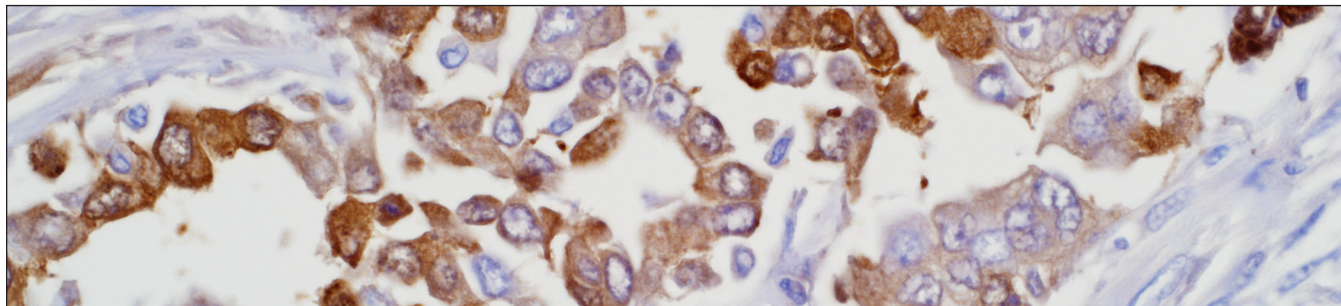


Calretinin (SP13)

Rabbit Monoclonal Antibody



DISPONIBILITÉ DES PRODUITS

Réf. cat.	Description
232R-14	0,1 ml, concentré
232R-15	0,5 ml, concentré
232R-16	1,0 ml, concentré
232R-17	1,0 ml, prédilué prêt à l'emploi
232R-18	7,0 ml, prédilué prêt à l'emploi
232S	Lames de contrôle positif, 5 lames/conditionnement

DÉFINITIONS DES SYMBOLES

P	prédilué	E	sérum
C	concentré	DIL	plage de dilution du produit concentré
A	ascite	KEY-CODE	clé de codage
S	surnageant		

APPLICATION

Cet anticorps est conçu pour être utilisé en diagnostic *in vitro* (DIV).

L'anticorps de la Calretinin (SP13) de Cell Marque est conçu à l'attention des laboratoires qualifiés afin de détecter de manière qualitative, par microscopie optique, la présence d'antigènes associés dans des coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine en utilisant des techniques d'analyses IHC (immunohistochimiques). L'utilisation de cet anticorps est indiquée pour faciliter l'identification des cellules mésothéliales normales et néoplasiques et pour différencier le mésothéliome de l'adénocarcinome et les néoplasmes corticaux adrénaux des phéochromocytomes dans le contexte des gammes d'anticorps, des antécédents cliniques du patient et d'autres tests de diagnostic évalués par un pathologiste qualifié.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La calrétinine est une protéine 29 kDa fixant le calcium supposée jouer un rôle dans le cycle cellulaire. L'anti-calrétinine a longtemps été désignée comme étant utile pour différencier le mésothéliome de l'adénocarcinome du poumon ou d'autres sources.¹ La sensibilité de l'anti-calrétinine à distinguer les cellules mésothéliales réactives des cellules de l'adénocarcinome est de 100% et la spécificité de 80%. La détection par microscopie optique de la coloration cytoplasmique des cellules de l'adénocarcinome est visible dans 10 à 30% des cas.² L'anti-calrétinine a également démontré son utilité pour différencier les néoplasmes corticaux adrénaux (+) des phéochromocytomes (-).^{3,4} La calrétinine a également été utile dans le diagnostic des tumeurs à cellules granuleuses de l'ovaire parmi ses imitateurs. Les autres tumeurs ovariennes se colorant avec la calrétinine sont les tumeurs à cellules de Sertoli-Leydig, les tumeurs à cellules de Sertoli, les tumeurs à cellules de Leydig ainsi que les tumeurs des cordons sexuels avec tubules annelés ainsi que les tumeurs à cellules stéroïdiennes.^{5, 6-9, 8}

PRINCIPES ET PROCÉDURES

L'anti-Calretinin (SP13) peut être utilisé comme anticorps primaire pour la coloration immunohistochimique des coupes de tissus fixés dans du formol et inclus en paraffine. En général, la coloration immunohistochimique, utilisée conjointement avec un système de détection streptavidine-biotine, permet de visualiser les antigènes par le biais de l'application séquentielle d'un anticorps spécifique (anticorps primaire) dirigé contre l'antigène, d'un anticorps secondaire (anticorps de liaison) dirigé contre l'anticorps primaire, d'un complexe d'enzymes et d'un substrat chromogène avec des étapes de lavage intermédiaires. Un système de détection à base de polymères et sans biotine peut être utilisé le cas échéant. L'activation enzymatique du chromogène génère un produit de réaction visible au niveau du site antigénique. L'échantillon peut ensuite être contre-coloré et recouvert d'une lamelle. Les résultats sont interprétés au moyen d'un microscope optique et contribuent à poser un diagnostic différentiel des processus physiopathologiques qui peuvent être associés ou non à un antigène spécifique.

Les produits prédilué d'anti-Calretinin (SP13) sont dilués de façon optimale pour pouvoir être utilisés avec les kits de détection de

Cell Marque, bien qu'ils soient couramment employés avec succès avec un large éventail de kits de détection proposés par d'autres fabricants.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Consulter l'étiquette du produit pour les informations suivantes particulières au lot :

1. Concentration d'immunoglobulines anticorps
2. Informations détaillées concernant l'origine

Réactifs fournis

L'anticorps primaire de la Calretinin (SP13) prédilué contient un réactif prêt à l'emploi.

La plage de concentration en immunoglobulines prédiluées pour ce produit est comprise entre 1-5 µg/ml.

L'anticorps primaire de la Calretinin (SP13) concentré contient un réactif concentré. Les formes prédiluée et concentrée de cet anticorps sont diluées dans un tampon Tris, pH 7,3-7,7, avec une concentration de BSA de 1 % et d'azide de sodium < 0,1 %.

La plage de concentration en immunoglobulines concentrées pour ce produit est comprise entre 50-150 µg/ml.

La plage de dilution de travail recommandée pour le concentré s'étend de **1:25-1:100** ; elle est indiquée sur l'étiquette du produit.

Isotype : IgG₁

Reconstitution, mélange, dilution, titrage

L'anticorps prédilué est prêt à l'emploi et optimisé pour la coloration. Aucun mélange, reconstitution, dilution ou titrage ne sont nécessaires. L'anticorps concentré est optimisé pour être dilué dans les limites de la plage de dilution.

L'utilisateur doit valider la dilution de travail du produit concentré. Des différences dans les procédures techniques et de traitement du tissu au sein du laboratoire peuvent se traduire par une variabilité importante des résultats et nécessiter de ce fait l'utilisation régulière de contrôles. (Consulter le paragraphe Procédures de contrôle qualité.)

Matériel et réactifs nécessaires mais non fournis

Les réactifs et le matériel suivants peuvent être requis pour la coloration mais ne sont pas fournis avec l'anticorps primaire :

- | | |
|--|--|
| 1. Tissu de contrôle positif et négatif | <i>Remarque : Le prétraitement en une étape de Cell Marque, Trilogy™ (réf. 920P-06), peut remplacer les points 6 et 7 ci-dessus.</i> |
| 2. Lames de microscope, chargées positivement | |
| 3. Étuve capable de maintenir une température de 58 à 60 °C ± 5 °C | |
| 4. Cuves ou bains de coloration | |
| 5. Minuteur | 8. Eau déionisée ou distillée |
| 6. Xylène ou substitut du xylène | 9. Autocuiseur électrique (réf. cat. 976L) pour l'étape de prétraitement des tissus |
| 7. Éthanol ou alcool | 10. Système de détection (par ex. réf. cat. 954D-20) et chromogène (par ex. réf. cat. 957D-20) |

- | | |
|--|---|
| 11. Solutions de lavage (réf. cat. 935B-09) | 15. Réactif de blocage de l'avidine (réf. cat. 928B-02 à utiliser avec un système de détection streptavidine-biotine) |
| 12. Hématoxyline (réf. cat. 930B-05) ou un autre contre-colorant | 16. Réactif de contrôle négatif (réf. cat. 932B-02 pour souris ; réf. cat. 933B-02 pour lapin) |
| 13. Diluants pour anticorps (par ex. réf. cat. 938B-05) | 17. Milieu de montage (réf. cat. 931B-03) |
| 14. Réactif de blocage du peroxyde (réf. cat. 925B-05) à utiliser avec de la HRP | 18. Lamelles de montage |
| | 19. Microscope optique (40 à 400x) |

Conservation et manipulation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler.

Pour assurer une distribution correcte du réactif et la stabilité de l'anticorps, remettre le capuchon sur le flacon après chaque cycle et ranger immédiatement celui-ci en position verticale dans le réfrigérateur.

Chaque réactif à base d'anticorps comporte une date de péremption. Lorsqu'il est correctement conservé, le réactif reste stable jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption pour la méthode de conservation prescrite.

Aucun signe évident n'indique l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patients. Contacter le service après-vente de Cell Marque en cas de signe d'instabilité du réactif.

Recueil et préparation des échantillons pour l'analyse

Les tissus fixés au formol neutre tamponné, inclus en paraffine et traités en routine peuvent être utilisés avec cet anticorps primaire lorsque celui-ci est utilisé avec les kits de détection de Cell Marque (consulter le paragraphe Matériel et réactifs nécessaires mais non fournis). Remarque : Cell Marque évalue les performances uniquement sur des tissus humains. Il est recommandé de fixer les tissus au formol neutre tamponné à 10 %. Il se peut que des résultats variables soient obtenus en raison d'une fixation prolongée ou de processus spéciaux, comme la décalcification des préparations de moelle osseuse.

Chaque coupe doit avoir une épaisseur appropriée (environ 3 µm) et être placée sur une lame de verre chargée positivement. Les lames contenant une coupe de tissu peuvent être cuites pendant au moins 2 heures (mais pas plus de 24 heures) dans une étuve à une température de 58 à 60 °C ± 5 °C.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Prendre des précautions raisonnables lors de la manipulation des réactifs. Porter des gants jetables et des blouses de laboratoire lors de la manipulation de substances soupçonnées d'être cancérogènes ou toxiques (exemple : xylène).

2. Éviter tout contact des yeux et des muqueuses avec les réactifs. Si des réactifs entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau.
3. Les échantillons de patients et tout le matériel entrant en contact avec ceux-ci doivent être manipulés comme des substances biologiques dangereuses et être éliminés en prenant les précautions qui s'imposent. Ne jamais pipeter à la bouche.
4. Éviter toute contamination microbienne des réactifs, car cela pourrait entraîner des résultats erronés.
5. L'utilisateur doit valider les durées et températures d'incubation.
6. Les réactifs pré-dilués prêts à l'emploi sont dilués de façon optimale et toute dilution supplémentaire peut entraîner une perte de coloration de l'antigène.
7. Les réactifs concentrés peuvent être dilués de façon optimale en fonction de la validation de l'utilisateur. L'utilisateur doit également valider tout diluant utilisé qui n'est pas spécifiquement recommandé dans la présente afin d'en établir la compatibilité et l'effet sur la stabilité.
8. Lorsqu'il est utilisé selon les instructions, ce produit n'est pas classé comme substance dangereuse. Le conservateur présent dans le réactif contient moins de 0,1 % d'azide de sodium et ne remplit pas les critères de l'OSHA relatifs aux substances dangereuses à la concentration déclarée. Consulter la fiche de données de sécurité (MSDS).
9. L'utilisateur doit valider toute condition de conservation autre que celle spécifiée dans la notice.
10. Le diluant peut contenir de la sérum albumine bovine et le surnageant du sérum bovin. Les produits contenant du sérum de veau fœtal et ceux contenant de la sérum albumine bovine sont achetés à des fournisseurs commerciaux. Les certificats d'origine pour les produits d'origine animale utilisés dans ces produits sont conservés par Cell Marque. Les certificats attestent que les produits d'origine bovine proviennent de pays où le risque lié à l'encéphalopathie spongiforme bovine (BSE) est minime et indiquent que les États-Unis et le Canada sont les pays de provenance de ces produits.
11. Comme pour tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être mises en place.

MODE D'EMPLOI

Procédure étape par étape

Protocoles de coloration recommandés pour la Calretinin (SP13)

Système HiDef Detection™ :

1. Déparaffiner, réhydrater et restaurer les épitopes ; la méthode privilégiée consiste à utiliser des techniques de restauration antigénique par la chaleur (HIER) faisant appel à Cell Marque's Trilogy™ en conjonction avec un autocuiseur. Cette méthode privilégiée permet de déparaffiner, de réhydrater et de restaurer les épitopes simultanément. Enfin, rincer à 5 reprises avec de l'eau distillée ou désionisée.

2. Si un système de détection à base de HRP est utilisé, placer les lames dans un réactif de blocage du peroxyde pendant 10 minutes ; rincer. Si un système de détection à base d'AP est utilisé, ignorer cette étape.
3. Appliquer l'anticorps et incubé pendant 10 à 30 minutes ; rincer.
4. Appliquer l'amplificateur HiDef Detection™ pour lapin/souris pendant 10 minutes ; rincer.
5. Appliquer le détecteur polymère pendant 10 minutes ; rincer.
6. Appliquer une quantité généreuse de chromogène et incubé pendant 1-10 minutes ; rincer.
7. Déshydrater et recouvrir d'une lamelle.

PROCÉDURES DE CONTRÔLE QUALITÉ

Tissu de contrôle positif

Un tissu de contrôle positif doit être testé avec chaque procédure de coloration réalisée. Ce tissu peut contenir des composants cellulaires ou tissulaires à la fois positifs et négatifs et peut servir à la fois de tissu de contrôle positif et négatif. Les tissus de contrôle doivent être de récents prélèvements d'autopsie, de biopsie ou de chirurgie préparés ou fixés dès que possible d'une manière identique aux tissus de patients. L'utilisation d'une coupe de tissu fixé ou traité différemment de l'échantillon du patient servira à fournir un contrôle pour tous les réactifs et toutes les étapes de la méthode, à l'exception de la fixation et du traitement des tissus.

Un tissu présentant une faible coloration positive conviendra mieux pour assurer un contrôle qualité optimal et pour détecter de faibles niveaux de détérioration des réactifs. Les tissus suivants peuvent constituer un tissu de contrôle positif pour l'anticorps primaire de la calrétnine (SP13) :

Mésothéliome	Membranes cytoplasmiques, nucléaires
--------------	--------------------------------------

Des tissus de contrôle positifs connus doivent être utilisés uniquement pour vérifier que les performances des tissus traités et des réactifs de test sont correctes et non comme une aide à la formulation d'un diagnostic spécifique sur des échantillons de patients. Si les tissus de contrôle positifs ne présentent pas de coloration positive appropriée, les résultats des prélèvements des patients doivent alors être considérés comme non valides.

Tissu de contrôle négatif

Il est possible d'utiliser le même tissu pour le tissu de contrôle positif que pour le tissu de contrôle négatif. Les différents types de cellules présents dans la plupart des coupes de tissus offrent des sites de contrôle négatif internes, mais ceci doit être vérifié par l'utilisateur. Les composants ne présentant pas de coloration doivent démontrer l'absence de coloration spécifique et fournir une indication sur la coloration de fond non spécifique. En cas de coloration spécifique dans les sites du tissu de contrôle négatif, les résultats obtenus avec les échantillons de patients doivent être considérés comme non valides.

Différences inexplicables

Les différences inexplicables dans les contrôles doivent être immédiatement transmises au service après-vente de Cell Marque. Si les résultats du contrôle qualité ne correspondent pas aux attentes, les résultats des patients ne sont pas valides. Consulter le paragraphe Résolution des problèmes de cette notice. Identifier et remédier au problème, puis refaire la procédure complète sur les échantillons des patients.

Réactif de contrôle négatif

Un réactif de contrôle négatif doit être testé pour chaque échantillon afin de faciliter l'interprétation des résultats. Un réactif de contrôle négatif est utilisé à la place de l'anticorps primaire pour évaluer la coloration non spécifique. La lame doit être traitée avec un réactif de contrôle négatif correspondant à l'espèce hôte de l'anticorps primaire et ayant de préférence une concentration en IgG identique. La durée d'incubation pour le réactif de contrôle négatif doit correspondre à celle de l'anticorps primaire.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

La procédure d'immunocoloration provoque la précipitation d'un produit de réaction coloré au niveau des sites antigéniques localisés par l'anticorps primaire. Consulter la notice du système de détection approprié pour connaître les réactions colorées attendues. Un pathologiste qualifié, expert en procédures immunohistochimiques, doit évaluer les tissus de contrôle positifs et négatifs avant d'interpréter les résultats.

Tissu de contrôle positif

Le contrôle positif coloré doit être examiné en premier pour vérifier que tous les réactifs fonctionnent correctement. La présence d'un produit de réaction coloré de manière appropriée dans les cellules cibles indique une réactivité positive. Consulter la notice du système de détection utilisé pour connaître les réactions colorées attendues. Selon la durée d'incubation et la puissance de l'hématoxyline utilisée, une contre-coloration donnera une coloration bleu pâle à bleu foncé des noyaux cellulaires. Une contre-coloration incomplète ou excessive peut compromettre l'interprétation correcte des résultats. Si le tissu de contrôle positif ne présente pas de coloration positive appropriée, les résultats des prélèvements des patients sont alors considérés comme non valides.

Tissu de contrôle négatif

Le tissu de contrôle négatif doit être examiné après le tissu de contrôle positif afin de vérifier le marquage spécifique de l'antigène cible par l'anticorps primaire. L'absence de coloration spécifique dans le tissu de contrôle négatif confirme l'absence de réactivité croisée de l'anticorps avec les cellules ou les composants cellulaires. En cas de coloration spécifique dans le tissu de contrôle négatif, les résultats obtenus avec les échantillons de patients sont considérés comme non valides. Toute coloration non spécifique, si présente, aura un aspect diffus. Une coloration claire sporadique du tissu conjonctif peut également être observée dans les coupes provenant de tissus qui ne sont pas fixés de façon optimale. Des cellules intactes doivent être utilisées pour

interpréter les résultats de la coloration. Les cellules nécrotiques ou dégénérées présentent une coloration non spécifique.

Tissu de patients

Les échantillons de patients doivent être examinés en dernier. L'intensité de la coloration positive doit être évaluée en tenant compte de la coloration de fond du réactif de contrôle négatif. Comme avec tout test immunohistochimique, un résultat négatif signifie que l'antigène en question n'a pas été détecté et non pas que l'antigène est absent des cellules ou du tissu testés. Une gamme d'anticorps peut faciliter l'identification de faux négatifs (voir le paragraphe Résumé des résultats attendus). La morphologie de chaque échantillon de tissu doit également être examinée à l'aide d'une coupe colorée à l'hématoxyline et à l'éosine lors de l'interprétation des résultats immunohistochimiques. Les résultats morphologiques et les données cliniques pertinentes du patient doivent être interprétés par un pathologiste qualifié.

LIMITATIONS

1. Ce réactif est « réservé à un usage professionnel », dans la mesure où l'immunohistochimie est une procédure en plusieurs étapes nécessitant une formation spécialisée pour le choix des réactifs appropriés, la sélection des tissus, la fixation, le traitement, la préparation des lames d'immunohistochimie et l'interprétation des résultats de la coloration.
2. Réservé à un usage en laboratoire.
3. Pour utilisation en diagnostic *in vitro*.
4. La coloration du tissu dépend de la manipulation et du traitement de ce tissu avant coloration. Les fixation, congélation, décongélation, lavage, séchage, chauffage ou coupe incorrects, ou une contamination par d'autres tissus ou liquides peuvent entraîner des artefacts, un piégeage de l'anticorps ou des faux négatifs. Des résultats incohérents peuvent être la conséquence de variations dans les méthodes de fixation et d'inclusion, ainsi que d'irrégularités inhérentes au tissu.
5. Une contre-coloration incomplète ou excessive peut compromettre l'interprétation correcte des résultats.
6. L'interprétation clinique de toute coloration positive, ou de son absence, doit être évaluée dans le contexte de l'historique clinique, de la morphologie, d'autres critères histopathologiques ainsi que d'autres tests diagnostiques. Cet anticorps est conçu pour être utilisé, le cas échéant, dans une gamme d'anticorps. La réalisation de la coloration relève de la responsabilité d'un pathologiste qualifié devant être familiarisé avec les anticorps, les réactifs, les gammes diagnostiques et les méthodes de coloration utilisés. La coloration doit être réalisée dans un laboratoire autorisé et accrédité, sous le contrôle d'un pathologiste, responsable de l'examen des lames colorées et de la pertinence des contrôles positif et négatif.
7. Cell Marque fournit des anticorps et des réactifs dilués de façon optimale, destinés à être utilisés selon les indications. Tout écart par rapport aux procédures de test recommandées peut invalider les résultats attendus. Des contrôles appropriés doivent être utilisés et documentés. Les utilisateurs doivent, quelles que soient

les conditions, accepter la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients.

8. Cell Marque fournit des anticorps primaires dans un format concentré de sorte que l'utilisateur puisse ensuite les diluer et les utiliser de façon optimale, à condition que ce dernier établisse des techniques de validation appropriées et s'y conforme. L'utilisateur doit valider l'emploi d'éventuels diluants autres que ceux recommandés dans la présente. Une fois que l'aptitude à l'emploi de l'anticorps primaire a été validée, tout écart par rapport aux procédures de test recommandées peut invalider les résultats attendus. Des contrôles appropriés doivent être utilisés et documentés. Les utilisateurs doivent, quelles que soient les conditions, accepter la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients.
9. Ce produit n'est pas conçu pour être utilisé en cytométrie en flux.
10. Les réactifs peuvent présenter des réactions inattendues sur des tissus qui n'ont pas été testés auparavant. En raison de la variabilité biologique de l'expression antigénique dans les néoplasmes ou d'autres tissus pathologiques, la possibilité d'obtenir des réactions inattendues sur des groupes de tissus déjà testés ne peut cependant pas être totalement éliminée. Contacter le service après-vente de Cell Marque en documentant les réactions inattendues soupçonnées.
11. Les tissus provenant de personnes infectées par le virus de l'hépatite B et contenant l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (HBsAg) peuvent présenter une coloration non spécifique avec la peroxydase de raifort.
12. Lorsqu'ils sont utilisés au cours des étapes de blocage, les sérums normaux ayant la même origine animale que les antisérums secondaires peuvent donner des faux négatifs ou des faux positifs à cause de l'effet des auto-anticorps ou des anticorps naturels.
13. Des faux positifs peuvent apparaître en raison de liaisons non immunologiques des protéines ou des produits de réaction du substrat. Ils peuvent également être provoqués par une activité pseudoperoxydasique (érythrocytes), une activité de la peroxydase endogène (cytochrome C) ou de la biotine endogène (par exemple : foie, cerveau, sein, rein) en fonction du type de technique d'immunocoloration utilisée.
14. Comme avec tout test immunohistochimique, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté et non pas que l'antigène était absent des cellules ou du tissu testés.

Limitations spécifiques

1. Les produits à base d'anticorps pré-dilués sont optimisés pour être prêts à l'emploi. En raison de la possibilité de variation au niveau de la fixation et du traitement des tissus, il peut être nécessaire d'augmenter ou de diminuer la durée d'incubation de l'anticorps primaire en fonction des échantillons individuels.
2. En association avec les systèmes de détection et les accessoires, l'anticorps détecte le ou les antigènes qui résistent aux procédures de routine comme la fixation au formol, le traitement et la coupe des tissus. Les utilisateurs qui s'écartent des procédures de test recommandées demeurent, comme ils le seraient dans n'importe quelle situation, responsables de l'interprétation et de la validation des résultats des patients.

Résumé des résultats attendus

Se reporter aux tableaux de réactivité suivants :

Étude de tissus sains			
Tissu	Nbre colorés	Nbre total	Remarques
Cerveau	1	1	
Cortex adrénal	0	1	
Ovaire	0	1	
Pancréas	0	1	
Parathyroïde	0	1	
Pituitaire	0	1	
Thyroïde	0	1	
Sein	0	1	
Rate	0	1	
Amygdale	0	5	
Thymus	0	1	
Moelle osseuse	0	1	
Poumon	0	1	
Coeur	0	1	
Œsophage	0	1	
Estomac	0	1	
Côlon	0	1	
Foie	0	1	
Rein	0	1	
Vessie	0	1	
Prostate	0	1	
Testicule	0	1	
Utérus	0	1	
Trompe de Fallope	0	1	
Col de l'utérus	0	1	
Muscle squelettique	0	1	
Muscle lisse	0	1	
Peau	0	1	
Graisse	0	1	
Placenta	0	1	

Étude de tissus pathologiques			
Tissu	Nbre colorés	Nbre total	Remarques
Carcinome de cellule rénale	0	1	
Cancer hépatocellulaire	0	1	
Mélanome	0	2	
Carcinome pancréatique	0	1	
Adénocarcinome pulmonaire	0	2	
Cancer du côlon	0	1	
Cancer du sein	0	21	
Cancer de la thyroïde	0	1	
Tumeur stromale gastro-intestinale	0	2	
Lymphome T	0	1	
Lymphome à cellules B	0	1	
Mésothéliome	4	4	
Tumeur à cellules granuleuses	1	1	

DÉPANNAGE

1. Si le contrôle positif présente une coloration plus faible que celle attendue, vérifier les autres contrôles positifs testés pendant le même cycle de coloration pour déterminer si cela est dû à l'anticorps primaire ou à l'un des réactifs secondaires communs.
2. Si le contrôle positif s'avère négatif, vérifier les autres contrôles positifs testés pendant le même cycle pour déterminer si la cause sous-jacente se rattache à l'anticorps primaire ou à l'un des réactifs secondaires communs. Il se peut que les tissus aient été mal prélevés, fixés ou déparaffinés. Suivre la procédure adéquate de prélèvement, de conservation et de fixation.
3. En cas de coloration de fond excessive, des taux élevés de biotine endogène peuvent être présents. Une étape de blocage de la biotine doit être incluse, à moins qu'un système de détection sans biotine soit utilisé, auquel cas la biotine présente n'est pas un facteur décisif pour la coloration de fond.
4. Si toute la paraffine n'a pas été éliminée, la procédure de déparaffinage doit être répétée.
5. Si les coupes de tissus se détachent des lames, vérifier que les lames sont chargées positivement. Parmi les autres causes susceptibles d'avoir un impact négatif sur l'adhérence du tissu, notons un séchage insuffisant de la coupe tissulaire sur la lame avant la coloration ou une fixation dans du formol dont le pH n'est pas neutre (formol neutre tamponné). L'épaisseur du tissu peut également y contribuer.

Pour connaître les mesures correctives à prendre, consulter le paragraphe Procédure étape par étape ou contacter le service après-vente de Cell Marque.

BIBLIOGRAPHIE

1. Dabbs DJ. Diagnositc Immunohistochemistry,. Third Edition. Saunders. 2006.
2. Doglioni C, Dei Tos AP, et al. Am J Surg Pathol. 1996;20:1037-1046.
3. Zhang PJ, Genega EM, et al Mod Pathol. 2003;16:591-597.
4. Jorda M, De Madeiros B, Nadji M. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2002;10:67-70.
5. Zheng W, Senturk BZ, Parkash V. Adv Anat Pathol. 2003;10:27-38.
6. Rishi M, Howard LN, et al. Am J Surg Pathol. 1997;21:583-589.
7. Costa MJ, Ames PF et al. Hum Pathol. 1997;28:1247-1254.
8. Hildebrandt RH, Rouse RV, Longacre TA Hum Pathol 1997;28:1387-1395.

CLAUSES DE NON-RESPONSABILITÉ


www.cellmarque.com


EMERGO EUROPE
Molenstraat 15, 2513 BH, The Hague, NL.



CM Template #1.2