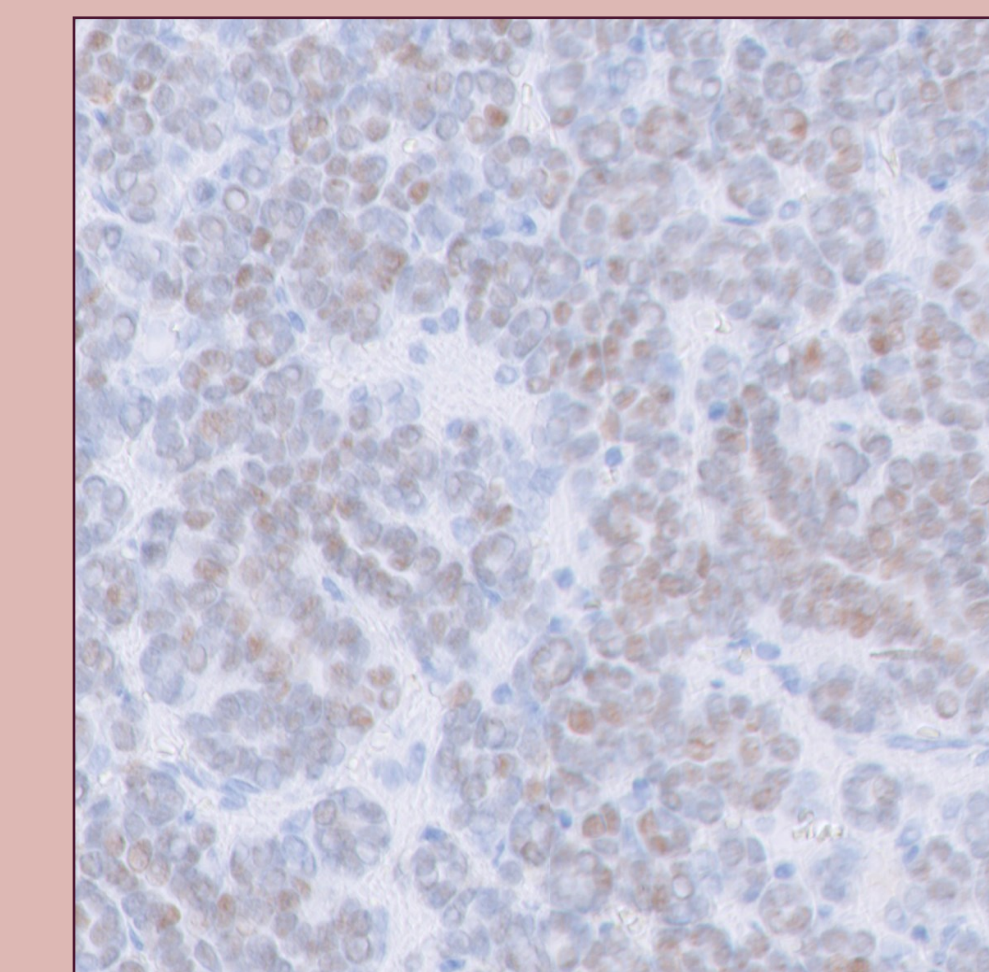
#### Niercarcinoom



1:1000 verdunning, 200x



1:100 verdunning, 200x



1:100 verdunning + polymeer linker, 200x

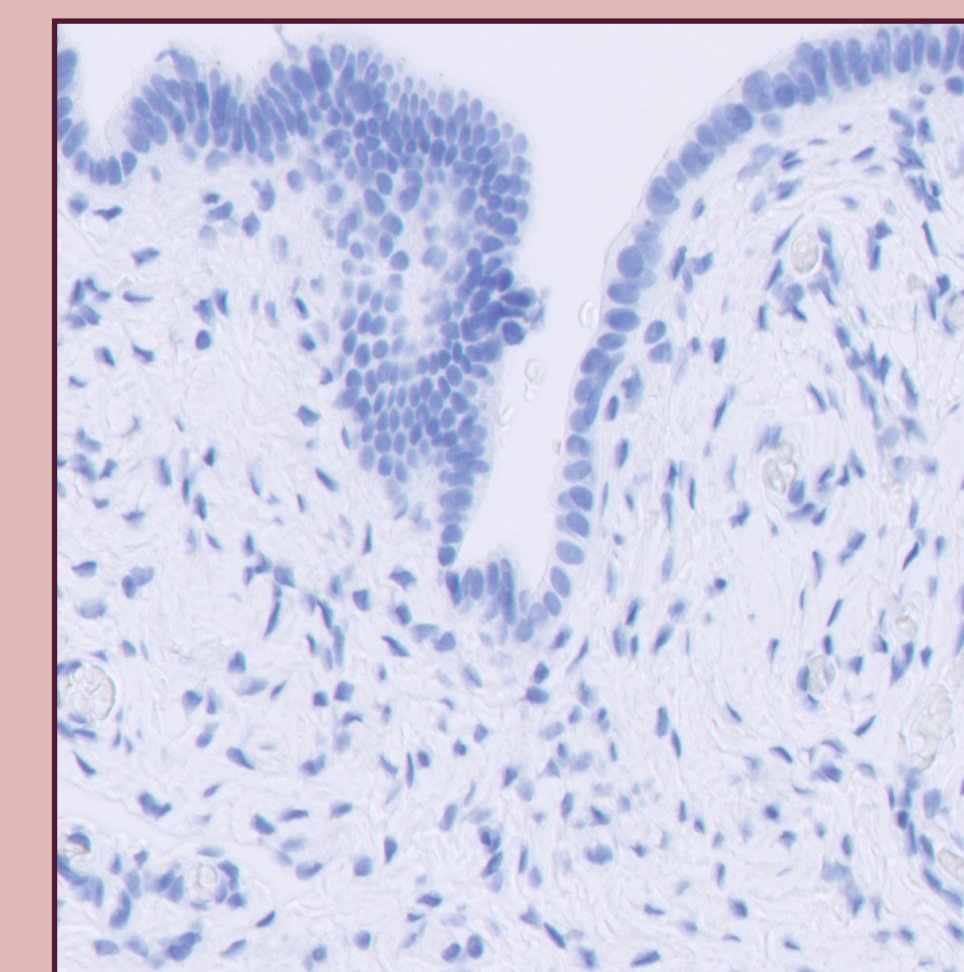
Bij beide weefsels werden drie verschillende optimalisaties uitgevoerd.

**1** Indirecte detectiemethode en 1:1000 verdunning van de WT1-antilichamen  
-> Geen aankleuring niercarcinoom  
-> Geen aankleuring tubacarcinoom

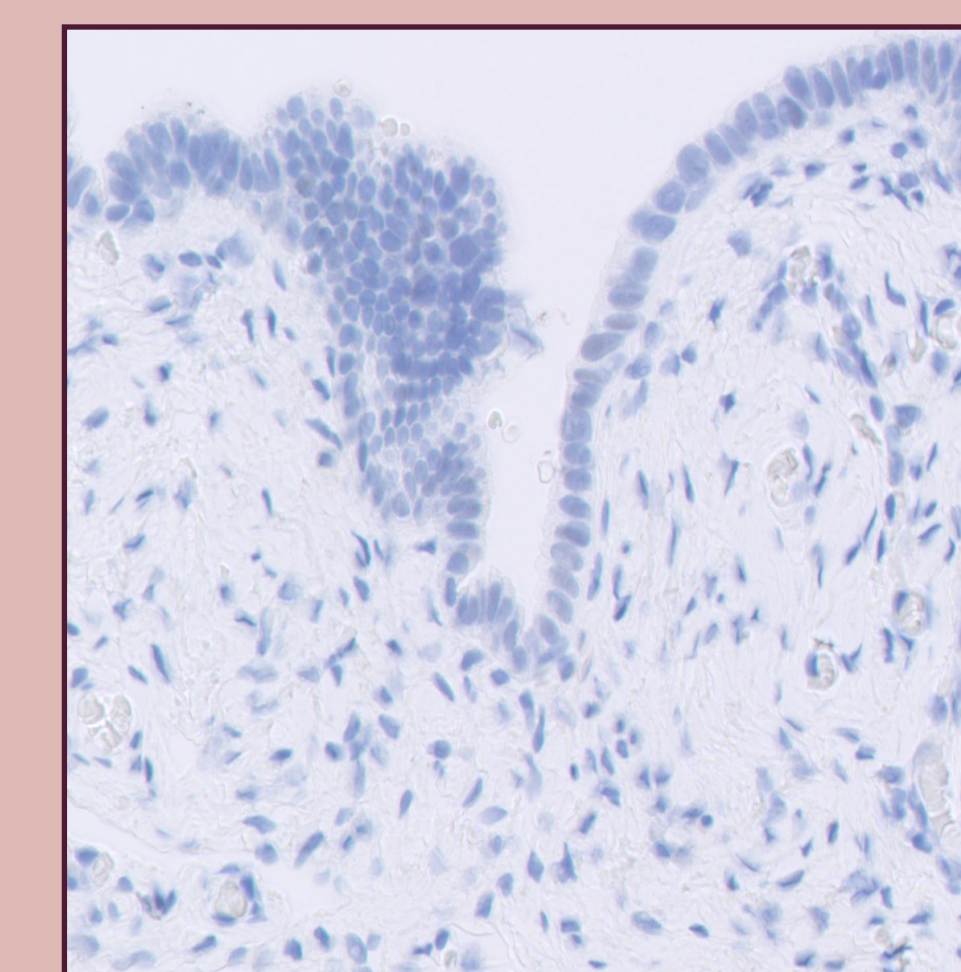
**2** Indirecte detectiemethode en 1:100 verdunning van de WT1-antilichamen  
-> Aankleuring tumorcellen van het niercarcinoom  
-> Geen aankleuring tubacarcinoom

**3** Indirecte detectiemethode met een polymeer linker en 1:100 verdunning van de WT1-antilichamen  
-> Aankleuring tumorcellen van het niercarcinoom  
-> Geen aankleuring tubacarcinoom

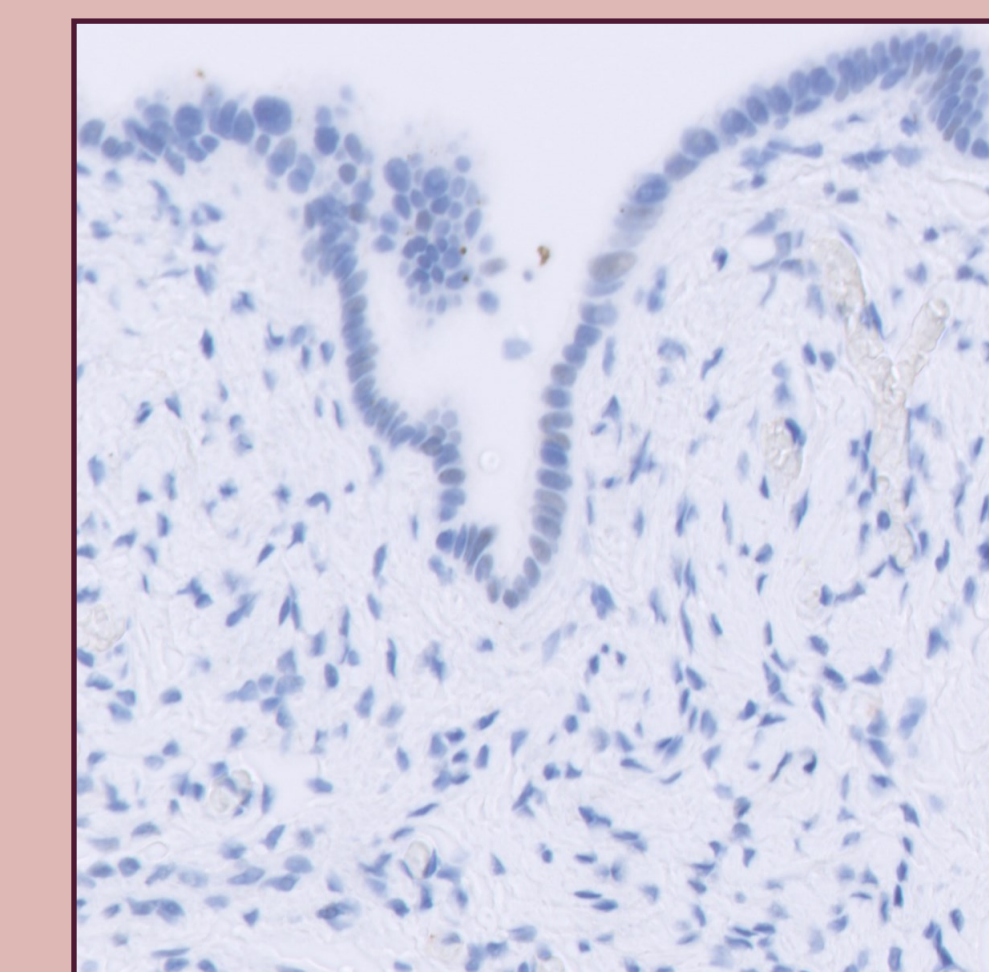
#### Tubacarcinoom



1:1000 verdunning, 200x



1:100 verdunning, 200x



1:100 verdunning + polymeer linker, 200x

## Conclusie

CK 8/18 werd onmiddellijk na de IHC-kleuring op de testcoupe goedgekeurd voor gebruik door de patholoog. Het RTU-antilichaam had geen verdere optimalisatie meer nodig en kan meteen gebruikt worden in de routine.

WT1 is geen RTU-antilichaam en had nog verdere optimalisatie nodig van de omstandigheden. Het antilichaam kleurt onder de uiteindelijke omstandigheden, 100 x verdund en met een linker, beter de tumorale cellen aan in het niercarcinoom. Er kan beter onderscheid gemaakt worden tussen de verschillende cellen in vergelijking met het IHC-protocol zonder linker. De kleuring is volgens de patholoog nog steeds te zwak. Er zal nog een 50 x verdunning gemaakt worden. In de tuba bleef de IHC-kleuring negatief. Hiervoor is nog verdere optimalisatie nodig.

## Referenties

Figuur 2 en 3: gecreëerd met BioRender.com