



HIER T-EDTA Buffer pH 9.0 (10 X)

REF / Cat. No.: ZUC029-100 100 ml
ZUC029-500 500 ml

Mode d'emploi

Champs d'application

Le tampon HIER T-EDTA Buffer pH 9.0 est une solution destinée au démasquage antigène thermique (ou démasquage d'épitopes) dans des coupes de tissu fixées en formol qui sont fixées sur des porte-objets. Ce procédé désigné également sous le nom de HIER (*Heat Induced Epitope Retrieval*) est avant tout utilisé avant des procédés de coloration immunohistochimiques. Pour l'utilisation comme méthode diagnostique in vitro.

Résumé / explication

Les procédés de coloration immunohistochimiques se composent d'une suite de différentes étapes d'incubation avec des solutions de blocages, des anticorps primaires, des réactifs secondaires, des substrats d'enzymes et des chromogènes qui sont appliqués les uns après les autres sur des préparations de coupes. Le plus souvent ces préparations de coupes sont fabriquées à partir d'échantillons de tissu fixés auparavant dans des solutions d'aldéhyde formique (le plus souvent du „formol“ dilué). La fixation dans l'aldéhyde formique stabilise les structures moléculaires de manière très effective et conserve ainsi la morphologie de la préparation. D'un autre côté, la fixation dans l'aldéhyde formique conduit très souvent à ce que les épitopes d'antigènes, qui doivent être démontrés immunohistochimiquement, sont fortement modifiés ou „masqués“ par des réticulations transversales. Afin de les rendre accessibles pour l'anticorps primaire lors de la détection immunohistochimique qui suit, ils doivent être tout d'abord „démasqués“. Il existe de multiples possibilités de démasquer les épitopes. En font partie des prétraitements thermiques (HIER) dans des solutions tampon de différentes compositions et des valeurs pH ou la digestion enzymatique avec des enzymes protéolytiques. Le choix de la méthode adéquate dépend de l'anticorps primaire utilisé.

Principe de la méthode

Le tampon HIER T-EDTA Buffer pH 9.0 est une solution de EDTA dans un tampon Tris 10 fois concentrée avec des adjuvants de substances stabilisantes. Pour la fabrication de la solution prête à l'emploi, le concentré tampon est diluée dans une proportion de 1:10 avec du H₂O déionisé ou distillé. On obtient alors une valeur pH de 9,0 (8,8 à 9,2) dans la solution. Le tampon HIER T-EDTA Buffer pH 9,0 entraîne un démasquage d'épitopes efficace pour un grand nombre de réactions immunohistochimiques différentes. Comparé avec le tampon citrate utilisé généralement HIER T-EDTA Buffer pH 9.0 produit une intensification de la coloration.

Réactifs fournis

REF / Cat. No. ZUC029-100

100 ml **HIER T-EDTA Buffer pH 9.0**

(10 fois concentré, suffisant pour 1 litre de tampon T-EDTA prêt à l'emploi)

REF / Cat. No. ZUC029-500

500 ml **HIER T-EDTA Buffer pH 9.0**

(10 fois concentré, suffisant pour 1 litre de tampon T-EDTA prêt à l'emploi)

Stockage et utilisation

Les solutions devraient être stockées à 2-8°C sans être diluées. Ne pas les congeler. Les solutions livrées peuvent être conservées jusqu'à la date de péremption en cas de stockage à 2-8°C. Les solutions ne doivent pas être utilisées au-delà de la date de péremption. A la température ambiante, les solutions sont stables pendant 10 mois au moins après la livraison. La solution de travail préparée est stable à 2-8°C pendant 1 mois.

Mesures de précaution

Utilisation par du personnel spécialisé formé. Porter un équipement de protection approprié afin d'éviter tout contact des réactifs avec les yeux, la peau ou les muqueuses. En cas de contact avec un des réactifs à un endroit sensible, rincer immédiatement avec des quantités importantes d'eau. L'agent de conservation ProClin 300 est utilisé pour la stabilisation. Des fiches de sécurité sont disponibles, sur demande, pour le personnel spécialisé.

Préparation des réactifs

Fabrication de la solution de tampon T-EDTA Buffer prête à l'emploi:

- Diluer et bien mélanger le concentré de tampon HIER T-EDTA Buffer dans la proportion de 1:10 avec H₂O déionisé.
- La valeur pH de la solution devrait être de 9,0 (8,8 à 9,2). (Si nécessaire, ajuster avec du NaOH ou HCl dilué.)

Application

Le tampon HIER T-EDTA Buffer convient pour le démasquage d'antigène thermique dans le cuiseur vapeur, au bain marie, dans l'autocuiseur, l'autoclave et dans la micro-onde. Les préparations de coupes devraient toujours être fixées sur des porte-objets adhésifs pour le démasquage d'épitopes thermique. Le démasquage d'épitopes est réalisé après le déparaffinage et la réhydratation.

Protocole exemplaire en cas d'utilisation d'un cuiseur vapeur.

1. Fabriquer une solution de travail prête à l'emploi par la dilution 1:10 du concentré et la remplir dans une cuvette. *La quantité doit suffire pour couvrir entièrement toutes les coupes de tissu sur les porte-objets.*
2. Remplir le cuiseur vapeur avec de l'eau conformément au mode d'emploi, mettre le couvercle et démarrer.
3. Après 10 minutes, mettre la cuvette avec la solution. Fermer le cuiseur vapeur.
4. Après 20 minutes, mettre les porte-objets avec les coupes de tissu dans la solution brûlante et fermer le cuiseur vapeur.
5. Incuber les porte-objets pendant 20 – 40 minutes (*Le temps d'incubation optimal doit être déterminé par l'utilisateur.*)
6. Retirer du cuiseur vapeur la cuvette avec la solution de travail et les porte-objets et laisser refroidir à température ambiante pendant 20 minutes.
7. Verser la solution de travail du HIER T-EDTA Buffer, rincer les porte-objets avec du tampon de lavage et réaliser la coloration immunohistochimique.

Contrôle de qualité

Pour une analyse précise, un témoin positif et un témoin négatif devraient être réalisés pour chaque série de coloration. Le témoin positif sert à vérifier le traitement correct de l'échantillon. Si le témoin négatif s'avère positif, cela indique une coloration non spécifique. Si l'on observe une coloration inattendue ou des différences par rapport au résultat de coloration attendu, qui sont dues au réactif, veuillez contacter le fabricant ou votre distributeur sur place.

Recherche d'erreurs

En cas de colorations anormales, veuillez lire la notice explicative ou contacter le fabricant ou votre distributeur sur place.

Résultats à attendre

Il se forme à la fin de la coloration immunohistochimique, pendant la réaction entre un substrat et un enzyme adéquat, le plus souvent de la peroxydase de raifort sauvage ou de la phosphatase alcaline, en présence d'un chromogène approprié sur le lieu de la liaison de l'anticorps primaire, une précipitation de couleur qui peut être analysée au microscope optique. La coloration dépend du chromogène utilisé.

Limites de la méthode

L'immunohistochimie est une méthode complexe au sein de laquelle sont combinées des méthodes de détection histologiques et immunologiques. Le traitement du tissu ou la manipulation des échantillons en amont de l'immunohistologie proprement dite peut conduire à des résultats imprécis si les directives n'ont pas été respectées (Nadji and Morales, 1983). Une contre-coloration insuffisante ou un montage incorrect peut influencer l'interprétation des résultats.

Zytomed Systems garantit que le produit remplira toutes les exigences indiquées et sera conservable jusqu'à la date de péremption, si les conditions de stockage et d'utilisation sont suivies. Nous ne pouvons pas offrir d'autres garanties.

Performance

Zytomed Systems a fait des études sur la performance du coffret. Ce produit a été jugé comme approprié pour l'utilisation.

Littérature

Miller RT et al. Appl Immunohistochem Mol Morphol 8:228-235, 2000

Nadji M and Morales AR Ann N.Y. Acad Sci 420:134-9, 1983

10 Décembre 2013

Rev: A1213

Doc: DBF_ZUC029_100_500

Légende des symboles sur les étiquettes:

	Bestellnummer Catalog Number Reference du catalogue		Verwendbar bis Use By Utiliser jusque		Gebrauchsanweisung beachten Consult Instructions for use Consulter les instructions d'utilisation
	Chargenbezeichnung Batch Code Code du lot		Lagerungstemperatur Temperature Limitation Limites de température		Nur für Forschungszwecke For Research Use Only Pour la recherche uniquement
	In vitro Diagnostikum In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro		Achtung/Gefahr Warning/Danger Attention/Danger		Hersteller / Manufacturer / Fabricant Zytomed Systems GmbH Anhaltinerstraße 16 14163 Berlin, Germany Tel: (+49) 30-804 984 990 www.zytomed-systems.de
	Achtung/Gefahr Warning/Danger Attention/Danger		Achtung Warning Attention		Gefahr Danger Danger