

Tampon de démasquage d'antigène concentré 10X, pH 10,0

Référence : K044

Document n° : DS-2000-A
Date d'entrée en vigueur : 02/01/2015

Utilisation prévue

Pour un usage de diagnostic *in vitro*.

Résumé et explication

La technique de démasquage d'antigène est une 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 démasquage d'antigène. La qualité du résultat de la coloration dépend en grande partie du strict respect du protocole de démasquage d'antigène. Si les antigènes ne sont pas complètement démasqués, la coloration est faible et le bruit de fond peut être élevé.

Applications connues

Immunohistochimie (sur des tissus fixés au formol et inclus en paraffine)

Description du produit

Le tampon de démasquage d'antigène concentré 10X, pH 10.0 est conçu pour être utilisé pendant l'étape de démasquage de l'épitope induit par la chaleur (HIER) et avant l'immunohistochimie sur des coupes de tissus inclus en paraffine et fixés au formol. L'utilisation de ce tampon en combinaison avec de la chaleur (souvent par micro-ondes, bain-marie ou autocuiseur) a démontré sa capacité à restaurer l'antigénicité des protéines modifiées lors de la fixation du formol dans les tissus. Ce tampon est fourni sous forme de solution mère concentrée 10X.

Format

10X concentré

Volume

500 mL

Principes de la procédure

La fixation de tissus par le formol induit des liaisons croisées entre protéines qui aident à maintenir la morphologie cellulaire en inactivant les enzymes digestives et en préservant le cytosquelette. La fixation arrête l'autolyse des tissus, préserve les structures des tissus et immobilise les antigènes. Cependant, les antigènes subissent une altération chimique de leurs structures primaire, secondaire et tertiaire lors de la fixation. Cela peut entraîner une perte de réactivité d'un anticorps spécifique de cet antigène. Le traitement par la chaleur 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 contre l'antigène cible. Ce processus est défini comme le démasquage d'antigène (Shi et al 1991). Il a été suggéré que le démasquage d'antigène desserre ou rompt les liaisons croisées induites par le formol. Cela permet une pénétration accrue des anticorps et l'accessibilité des épitopes.

Matériel requis mais non fourni

Système de démasquage : Diagnostic BioSystems Montage Opus® [AR 360]

Stockage et manipulation

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 démasquage de l'antigène est recommandé pour une utilisation dans les tissus qui ont été fixés dans du formol seulement. S'assurer que les sections fixées sont bien noyées dans la paraffine. Couper les sections de tissu à 4-5 microns.

Précautions à prendre

1. Porter des gants jetables lors de la manipulation des réactifs.
2. Les échantillons, avant et après fixation, et tous les matériaux qui y sont exposés doivent être manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre l'infection et éliminés avec les précautions appropriées. Ne jamais pipeter les réactifs par la bouche et évitez tout contact de la peau et des 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 de la coloration non spécifique.
4. Des temps d'incubation ou des températures autres que ceux spécifiés peuvent donner des résultats erronés. L'utilisateur doit valider un tel changement.
5. Ne pas utiliser le réactif après la date de péremption imprimée sur l'étiquette.
6. La fiche signalétique est disponible sur demande.
7. Consultez les réglementations OSHA, fédérales, nationales ou locales pour la mise au rebut de toute substance toxique.

Préparation des solutions de travail

1. Le format concentré 10X doit être dilué dix fois avec de l'eau distillée ou déminéralisée.
2. Mélanger une dose de la solution de démasquage d'antigène concentrée avec neuf doses d'eau déminéralisée ou distillée.
3. Agiter vigoureusement le flacon pour mélanger complètement les composants du tampon concentré (une partie de la solution mère peut se diluer tout au long de la durée de vie de cette solution).
4. Stocker la solution avec le bouchon bien fermé.

Recommandations de protocole

1. Déparaffiner et réhydrater les coupes de tissus.
2. Placer les lames dans une solution de récupération 1X dans un récipient pour lames (p. Ex., Bocal de Coplin, Tissue - Tek™, boîte de coloration ou boîte métallique à lames).
3. Récupérer les sections sous pression à l'aide du système de démasquage d'antigène : Diagnostic BioSystems Montage Opus™.
4. Laisser les lames refroidir pendant 20 minutes pour atteindre la température ambiante.
5. Laver les lames dans de l'eau déminéralisée puis avec un tampon de lavage. Procéder à l'immunomarquage selon les recommandations dans la fiche technique de l'anticorps.
6. Rincer doucement en ajoutant progressivement de l'eau désionisée à la solution, puis retirer les lames et rincer à l'eau désionisée.

Contrôle de qualité

Se référer aux standards de la qualité du CLSI pour la conception et la mise en œuvre des premiers essais immunohistochimiques ; Ligne directrice approuvée - Deuxième édition (I/LA28- A2). CLSI Wayne, PA, États-Unis (www.clsi.org). 2011

Risques et résolution des problèmes

1. Évitez de laisser la solution déborder, cela risquerait de faire sortir le tissu de la lame ou de le dessécher.
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 important en raison du système de détection ou d'un excès d'anticorps. Dans ce cas, une titration supplémentaire de l'anticorps peut être nécessaire. L'inclusion d'un bloc supplémentaire avidine-biotine devrait permettre d'éviter la coloration de la biotine exposée.

3. Si le contrôle positif donne un signal optimal, le contrôle négatif ne montre aucun bruit de fond et la lame de test donne un signal négatif ou faible, un fixateur différent a peut-être été utilisé. Afin d'obtenir le meilleur signal dans les coupes de tissu fixé avec un fixateur différent, il est recommandé d'optimiser les conditions de démasquage de l'antigène.
4. Reportez-vous aux notices appropriées d'anticorps et de système de détection pour connaître le modèle et l'intensité de la coloration avec différents anticorps.
5. Contactez le support technique de Diagnostic BioSystems au (925) 484-335, poste 2, techsupport@dbiosys.com ou votre distributeur local pour signaler des taches inhabituelles.

Limites de la procédure

Le protocole de démasquage de l'antigène est recommandé pour les tissus fixés *avec du formol* seulement. D'autres fixateurs ou procédures de fixation peuvent ne pas donner des résultats comparables. L'interprétation des résultats de la coloration est de la seule responsabilité de l'utilisateur.

Garantie

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

Résultats attendus

Le démasquage d'antigène peut produire une coloration nettement améliorée avec une grande variété d'anticorps monoclonaux et polyclonaux. Cela aide à surmonter la coloration faussement négative de tissus trop fixés, à élargir la gamme d'anticorps pouvant être utilisés et à accroître l'utilité des tissus archivés.

Caractéristiques de la performance

Les protocoles pour une application spécifique peuvent varier. Ceux-ci incluent, mais ne sont pas limités à: la fixation, la méthode de démasquage par la chaleur, les temps d'incubation, l'épaisseur de la coupe du 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 technique 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 al. J Histochem Cytochem 39: 741, 1991

