

- GenomeMe® fournit des anticorps pré-dilués dans un format prêt à l'emploi, dilué de manière optimale pour une utilisation selon les recommandations fournies. Toute manipulation ou traitement incorrects des échantillons de tissus et des réactifs, ainsi que toute déviation par rapport aux procédures recommandées décrites ici, peuvent compromettre la validité et / ou l'analyse des résultats. En raison des variations potentielles dans le traitement et la fixation des tissus, il peut être nécessaire d'ajuster le temps d'incubation de l'anticorps primaire sur des échantillons de tissus.
- Cet anticorps, lorsqu'il est utilisé avec les systèmes et accessoires de détection appropriés, détecte le ou les antigènes qui restent intacts durant le processus de fixation, traitement et coupe du tissu décrites ici. Toute modification de ces procédures recommandées peut compromettre la validité et / ou l'analyse des résultats.
- Le résultat clinique indiqué par les résultats de la coloration doit être analysé avec précision par le pathologiste qualifié, et les antécédents médicaux du patient et d'autres critères histopathologiques doivent être pris en compte. L'utilisateur est responsable de l'interprétation des résultats dans le contexte du patient.
- Tout résultat différent ou inexplicable obtenu pour les contrôles ou les échantillons de tissus doivent être signalés au service clientèle de GenomeMe® à l'adresse [info@GenomeMe.ca](mailto:info@GenomeMe.ca). Les résultats sont invalides si l'analyse des tissus de contrôle positifs et négatifs donne des résultats autres que ceux approuvés et décrits ici. La section Recherche d'erreurs de cette notice peut être consultée pour des anomalies inexplicables dans les tissus de contrôle.
- D'éventuels résultats inattendus ne peut être éliminé en raison de la variabilité biologique inhérente à l'expression de certains antigènes.
- D'éventuels résultats faussement positifs ne peuvent être éliminés en raison de la possibilité de fixation non immunologique des produits de réaction du substrat ou des protéines. Des résultats faussement positifs peuvent également survenir en fonction du type de technique d'immunocoloration utilisée ou de l'activité des pseudoperoxydases, des peroxydases endogènes ou biotines endogènes.
- En raison de l'effet des autoanticorps ou des anticorps naturels, les sérums normaux provenant d'une source animale identiques aux antisérums secondaires peuvent entraîner des résultats faussement négatifs ou faussement positifs lorsqu'ils sont utilisés dans des étapes de blocage.
- Une coloration non spécifique à la peroxydase de raifort peut être observée lors de l'utilisation de tissus contenant l'antigène de surface de l'hépatite B en raison de l'infection du patient par le virus de l'hépatite B.

## 9. Avertissements et précautions

- Assurez-vous que les procédures de manipulation appropriées sont utilisées avec tous les réactifs. Toujours porter des blouses de laboratoire, des gants jetables et tout autre équipement de laboratoire approprié lors de la manipulation des réactifs.
- Ne pas ingérer les réactifs et éviter le contact avec les yeux et les muqueuses. Laver les yeux avec une grande quantité d'eau en cas de contact.
- Tous les temps et températures d'incubation doivent être validés par l'utilisateur, de même que toutes les conditions de stockage différentes de celles spécifiées dans la notice.
- L'anticorps pré-dilué est fourni dans un format prêt à l'emploi, dilué de manière optimale, et toute dilution ultérieure peut entraîner une perte de coloration de l'antigène.
- L'anticorps concentré nécessite une dilution dans le tampon optimisé (voir Matériel et Méthodes), dans le cadre d'une validation appropriée par l'utilisateur.
- Manipulez les coupes de tissus et tous les matériaux en contact avec eux en tant que matières biologiques dangereuses, en prenant les précautions appropriées.
- Pour assurer la stabilité de l'anticorps et la validité des résultats, assurez vous de la bonne manipulation du produit et éviter toute contamination microbienne.

## 10. Références

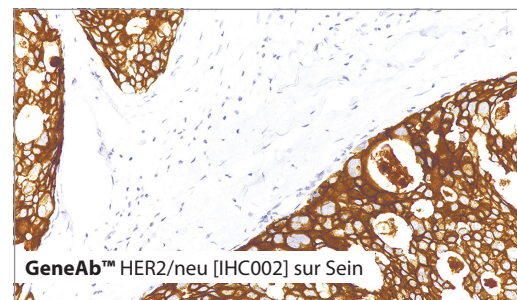
- Suthipintawong C, et al. *Diagn Cytopathol.* 1997; 17:127-33.
- Alexiev BA, et al. *Gen Diagn Pathol.* 1997; 142:271-9.
- Fernández Aceñero MJ, et al. *Gen Diagn Pathol.* 1997; 142:289-96.
- Koepfen HKW, et al. *Histopathology.* 2001; 38:96-104.
- Moch H, et al. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1993; 423:329-34.
- Cetin B, et al. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2016; 1:59.

# GeneAb™ HER2/neu

**Clone:** IHC002

**Source:** Anticorps monoclonale de Souris

**Contrôle Positif:** Cancer Du Sein



## Information Produit

REF	Description
IHC002-100	0.1 ml, Concentré
IHC002-1	1 ml, Concentré
IHC002-7	7 ml, Pré-Dilué
IHC002-25	25 ml, Pré-Dilué
IHC002-PC	3 lames de contrôle positif

## 1. Utilisation Prévue

Cet anticorps est destiné à un usage de diagnostic *in vitro* (DIV).

L'anticorps HER2/Neu est destiné aux laboratoires qualifiés afin d'identifier qualitativement par microscopie optique la présence d'antigènes associés dans des coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine à l'aide de méthodes de test IHC. L'utilisation de cet anticorps est indiquée après les diagnostics différentiels cliniques de maladies afin de faciliter l'identification du cancer du sein HER2/neu positif ou du cancer gastrique dans le contexte de panels d'anticorps, des antécédents cliniques de la patiente et d'autres tests de diagnostic évalués par un expert qualifié pathologiste.

## 2. Résumé et Explication

Le proto-oncogène HER2 / neu (c-erbB-2) est un récepteur tyrosine kinase transmembranaire qui est indiqué cliniquement dans un certain nombre de carcinomes. La surexpression de la protéine c-erbB-2 a été associée au cancer du sein canalaire, ainsi qu'à des adénocarcinomes pulmonaires et gastriques. Une corrélation entre HER2 et p53 a également été documentée, la surexpression de ces deux protéines étant associée à une invasion précoce et à une métastase dans le cancer de la vessie.

## 3. Principes et Procédures

La visualisation de l'antigène présent dans les coupes de tissus est réalisée par un procédé de coloration immunohistochimique en plusieurs étapes, conjointement avec un système de détection lié à la peroxydase de raifort (HRP) ou à la phosphatase alcaline (AP). Le procédé implique l'ajout de l'anticorps indiqué (anticorps primaire) à une lame de tissu, suivi d'un anticorps secondaire (anticorps de liaison) qui se lie à l'anticorps primaire. On ajoute ensuite un substrat chromogène qui réagit avec le complexe enzymatique, entraînant une réaction colorimétrique au site de l'antigène. Les résultats sont interprétés à l'aide d'un microscope optique.

## 4. Matériel et Méthodes

Produit	Composition Optimisée Tampon
Pré-Dilué	Diluant d'Anticorps
Concentré	Tampon Tris, pH 7.3 - 7.7, avec 1% ASB et <0.1% d'Azide de Sodium

Remarque: Gamme de Dilution de Travail Recommandée 1:100 - 1:400.

## Reconstitution, Mélange, Dilution, et Titration

L'anticorps pré-dilué ne nécessite aucun mélange, dilution, reconstitution ou titrage; l'anticorps est prêt à l'emploi et optimisé pour la coloration.

L'anticorps concentré nécessite une dilution dans le tampon optimisé, selon la gamme de dilution préconisée (voir Matériel et Méthodes).

## Stockage et Manutention

Stocker à 2-8°C. Ne pas congeler.

Lorsqu'il est stocké correctement, l'anticorps est stable jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette.

Pour assurer la stabilité et la performance de l'anticorps après chaque utilisation, remplacez le couvercle et placez immédiatement le flacon dans un réfrigérateur en position verticale.

Les contrôles positifs et négatifs doivent être exécutés simultanément avec des échantillons inconnus afin de détecter des problèmes éventuels d'instabilité de l'anticorps. Si une telle indication d'instabilité est suspectée, contactez le service clientèle de GenomeMe® à l'adresse [info@GenomeMe.ca](mailto:info@GenomeMe.ca).

## Prélèvement d'échantillons et préparation à l'analyse

Chaque section de tissu doit être fixée au formol neutre tamponné à 10%, coupée à l'épaisseur appropriée (4 µm) et placée sur une lame de verre chargée positivement. La lame préparée peut ensuite être chauffée pendant au moins 30 minutes dans un four à 53-65 °C (ne pas dépasser 24 heures).

## 5. Mode d'emploi

Protocoles de coloration recommandés pour l'anticorps :

### Utilisation Manuelle:

1. **Prétraitement:** Effectuer un démasquage d'épitope induit par la chaleur (HIER) à pH 9 pendant 10 à 30 minutes.
2. **Inactivation des Peroxidases Endogènes:** Bloquer avec une solution de blocage de la peroxydase pendant 5 minutes à température ambiante. (Non requis si vous utilisez un système de phosphatase alcaline)
3. **Anticorps primaire:** Appliquer l'anticorps directement (pré-dilué) ou diluer l'anticorps 1: 100 au 1: 400 (concentré) avant de l'appliquer. Incuber l'anticorps pendant 10 à 30 minutes à température ambiante.
4. **Anticorps secondaire:** Incuber pendant 20 à 30 minutes à température ambiante.
5. **Développement du Substrat:** Incuber le DAB ou Fast Red pendant 5 à 10 minutes à température ambiante.
6. **Contre-colorant:** Faire une contre-coloration avec de l'hématoxyline pendant 0,5 à 5 minutes, en fonction de l'hématoxyline utilisée. Rincer à l'eau distillée et à la solution bleue pendant 30 secondes.
7. Déshydrater et monter la lame avec une lamelle.

**Système de Coloration Automatisé:** L'anticorps primaire indiqué a été optimisé et validé à l'aide de l'appareil IHC & ISH entièrement automatisé BOND-MAX fabriqué par Leica Biosystems, conformément au protocole IHC. Les modifications suivantes sont recommandées pour le protocole::

- a) Temps d'incubation des marqueurs: 30 minutes
- b) Le démasquage d'épitopes induits par la chaleur (HIER) est recommandé avec la solution 2 de Leica Bond ER pendant 30 minutes.
- c) Déplacez l'étape de blocage des peroxydases après le polymère et avant le Mixed DAB refine.

Pour tous les autres systèmes de coloration IHC automatisés, reportez-vous au manuel d'utilisation correspondant pour des instructions spécifiques.

## 6. Procédures de Contrôle de la Qualité et Interprétation des Résultats

Le procédé de coloration immunohistochimique se traduit par une réaction colorimétrique au site de l'antigène, localisée par l'anticorps primaire. Un pathologiste qualifié ne doit interpréter les résultats du patient que lorsque les tissus de contrôle positif et négatif ont été analysés.

### Tissu de contrôle positif

Un tissu de contrôle positif doit être utilisé lors de chaque procédure de coloration et doit être préparé et fixé de manière identique aux échantillons tests afin de contrôler toutes les variables du test, y compris la fixation et le traitement des tissus. Le tissu de contrôle positif doit être obtenu à partir d'échantillons de tissus frais (autopsie, biopsie ou des spécimens chirurgicaux). Pour un contrôle de qualité optimal et pour permettre la détection de niveaux moins élevés de dégradation des réactifs, il est conseillé d'utiliser un tissu présentant une coloration

positive plus faible. Un échantillon tissulaire de cancer du sein peut être utilisé comme tissu témoin positif pour l'anticorps HER2/Neu IHC002. Le cas échéant, des tissus contenant des cellules ou des composants tissulaires qui sont négatifs et d'autres qui sont positifs peuvent servir à la fois de tissu de contrôle positif et négatif.

Une fois coloré, le tissu de contrôle positif doit être analysé pour s'assurer qu'une coloration positive appropriée est observée et que tous les réactifs fonctionnent correctement. La réactivité positive nécessite l'observation d'une réaction colorimétrique appropriée au site de l'antigène dans les cellules cibles. La contre-coloration se traduira par une coloration bleue, qui peut être pâle à foncée en fonction de la durée d'incubation et de la puissance de l'hématoxyline.

Si la coloration positive telle que définie ici n'est pas observée, les résultats obtenus doivent être considérés comme non valides. Le tissu de contrôle positif doit être utilisé uniquement pour mesurer la performance des réactifs et la validité des résultats obtenus.

### Tissu de contrôle négatif

Le même tissu utilisé pour le tissu témoin positif peut être utilisé comme tissu témoin négatif.

La plupart des coupes de tissus peuvent servir de contrôles négatifs internes du fait de la diversité cellulaire présente dans l'échantillon mais doivent être validés par l'utilisateur. Les composants négatifs pour le marqueur ne doivent pas présenter de marquage spécifique et permettent de fournir une indication de la coloration de fond. Si une coloration non spécifique est observée, le tissu de contrôle négatif doit être considéré comme invalide et tous les résultats obtenus lors de cette série de marquages doivent également être traités comme tels.

### Spécimens de tissus

Les échantillons de tissus ne doivent être analysés que lorsque les tissus de contrôle positifs et négatifs ont été jugés valides. Une coloration négative indique que l'antigène n'a pas été détecté; l'utilisation d'un panel d'anticorps peut permettre la reconnaissance de résultats faussement négatifs, car une coloration négative dans un test ne confirme pas l'absence de l'antigène en question.

Une section de tissu coloré à l'hématoxyline et à l'éosine doit être utilisée pour analyser la morphologie de l'échantillon de tissu du patient, vérifié par un pathologiste qualifié.

## 7. Recherche d'erreurs

1. Si les coupes de tissus se détachent de la lame, cela peut être dû à:
  - a) Aux lames qui ne sont pas chargées positivement.
  - b) A un séchage insuffisant de la coupe de tissu avant la coloration.
  - c) A un problème du tampon neutre du formol utilisé pour le processus de fixation.
  - d) A l'épaisseur du tissu
2. Si le tissu de contrôle positif présente une coloration négative, cela peut être dû à:
  - a) L'anticorps primaire ou l'un des réactifs secondaires
  - b) Un problème de collecte, fixation ou déparaffinage de la coupe de tissu.
3. Si le tissu de contrôle positif présente une coloration plus faible que prévu, cela peut être dû à l'anticorps primaire ou à l'un des réactifs secondaires. Tout autre contrôle positif exécuté simultanément doit être analysé pour déterminer la cause.
4. Si une coloration non spécifique survient, elle présentera un aspect diffus et peut être due à:
  - a) Une fixation incorrecte ou sous-optimale des coupes de tissus pouvant entraîner une légère coloration sporadique du tissu conjonctif.
  - b) L'utilisation de cellules nécrotiques ou dégénérées. Les cellules intactes doivent être utilisées pour l'analyse des résultats de la coloration.

Pour obtenir de l'aide pour toute autre demande, contactez le service clientèle de GenomeMe® à [info@GenomeMe.ca](mailto:info@GenomeMe.ca).

## 8. Limitations

1. Cet anticorps est destiné à un usage de diagnostic *in vitro* (IVD) par des laboratoires qualifiés uniquement. Il n'est pas destiné à être utilisé en cytométrie en flux.
2. En raison de la variabilité inévitable des procédures et des variables immunohistochimiques, des contrôles positifs et négatifs appropriés doivent être utilisés et documentés.
3. Une manipulation et un traitement inappropriés des échantillons de tissus peuvent compromettre la validité et / ou l'analyse des résultats.