

# Optimalisatie en validatie van antistof CAIX voor immunohistochemische kleuringen

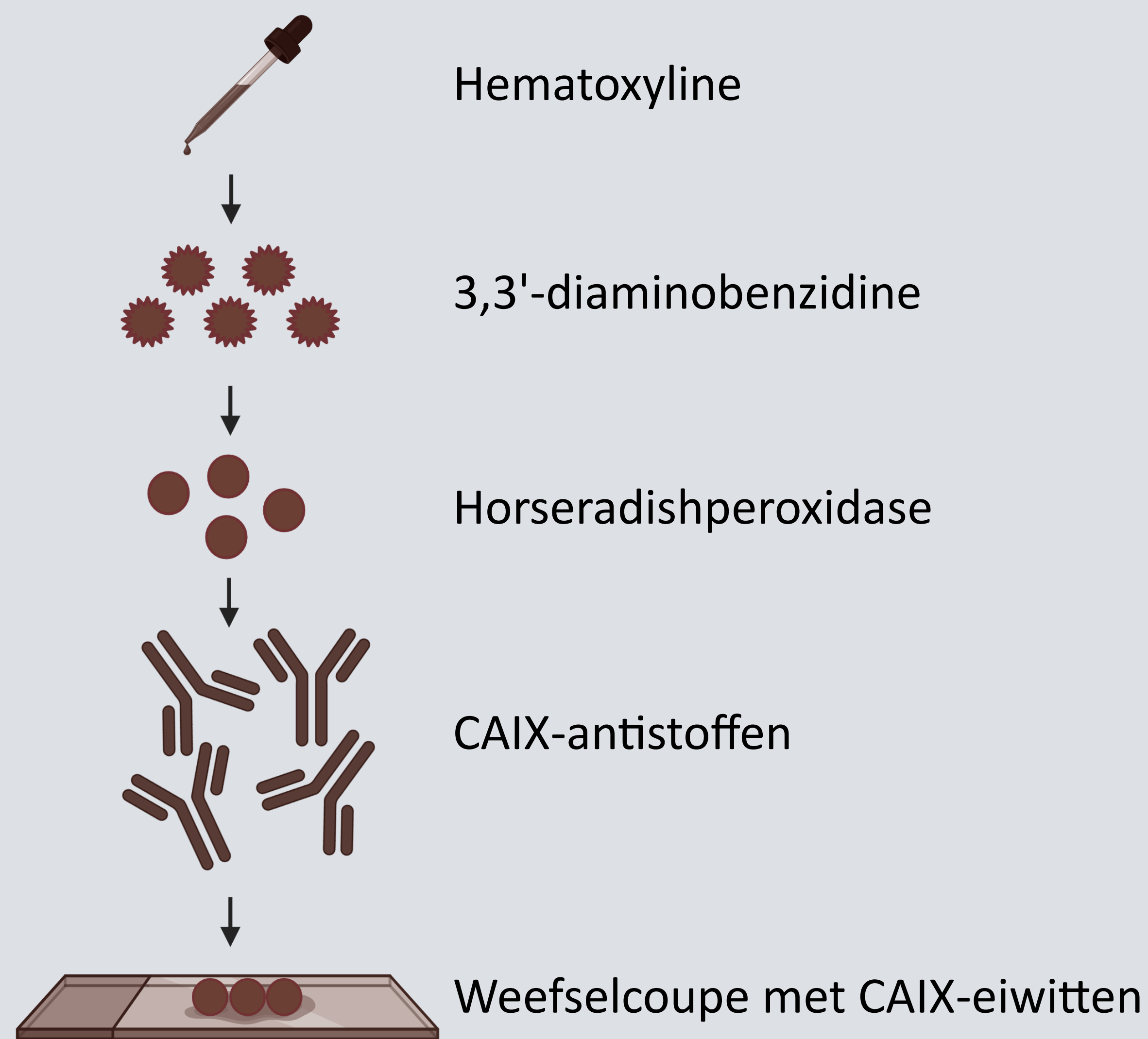
Ilana Peeters - Pathologie Jessa ziekenhuis - prof. dr. R. Achten

## Introductie

Koolzuuranhydrase IX (CAIX) konijn monoklonaal antilichaam wordt gebruikt tijdens de kwalitatieve immunohistochemische (IHC) kleuring van weefsels. Dit om de overexpressie van CAIX-eiwitten te detecteren. Pathologen gebruiken deze kleuring voor een differentiële diagnose tussen heldercellig renaalcelcarcinoom (RCC) en heldercellig papillair RCC. Vooraleer deze antistof in de routine wordt gebruikt, wordt de kleuring geoptimaliseerd en gevalideerd.

## Materialen en methoden

De IHC-kleuring werd uitgevoerd met de Dako Omnis (Agilent Technologies). De detectie van CAIX-overexpressie gebeurt via de directe methode.



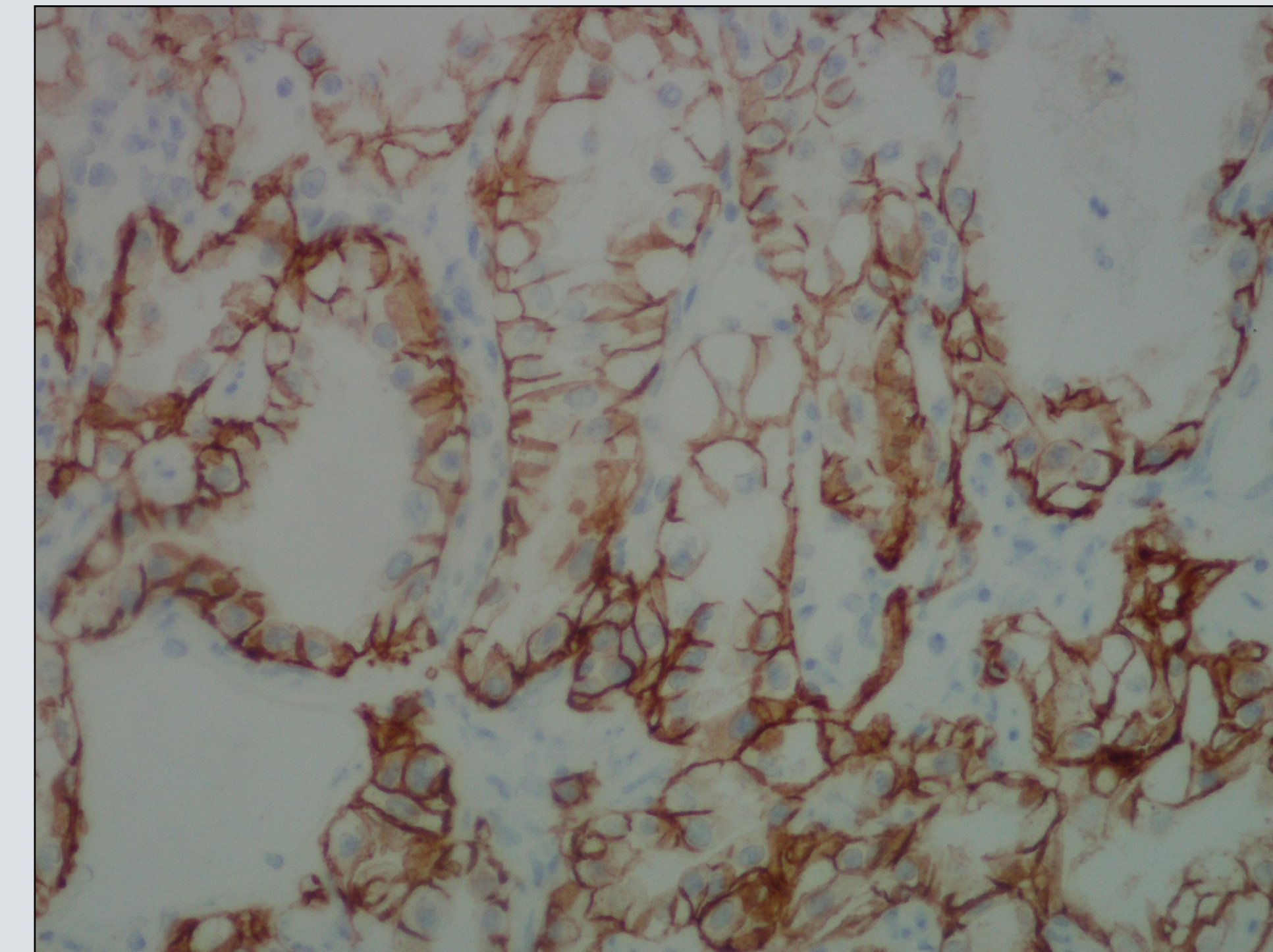
Figuur 1: Schematische voorstelling van de immunohistochemische kleuring, uitgevoerd tijdens de optimalisatie en validatie van koolzuuranhydrase IX antistof met de Dako Omnis. Gemaakt met Biorender.

Tabel 1: Protocollen voor de optimalisatie van koolzuuranhydrase IX antistof, inclusief incubatietijden. Uitgevoerd met de Dako Omnis.

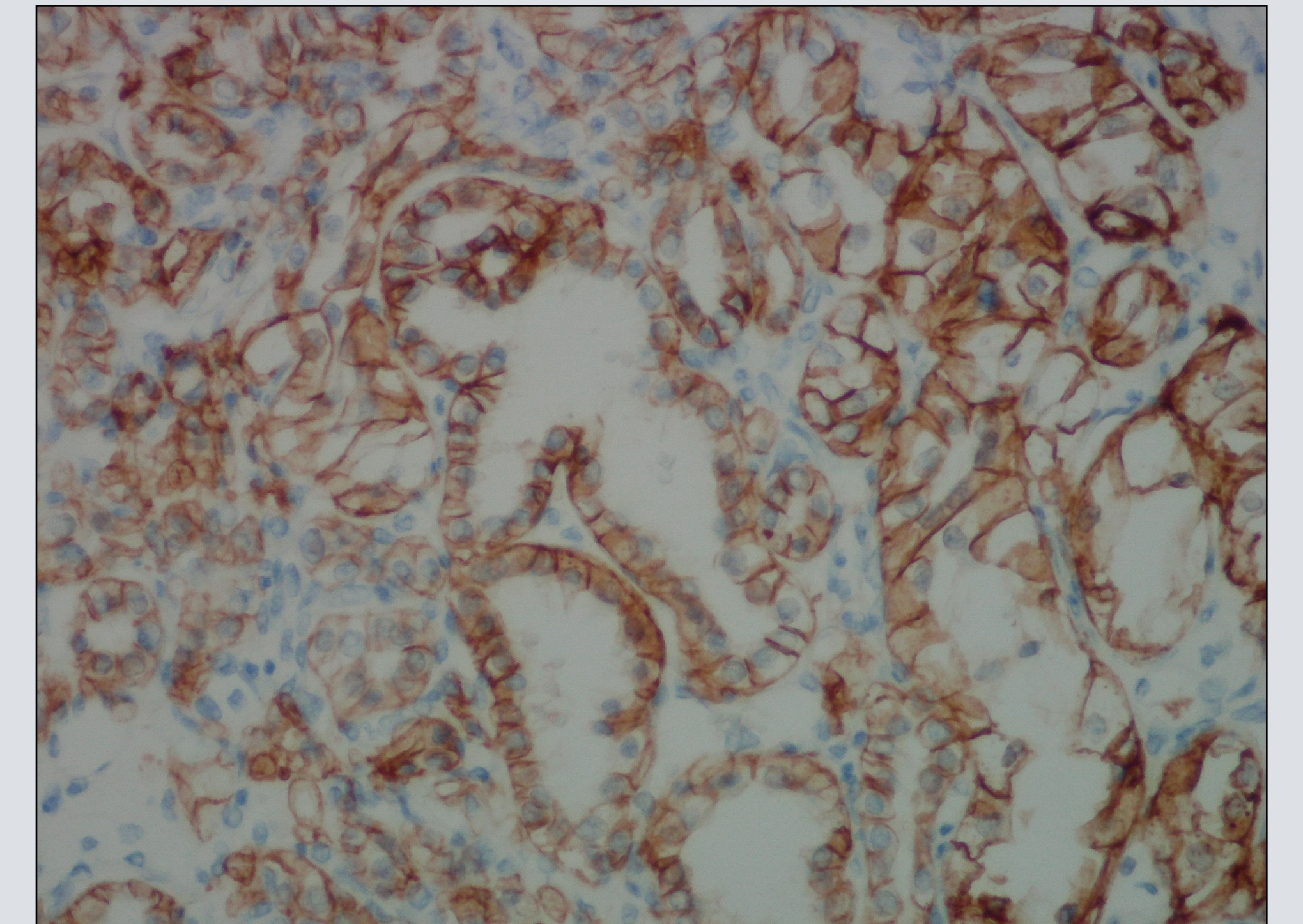
Reagens	Incubatietijden protocol 1	Incubatietijden protocol 2
Target Retrieval Solution High pH	30 minuten	30 minuten
CAIX antistof	20 minuten	10 minuten
Horseradishperoxidase	20 minuten	20 minuten
3,3'-diaminobenzidine	5 minuten	5 minuten
Hematoxyline	3 minuten	3 minuten

## Resultaten

Bij een optimalisatie wordt nagegaan welk protocol het meest geschikt is. De optimalisatie bestond uit het uitvoeren van de twee protocollen op heldercellig papillair RCC. Aangezien beide protocollen een correcte kleuring leverden, werd gekozen voor het protocol dat het meest tijdbesparend is. Bijgevolg werd verkozen om protocol 2 te valideren en in de routine te gebruiken.

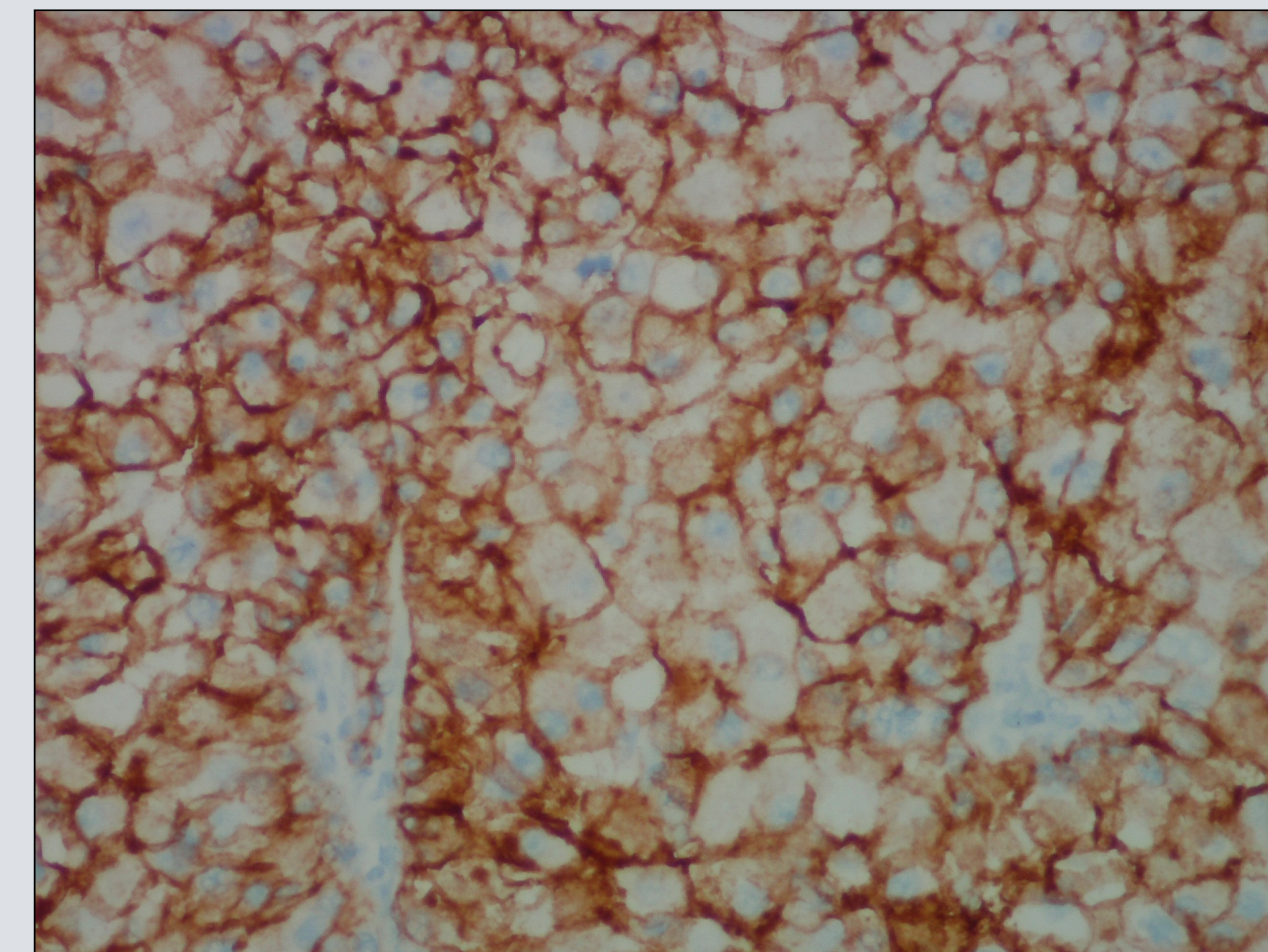


Figuur 2: Microscopisch beeld van optimalisatieprotocol 1, uitgevoerd op heldercellig papillair renaalcelcarcinoom. Totale vergroting 200x.

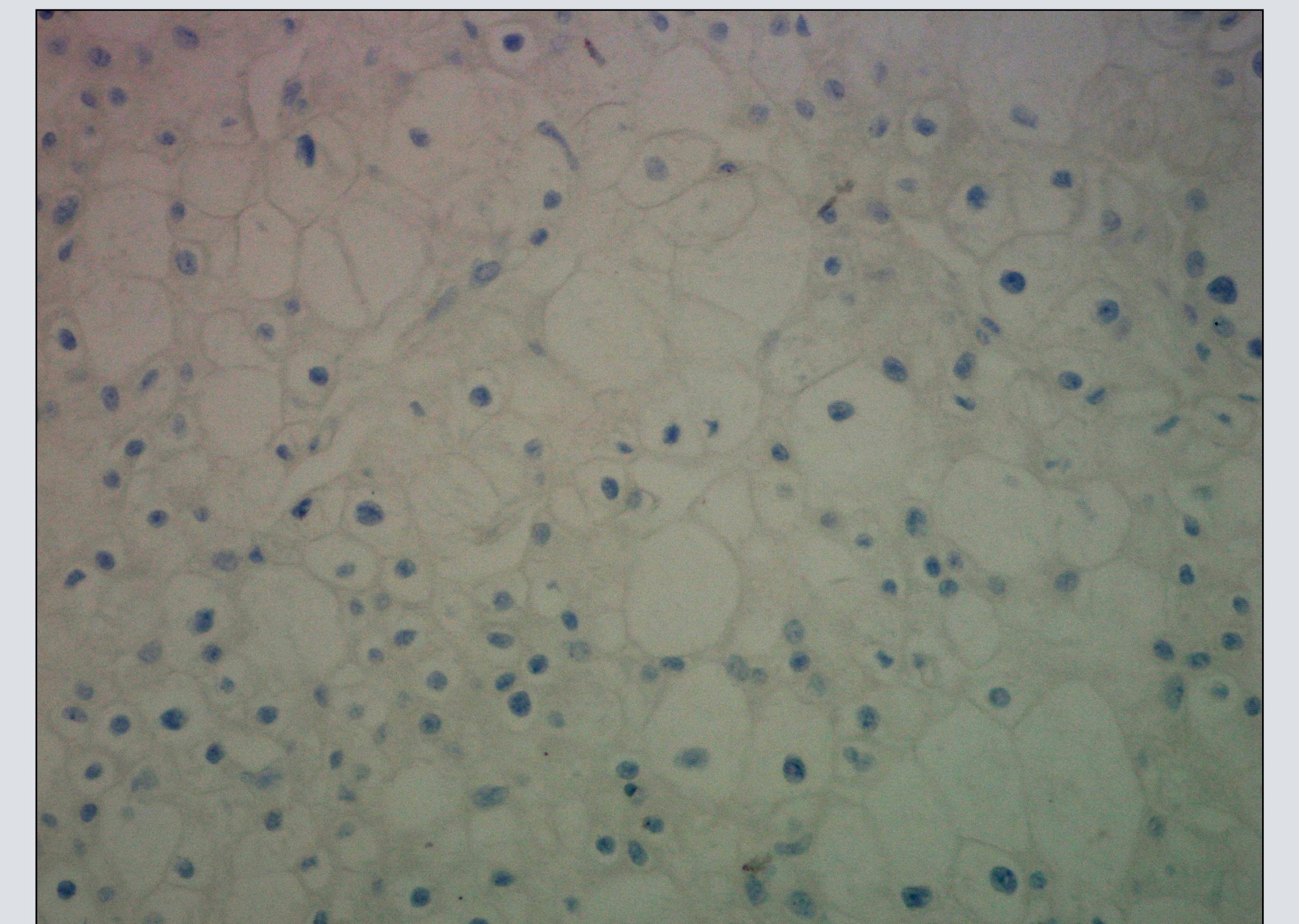


Figuur 3: Microscopisch beeld van optimalisatieprotocol 2, uitgevoerd op heldercellig papillair renaalcelcarcinoom. Totale vergroting 200x.

Protocol 2 is optimaal en werd gevalideerd. Bij een validatie wordt het protocol uitgevoerd op tien stalen, waarvan vijf positieve en vijf negatieve controles. De positieve controlestalen zijn afkomstig van de nier en zijn representatief voor heldercellig RCC of heldercellig papillair RCC. De negatieve controlestalen zijn tevens afkomstig van de nier en zijn representatief voor chromofoob RCC. De kleuring kreeg een totale score van 7 op 8. Hieruit volgt dat de antistof mag worden vrijgegeven om in de routine te gebruiken.



Figuur 4: Microscopisch beeld van protocol 2, uitgevoerd op heldercellig renaalcelcarcinoom (positieve controle). Totale vergroting 200x.



Figuur 5: Microscopisch beeld van protocol 2, uitgevoerd op chromofoob renaalcelcarcinoom (negatieve controle). Totale vergroting 200x.

## Conclusie

Tijdens de optimalisatie wordt gezocht naar het optimale protocol voor de IHC-kleuring met antistof CAIX. Vervolgens wordt het verkozen protocol (protocol 2) uitgevoerd op tien patiëntenstalen, waarvan vijf dienen als positieve controle (heldercellig RCC en heldercellig papillair RCC) en vijf dienen als negatieve controle (chromofoob RCC). Alle kleuringen die werden uitgevoerd tijdens de validatie werden als correct beoordeeld. Bijgevolg kan antistof CAIX nu in de routine worden gebruikt.

## Referenties

- Campos NSP de, Souza BS, Silva GCP da, Porto VA, Chalbatani GM, Lagreca G, et al. Carbonic Anhydrase IX: A Renewed Target for Cancer Immunotherapy. *Cancers (Basel)*. 2022 Mar 9;14(6).
- WHO Classification of Tumours Editorial Board. *Urinary and Male Genital Tumours*. 5th ed. Vol. 8. International Agency for Research on Cancer (IARC); 2017.
- Depovere J. *Anatomopathologie*. 2022.
- Cell Marque. Carbonic Anhydrase IX (CA IX) (EP161) Rabbit Monoclonal Primary Antibody. 2023.
- Biesmans E, Put A. Validatieplan antistof CAIX. 2024.