

Tampon EDTA 10X pour la récupération d'épitopes induite par la chaleur, pH 8,0

Numéro de catalogue : K038

Document#: DS-2005-C
Date d'entrée en vigueur: 12/18/2023

Utilisation prévue

Pour un usage de diagnostic in vitro.

Résumé et explication

La technique de récupération d'antigènes est une nouvelle méthode de récupération d'antigènes à partir de tissus fixés au formol et inclus en paraffine. Elle consiste à chauffer des coupes de tissus en présence d'une solution de récupération d'antigène. La qualité du résultat de la coloration dépend largement du strict respect du protocole de récupération de l'antigène. Si les antigènes ne sont pas complètement récupérés, la coloration est légère et le bruit de fond peut être élevé.

Applications connues

Immunohistochimie (tissus inclus en paraffine fixés au formol)

Description du produit

Le tampon EDTA 10X pour la récupération d'épitopes induite par la chaleur, pH 8,0, est conçu pour être utilisé lors de l'étape de récupération d'épitopes induite par la chaleur (HIER) avant l'immunohistochimie sur des coupes de tissus fixés au formol et inclus dans la paraffine. Il a été démontré que l'utilisation de ce tampon en combinaison avec la chaleur (souvent au micro-ondes, au bain-marie ou à l'autocuiseur) restaure l'antigénicité des protéines modifiées lors de la fixation des tissus au formol. Ce tampon est fourni sous la forme d'une solution mère 10X.

Format

10X concentré

Volume/UdM

500ml

Principes de la procédure

La fixation des tissus au formol induit des liaisons croisées protéiques qui aident à maintenir la morphologie cellulaire en inactivant les enzymes digestives et en préservant le cytosquelette. La fixation arrête l'autolyse tissulaire, préserve les structures tissulaires et immobilise les antigènes. Cependant, les antigènes subissent une altération chimique de leurs structures primaires, secondaires et tertiaires lors de la fixation. Cela peut entraîner une perte de réactivité d'un anticorps spécifique envers cet antigène. Un traitement à haute énergie de ces protéines à un pH approprié conduit à la restauration de la structure de l'épitope et récupère ainsi la réactivité de l'anticorps vis-à-vis de l'antigène cible. Ce processus est défini comme la récupération d'antigène (Shi et al 1991). Il a été suggéré que la récupération de l'antigène desserre ou rompt les liaisons croisées induites par le formol. Cela permet une pénétration améliorée des anticorps et une accessibilité aux épitopes.

Matériel requis mais non fourni

Système de récupération d'antigènes Montage Opus® de Diagnostic BioSystems [AR 360]

Stockage et manutention

Conserver à température ambiante. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Si les réactifs sont stockés dans des

conditions autres que celles spécifiées dans la notice, ils doivent être vérifiés par l'utilisateur. Les réactifs dilués doivent être utilisés rapidement.

Préparation des échantillons

Une fixation appropriée joue un rôle important dans la préservation de la structure tissulaire. Le protocole de récupération d'antigène est recommandé pour une utilisation uniquement dans les tissus fixés dans du formol. Assurez-vous que les sections fixes sont correctement incorporées dans la paraffine. Coupez des sections de tissus à 4-5 microns.

Précautions

Ce produit est un dispositif de diagnostic in vitro à usage unique, non stérile.

1. Portez des gants jetables lors de la manipulation des réactifs.
2. Les échantillons, avant et après fixation, ainsi que tous les matériaux qui y sont exposés doivent être manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et éliminés avec les précautions appropriées. Ne jamais pipeter les réactifs par la bouche et éviter tout contact avec la peau et les muqueuses avec les réactifs et les échantillons. Si les réactifs ou les échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau.
3. La contamination microbienne des réactifs peut entraîner une augmentation des colorations non spécifiques.
4. Des durées d'incubation ou des températures autres que celles spécifiées peuvent donner des résultats erronés. L'utilisateur doit valider une telle modification.
5. N'utilisez pas de réactif après la date de péremption imprimée sur l'étiquette.
6. La fiche signalétique est disponible sur demande.
7. Consultez les réglementations OSHA, fédérales, étatiques ou locales pour l'élimination de toute substance toxique.

Préparation des solutions de travail

1. Le format concentré 10X doit être dilué au dixième avec de l'eau distillée ou déminéralisée.
2. Mélangez une partie de solution concentrée de récupération d'antigène avec neuf parties d'eau déminéralisée ou distillée.
3. Agitez vigoureusement le flacon pour mélanger complètement les composants du concentré (la solution peut se séparer en phases avec le temps).
4. Conserver avec le capuchon bien fermé.

Recommandations du protocole

1. Déparaffinez et réhydratez les coupes de tissus.
2. Placer les lames dans la solution de récupération 1X dans un récipient pour lames (par exemple pot Coplin, Tissue-Tek™, plat de coloration ou boîtier de lames en métal).
3. Récupérez les coupes sous pression à l'aide du système de récupération d'antigène Montage Opus™ de Diagnostic BioSystems (appuyez sur la flèche HAUT/Haut jusqu'à ce qu'elle soit définie sur 15 (min)).
4. A Après avoir retiré le pot de réactifs contenant les lames de l'autocuiseur, laissez les lames refroidir pendant 20 minutes pour atteindre la température ambiante.
5. Laver les lames dans de l'eau déionisée puis avec un tampon de lavage. Suivez les recommandations d'immunocoloration dans la fiche technique des anticorps.
6. Rincez délicatement en ajoutant progressivement de l'eau DI à la solution, puis retirez les lames et rincez à l'eau DI.

Contrôle de qualité

Reportez-vous aux normes de qualité du CLSI pour la conception et la mise en œuvre d'analyses d'immunohistochimie; Directive approuvée - Deuxième édition (I / LA28 - A2) CLSI Wayne, PA, États-Unis (www.clsi.org). 2011.

Support technique

1. Évitez de laisser la solution déborder car cela pourrait entraîner le détachement du tissu de la lame ou son dessèchement.
2. La coloration non spécifique du contrôle négatif peut être due à l'exposition à la biotine endogène. Une récupération excessive peut parfois entraîner un bruit de fond élevé en raison du système de détection ou d'un excès d'anticorps. Dans ce cas, un titrage supplémentaire de l'anticorps peut être nécessaire. L'inclusion d'un bloc avidine-biotine supplémentaire devrait empêcher la coloration de la biotine exposée.
3. Si le contrôle positif donne un signal optimal, le contrôle négatif ne montre aucun fond et la lame de test donne un signal négatif ou faible, un fixateur différent peut avoir été utilisé. Afin d'obtenir le meilleur signal dans des coupes de tissus fixées avec un fixateur différent, une optimisation des conditions de récupération de l'antigène est recommandée.
4. Reportez-vous aux notices appropriées des anticorps et du système de détection pour connaître le type et l'intensité de la coloration avec différents anticorps.
5. Contactez le support technique de Diagnostic BioSystems au (925) 484-3350, poste 2, techsupport@dbiosys.com ou votre distributeur local pour signaler une coloration inhabituelle.

Limites de la procédure

Le protocole de récupération d'antigène est recommandé pour une utilisation avec des tissus fixés uniquement au formol. D'autres fixateurs ou procédures de fixation peuvent ne pas produire des résultats comparables. L'interprétation des résultats de coloration relève de la seule responsabilité de l'utilisateur.

Garantie

Il n'y a aucune garantie, expresse ou implicite, qui s'étend au-delà de cette description. Diagnostic BioSystems n'est pas responsable des dommages matériels, des blessures personnelles ou des pertes économiques causés par ce produit.

Résultats attendus

La récupération d'antigènes peut produire une coloration nettement améliorée d'une grande variété d'anticorps monoclonaux et polyclonaux. Cela permet de surmonter la coloration faussement négative des tissus surfixés, d'élargir la gamme d'anticorps pouvant être utilisés et d'augmenter l'utilité des tissus d'archives.

La récupération optimisée des antigènes devrait améliorer le signal sur bruit en immunohistochimie.

Caractéristiques de la performance

Les protocoles pour une application spécifique peuvent varier. Ceux-ci incluent, mais ne sont pas limités à: la fixation, le démasquage par la chaleur, les temps d'incubation, l'épaisseur de la coupe de tissu et le kit de détection utilisé. En raison de la sensibilité supérieure de ces réactifs uniques, les durées d'incubation et les titres indiqués ne s'appliquent pas aux autres systèmes de détection, car les résultats peuvent varier. Les recommandations et protocoles de la fiche de données reposent sur l'utilisation exclusive des produits de Diagnostic BioSystems. En fin de compte, il incombe à l'utilisateur de déterminer les conditions optimales. Ces produits sont des outils pouvant être utilisés par un pathologiste qualifié pour interpréter les données morphologiques en association avec d'autres tests de diagnostic et des données cliniques pertinentes.

Références

Shi et coll. J Histochem Cytochem 39 : 741, 1991

