

# Validatie van een p16 antilichaam voor immunohistochemische kleuringen op FFPE-coupees

Jeroen Spaey, Anatomopathologie Imeldaziekenhuis

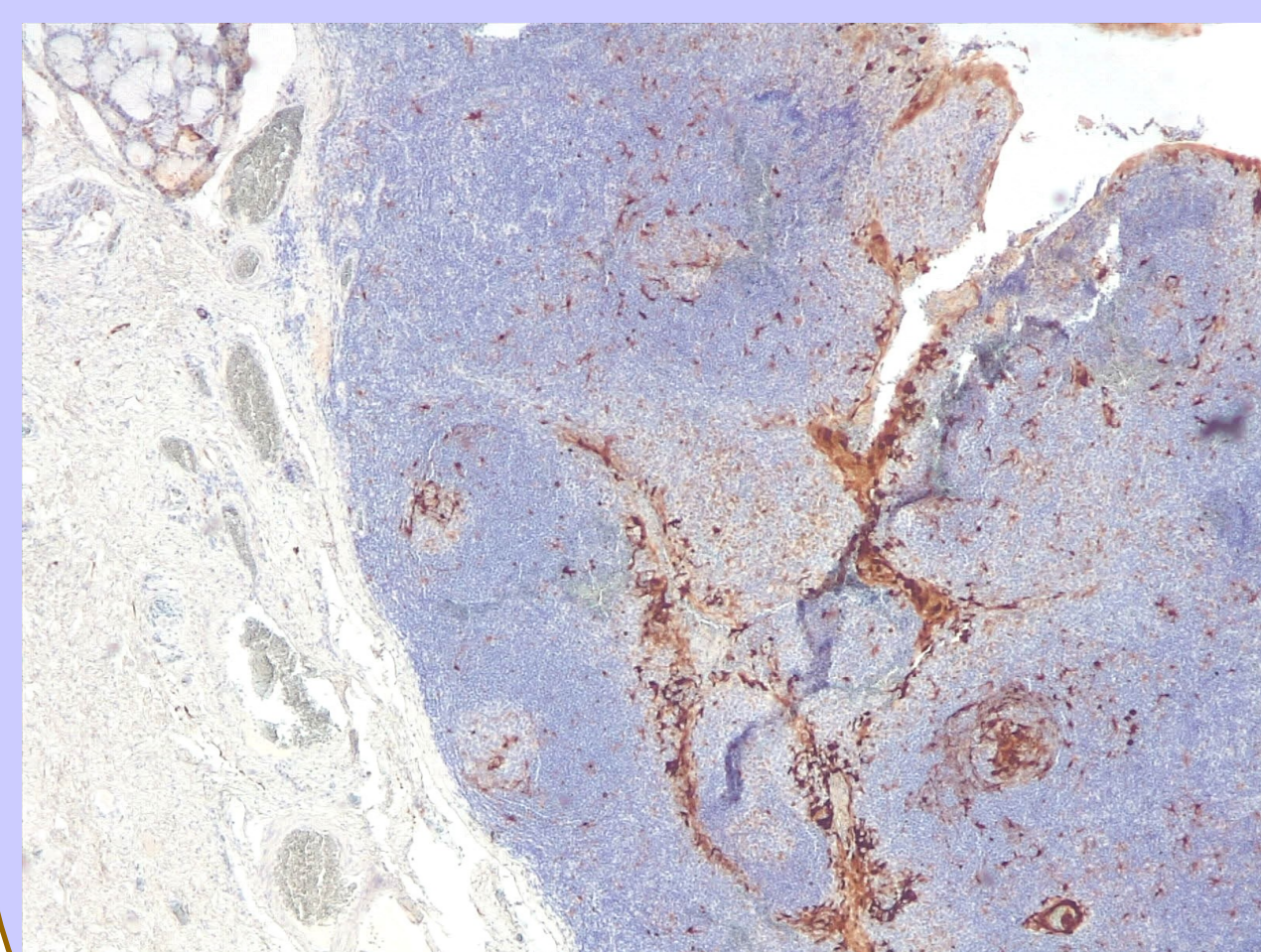


## Inleiding

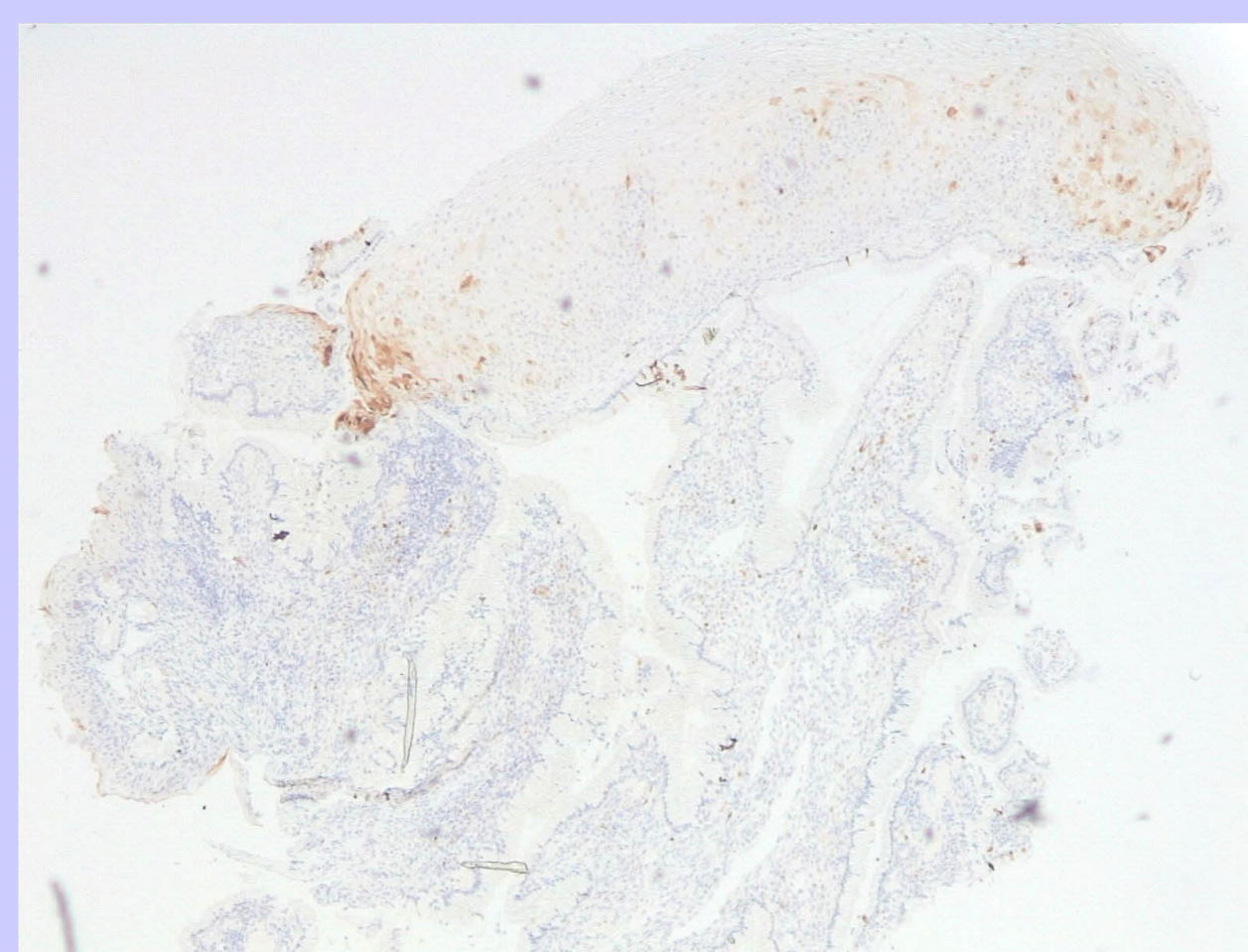
Als stageproject werd een validatie van een nieuwe kloon van het p16 antilichaam uitgevoerd. P16 is een tumor suppressor eiwit. Wanneer dit te weinig tot expressie komt, zullen cellen ongecontroleerd kunnen beginnen groeien en differentiëren. Hierdoor kan mogelijk kanker ontstaan. Anderzijds is p16 ook een merker voor de aanwezigheid van een infectie door humaan papillomavirus (HPV). HPV kan op termijn leiden tot baarmoederhalskanker. Het p16 eiwit kan in geval van aanwezigheid van HPV overexpressie vertonen. In dit geval wordt p16 ook gebruikt om een gradatie te geven aan eventueel maligne cellen in de baarmoederhals. (1)(2)

## Resultaten

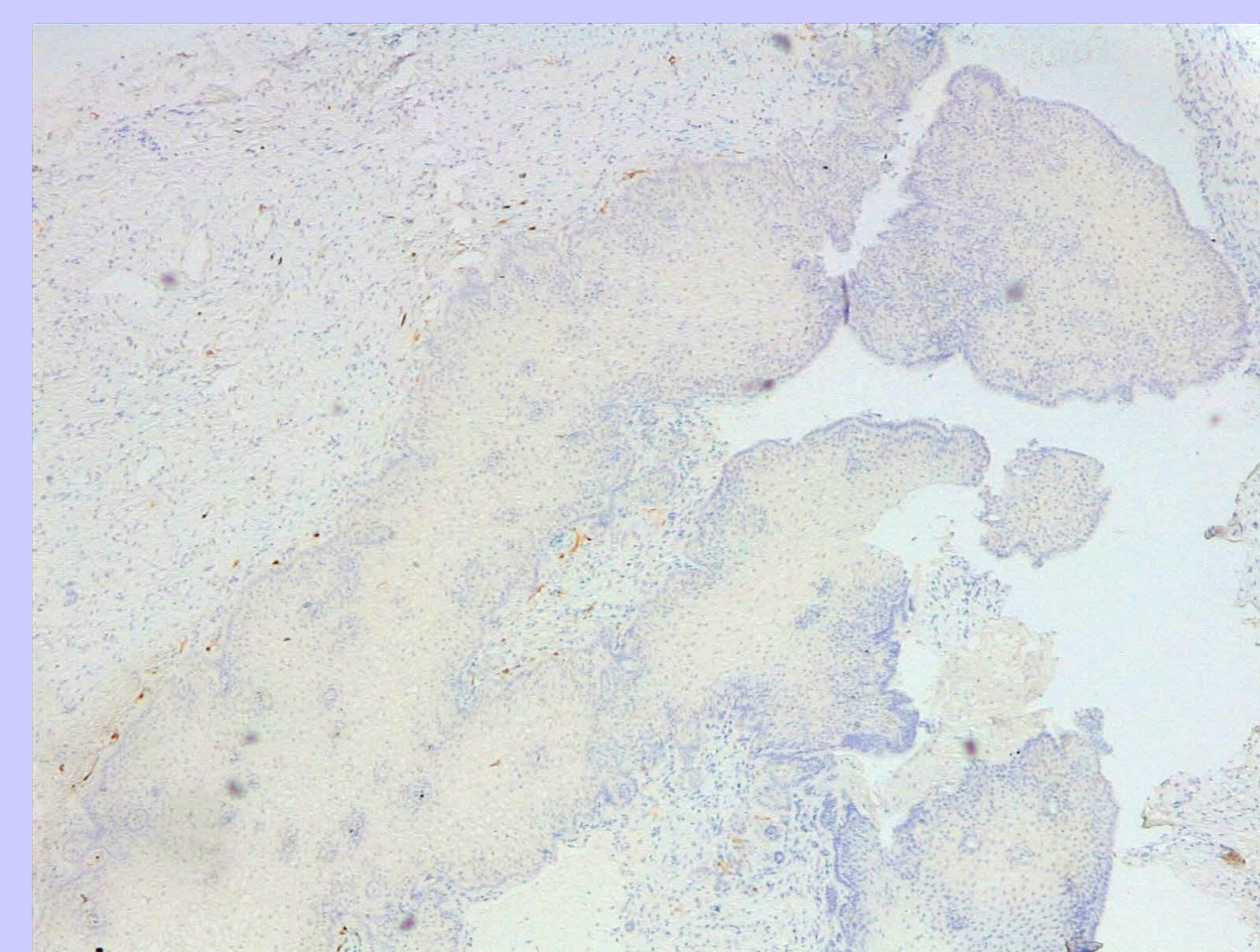
Op Figuur 1 is het controleweefsel te zien. In dit geval is dat tonsilweefsel. De epitheelcellen in de crypten van de tonsil moeten een matig tot sterke nucleaire en cytoplasmatische kleuring vertonen. De macrofagen en dendritische cellen in het germinaal centrum moeten een zwakke nucleaire en cytoplasmatische kleuring vertonen. De plaveiselepitheelcellen en lymfocyten vertonen geen kleuring. Op Figuur 2 is de positieve controle te zien. Cellen waarin p16 tot expressie komen, kleuren bruin aan. Op Figuur 3 is de negatieve controle te zien. De positieve en negatieve controles gebeurden op cervixbiopsies.



Figuur 1 Controleweefsel tonsil (50x)

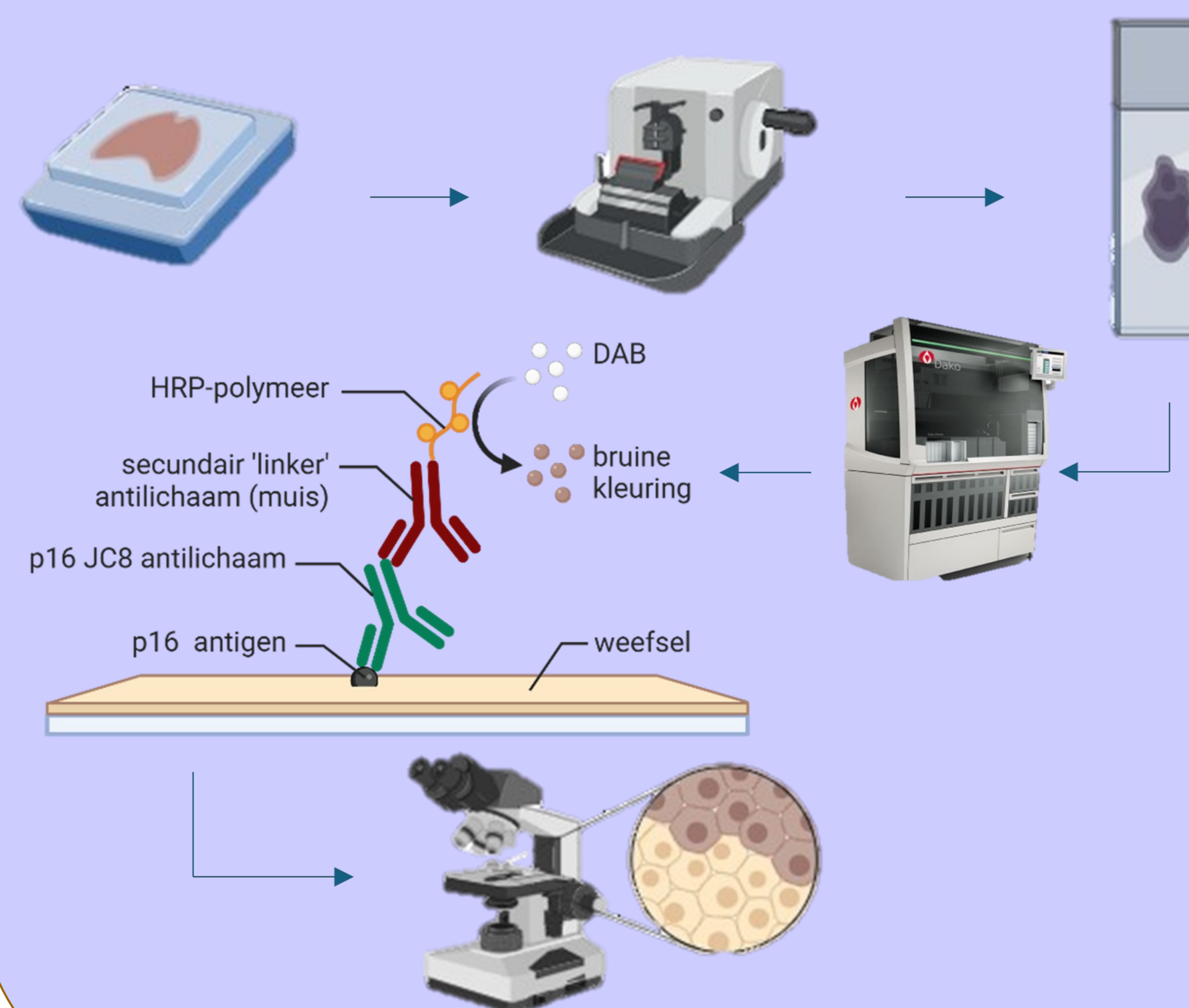


Figuur 2 Positieve controle cervix (50x)



Figuur 3 Negatieve controle cervix (50x)

## Materiaal en methoden



Figuur 4 Weergave van het stappenplan dat gevolgd wordt bij een validatieproject.

Deparaffinatie	1 min op 25°C
Spoelen	5 sec
Vrijstelling antigen	30 min op 97°C
<b>Kleuring</b>	
Wassen	2 x 2:40 min
Primair antigen	20 min
Wassen	10 x 2 min
Blokkering endogene enzymen	3 min
Wassen	10 x 2 min
Secundair antilichaam	10 min
Wassen	10 x 2 min
HRP-gelabeld polymeer	20 min
Wassen	10 x 2 min
Wassen	10 x 2 min
Spoelen	31 sec
Wassen	10 x 2 min
Substraat chromogeen (DAB)	5 min
Wassen	10 x 2 min
Spoelen	31 sec
Wassen	10 x 2 min
<b>Tegenkleuring</b>	
Hematoxyline	3 min
Spoelen	10 x 2 min
Wassen	10 x 2 min

Tabel 1 Stapsgewijze voorstelling van het gevolgde protocol

## Conclusie

Voor de validatie van deze nieuwe kloon moesten 2 positieve stalen, 2 negatieve stalen en een controlestaal getest worden. Elk staal werd gequoteerd op basis van 5 criteria: intensiteit, uniformiteit, specificiteit, achtergrond en tegenkleuring. Alle stalen scoorden perfect en dus werd deze nieuwe kloon gevalideerd voor diagnostisch gebruik.

## Referenties

1. Dako Agilent. FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human p16 Clone JC8 Ready-to-Use. Singapore; 2023; p.5
2. Grenhøj Larsen, C., Gyldenløve, M., Jensen, D. et al. Correlation between human papillomavirus and p16 overexpression in oropharyngeal tumours: a systematic review. *Br J Cancer* 110, 1587–1594 (2014). <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.42>