

PRAME (EP461) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

Pour l'Usage Diagnostique In Vitro (IVD)

Identification du Produit

REF	Description
484R-14	0,1 ml concentré
484R-15	0,5 ml concentré
484R-16	1,0 ml concentré
484R-17	1,0 ml pré-dilué prêt à l'emploi
484R-18	7,0 ml pré-dilué prêt à l'emploi
484R-10	25,0 ml pré-dilué prêt à l'emploi

Définitions des Symboles

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

Application

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

Le PRAME (EP461) Rabbit Monoclonal Primary Antibody est destiné à un usage en laboratoire pour détecter la protéine PRAME dans des tissus fixés au formol et enrobés à la paraffine, colorés par un test qualitatif d'immunohistochimie (IHC).

Les résultats de l'utilisation de ce produit doivent être interprétés par un pathologiste qualifié en tenant compte des antécédents cliniques pertinents du patient, d'autres tests diagnostiques et de contrôles appropriés.

Résumé et Explication

PRAME (Preferentially-expressed Antigen in Melanoma) est un gène codé sur la séquence chromosomique 22q11-22 et codant pour une protéine de 509 résidus d'acides aminés¹. PRAME est un antigène du mélanome qui est exprimé préférentiellement dans les tumeurs et est reconnu par les lymphocytes T cytotoxiques^{2,3}. PRAME peut être utilisé pour distinguer les cellules de mélanome malin des cellules de nævus⁴, et peut donc être utile à des fins

de diagnostic pour étayer un cas suspect de mélanome. PRAME est considéré comme un antigène du cancer du testicule (CTA)⁵ et n'est pas fortement exprimé dans la plupart des autres tissus normaux. PRAME s'exprime positivement dans environ la moitié des mélanomes uvéaux⁶ et dans la majorité des mélanomes muqueux⁷.

Principes et Procédures

L'anticorps primaire en question 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 lié HRP ou Alk Phos, 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. 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 à l'aide d'un microscope optique.

Matériel et Méthodes

Réactifs Fournis

Composition de Produit	
Pré-dilué: dilué dans	Tampon Tris, pH 7,3 - 7,7 avec 1 % de BSA et <0,1 % d'azote de sodium
Concentré: dilué dans	Tampon Tris, pH 7,3 - 7,7 avec 1 % de BSA et <0,1 % d'azote de sodium
Hôte	lapin
Isotype	IgG
Plage de dilution de travail recommandée	1:25-1:50
Source	surnageant

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

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

Reconstitution, Mélange, Dilution, Titrage

L'anticorps pré-dilué 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 à l'aide du Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

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
2. Lames de microscope, chargées positivement
3. Étuve capable de maintenir une température de 53 à 65 °C
4. Cuves ou bains de coloration
5. Minuteur
6. Xylène ou substitut du xylène
7. Éthanol ou alcool

Remarque : Le prétraitement en une étape de Cell Marque, Trilogy™ (réf. cat. 920P-06), peut remplacer les points 6 et 7 ci-dessus.

8. Eau déionisée ou distillée
9. Matériel de chauffage tel qu'un autocuiseur pour l'étape de prétraitement des tissus
10. Système de détection, tel que HiDef Detection™ HRP Polymer System (réf. cat. 954D-20) ou HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (réf. cat. 962D-20)
11. Chromogène, tel que DAB Substrate Kit (réf. cat. 957D-20) ou Permanent Red Chromogen Kit (réf. cat. 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (réf. cat. 935B-09)
13. Hematoxylin ou un autre contre-colorant
14. Diluants d'anticorps, tel que Diamond: Antibody Diluent (réf. cat. 938B-05) ou Emerald: Antibody Diluent (réf. cat. 936B-08)
15. Peroxide Block (réf. cat. 925B-05) à utiliser avec de la HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents à utiliser avec un système de détection streptavidine-biotine
17. Réactif de Contrôle Négatif (réf. cat. 939B-02 pour universel)
18. Mounting Medium
19. Lamelles de montage
20. 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. Contactez le support technique de Cell Marque en cas de signe présumé d'instabilité des réactifs.

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 53 à 65 °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 (SDS).
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

Protocoles de coloration recommandés pour l'anticorps primaire en question:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (réf. cat. 954D-20)

1. Technique de récupération de l'épitope : HIER dans un autocuiseur. Température de l'autocuiseur (°C) : 110. Temps de traitement à l'autocuiseur (minutes) : 15. Récupération du réactif épitope : Trilogy
2. Rincer avec de l'eau désionisée
3. Rincer avec un tampon TBST
4. Temps d'incubation dans le réactif de blocage du peroxyde (minutes): 10
5. Rincer avec de l'eau désionisée
6. Rincer avec un tampon TBST
7. Temps d'incubation de anticorps (minutes): 10
8. Rincer avec de l'eau désionisée
9. Répéter 3 fois : laver avec un tampon TBST (minutes): 5
10. Temps d'incubation dans l'amplificateur HiDef HRP Detection (minutes): 10
11. Rincer avec de l'eau désionisée
12. Répéter 3 fois : laver avec un tampon TBST (minutes): 5
13. Temps d'incubation dans le détecteur polymère HiDef HRP Detection (minutes): 10
14. Rincer avec de l'eau désionisée
15. Répéter 3 fois : laver avec un tampon TBST (minutes): 5
16. Rincer avec de l'eau désionisée
17. Temps d'incubation de DAB (minutes): 5
18. Contre-colorer avec de l'hématoxyline
19. Déshydrater et recouvrir d'une lamelle

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (réf. cat. 962D-20)

1. Technique de récupération de l'épitope : HIER dans un autocuiseur. Température de l'autocuiseur (°C) : 110. Temps de traitement à l'autocuiseur (minutes) : 15. Récupération du réactif épitope : Trilogy
2. Rincer avec de l'eau désionisée
3. Rincer avec un tampon TBST
4. Temps d'incubation de anticorps (minutes): 30
5. Rincer avec de l'eau désionisée
6. Laver avec un tampon TBST (minutes): 5
7. Temps d'incubation dans l'amplificateur HiDef AP Detection (minutes): 10
8. Rincer avec de l'eau désionisée
9. Laver avec un tampon TBST (minutes): 5
10. Temps d'incubation dans le détecteur polymère HiDef AP Detection (minutes): 10
11. Rincer avec de l'eau désionisée
12. Laver avec un tampon TBST (minutes): 5
13. Rincer avec de l'eau désionisée
14. Temps d'incubation dans le réactif rouge permanent (minutes): 15
15. Contre-colorer avec de l'hématoxyline
16. 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 la série d'anticorps primaire en question:

Tissu de Contrôle Positif	
Tissu	Visualisation
Mélanome	Nucléaire

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 Inexpliquées

Les anomalies inexpliquées dans les contrôles doivent être signalées immédiatement au support technique 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.

Tissus 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

- La coloration rose de l'anticorps n'affecte en rien sa performance
- 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.
- Réservé à un usage en laboratoire.
- Pour utilisation en diagnostic *in vitro*.
- 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.
- Une contre-coloration incomplète ou excessive peut compromettre l'interprétation correcte des résultats.
- 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.
- 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.
- 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.
- Ce produit n'est pas conçu pour être utilisé en cytométrie en flux.
- 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. Contactez le support technique de Cell Marque et décrire toutes réactions inattendues documentées suspectées.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

17. 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	3	3	Matière grise, neurones + (nucléaire)
Cervelet	1	3	1/3 neurones – faibles (nucléaire)
Glande surrénale	1	3	1/3 du cortex – faible, focal (nucléaire)
Ovaire	1	3	1/1 follicule + (nucléaire), dans les cellules de la granulosa
Pancréas	0	3	
Parathyroïde	0	3	
Pituitaire	3	3	Adénohypophyse – faible (nucléaire), dans des cellules rares
Testicule	9	9	Cellules germinales + (nucléaires) ; 3/9 cellules de Leydig – faibles (nucléaires/membranaires)
Thyroïde	0	3	
Sein	2	3	2/3 canaux – faibles (cytoplasmiques), dans les cellules focales ou dispersées
Rate	0	3	
Amygdale	0	3	
Thymus	0	3	
Moelle osseuse	1	3	1/3 précurseurs érythroïdes – faibles (nucléaires)
Poumon	6	11	2/2 bronches, 6/6 bronchioles + (membraneuses), à la surface ciliée

Étude de Tissus Sains			
Tissu	Nbre colorés (+)	Nbre total	Remarques
Coeur	0	3	
Œsophage	0	3	
Estomac	0	3	
Intestin grêle	0	3	
Côlon	0	3	
Foie	0	3	
Glande salivaire	0	3	
Rein	0	3	
Prostate	0	3	
Utérus	1	3	1/3 épithélium endométrial + (nucléaire), stroma endométrial – faible (nucléaire)
Trompe de Fallope	4	6	4/6 épithélium + (membraneux), à la surface ciliée
Col de l'utérus	0	3	
Muscle squelettique	0	3	
Peau	4	12	Glande sébacée – 1/4 + (cytoplasmique/nucléaire), 3/4 + (cytoplasmique/membraneuse)
Nerf périphérique	0	3	
Mésothélium	0	3	

Étude de Tissus Pathologiques			
Tissu	Nbre colorés (+)	Nbre total	Remarques
Mélanome	24	26	
Mélanome desmoplastique	5	6	
Carcinome ductal in situ du sein	4	6	2/4 focale, 1/4 dans les cellules dispersées, 1/4 dans les cellules rares
Mélanome in situ	4	5	
Mélanome métastatique	4	6	
Carcinome canalaire invasif du sein	2	6	1/2 diffus, 1/2 focal
Adénocarcinome pulmonaire	1	6	Dans des cellules rares

Étude de Tissus Pathologiques			
Tissu	Nbre colorés (+)	Nbre total	Remarques
Naevus dysplasique	0	9	3/9 dans des cellules dispersées
Naevus	0	29	2/29 dans des cellules rares
Naevus de Spitz	0	3	

Pour les lésions mélanocytaires, la positivité est définie comme une coloration nucléaire diffuse des cellules lésionnelles, et la réactivité observée dans les cellules lésionnelles dispersées ou rares n'est pas considérée comme positive.

Dépannage

- 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.
- 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.
- 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.
- Si toute la paraffine n'a pas été éliminée, la procédure de déparaffinage doit être répétée.
- 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 des mesures correctives, reportez-vous à la section Mode d'emploi ou contactez le support technique de Cell Marque en envoyant un courrier à techsupport@cellmarque.com.

Bibliographie

- Wadelin, Frances et al. "Leucine-rich repeat protein PRAME: expression, potential functions and clinical implications for leukaemia." *Molecular cancer* vol. 9 226. 27 Aug. 2010, doi:10.1186/1476-4598-9-226
- Lezcano, Cecilia et al. "PRAME Expression in Melanocytic Tumors." *The American journal of surgical pathology* vol. 42,11 (2018): 1456-1465. doi:10.1097/PAS.0000000000001134
- Ikeda, H et al. "Characterization of an antigen that is recognized on a melanoma showing partial HLA loss by CTL expressing an NK inhibitory receptor." *Immunity* vol. 6,2 (1997): 199-208. doi:10.1016/s1074-7613(00)80426-4
- Lezcano, Cecilia et al. "Immunohistochemistry for PRAME in the Distinction of Nodal Nevi From Metastatic Melanoma." *The American journal of surgical pathology* vol. 44,4 (2020): 503-508. doi:10.1097/PAS.0000000000001393
- Zhang, Wa et al. "PRAME expression and promoter hypomethylation in epithelial ovarian cancer." *Oncotarget* vol. 7,29 (2016): 45352-45369. doi:10.18632/oncotarget.9977

- Gezgin, Gülçin et al. "PRAME as a Potential Target for Immunotherapy in Metastatic Uveal Melanoma." *JAMA ophthalmology* vol. 135,6 (2017): 541-549. doi:10.1001/jamaophthalmol.2017.0729
- Toyama, Aimi et al. "Analyses of molecular and histopathologic features and expression of PRAME by immunohistochemistry in mucosal melanomas." *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* vol. 32,12 (2019): 1727-1733. doi:10.1038/s41379-019-0335-4

Clauses de Non-Responsabilité

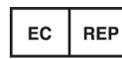
Cell Marque est le fabricant légal des anticorps pour diagnostic *in vitro* protégés par des marques déposées Cell Marque + RabMAB. Cell Marque utilise la technologie RabMAB d'Abcam PLC pour cette marque. La technologie d'anticorps monoclonal de lapin est brevetée et RabMAB est une marque déposée d'Abcam PLC.

*TWEEN est une marque déposée de Croda International PLC.

©2022 Sigma-Aldrich Co. LLC. Tous droits réservés. SIGMA-ALDRICH est une marque commerciale de Sigma-Aldrich Co. LLC, société enregistrée aux États-Unis et dans d'autres pays. Cell Marque, Trilogy, Declere et HiDef Detection sont des marques commerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC ou de ses filiales.

 www.cellmarque.com

 Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

 EMERGO EUROPE
Prinsessegracht 20, 2514 AP The Hague, The Netherlands



CM Template #2.4v1
Implementation date 25 Jan 2022