

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Catalog No: DS9665

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
+44 191 215 4242



[EN](#) [FR](#) [IT](#) [DE](#) [ES](#) [PT](#) [SV](#) [EL](#) [DA](#) [NL](#)
[NO](#) [TR](#) [BG](#) [HU](#) [RO](#) [RU](#) [PL](#) [SL](#) [CS](#) [SK](#) [AR](#)

Instructions for Use

Please read before using this product.

Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

Brugsanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

Instrucțiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

إرشادات الاستعمال

يُرجى القراءة قبل استخدام هذا المنتج.

Check the integrity of the packaging before use.

Vérifier que le conditionnement est en bon état avant l'emploi.

Prima dell'uso, controllare l'integrità della confezione.

Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo. Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning. Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.

تحقق من سلامة العبوة قبل الاستخدام.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Catalog No: DS9665

Intended Use

This detection system is for *in vitro* diagnostic use.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection is a biotin-free, polymeric horseradish peroxidase (HRP)-linker and polymeric alkaline phosphatase (AP)-linker antibody conjugate system for the detection of tissue-bound mouse and rabbit IgG primary antibodies. It is intended for staining sections of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue on the BOND automated system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system).

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies. Proper controls should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

The ChromoPlex 1 Dual Detection must be used with laboratory best practice in the use of tissue controls. For assurance, laboratories should stain each patient sample in conjunction with positive, negative and other tissue specific controls as needed.

Summary and Explanation

Immunohistochemical techniques can be used to demonstrate the presence of antigens in tissue and cells (see "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation).

ChromoPlex 1 Dual Detection utilizes a novel controlled polymerization technology to prepare polymeric HRP-linker and AP-linker antibody conjugates. The detection system avoids the use of streptavidin and biotin, and therefore eliminates non-specific staining as a result of endogenous biotin.

ChromoPlex 1 Dual Detection works as follows:

- The specimen is incubated with hydrogen peroxide to quench endogenous peroxidase activity.
- A user-supplied specific primary mouse and rabbit antibody cocktail is applied.
- Poly-HRP IgG reagent localizes mouse antibodies.
- Poly-AP IgG reagent localizes rabbit antibodies.
- The first substrate chromogen, 3,3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate (DAB), visualizes mouse antibodies via a brown precipitate.
- The second substrate chromogen (Fast Red) visualizes rabbit antibodies via a red precipitate.
- Hematoxylin (blue) counterstaining allows the visualization of cell nuclei.

Using ChromoPlex 1 Dual Detection in combination with the BOND automated system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system) reduces the possibility of human error and inherent variability resulting from individual reagent dilution, manual pipetting and reagent application.

Reagents Provided

The reagents provided are sufficient for 25 individual BOND staining runs, or a maximum of 50 slides.

To achieve a maximum of 50 slides from this detection system, slides must be batched in quantities of 2 or greater, per Slide Staining Assembly. Batching in quantities of less than 2 will result in fewer stained slides.

1. Peroxide Block (7.5 mL) 3-4% Hydrogen peroxide.
2. Polymer mHRP (7.5 mL) Poly-HRP anti-mouse containing 10% (v/v) animal serum in Tris-buffered saline and 0.09% ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7.5 mL) Poly-AP anti-rabbit containing 10% (v/v) animal serum in Tris-buffered saline and 0.09% ProClin 950.
4. DAB Part 1 (1 mL) 66 mM 3,3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate in a stabilizer solution.
5. DAB Part B (20 mL) ≤0.1% (v/v) Hydrogen peroxide in a stabilizer solution.
6. Red Part A (5.5 mL) Activator containing 0.5% ProClin 950.
7. Red Part B (1.0 mL) Substrate.
8. Red Part C (1.0 mL) Substrate.
9. Red Part D (35 mL) Buffer solution containing 0.5% ProClin 950.
10. Hematoxylin DS9665 (7.5 mL) <0.1% Hematoxylin.

Dilution and Mixing

ChromoPlex 1 Dual Detection is optimized for use on the BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system).

Reconstitution, mixing, dilution, or titration of these reagents is not required.

Materials Required But Not Provided

Mounting media compatible with ChromoPlex 1 Dual Detection (see **Precautions**).

Refer to "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation for a complete list of materials required for specimen treatment and immunohistochemical staining using the BOND system.

Storage and Stability

Store at 2–8 °C. Do not freeze. Do not use after the expiration date indicated on the tray handle label. Return to 2–8 °C immediately after use.

There are no obvious signs to indicate instability of this product; therefore positive and negative controls should be run simultaneously with unknown specimens (refer to "Quality Control" in the "Using BOND Reagents" section of your BOND user documentation).

If unexpected staining is observed that cannot be explained by variations in laboratory procedures, and a problem with the detection system is suspected, contact your local distributor or the regional office of Leica Biosystems immediately.

Storage conditions other than those specified above must be verified by the user¹.

Precautions

- WARNING - some mounting media may cause the red chromogen to crystallize or fade.
- DO NOT USE DPX, Entellan[®], Leica CV Mount, Eukitt[®] quick-hardening mounting medium, Surgipath MM 24[®], Surgipath Sub-X[®] and Pertex mounting media as they are not suitable for use with this product.
- Fading or crystallization has not been observed with: Leica CV Ultra Mounting Media (Cat 14070937891), Poly-Mount[®] (Polysciences Inc. Cat 08381), VectaMount[™] (Vector Laboratories Cat H-5000) and Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences Cat 17987-01).
- The compatibility of other mounting media should be fully validated by the user prior to use. Failure to do so may result in a reduction of staining due to fading or crystallization.

DAB Part 1

Contains Ethylene Glycol (>90%) and 66 mM (<10%) 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate.

GHS07: Exclamation mark.

GHS08: Health hazard.

Signal words: Danger.

H302: Harmful if swallowed.
H341: Suspected of causing genetic defects.

H350: May cause cancer.

P201: Obtain special instructions before use.

P202: Do not handle until all safety precautions have been read and understood.

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P264: Wash hands thoroughly after handling.

P270: Do not eat, drink or smoke when using this product.

P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor if you feel unwell.

P330: Rinse mouth.

P308+313: IF exposed or concerned: Get medical advice/attention.

Red Part C

Contains 1.0 M (<10%) Hydrochloric Acid.

GHS05: Corrosion.

Signal words: Warning.

H290: May be corrosive to metals.

P234: Keep only in original container.

P390: Absorb spillage to prevent material damage.

- The activator and substrate solutions may cause irritation to the skin, eyes, mucous membranes and upper respiratory tract. Wear disposable nitrile gloves when handling reagents. Dispose of according to local regulations.
- To obtain a copy of the Material Safety Data Sheet contact your local distributor or regional office of Leica Biosystems. Alternatively, visit the Leica Biosystems' Web site, www.LeicaBiosystems.com
- Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them, should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions². Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents or specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.
- Consult Federal, State or local regulations for disposal of any potentially toxic components.
- Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.
- Incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. Any such change must be validated by the user¹.
- Do not mix reagents from different detection systems.

Instructions for Use

The ChromoPlex 1 Dual Detection has been developed for use on the BOND automated system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system) using *IHC Protocol K - 50 Test. Operating parameters for application of the detection system reagents on the BOND Processing Module have been optimized by Leica Biosystems. These can be displayed by following the instructions in your BOND user documentation.

Use rapid alcohol/xylene dehydration.

After completing or aborting *IHC Protocol K - 50 Test, there is a delay of approximately 15 minutes before the BOND system will start another run on the same Slide Staining Assembly.

Product Specific Limitations

ChromoPlex 1 Dual Detection has been optimized at Leica Biosystems for use with BOND ancillary reagents. Laboratories may use their own primary antibody cocktails provided they have been diluted to an appropriate concentration with BOND Primary Antibody Diluent (Catalog No. AR9352). Users who deviate from recommended test procedures must accept responsibility for interpretation of patient results under these circumstances.

The appropriate concentration of user's own primary antibodies may vary due to variation in tissue fixation and the effectiveness of antigen enhancement, and must be determined empirically. Negative reagent controls should be used when optimizing retrieval conditions and primary antibody concentrations.

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies and proper controls. They should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Some mounting media are not compatible with ChromoPlex 1 Dual Detection (see **Precautions**).

Contact your local distributor or regional office of Leica Biosystems for further information.

Troubleshooting

Refer to reference 4 for remedial action.

Contact your local distributor or the regional office of Leica Biosystems to report unusual staining.

Further Information

Further information on immunostaining with BOND reagents, under the headings Principle of the Procedure, Materials Required, Specimen Preparation, Quality Control, Assay Verification, Interpretation of Staining, Key to Symbols on Labels and General Limitations can be found in "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation.

Bibliography

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 is a trademark of Supelco, a part of Sigma-Aldrich Corporation.

Date of Issue

24 September 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Référence: DS9665

Utilisation prévue

Le présent système de détection est destiné à une utilisation diagnostique *in vitro*.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection est un système sans biotine de conjugués d'anticorps et de polymères marqués à la peroxydase du raifort (HRP) et à la phosphatase alcaline (AP) pour la détection d'anticorps IgG primaires de souris et de lapin liés à des tissus. Il est prévu pour la coloration sur le système automatisé BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III), de coupes de tissus fixés au formol et inclus dans de la paraffine.

L'interprétation clinique de toute coloration, ou de son absence, doit être complétée par des études morphologiques. Des contrôles adéquats doivent être évalués par un pathologiste qualifié dans le contexte de l'anamnèse clinique du patient et d'autres tests diagnostiques.

Le ChromoPlex 1 Dual Detection doit être utilisé selon les meilleures pratiques de laboratoire dans les contrôles de tissus. À des fins d'assurance, les laboratoires doivent colorer chaque échantillon de patient conjointement à des contrôles positifs, négatifs et à d'autres contrôles spécifiques de tissus le cas échéant.

Résumé et explication

Les techniques immunohistochimiques peuvent être utilisées pour démontrer la présence d'antigènes dans des tissus et des cellules (cf. Utilisation des réactifs du BOND » dans la documentation de l'utilisateur du BOND).

Le ChromoPlex 1 Dual Detection utilise une nouvelle technologie de polymérisation contrôlée pour préparer des conjugués d'anticorps et de polymères marqués à la HRP et à la AP. Le système de détection évite l'utilisation de streptavidine et de biotine, et par conséquent élimine une coloration non spécifique provenant de biotine endogène.

Le ChromoPlex 1 Dual Detection fonctionne comme suit :

- L'échantillon est incubé avec du peroxyde d'hydrogène pour bloquer l'activité de la peroxydase endogène.
- Un cocktail d'anticorps primaires spécifiques de souris et de lapin fournis par l'utilisateur est appliqué.
- Le réactif IgG poly-HRP localise les anticorps de souris.
- Le réactif IgG poly-AP localise des anticorps de lapin.
- Le premier substrat chromogène, tétrahydrochlorure hydrate de 3,3'-diaminobenzidine (DAB), permet de visualiser les anticorps de souris sous forme d'un précipité marron.
- Le deuxième substrat chromogène, le rouge nucléaire rapide (Fast Red), permet de visualiser les anticorps de lapin sous forme d'un précipité rouge.
- Une contre-coloration à l'hématoxyline (bleu) permet la visualisation des noyaux cellulaires.

L'utilisation du ChromoPlex 1 Dual Detection combiné au système automatisé BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III), réduit la possibilité d'erreur humaine et de variabilité inhérente à la dilution des réactifs individuels, au pipetage manuel et à l'application du réactif.

Réactifs fournis

Les réactifs fournis sont suffisants pour 25 colorations individuelles BOND, soit un maximum de 50 lames.

Pour réaliser un maximum de 50 lames avec ce système de détection, celles-ci doivent être groupées par 2 ou plus, par ensemble de coloration de lames. Si la mise en lot se fait avec des quantités inférieures à 2, moins de lames seront colorées.

1. Peroxide Block (7.5 mL) 3 à 4 % de peroxyde d'hydrogène.
2. Polymer mHRP (7.5 mL) Poly-HRP anti-souris contenant (v/v) 10 % de sérum animal dans du sérum physiologique TBS et 0,09 % ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7.5 mL) Poly-AP anti-lapin contenant (v/v) 10 % de sérum animal dans du sérum physiologique TBS et 0,09 % ProClin 950.
4. DAB Part 1 (1 mL) 66 mM tétrahydrochlorure hydrate de 3,3'-diaminobenzidine dans une solution de stabilisateur.
5. DAB Part B (20 mL) $\leq 0,1$ % (v/v) peroxyde d'hydrogène dans une solution de stabilisateur.
6. Red Part A (5.5 mL) Activateur contenant 0,5 % ProClin 950.
7. Red Part B (1.0 mL) Substrat.
8. Red Part C (1.0 mL) Substrat.
9. Red Part D (35 mL) Solution tampon contenant 0,5 % ProClin 950.
10. Hématoxylin DS9665 (7.5 mL) < 0,1 % Hématoxyline.

Dilution et mélange

Le ChromoPlex 1 Dual Detection est optimisé pour l'utilisation avec le système BOND. (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

La reconstitution, le mélange, la dilution ou le titrage de ces réactifs n'est pas nécessaire.

Matériel nécessaire non fourni

Support de montage compatible avec le ChromoPlex 1 Dual Detection (cf. **Précautions**).

Se référer à « Utilisation des réactifs du BOND » dans la documentation de l'utilisateur du BOND pour une liste complète des matériels exigés pour le traitement et la coloration immunohistochimique d'échantillons utilisant le système BOND.

Conservation et stabilité

Entreposer à 2–8 °C. Ne pas congeler. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du manche du plateau.

Retourner immédiatement à 2–8 °C après utilisation.

Il n'y a pas de signe évident indicatif de l'instabilité de ce produit ; par conséquent des contrôles positifs et négatifs doivent être effectués simultanément avec les échantillons inconnus (cf. « Contrôle de la qualité » dans la section « Utilisation des réactifs du BOND » de la documentation de l'utilisateur du BOND).

Si on observe une coloration inattendue qui ne peut être expliquée par des variations de procédures de laboratoire, et si un problème avec le système de détection est suspecté, contactez immédiatement votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems.

Les conditions de stockage autres que celles spécifiées ci-dessus doivent être validées par l'utilisateur¹.

Précautions

- MISE EN GARDE - certains supports de montage peuvent causer une cristallisation ou décoloration du chromogène rouge.
- NE PAS UTILISER les supports de montage DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt® quick-hardening mounting medium, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® et Pertex car leur utilisation n'est pas adéquate avec ce produit.
- Une décoloration ou cristallisation n'a pas été observée avec : Leica CV Ultra Mounting Media (Réf. 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc. Réf. 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories Réf. H-5000) et Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences Réf. 17987-01).
- La compatibilité d'autres supports de montage doit être complètement validée par l'utilisateur avant utilisation. À défaut de le faire, une réduction de la coloration due à une décoloration ou à une cristallisation peut avoir lieu.

DAB Part 1

Contient Éthylene-Glycol (>90%) et 66 mM (<10%) 3,3' diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate.

GHS07: Point d'exclamation.

GHS08: Danger pour la santé.

Mentions d'avertissement: Danger.

H302: Nocif en cas d'ingestion.

H341: Susceptible d'induire des anomalies génétiques.

H350: Peut provoquer le cancer.

P201: Se procurer les instructions avant utilisation.

P202: Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.

P280: Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P264: Se laver les mains soigneusement après manipulation.

P270: Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit.

P301+312: EN CAS D'INGESTION: appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.

P330: Rincer la bouche.

P308+313: EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée: consulter un médecin.

Red Part C

Contient 1.0 M (<10%) Hydrochloric Acid.

GHS05: Corrosion.

Mention d'avertissement: Attention.

H290: Peut être corrosif pour les métaux.

P234: Conserver uniquement dans le récipient d'origine.

P390: Absorber toute substance répandue pour éviter qu'elle attaque les matériaux environnants.

- Les solutions d'activateur et de substrat peuvent causer l'irritation de la peau, des yeux, des muqueuses et des voies respiratoires supérieures. Mettre des gants jetables en nitrile lors de la manipulation des réactifs. Éliminer conformément aux règlements locaux.
- Pour obtenir une copie de la fiche technique sur la sécurité du matériel, contacter votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems. Sinon, visiter le site Web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Les échantillons, avant et après fixation, et tous les matériels qui leur sont exposés, doivent être manipulés comme s'ils étaient capables de transmettre une infection et éliminés en prenant les précautions adéquates³. Ne jamais pipeter de réactif à la bouche et éviter tout contact des réactifs ou des échantillons avec la peau et les muqueuses. Si les réactifs ou échantillons entrent en contact avec des régions sensibles, laver abondamment à l'eau. Demander un avis médical.
- Consulter les règlements fédéraux, d'État ou locaux pour éliminer les composants potentiellement toxiques.
- Minimiser la contamination microbienne des réactifs sinon une augmentation de coloration non-spécifique peut se produire.
- Les durées ou températures d'incubation autres que celles spécifiées peuvent donner lieu à des résultats erronés. Tout changement de la sorte doit être validé par l'utilisateur¹.
- Ne pas mélanger les réactifs de différents systèmes de détection.

Mode d'emploi

Le ChromoPlex 1 Dual Detection a été développé pour l'utilisation avec le système automatisé BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III), qui exploite le *IHC Protocol K - 50 Test. Les paramètres d'utilisation pour l'application des réactifs du système de détection sur le Module de Traitement BOND ont été optimisés par Leica Biosystems. Ceux-ci peuvent être affichés en suivant les instructions contenues dans la documentation de l'utilisateur du BOND.

Utiliser une déshydratation rapide à l'alcool/xylène.

Après avoir terminé ou avorté *IHC Protocol K - 50 Test, il y a un délai d'environ 15 minutes avant que le système BOND ne recommence un nouveau cycle sur le même ensemble de coloration de lames.

Limites spécifiques du produit

ChromoPlex 1 Dual Detection a été optimisé chez Leica Biosystems pour une utilisation avec les réactifs auxiliaires du BOND. Les laboratoires peuvent utiliser leurs propres cocktails d'anticorps primaires à condition qu'ils aient été dilués à une concentration appropriée avec le BOND Primary Antibody Diluent (N° Catalogue AR9352). Les utilisateurs qui dévient des procédures d'analyse recommandées doivent accepter la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients dans de telles circonstances.

La concentration appropriée des anticorps primaires propres à l'utilisateur peut varier suite à des variations de fixation des tissus et à l'efficacité de l'augmentation de l'immunogénicité de l'antigène, et doit être déterminée empiriquement. Des contrôles négatifs de réactif doivent être utilisés lors de l'optimisation des conditions de recouvrement et des concentrations d'anticorps primaires.

L'interprétation clinique de toute coloration ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques et des contrôles adéquats. Ceux-ci doivent être évalués par un pathologiste qualifié dans le contexte de l'anamnèse clinique du patient et d'autres analyses diagnostiques.

Certains supports de montage ne sont pas compatibles avec ChromoPlex 1 Dual Detection (cf. **Précautions**).

Contactez votre distributeur local ou bureau régional Leica Biosystems pour des renseignements supplémentaires.

Résolution des problèmes

Consulter la référence 4 pour des mesures correctives.

Contactez votre distributeur local ou le bureau régional Leica Biosystems pour signaler une coloration inhabituelle.

Informations complémentaires

Pour plus de renseignements sur l'immunocoloration avec les réactifs du BOND, sous les entêtes Principe de la procédure, Matériels requis, Préparation des échantillons, Contrôle de la qualité, Vérification des dosages, Interprétation de la coloration, Clé des symboles sur les étiquettes et Limitations générales, consulter « Utilisation des Réactifs BOND » dans la documentation de l'utilisateur du BOND.

Bibliographie

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
 3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
- ProClin 950 est une marque commerciale de Supelco, membre du groupe Sigma-Aldrich Corporation.

Date de publication

24 septembre 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

N. catalogo: DS9665

Uso previsto

Questo sistema di rilevazione è inteso per un uso diagnostico *in vitro*.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection è un sistema di anticorpi coniugati alla perossidasi di rafano polimerica (HRP)-linker ed alla fosfatasi alcalina polimerica (AP)-linker, senza biotina, per la rilevazione di anticorpi primari IgG di topo e di coniglio legati a tessuto. È previsto per la colorazione di sezioni fissate in formalina, o di tessuto incluso in paraffina con il sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III).

L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione o della sua assenza devono essere integrate da studi morfologici. Controlli appropriati devono essere valutati da un patologo qualificato nel contesto della storia clinica del paziente e di altri test diagnostici.

Il sistema ChromoPlex 1 Dual Detection deve essere usato con le metodiche della buona pratica di laboratorio relative all'uso di controlli di tessuto. Per sicurezza, i laboratori devono colorare i campioni di ciascun paziente insieme a controlli positivi e negativi ed altri controlli specifici del tessuto, come ritenuto necessario.

Sommario e spiegazione

Le tecniche immunostochimiche possono essere usate per dimostrare la presenza di antigeni in tessuti e cellule (vedere "Utilizzo dei reagenti BOND" nella documentazione di BOND per l'utilizzatore).

ChromoPlex 1 Dual Detection utilizza una nuova tecnologia di polimerizzazione controllata per preparare gli anticorpi coniugati polimerici HRP-linker e AP-linker. Il sistema di rilevazione evita l'uso di streptavidina e biotina, eliminando quindi colorazioni non specifiche che risultano dalla biotina endogena.

ChromoPlex 1 Dual Detection funziona nel modo seguente:

- Il campione viene incubato con perossido di idrogeno per attenuare l'attività della perossidasi endogena.
 - Viene applicato un cocktail di anticorpi primari anti-topo e anti-coniglio fornito dall'utilizzatore.
 - Il reagente Poly-HRP IgG localizza gli anticorpi anti-topo.
 - Il reagente Poly-AP IgG localizza gli anticorpi anti-coniglio.
 - Il primo substrato cromogeno, il 3,3'-Diaminobenzidina tetraidrocloreuro idrato (DAB), visualizza gli anticorpi anti-topo per mezzo di un precipitato marrone.
 - Il secondo substrato cromogeno (Fast Red), visualizza gli anticorpi anti-coniglio mediante un precipitato rosso.
 - La colorazione di contrasto con ematossilina (blu) permette di visualizzare il nucleo delle cellule.
- L'utilizzo di ChromoPlex 1 Dual Detection in combinazione con il sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III), riduce la possibilità di errore umano e la variabilità intrinseca risultante dalla diluizione individuale del reagente, dalla pipettatura manuale e dall'applicazione del reagente.

Reagenti forniti

I reagenti forniti sono sufficienti per 25 corse individuali di colorazione con BOND o per un massimo di 50 vetrini.

Per ottenere un massimo di 50 vetrini da questo sistema di rilevazione, i vetrini devono essere raggruppati in gruppi di 2 o superiori, nell'assemblaggio di colorazione dei vetrini. Il raggruppamento in quantità inferiori a 2 porterà alla colorazione di un numero inferiore di vetrini.

1. Peroxide Block (7.5 mL) 3-4% perossido di idrogeno.
2. Polymer mHRP (7.5 mL) anti-topo Poly-HRP contenente il 10% (v/v) di siero animale in soluzione salina tamponata con Tris e 0,09% ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7.5 mL) anti-coniglio Poly-AP contenente il 10% (v/v) di siero animale in soluzione salina tamponata con Tris e 0,09% ProClin 950.
4. DAB Part 1 (1 mL) 66 mM 3,3'-Diaminobenzidina tetraidrocloreuro idrato in una soluzione stabilizzante.
5. DAB Part B (20 mL) $\leq 0,1\%$ (v/v) perossido di idrogeno in una soluzione stabilizzante.
6. Red Part A (5,5 mL) Catalizzatore contenente 0,5% ProClin 950.
7. Red Part B (1,0 mL) Substrato.
8. Red Part C (1,0 mL) Substrato.
9. Red Part D (35 mL) Soluzione tampone contenente 0,5% ProClin 950.
10. Hematoxylin DS9665 (7.5 mL) $< 0,1\%$ Ematossilina.

Diluizione e miscelazione

ChromoPlex 1 Dual Detection è ottimizzato per l'utilizzo con il sistema BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III).

La ricostituzione, la miscelazione, la diluizione o la titolazione di questi reagenti non è richiesta.

Materiali richiesti ma non forniti

Mezzi di supporto compatibili con il ChromoPlex 1 Dual Detection (vedere **Precauzioni**).

Fare riferimento a "Utilizzo dei reagenti BOND" nella documentazione di BOND per l'utilizzatore per un elenco completo di materiali richiesti per il trattamento del campione e della colorazione immunostochimica con il sistema BOND.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C. Non congelare. Non usare dopo la data di scadenza indicata nell'etichetta dell'impugnatura del vassoio. Riporre a 2-8 °C immediatamente dopo l'uso.

Non vi sono ovvi segni che indicano l'instabilità di questo prodotto; pertanto, contemporaneamente ai campioni non noti, devono essere corsi i controlli positivi e negativi (fare riferimento al "Controllo di qualità" nel paragrafo "Utilizzo dei reagenti BOND" della documentazione di BOND per l'utilizzatore).

Qualora si osservi una colorazione inaspettata che non possa essere spiegata da variazioni delle procedure di laboratorio, e si sospetta un problema con il sistema di rilevazione, contattare immediatamente il distributore locale o l'ufficio regionale di Leica Biosystems.

Le condizioni di conservazione, oltre a quelle sopra specificate, devono essere verificate dall'utilizzatore¹.

Precauzioni

- AVVERTENZE - alcuni mezzi di supporto possono provocare la cristallizzazione o lo scolorimento del cromogeno rosso.
- NON USARE mezzi di supporto quali DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt® quick-hardening mounting medium, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® e Pertex poiché non sono adatti ad essere utilizzati con questo prodotto.
- Lo scolorimento e la cristallizzazione non sono stati osservati con: Leica CV Ultra Mounting Media (Cat 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc. Cat 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories Cat H-5000) e Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences Cat 17987-01).
- La compatibilità di altri mezzi di supporto deve essere convalidata in modo completo dall'utilizzatore prima dell'uso. Non fare questo può portare ad una riduzione della colorazione a causa di scolorimento o cristallizzazione.

DAB Part 1

Contiene Glicol Etilenico (>90%) e 66 mM (<10%) 3,3'-diaminobenzidina tetrahydrochloride hydrate.
GHS07: Punto esclamativo.
GHS08: Pericolo per la salute.
Avvertenze: Pericolo.

H302: Nocivo se ingerito.
H341: Sospettato di provocare alterazioni genetiche.
H350: Può provocare il cancro.

P201: Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
P202: Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.
P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/Proteggere il viso.
P264: Lavare accuratamente mani dopo l'uso.
P270: Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso.
P301+312: IN CASO DI INGESTIONE accompagnata da malessere: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico.
P330: Sciacquare la bocca.
P308+313: IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.

Red Part C

Contiene 1.0 M (<10%) Hydrochloric Acid.
GHS05: Corrosione.
Avvertenza: Attenzione.

H290: Può essere corrosivo per i metalli.

P234: Conservare soltanto nel contenitore originale.
P390: Assorbire la fuoriuscita per evitare danni materiali.

- L'attivatore e le soluzioni substrato possono provocare irritazione cutanea, agli occhi, alle membrane mucose ed alle vie respiratorie superiori. Indossare guanti usa e getta di nitrile durante la manipolazione dei reagenti. Smaltire in accordo con le direttive locali.
- Per ottenere una copia delle schede sulla sicurezza dei materiali contattare il distributore locale o l'ufficio regionale di Leica Biosystems. Alternativamente, visitare il web site di Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- I campioni, prima e dopo il fissaggio, e tutti i materiali esposti ad essi, devono essere maneggiati come se fossero infettivi e smaltiti con le precauzioni appropriate³. Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto della pelle e delle membrane mucose con i reagenti o i campioni. Se i reagenti o i campioni vengono in contatto con aree sensibili, lavare con abbondante quantità di acqua. Chiedere assistenza medica.
- Consultare i regolamenti Statali, Regionali o locali per lo smaltimento dei componenti potenzialmente tossici.
- Minimizzare la contaminazione microbica dei reagenti per evitare un potenziale aumento della colorazione non specifica.
- Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati possono portare a risultati errati. Ciascuno di tali cambiamenti deve essere convalidato dall'utilizzatore¹.
- Non miscelare i reagenti di altri sistemi di rilevazione.

Istruzioni per l'uso

Il ChromoPlex 1 Dual Detection è stato sviluppato per essere utilizzato sul sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III) con il *IHC Protocol K - 50 Test. I parametri operativi per l'applicazione dei reagenti del sistema di rilevazione sul modulo di elaborazione di BOND sono stati ottimizzati da Leica Biosystems. Questi possono essere mostrati seguendo le istruzioni nella documentazione per l'utilizzatore di BOND.

Utilizzo di disidratazione rapida in alcol/xilene.

Dopo aver completato o abortito l'*IHC Protocol K - 50 Test c'è un ritardo di circa 15 minuti prima che il sistema BOND inizi una ulteriore corsa sullo stesso assemblaggio di colorazione dei vetrini.

Limitazioni specifiche del prodotto

ChromoPlex 1 Dual Detection è stato ottimizzato da Leica Biosystems per essere usato con i reagenti ausiliari del sistema BOND. I laboratori possono usare i loro cocktail di anticorpi primari, a condizione che siano stati diluiti alle concentrazioni appropriate con BOND Primary Antibody Diluent (numero di catalogo AR9352). Gli utilizzatori che non effettuano le procedure di controllo raccomandate devono accettare la responsabilità per l'interpretazione dei risultati del paziente in queste circostanze.

La concentrazione appropriata dell'anticorpo primario dell'utilizzatore può variare a causa di variazioni nel fissaggio del tessuto e l'aumento dell'efficacia dell'antigene e deve essere determinata sperimentalmente. Devono essere usati controlli negativi del reagente per ottimizzare le condizioni di recupero e le concentrazioni degli anticorpi primari.

L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione o la sua assenza devono essere integrate da studi morfologici e da controlli appropriati. Questi devono essere valutati da un patologo qualificato nel contesto della storia clinica del paziente e di altri test diagnostici.

Alcuni mezzi di supporto non sono compatibili con il ChromoPlex 1 Dual Detection(vedere **Precauzioni**).

Contattare il rivenditore locale o l'ufficio regionale di Leica Biosystems per ulteriori informazioni.

Soluzione problemi

Fare riferimento alla voce bibliografica 4 per procedure riparatrici.

Contattare il rivenditore locale o l'ufficio regionale di Leica Biosystems per riportare colorazioni anomale.

Altre informazioni

Altre informazioni sull'immuno-colorazione con i reagenti BOND, nei paragrafi Principio della procedura, Materiali richiesti, Preparazione dei campioni, Controllo di qualità, Verifica del dosaggio, Interpretazione della colorazione, Chiave ai simboli sulle etichette e Limitazioni generali possono essere trovate in "Utilizzo dei reagenti BOND" nella documentazione di BOND per l'utilizzatore.

Bibliografia

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
 3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
- ProClin 950 è un marchio di fabbrica di Supelco, società del gruppo Sigma-Aldrich.

Data di pubblicazione

24 settembre 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Bestellnr.: DS9665

Verwendungszweck

Dieses Nachweissystem ist für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection ist ein biotinfreies, Polymer-Meerrettichperoxidase-(HRP)-Linker sowie Polymer-Alkaliphosphatase-(AP)-Linker enthaltendes Antikörperkonjugatensystem zum Nachweis der gewebegebundenen Primärantikörper Maus-IgG und Kaninchen-IgG. Es dient der Färbung von Bereichen von formalinfixiertem, in Paraffin eingebetteten Gewebe auf dem automatisierten BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System)

Die klinische Auswertung einer Färbung bzw. das Nichtvorhandensein einer Färbung sollte von morphologischen Untersuchungen begleitet werden. Geeignete Kontrollen sollten unter Berücksichtigung der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests durch einen qualifizierten Pathologen durchgeführt werden.

Beim Umgang mit Gewebeproben muss ChromoPlex 1 Dual Detection gemäß den Grundsätzen der Guten Laborpraxis eingesetzt werden. Zur Sicherheit sollten Laboratorien jede Patientenprobe je nach Bedarf in Verbindung mit positiven, negativen und anderen gewebespezifischen Kontrollen färben.

Zusammenfassung und Erläuterung

Immunhistochemische Verfahren dienen dem Nachweis von Antigenen in Geweben und Zellen (siehe „Verwendung der BOND-Reagenzien“ in Ihrer BOND-Benutzerdokumentation).

Bei ChromoPlex 1 Dual Detection kommt eine neuartige Technologie zur kontrollierten Polymerisation zum Einsatz, um polymeren HRP-Linker und AP-Linker enthaltende Antikörperkonjugate herzustellen. Das Detektionssystem funktioniert ohne die Verwendung von Streptavidin und Biotin und eliminiert dadurch eine nichtspezifische Färbung durch endogenes Biotin.

ChromoPlex 1 Dual Detection funktioniert wie folgt:

- Die Probe wird mit Wasserstoffperoxid behandelt, um endogene Peroxidase-Aktivität zu löschen.
- Ein vom Benutzer bereitgestellter Cocktail aus spezifischen Maus- und Kaninchen-Primärantikörpern wird aufgetragen.
- Das Poly-HRP IgG-Reagenz lokalisiert Maus-Antikörper.
- Das Poly-AP IgG-Reagenz lokalisiert Kaninchen-Antikörper.
- Das erste Substratchromogen 3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid Hydrat (DAB) macht Maus-Antikörper durch einen braunen Niederschlag sichtbar.
- Das zweite Substratchromogen (Fast Red) macht Kaninchen-Antikörper durch einen roten Niederschlag sichtbar.
- Hämatoxylin (blau)-Gegenfärbung ermöglicht das Sichtbarmachen von Zellkernen.

Die Verwendung von ChromoPlex 1 Dual Detection in Verbindung mit dem automatisierten BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) verringert die Möglichkeit menschlicher Fehler und die inhärente Variabilität, die sich aus Verdünnungen des Reagenzes, manuellem Pipettieren und Reagenzauftragung ergeben.

Mitgelieferte Reagenzien

Die mitgelieferten Reagenzien reichen für 25 einzelne BOND-Färbungen oder maximal 50 Objektträger.

Um die Höchstzahl von 50 Objektträgern mit diesem Detektionssystem zu erreichen, müssen Objektträger in Mengen von 2 oder höher gemäß der Objektträgerfärbungsanordnung zusammengefasst werden. Werden weniger als 2 Objektträger zusammengefasst, wird eine geringere Anzahl gefärbter Objektträger erhalten.

1. Peroxide Block (7.5 mL) 3-4 % Wasserstoffperoxid.
2. Polymer mHRP (7.5 mL) Anti-Maus-Poly-HRP mit 10 % (Vol./Vol.) tierischem Serum in Tris-gepufferter Kochsalzlösung und 0,09 % ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7.5 mL) Anti-Kaninchen-Poly-AP mit 10 % (Vol./Vol.) tierischem Serum in Tris-gepufferter Kochsalzlösung und 0,09 % ProClin 950.
4. DAB Part 1 (1 mL) 66 mM 3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid Hydrat in einer Stabilisatorlösung.
5. DAB Part B (20 mL) ≤0,1 % (Vol./Vol.) Wasserstoffperoxid in einer Stabilisatorlösung.
6. Red Part A (5.5 mL) Aktivator mit 0,5 % ProClin 950.
7. Red Part B (1.0 mL) Substrat.
8. Red Part C (1.0 mL) Substrat.
9. Red Part D (35 mL) Pufferlösung mit 0,5 % ProClin 950.
10. Hämatoxylin DS9665 (7.5 mL) <0,1 % Hämatoxylin.

Verdünnung und Mischung

ChromoPlex 1 Dual Detection wurde für den Einsatz auf dem BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) optimiert.

Rekonstitution, Vermischung, Verdünnung oder Titration dieser Reagenzien ist nicht erforderlich.

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Mit ChromoPlex 1 Dual Detection kompatibles Einbettmittel (siehe **Vorsichtsmaßnahmen**).

Eine vollständige Liste der Materialien, die für die Behandlung von Proben und die immunhistochemische Färbung mit dem BOND-System erforderlich sind, befindet sich im Abschnitt „Verwendung der BOND-Reagenzien“ in Ihrer BOND-Benutzerdokumentation.

Lagerung und Stabilität

Bei 2-8 °C aufbewahren. Nicht einfrieren. Nur bis zu dem auf dem Griffetikett angegebenen Verfallsdatum verwenden. Sofort nach Gebrauch wieder bei 2-8 °C lagern.

Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen, die auf eine Instabilität dieses Produktes hinweisen könnten; daher sollten positive und negative Kontrollen gleichzeitig mit unbekanntem Proben durchgeführt werden (siehe „Qualitätskontrolle“ im Abschnitt „Verwendung der BOND-Reagenzien“ in Ihrer BOND-Benutzerdokumentation).

Sollte eine unerwartete Färbung auftreten, die sich nicht mit experimentellen Schwankungen erklären lässt, und die Vermutung nahe liegt, dass es sich um ein Problem mit dem Nachweissystem handelt, kontaktieren Sie bitte sofort Ihren Vertriebshändler vor Ort oder die regionale Niederlassung von Leica Biosystems.

Aufbewahrungsbedingungen, die nicht den oben angegebenen entsprechen, sind vom Anwender¹ zu prüfen.

Vorsichtsmaßnahmen

- **WARNHINWEIS:** Einige Einbettmittel können bewirken, dass das rote Chromogen kristallisiert oder verblasst.
- **VEWENDEN SIE FOLGENDE EINBETTMITTEL NICHT:** DPX, Entellan[®], Leica CV Mount, Eukitt[®] quick-hardening mounting medium, Surgipath MM 24[®], Surgipath Sub-X[®] und Pertex. Sie sind für die Verwendung mit diesem Produkt nicht geeignet.
- Verblasen oder Kristallisieren wurde in Verbindung mit folgenden Produkten nicht beobachtet: Leica CV Ultra Mounting Media (Kat.-Nr. 14070937891), Poly-Mount[®] (Polysciences Inc. Kat.-Nr. 08381), VectaMount[™] (Vector Laboratories Kat.-Nr. H-5000) und Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences Kat.-Nr. 17987-01).
- Die Kompatibilität anderer Einbettmittel sollte vor dem Gebrauch in vollem Umfang durch den Anwender überprüft werden. Andernfalls kann eine Reduzierung der Färbung durch Verblasen oder Kristallisieren eintreten.

DAB Part 1

Enthält Ethandiol (>90%)
und 66 mM (<10%)
3,3' diaminobenzidine
tetrahydrochloride
hydrate.

GHS07: Ausrufezeichen.

GHS08:

Gesundheitsgefahr.

Signalwörter: Gefahr.

H302: Gesundheitsschädlich bei
Verschlucken.
H341: Kann vermutlich genetische
Defekte verursachen.
H350: Kann Krebs erzeugen.

P201: Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.

P202: Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.

P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/
Gesichtsschutz tragen.

P264: Nach Gebrauch Hände gründlich waschen.

P270: Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen.

P301+312: BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein

GIFTINFORMATIONSCENTRUM oder Arzt anrufen.

P330: Mund ausspülen.

P308+313: BEI Exposition oder falls betroffen.

Red Part C

Enthält 1.0 M (<10%)

Hydrochloric Acid.

GHS05: Ätzwirkung.

Signalwort: Achtung.

H290: Kann gegenüber Metallen
korrosiv sein.

P234: Nur im Originalbehälter aufbewahren.

P390: Verschüttete Mengen aufnehmen, um Materialschäden zu vermeiden.

- Die Aktivator- und Substratlösungen können Reizungen der Haut, Augen, Schleimhäute sowie der oberen Atemwege verursachen. Tragen Sie beim Umgang mit Reagenzien Einweghandschuhe aus Nitril. Die Entsorgung sollte gemäß den örtlichen Bestimmungen erfolgen.
- Kopien des Sicherheitsdatenblatts sind von Ihrem Vertriebshändler vor Ort oder der regionalen Niederlassung von Leica Biosystems erhältlich bzw. über die Website von Leica Biosystems unter www.LeicaBiosystems.com abrufbar.
- Proben vor und nach der Fixierung und alle Materialien, die mit ihnen in Kontakt kommen, sind als potenziell infektiös zu betrachten und unter Beachtung der entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen zu entsorgen³. Sie sollten die Reagenzien niemals mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Haut und Schleimhäuten mit den Reagenzien oder Proben vermeiden. Bei Kontakt von Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen sollten Sie sie mit viel Wasser abwaschen und einen Arzt hinzuziehen.
- Bei der Entsorgung potenziell toxischer Komponenten sollten staatliche, bundesstaatliche und örtliche Vorschriften beachtet werden.
- Sie sollten eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden, da sonst ein Anstieg der nichtspezifischen Färbung auftreten kann.
- Inkubationszeiten und Temperaturen, die nicht den oben angegebenen entsprechen, können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Derartige Änderungen sind vom Anwender zu prüfen¹.
- Es sollten keine Reagenzien verschiedener Nachweissysteme gemischt werden.

Gebrauchsanleitung

ChromoPlex 1 Dual Detection wurde für den Einsatz im automatisierten BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) unter Verwendung des *IHC Protocol K - 50 Test entwickelt. Die Betriebsparameter für den Einsatz der Reagenzien mit dem BOND-Verarbeitungsmodul wurden von Leica Biosystems optimiert. Diese können durch Befolgen der Anweisungen in der BOND-Benutzerdokumentation angezeigt werden.

Verwenden Sie eine schnelle Alkohol /Xylo/Dehydratisierung.

Nach Abschluss oder Abbruch des *IHC Protocol K - 50 Test kommt es zu einer Verzögerung von ca. 15 Minuten, bevor das BOND-System einen weiteren Lauf auf derselben Objektträgerfärbungsanordnung startet.

Produktspezifische Einschränkungen

ChromoPlex 1 Dual Detection wurde von Leica Biosystems für den Einsatz mit BOND-Sekundärreagenzien optimiert. Labore können ihre eigenen Primäranantikörper-Cocktails einsetzen, sofern sie mit BOND Primary Antibody Diluent (Kat.-Nr. AR9352) auf eine geeignete Konzentration verdünnt wurden. Anwender, die vom empfohlenen Testverfahren abweichen, müssen die Verantwortung für die Auswertung der Patientendaten unter diesen Bedingungen übernehmen.

Die geeignete Konzentration der Primärantikörper des Anwenders kann je nach Gewebefixierung und Wirksamkeit der Antigenverstärkung unterschiedlich sein und muss empirisch ermittelt werden. Negative Reagenzkontrollen sollten bei der Optimierung der Retrieval-Bedingungen und der Konzentrationen der Primärantikörper eingesetzt werden.

Die klinische Auswertung einer Färbung bzw. das Nichtvorhandensein einer Färbung sollte von morphologischen Untersuchungen begleitet werden. Geeignete Kontrollen sollten unter Berücksichtigung der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests durch einen qualifizierten Pathologen durchgeführt werden.

Einige Einbettmittel sind mit ChromoPlex 1 Dual Detection nicht kompatibel (siehe **Vorsichtsmaßnahmen**).

Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem Vertriebshändler vor Ort oder von der regionalen Niederlassung von Leica Biosystems.

Fehlersuche

Siehe Referenz 4 für Maßnahmen zur Fehlerbehebung.

Wenden Sie sich bitte an Ihren Vertriebshändler vor Ort oder die regionale Niederlassung von Leica Biosystems, wenn Sie ein ungewöhnliches Färbeverhalten feststellen.

Weitere Informationen

Weitere Informationen zur Immunfärbung mit BOND-Reagenzien finden Sie im Abschnitt „Verwendung der BOND-Reagenzien“ in Ihrer BOND- Benutzerdokumentation unter folgenden Überschriften: Verfahrensprinzip, Erforderliche Materialien, Probenvorbereitung, Qualitätskontrolle, Assayverifizierung, Interpretation der Färbeergebnisse, Schlüssel für die Symbole auf den Etiketten sowie Allgemeine Einschränkungen.

Bibliografie

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
 3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
- ProClin 950 ist eine Marke von Supelco, einem Unternehmen der Sigma-Aldrich Corporation.

Ausgabedatum

24 September 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Catálogo N°.: DS9665

Uso previsto

Este sistema de detección es para uso diagnóstico *in vitro*.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection es un sistema sin biotina de anticuerpos conjugados que se fijan a la peroxidasa de rábano picante (HRP) polimérica y a la fosfatasa alcalina (AP) para la detección de anticuerpos primarios de IgG de conejo y ratón unidos a tejidos. Se utiliza para la tinción de secciones de tejido incluido en parafina y fijado con formol en el sistema automático BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III).

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia deberá complementarse con estudios morfológicos. Se deben realizar controles adecuados cuyos resultados deberá evaluar un patólogo cualificado en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

El ChromoPlex 1 Dual Detection debe utilizarse conforme a unas prácticas de laboratorio adecuadas en relación al uso de controles de tejidos. Para la verificación, los laboratorios deben teñir cada muestra de paciente junto con los controles positivo y negativo, además de otros controles de tejidos específicos, según sea necesario.

Resumen y explicación

Las técnicas inmunohistoquímicas pueden utilizarse para detectar la presencia de antígenos en tejidos y células (véase "Uso de Reactivos BOND" en la documentación del usuario de BOND).

ChromoPlex 1 Dual Detection utiliza una tecnología novedosa de polimerización controlada para preparar anticuerpos conjugados que se fijan a la AP y HRP polimérica. El sistema de detección evita el uso de estreptavidina y biotina, eliminando de esta forma la tinción no específica producida por la biotina endógena.

Este es el funcionamiento de ChromoPlex 1 Dual Detection:

- Se incuba la muestra con peróxido de hidrógeno para anular la actividad de la peroxidasa endógena.
- Se aplica un cóctel de anticuerpos primarios específicos de ratón y conejo suministrado por el usuario.
- El reactivo Poli-HRP IgG localiza anticuerpos de ratón.
- El reactivo Poli-AP IgG localiza anticuerpos de conejo.
- Con el primer sustrato cromógeno 3,3'-tetraclorhidrato hidrato de diaminobendicina o (DAB) se visualizan los anticuerpos de ratón a través de un precipitado marrón.
- Con el segundo sustrato cromógeno (Fast Red), se visualizan los anticuerpos de conejo a través de un precipitado rojo.
- La contratinción con hematoxilina (azul) permite la visualización de los núcleos celulares.

El uso combinado de ChromoPlex 1 Dual Detection con el sistema automático BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III), reduce la posibilidad de aparición de errores humanos y la variabilidad inherente derivada de la dilución del reactivo por separado, el pipeteo manual y la aplicación del reactivo.

Reactivos suministrados

Los reactivos suministrados son suficientes para 25 series de tinción BOND individuales, o un máximo de 50 portaobjetos.

Para conseguir un máximo de 50 portaobjetos a partir de este sistema de detección, estos se deben separar en grupos de 2 como mínimo, por cada unidad de tinción de portaobjetos.

La separación en grupos inferiores a 2 dará lugar a menos portaobjetos teñidos.

1. Peroxide Block (7.5 mL) peróxido de hidrógeno al 3-4 %.
2. Polymer mHRP (7.5 mL) Poly-HRP antirratón que contiene suero animal al 10 % (v/v) en solución salina amortiguada con tris y ProClin™ 950 al 0,09 %.
3. Polymer rAP (7.5 mL) Poly-AP anticonejo que contiene suero animal al 10 % (v/v) en solución salina amortiguada con tris y ProClin 950 al 0,09 %.
4. DAB Part 1 (1 mL) 3,3'-tetraclorhidrato hidrato de diaminobendicina 66 mM en solución estabilizante.
5. DAB Part B (20 mL) peróxido de hidrógeno $\leq 0,1$ % (v/v) en solución estabilizante.
6. Red Part A (5.5 mL) activador con ProClin 950 al 0,5 %.
7. Red Part B (1.0 mL) sustrato.
8. Red Part C (1.0 mL) sustrato.
9. Red Part D (35 mL) solución amortiguada con ProClin 950 al 0,5 %.
10. Hematoxylin DS9665 (7.5 mL) hematoxilina $<0,1$ %.

Dilución y mezcla

ChromoPlex 1 Dual Detection está optimizado para su empleo con el sistema BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III).

No es necesaria la reconstitución, mezcla, dilución o titulación de estos reactivos.

Material necesario pero no suministrado

Medios de montaje compatibles con ChromoPlex 1 Dual Detection (véase el apartado "Precauciones").

Consulte al apartado "Utilización de reactivos BOND" de su documentación del usuario facilitada por BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de las muestras y la tinción inmunohistoquímica cuando se utiliza el sistema BOND.

Conservación y estabilidad

Conservar a 2-8 °C. No congelar. No utilizar después de la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta de la bandeja. Volver a conservar a 2-8 °C inmediatamente después de su uso.

No existen signos claros que indiquen inestabilidad en este producto. Por lo tanto, deberán efectuarse controles positivos y negativos simultáneamente con muestras desconocidas (véase el apartado "Control de calidad" en la sección "Uso de reactivos BOND" de la documentación del usuario facilitada por BOND).

Si observa una tinción inesperada, que no puede explicarse por variaciones en los procedimientos del laboratorio, o sospecha de la existencia de un problema en el sistema de detección, póngase en contacto inmediatamente con su distribuidor local o con la sede regional de Leica Biosystems.

El usuario¹ deberá comprobar cualquier condición de almacenamiento diferente de las especificadas anteriormente.

Precauciones

- **ADVERTENCIA:** algunos medios de montaje pueden provocar que el cromógeno rojo cristalice o se desvanezca.
- **NO UTILICE** los medios de montaje DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt® quick-hardening mounting medium, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® y Pertex, ya que su empleo con este producto no es adecuado.
- No se ha observado desvanecimiento o cristalización con: Leica CV Ultra Mounting Media (Cat 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc. Cat 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories Cat H-5000) y Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences Cat 17987-01).
- El usuario debe comprobar fehacientemente la compatibilidad de otros medios de montaje antes de su utilización. De lo contrario, se puede producir una reducción en la tinción a causa del desvanecimiento o la cristalización.

DAB Part 1

Contiene Etanodiol (>90%) y 66 mM (<10%) 3,3' diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate.

GHS07: Signo de exclamación.

GHS08: Peligro para la salud.

Palabras de advertencia: Peligro.

H302: Nocivo en caso de ingestión.
H341: Se sospecha que provoca defectos genéticos.
H350: Puede provocar cáncer.

P201: Pedir instrucciones especiales antes del uso.

P202: No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.

P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P264: Lavarse manos concienzudamente tras la manipulación.

P270: No comer, beber ni fumar durante su utilización.

P301+312: EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico si se encuentra mal.

P330: Enjuagarse la boca.

P308+313: EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico.

Red Part C

Contiene 1.0 M (<10%) Hydrochloric Acid.
GHS05: Corrosión.
Palabras de advertencia: Atención.

H290: Puede ser corrosivo para los metales.

P234: Conservar únicamente en el recipiente original.

P390: Absorber el vertido para que no dañe otros materiales.

- Las soluciones activadoras y de sustrato pueden producir irritación en la piel, ojos, mucosas y vías respiratorias superiores. Utilice siempre guantes desechables de nitrilo cuando manipule reactivos. Para la eliminación, siga la normativa local.
- Si desea obtener una copia de la Hoja de datos de seguridad de materiales, póngase en contacto con su distribuidor local o sede regional de Leica Biosystems, o visite la página web de Leica Biosystems en www.LeicaBiosystems.com
- Las muestras, antes y después de ser fijadas, y cualquier material en contacto con ellas, deben tratarse como sustancias capaces de transmitir infecciones y deben eliminarse tomando las precauciones correspondientes². No pipeteo nunca los reactivos con la boca y evite el contacto de la piel y las mucosas con reactivos o muestras. Si los reactivos o muestras entran en contacto con zonas sensibles, lávelas enseguida con agua abundante y consulte a un médico.
- Consulte la normativa nacional, regional o local referente a la eliminación de sustancias potencialmente tóxicas.
- Procure reducir la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esta puede producir un aumento de las tinciones no específicas.
- El uso de tiempos de incubación o temperaturas diferentes de los indicados pueden producir resultados erróneos. El usuario deberá validar cualquier cambio que realice¹.
- No mezcle reactivos de sistemas de detección diferentes.

Instrucciones de uso

El ChromoPlex 1 Dual Detection se ha desarrollado para su uso en el sistema automático BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III) utilizando el "IHC Protocol K - 50 Test. Leica Biosystems ha optimizado los parámetros de funcionamiento para el uso de los reactivos del sistema de detección en el Módulo de procesamiento BOND. Si desea consultar estos parámetros, siga las instrucciones de la documentación del usuario facilitada por BOND.

Utilice una deshidratación rápida con alcohol/xileno.

Tras finalizar o abandonar el "IHC Protocol K - 50 Test hay un lapso de 15 minutos aproximadamente antes de que el sistema BOND comience otra serie de la misma unidad de tinción de portaobjetos.

Limitaciones específicas del producto

Leica Biosystems ha optimizado ChromoPlex 1 Dual Detection para utilizarse con los reactivos auxiliares BOND. Cada laboratorio deberá utilizar sus propios cócteles de anticuerpos primarios una vez diluidos a la concentración apropiada con BOND Primary Antibody Diluent (N.º de catálogo AR9352). Los usuarios que no respeten los procedimientos de análisis recomendados deben asumir su responsabilidad al interpretar los resultados del paciente bajo dichas circunstancias.

La concentración adecuada de anticuerpos primarios del propio usuario puede diferir debido a variaciones en la fijación del tejido y a la eficacia en la preservación del antígeno, y deberá determinarse de forma empírica. Se deben utilizar controles negativos de reactivos a la hora de mejorar las condiciones de recuperación y las concentraciones de anticuerpos primarios.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia deberá complementarse con estudios morfológicos. Se deben realizar controles adecuados cuyos resultados deberá evaluar un patólogo cualificado en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Algunos medios de montaje no son compatibles con ChromoPlex 1 Dual Detection (véase el apartado "**Precauciones**").

Si desea obtener más información, póngase en contacto con su distribuidor local o sede regional de Leica Biosystems.

Resolución de problemas

Consulte la referencia 4 para conocer las acciones correctivas.

Si el resultado de la tinción no es el esperado, póngase en contacto con su distribuidor local o sede regional de Leica Biosystems.

Más información

Para obtener más información sobre inmunotinciones con reactivos BOND, consulte los apartados Principio del procedimiento, Materiales necesarios, Preparación de las muestras, Control de calidad, Verificación del análisis, Interpretación de la tinción, Leyenda de símbolos en las etiquetas y Limitaciones generales de la sección "Utilización de reactivos BOND" de su documentación del usuario facilitada por BOND.

Bibliografía

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 es una marca comercial de Supelco, parte de Sigma-Aldrich Corporation.

Fecha de publicación

24 de septiembre de 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Nº de catálogo: DS9665

Utilização Prevista

Este sistema de detecção destina-se a utilização diagnóstica *in vitro*.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection é um sistema conjugado de anticorpos ligante sem biotina, de peroxidase polimérica de rábano (HRP) e de anticorpos ligantes de fosfatase alcalina polimérica (AP) para a detecção de anticorpos primários IgG de ratinho e coelho ligados a tecidos. Destina-se à coloração de secções de tecido fixado com formalina, embebido em parafina no sistema automático BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deverá ser complementada por estudos morfológicos. Devem ser avaliados os controlos adequados no contexto do histórico clínico do paciente e outros testes de diagnóstico por um patologista qualificado.

O ChromoPlex 1 Dual Detection deve ser utilizado no âmbito das melhores práticas laboratoriais de utilização de controlos de tecido. Por segurança, os laboratórios deverão colorir cada amostra de paciente em conjunto com controlos positivos, negativos e outros específicos do tecido, conforme necessário.

Resumo e Explicação

Podem ser utilizadas técnicas imunohistoquímicas para demonstrar a presença de antígenos em tecidos e células (consulte "Utilização de reagentes BOND", na sua documentação de utilizador BOND).

O ChromoPlex 1 Dual Detection utiliza uma nova tecnologia de polimerização controlada para preparar o conjugado ligante HRP polimérico e ligante de anticorpo AP. O sistema de detecção evita a utilização de estreptavidina e biotina e elimina assim a coloração não específica resultante de biotina endógena.

O ChromoPlex 1 Dual Detection funciona da seguinte forma:

- A amostra é incubada com peróxido de hidrogénio para eliminar a actividade das peroxidases endógenas.
- É aplicado um cocktail de anticorpos primários específicos de ratinho e coelho.
- O reagente Poli-HRP IgG localiza os anticorpos de ratinho.
- O reagente Poli-AP IgG localiza os anticorpos de coelho.
- O primeiro substrato cromogénico, tetrahydrocloroeto hidrato de 3,3' diaminobenzidina (DAB) visualiza os anticorpos de ratinho através da formação de um precipitado castanho.
- O segundo substrato cromogénico (Fast Red), visualiza os anticorpos de coelho através da formação de um precipitado vermelho.
- A contracoloração com hematoxilina (azul) permite a visualização dos núcleos celulares.

Utilizando o ChromoPlex 1 Dual Detection em combinação com o sistema automático BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III), reduz-se a possibilidade de erro humano e a inerente variabilidade resultante da diluição de reagentes individuais, pipetagem manual e aplicação de reagentes.

Reagentes Fornecidos

Os reagentes fornecidos são suficientes para 25 testes de coloração individual BOND ou para um máximo de 50 lâminas.

Para conseguir um máximo de 50 lâminas neste sistema de detecção, as lâminas devem ser agrupadas em quantidades de 2 ou mais, por Conjuntos de Coloração de Lâminas. O agrupamento em quantidades inferiores a 2 resultará em menos lâminas coloridas.

1. Peroxide Block (7.5 mL) 3-4% Peróxido de hidrogénio.
2. Polymer mHRP (7.5 mL) Poly-HRP anti-ratinho contendo 10% (v/v) de soro animal em solução Tris-salina tamponada e 0,09% ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7.5 mL) Poly-AP anti-coelho contendo 10% (v/v) soro animal em solução Tris-salina tamponada e 0,09% ProClin 950.
4. DAB Part 1 (1 mL) 66 mM Tetrahydrocloroeto hidrato de 3,3'-diaminobenzidina em solução estabilizante.
5. DAB Part B (20 mL) ≤0,1% (v/v) Peróxido de hidrogénio em solução estabilizante.
6. Red Part A (5.5 mL) Activador contendo 0,5% ProClin 950.
7. Red Part B (1.0 mL) Substrato.
8. Red Part C (1.0 mL) Substrato.
9. Red Part D (35 mL) Solução tamponada contendo 0,5% ProClin 950.
10. Hematoxylin DS9665 (7.5 mL) <0,1% Hematoxilina.

Diluição e Mistura

O ChromoPlex 1 Dual Detection está optimizado para utilização no sistema BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

A reconstituição, mistura, diluição ou titulação destes reagentes não é necessária.

Materiais Necessários Mas Não Fornecidos

Meios de montagem compatíveis com o ChromoPlex 1 Dual Detection (consultar as **Precauções**).

Consulte a secção "Utilização de reagentes BOND" na sua documentação de utilizador BOND para uma lista completa dos materiais necessários para tratamento de amostras e coloração imunohistoquímica, utilizando o sistema BOND.

Armazenamento e Estabilidade

Armazenar entre 2 e 8 °C. Não congelar. Não utilizar depois da data de caducidade indicada na etiqueta da pega do tabuleiro. Voltar a armazenar entre 2 e 8 °C imediatamente após a utilização.

Não existem sinais evidentes que identifiquem a instabilidade deste produto. Desta forma, os controlos positivos e negativos devem ser realizados simultaneamente com amostras desconhecidas (consulte "Controlo de qualidade", na secção "Utilização de reagentes BOND" na sua documentação de utilizador BOND).

Se for observada uma coloração inesperada inexplicável através das variações dos procedimentos laboratoriais e se suspeitar de um problema no sistema de detecção, contacte imediatamente o seu distribuidor local ou a filial da Leica Biosystems.

As condições de armazenamento que não as acima referidas devem ser verificadas pelo utilizador¹.

Precauções

- AVISO - alguns meios de montagem poderão levar a que o cromogéneo vermelho cristalize ou se desvaneça.
- NÃO UTILIZAR os meios de montagem DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt® quick-hardening mounting medium, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® e Pertex já que estes não são adequados para utilização com este produto.
- O desvanecimento ou cristalização não foi observado com: Leica CV Ultra Mounting Media (Cat 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc. Cat 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories Cat H-5000) e Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences Cat 17987-01).
- A compatibilidade de outros meios de montagem deve ser totalmente validada pelo utilizador antes da utilização. A não observância deste procedimento poderá resultar em redução da coloração por desvanecimento ou cristalização.

DAB Part 1

Contém Etandiol (>90%) e 66 mM (<10%) 3,3' diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate.
GHS07: Ponto de exclamação.
GHS08: Perigo para a saúde.
Palavras-sinal: Perigo.

H302: Nocivo por ingestão.
H341: Suspeito de provocar anomalias genéticas.
H350: Pode provocar cancro.

P201: Pedir instruções específicas antes da utilização.
P202: Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.
P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
P264: Lavar mãos cuidadosamente após manuseamento.
P270: Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto.
P301+312: EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
P330: Enxaguar a boca.
P308+313: EM CASO DE EXPOSIÇÃO ou suspeita de exposição: consulte um médico.

Red Part C

Contém 1.0 M (<10%) Hydrochloric Acid.
GHS05: Corrosão.
Palavras-sinal: Atenção.

H290: Pode ser corrosivo para os metais.

P234: Conservar unicamente no recipiente de origem.
P390: Absorver o produto derramado a fim de evitar danos materiais.

- As soluções ativadoras e de substrato podem provocar irritação na pele, olhos e membranas mucosas e tracto respiratório superior. Use luvas de nitrilo descartáveis quando manuseia reagentes. Elimine de acordo com a legislação local.
- Para obter uma cópia da Ficha de Informação de Segurança do Material, contacte o seu distribuidor local ou a filial da Leica Biosystems. Em alternativa, visite o website da Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- As amostras, antes e depois da sua fixação e todos os materiais a elas expostos, devem ser manuseados com sendo capazes de transmissão de infeções e eliminados com as devidas precauções. Nunca pipetar reagentes pela boca e evitar o contacto com a pele e membranas mucosas com reagentes ou amostras. Se os reagentes ou amostras estiverem em contacto com áreas sensíveis, lavar com bastante quantidade de água. Procurar conselho médico.
- Consultar a legislação federal, estatal ou local para eliminação de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.
- Poderá ocorrer uma diminuição da contaminação microbiana de reagentes ou um aumento de coloração não específica.
- Os tempos ou temperaturas de incubação que não aqueles definidos poderão provocar resultados errados. Qualquer alteração deverá ser validada pelo utilizador¹.
- Não misturar reagentes de diferentes sistemas de detecção.

Instruções de Utilização

O ChromoPlex 1 Dual Detection foi desenvolvido para utilização no sistema automático BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III), utilizando o *IHC Protocol K - 50 Test. Os parâmetros de funcionamento para aplicação dos reagentes do sistema de detecção no Módulo de processamento BOND foram otimizados pela Leica Biosystems. Estes podem ser apresentados seguindo as instruções na sua documentação de utilizador BOND.

Utilizar a desidratação rápida álcool/xileno.

Depois de completar ou abortar o *IHC Protocol K - 50 Test existe um intervalo de, aproximadamente, 15 minutos antes do sistema BOND iniciar outra verificação no Conjunto de coloração de lâminas.

Limitações Específicas do Produto

O ChromoPlex 1 Dual Detection está otimizado pela Leica Biosystems para utilização com reagentes auxiliares BOND. Os laboratórios poderão utilizar os seus próprios cocktails de anticorpos principais, desde que estes tenham sido diluídos até à concentração adequada com o BOND Primary Antibody Diluent (Catalog nº AR9352). Os utilizadores que se afastem dos procedimentos de teste recomendados devem aceitar a responsabilidade pela interpretação de resultados de pacientes nestas circunstâncias.

A concentração adequada dos anticorpos primários do próprio utilizador poderá variar devido à variação na fixação em tecidos e à eficácia de melhoria de antígenos, e deve ser determinada empiricamente. Os reagentes de controlo negativo devem ser utilizados em condições de busca de optimização e de concentrações de anticorpos primárias.

A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deverá ser complementada por estudos morfológicos e controlos adequados. Devem ser avaliados dentro do contexto do histórico clínico do paciente e outros testes de diagnóstico por um patologista qualificado.

Alguns meios de montagem não são compatíveis com o ChromoPlex 1 Dual Detection (consultar **Precauções**).

Contacte o seu distribuidor local ou filial da Leica Biosystems para mais informação.

Resolução de Problemas

Consulte a referência 4 para soluções.

Contacte o seu distribuidor local ou filial da Leica Biosystems para comunicar uma coloração não usual.

Informações Adicionais

Encontrará mais informação sobre imunocoloração com reagentes BOND, no capítulo Princípios do Procedimentos, Materiais Necessários, Preparação de Amostras, Controlo de Qualidade, Verificação de Testes, Interpretação de Coloração, Chave de Símbolos de Etiquetas e Limitações Gerais na secção "Utilização de reagentes BOND" na sua documentação de utilizador BOND.

Bibliografia

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 é uma marca comercial de Supelco, parte da Sigma-Aldrich Corporation.

Data de Emissão

24 de Setembro de 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Artikelnummer: DS9665

Avsedd användning

Detta detektionssystem är endast avsett för *in vitro* diagnostiskt bruk.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection är ett biotinfritt antikropps-konjugat med polymera pepparrotsperoxidasa-"linker" (HRP) och polymer alkalisk fosfatas-"linker" (AP) för detektion av vävnadsbundna primära IgG- antikroppar från mus och kanin. Systemet är avsett för infärgning av områden med formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad på det automatiserade systemet BOND (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III).

Klinisk tolkning av infärgning eller avsaknad av infärgning ska kompletteras med morfologiska studier. Lämpliga kontroller ska bedömas mot bakgrund av patientens anamnes och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog.

ChromoPlex 1 Dual Detection måste användas med god laboratoriesed vid utförande av vävnadskontroller. För kontroll ska labbet utföra infärgning av alla patientprover tillsammans med positiva, negativa och andra vävnadsspecifika kontroller enligt behov.

Sammanfattning och förklaring

Immunohistokemiska tekniker kan användas för att påvisa förekomst av antigener i vävnad och celler.

Vävnad och celler (se "Använda BOND reagenser" i BOND användarhandbok).

ChromoPlex 1 Dual Detection använder sig av en ny kontrollerad polymeriseringsteknik för beredning av antikropps-konjugat med polymera HRP-linker och AP-linker. Detektionssystemet använder inte streptavidin eller biotin och undviker därmed icke-specifik infärgning av endogent biotin.

ChromoPlex 1 Dual Detection fungerar enligt följande:

- Provet inkuberas med väteperoxid för att kväva endogen peroxidasaaktivitet.
- En cocktail med specifika primära mus- och kaninantikroppar tillsätts. Dessa antikroppar tillhandahålls av användaren.
- Poly-HRP-IgG-reagenset binder till musantikroppar.
- Poly-AP-IgG-reagenset binder till kaninantikroppar.
- Det första substratkromogenet, 3,3'-Diaminobenzidin tetrahydroklorid hydrat (DAB) gör musantikropparna synliga genom ett brunt precipitat.
- Det andra substratkromogenet (Fast Red), gör kaninantikropparna synliga genom ett rött precipitat.
- Genom motfärgning med hematoxylin (blå) kan cellkärnan synliggöras.

Användning av ChromoPlex 1 Dual Detection tillsammans med det automatiserade systemet BOND (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III) minskar risken för mänskliga fel och ingående variation på grund av individuell reagensspädning och manuell pipettering och tillsats av reagenser.

Reagenser förutsatt

De medföljande reagenserna räcker till 25 separata BOND-infärgningar eller upp till 50 objektglas.

För att uppnå infärgning av det maximala antalet objektglas (100 st) i detta detektionssystem, ska glaset köras i satser på 2 eller fler per infärgningsenhet. Körningar med satser med färre än 2 objektglas i en sats kommer att ge färre infärgade objektglas.

1. Peroxide Block (7.5 mL) 3-4% väteperoxid.
2. Polymer mHRP (7.5 mL) poly-HRP anti-mus med 10 % viktprocent animaliskt serum i Tris-buffrad saltlösning och 0,09 % ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7.5 mL) poly-AP anti-kanin med 10 % viktprocent animaliskt serum i Tris-buffrad saltlösning och 0,09 % ProClin 950.
4. DAB Part 1 (1 mL) 66 mM 3,3'-Diaminobenzidin tetrahydroklorid hydrat i en stabiliserande lösning.
5. DAB Part B (20 mL) ≤ 0,1 % viktprocent väteperoxid i en stabiliserande lösning.
6. Red Part A (5.5 mL) aktiator med 0,5 % ProClin 950.
7. Red Part B (1.0 mL) substrat.
8. Red Part C (1.0 mL) substrat.
9. Red Part D (35 mL) buffertlösning med 0,5 % ProClin 950.
10. Hematoxylin DS9665 (7.5 mL) < 0,1 % Hematoxylin.

Spädning och blandning

ChromoPlex 1 Dual Detection är optimerat för att användas med BOND-systemet (som innefattar systemen

Leica BOND-MAX och Leica BOND-III).

Reagenserna behöver inte rekonstitueras, blandas, spädas eller titreras.

Nödvändiga material som inte medföljer

Monteringsmedium som är kompatibelt med ChromoPlex 1 Dual Detection (se **Säkerhetsföreskrifter**).

Se "Använda BOND reagenser" i BOND användarhandbok för en fullständig lista över material som behövs för behandling av prover och immunohistokemisk infärgning med BOND-systemet.

Förvaring och stabilitet

Lagras vid 2–8 °C. Får ej frysas. Använd ej efter utgångsdatum som finns angivet på brickans handtag. Sätt tillbaka i 2–8 °C direkt efter användning.

Det finns inga tydliga tecken som påvisar instabilitet hos denna produkt. Därför ska positiva och negativa kontroller köras tillsammans med okända prover (se "Kvalitetskontroll" i "Använda BOND reagenser" i BOND användarhandbok).

Om oväntad infärgning inträffar som inte kan förklaras av variationer i laboratorierutiner och du misstänker att det är fel på detektionssystemet ska du kontakta din lokala återförsäljare eller Leica Biosystems-representant så snart som möjligt.

Lagringsförhållanden utöver de som anges ovan ska verifieras av användaren¹.

Säkerhetsföreskrifter

- VARNING – vissa monteringsmedier kan göra att det röda kromogenet kristalliserar eller bleks.
- ANVÄND EJ DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt® quick-hardening mounting medium, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® eller Pertex monteringsmedier eftersom dessa inte är lämpliga för användning med denna produkt.
- Blekning eller kristallisering har inte kunnat påvisas med: Leica CV Ultra Mounting Media (Cat 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc. Cat 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories Cat H-5000) och Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences Cat 17987-01).
- Kompatibilitet hos andra monteringsmedier ska bekräftas av användaren innan systemet används. Underlåtelse att bekräfta kompatibiliteten kan leda till sämre infärgning på grund av blekning eller kristallisering.

DAB Part 1

Innehåller 1,2-Etandiol (>90%) och 66 mM (<10%) 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate.
GHS07: Utropstecken.
GHS08: Hälsöfara.
Signalord: Fara.

H302: Skadligt vid förtäring.
H341: Misstänks kunna orsaka genetiska defekter.
H350: Kan orsaka cancer.

P201: Inhämta särskilda instruktioner före användning.
P202: Använd inte produkten innan du har läst och förstått säkerhetsanvisningarna
P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ög skydd/ansiktsskydd.
P264: Tvätta händerna grundligt efter användning.
P270: Åt inte, drick inte och rök inte när du använder produkten.
P301+312: VID FÖRTÄRING: Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare om du mår dåligt.
P330: Skölj munnen.
P308+313: Vid exponering eller misstanke om exponering Sök läkarhjälp.

Red Part C

Innehåller 1.0 M (<10%) Hydrochloric Acid.
GHS05: Frätande.
Signalord: Varning.

H290: Kan vara korrosivt för metaller.

P234: Förvaras endast i originalbehållaren.
P390: Sug upp spill för att undvika materiella skador.

- Aktivator och substrat kan irritera hud, ögon, slemhinnor och övre luftvägar. Använd engångshandskar av gummi vid hantering av reagenser. Kassera enligt lokala lagar och bestämmelser.
- För att erhålla ett säkerhetsdatablad, kontakta din lokala återförsäljare eller lokala Leica Biosystems-representant. Du kan även besöka Leica Biosystems hemsida på www.LeicaBiosystems.com
- Prover, innan och efter fixering, samt alla material som exponeras för proverna ska hanteras som smittsamma och kasseras enligt lokala bestämmelser³. Pipettera aldrig reagenser med munnen och undvik kontakt med hud och slemhinnor med reagenser och prover. Om reagenser eller prover kommer i kontakt med känsliga områden ska du tvätta dessa med stora mängder vatten. Kontakta läkare.
- Följ lokala och nationella lagar och bestämmelser vid kassering av potentiellt giftiga komponenter.
- Minimera mikrobiell kontamination av reagenserna för att minska icke-specifik infärgning.
- Inkubationstider och temperaturer utöver de som anges här kan ge felaktiga resultat. Alla sådana ändringar ska valideras av användaren¹.
- Blanda inte reagenser från olika detektionssystem.

Bruksanvisning

ChromoPlex 1 Dual Detection är avsett för användning på BOND (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III), automatiserade system med *IHC Protocol K - 50 Test. Driftparametrar för tillsats av detektionssystemets reagenser till BOND processmodul har optimerats av Leica Biosystems. Dessa parametrar finns i BOND användarhandbok.

Snabbtorka med alkohol/xylen.

Efter ett genomfört eller avbrutet *IHC Protocol K - 50 Test uppstår en paus på ca 15 minuter innan BOND-systemet startar ytterligare en körning med samma infärgningsenhet.

Produktspecifika begränsningar

ChromoPlex 1 Dual Detection är utvecklat för användning med BOND reagenser. Ett labb kan använda sin egen cocktail med primära antikroppar om dessa späds till lämplig koncentration med BOND Primary Antibody Diluent (Katalognummer AR9352). Användare som inte följer det rekommenderade testförfarandet är själva ansvariga för tolkning av testresultaten under dessa förhållanden.

Lämplig koncentration av användarens egna primära antikroppar kan variera på grund av variationer i vävnadsfixering och effektivitet av antigenförstärkning och ska bedömas empiriskt. Negativa reagenskontroller ska användas vid optimering av testförhållanden och koncentration av primära antikroppar.

Klinisk tolkning av infärgning eller avsaknad av infärgning ska kompletteras med morfologiska studier och lämpliga kontroller. De ska utvärderas mot bakgrund av patientens anamnes och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog.

Vissa monteringsmedier är inte kompatibla med ChromoPlex 1 Dual Detection (se **Säkerhetsföreskrifter**)

Kontakta din lokala återförsäljare eller Leica Biosystems-representant för mer information.

Felsökning

Se referens 4 för felåtgärder

Kontakta din lokala återförsäljare eller Leica Biosystems-representant om systemet uppvisar onormal infärgning.

Mer information

Mer information om immunfärgning med BOND reagenser finns under avsnitten Procedurens principer, Material som behövs, Provberedning, Kvalitetskontroll, Verifiering av analys, Tolkning av infärgningsresultat, Förklaring av symboler på etiketter samt Allmänna begränsningar i "Använda BOND reagenser" i BOND användarhandbok.

Litteraturförteckning

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 är ett varumärke för Supelco som ingår i Sigma-Aldrich Corporation.

Utgivningsdatum

24 september 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Αρ. καταλόγου: DS9665

Προβλεπόμενη χρήση

Το παρόν σύστημα ανίχνευσης προορίζεται για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Το ChromoPlex™ 1 Dual Detection είναι ένα συζευγμένο σύστημα αντισωμάτων πολυμερικού συνδετικού υπεροξειδάσης αγριοραπτανίου (HRP) και πολυμερικού συνδετικού αλκαλικής φωσφατάσης (AP), χωρίς βιοτίνη, για την ανίχνευση των συνδεδεμένων στον ιστό, κύριων αντισωμάτων IgG σε ποντίκια και κουνέλια. Προορίζεται για τις περιοχές χρώσης ιστού μονιμοποιημένου με φορμόλη και ενσωματωμένου με παραφίνη στο αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

Η κλινική ερμηνεία τυχόν χρώσης ή απουσίας της πρέπει να συνδυαστεί με μορφολογικές εξετάσεις. Οι κατάλληλοι οροί ελέγχου πρέπει να αξιολογηθούν στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολόγο.

Το ChromoPlex 1 Dual Detection πρέπει να χρησιμοποιηθεί με τη βέλτιστη εργαστηριακή πρακτική για τη χρήση των ορών ελέγχου ιστού. Για λόγους διασφάλισης, τα εργαστήρια πρέπει να χρωματίσουν κάθε δείγμα του ασθενούς σε συνδυασμό με θετικούς, αρνητικούς και άλλους ειδικούς ορούς ελέγχου ιστού, όπως απαιτείται.

Περιλήψη και Επεξήγηση

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανοσοϊστοχημικές τεχνικές για την ένδειξη της παρουσίας αντιγόνων σε ιστό και κύτταρα (ανατρέξτε στην ενότητα «Χρήση αντιδραστηρίων BOND» της τεκμηρίωσης χρήστη BOND).

Το ChromoPlex 1 Dual Detection χρησιμοποιεί μια πρωτότυπη τεχνολογία ελεγχόμενου πολυμερισμού για τη σύνθεση συζευγμένων αντισωμάτων πολυμερικού συνδετικού HRP και συνδετικού AP. Το σύστημα ανίχνευσης αποφεύγει τη χρήση στρεπταβιδίνης και βιοτίνης και, επομένως, εξαλείφει τη μη ειδική χρώση που οφείλεται σε ενδογενή βιοτίνη.

Το ChromoPlex 1 Dual Detection λειτουργεί ως εξής:

- Το δείγμα επωάζεται με υπεροξειδίο του υδρογόνου για διακοπή της δραστηριότητας της ενδογενούς υπεροξειδάσης.
- Εφαρμόζεται ένα ειδικό κοκτέιλ κύριων αντισωμάτων ποντικού και κουνελίου που παρέχεται από τον χρήστη.
- Το αντιδραστήριο Poly-HRP IgG εντοπίζει τα αντισώματα ποντικού.
- Το αντιδραστήριο Poly-AP IgG εντοπίζει τα αντισώματα κουνελίου.
- Το πρώτο χρωμογόνο του υποστρώματος, 3,3'-διαμινοβενζιδινο-τετραϋδροχλωρίδιο ένυδρο (DAB), οπτικοποιεί τα αντισώματα του ποντικού δημιουργώντας ένα καστανό ίζημα.
- Το δεύτερο χρωμογόνο του υποστρώματος, (Fast Red), οπτικοποιεί τα αντισώματα του κουνελίου δημιουργώντας ένα ερυθρό ίζημα.
- Η αντίχρωση αιματοξυλίνης (μπλε) επιτρέπει την οπτικοποίηση των πυρήνων των κυττάρων.

Χρησιμοποιώντας το ChromoPlex 1 Dual Detection σε συνδυασμό με το αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III), μειώνεται το ενδεχόμενο ανθρώπινου λάθους και εγγενούς μεταβλητότητας που προκαλείται από τη μεμονωμένη αραίωση αντιδραστηρίων, τη χειροκίνητη λήψη με πιπέτα και την εφαρμογή αντιδραστηρίων.

Αντιδραστήρια που Παρέχονται

Τα αντιδραστήρια που παρέχονται επαρκούν για 25 ξεχωριστές εξετάσεις χρώσης BOND ή έως και 50 πλάκες.

Για την επίτευξη έως και 50 πλακών από αυτό το σύστημα ανίχνευσης, οι πλάκες πρέπει να τοποθετηθούν σε παρτίδες των 2 ή περισσότερων τεμαχίων, σύμφωνα με τη διάταξη χρώσης πλακών. Η χρήση παρτίδων με λιγότερες από 2 πλάκες θα έχει ως αποτέλεσμα τη χρώση λιγότερων πλακών.

1. Peroxide Block (7.5 mL) 3-4% Υπεροξειδίο του υδρογόνου.
2. Polymer mHRP (7.5 mL) Αντίσωμα ποντικού Poly-HRP που περιέχει 10% (κ.ό.) ζωικό ορό σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris και 0,09% ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7.5 mL) Αντίσωμα κουνελίου Poly-AP που περιέχει 10% (κ.ό.) ζωικό ορό σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris και 0,09% ProClin 950.
4. DAB Part 1 (1 mL) 66 mM 3,3'-διαμινοβενζιδινο-τετραϋδροχλωρίδιο ένυδρο σε σταθεροποιητικό διάλυμα.
5. DAB Part B (20 mL) ≤0,1% (κ.ό.) Υπεροξειδίο του υδρογόνου σε σταθεροποιητικό διάλυμα.
6. Red Part A (5.5 mL) Ενεργοποιητής που περιέχει 0,5% ProClin 950.
7. Red Part B (1.0 mL) Υπόστρωμα.
8. Red Part C (1.0 mL) Υπόστρωμα.
9. Red Part D (35 mL) Ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει 0,5% ProClin 950.
10. Hematoxylin DS9665 (7.5 mL) <0,1% Αιματοξυλίνη.

Αραίωση και Ανάμειξη

Το ChromoPlex 1 Dual Detection είναι βελτιστοποιημένο για χρήση στο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

Δεν απαιτείται ανασύμβαση, ανάμειξη, αραίωση ή τιτλοδότηση αυτών των αντιδραστηρίων.

Υλικά Που Απαιτούνται Αλλά Δεν Παρέχονται

Μέσο στερέωσης συμβατό με το ChromoPlex 1 Dual Detection (ανατρέξτε στις «Προφυλάξεις»).

Ανατρέξτε στην ενότητα «Χρήση αντιδραστηρίων BOND» της τεκμηρίωσης χρήστη για το BOND για την πλήρη λίστα των υλικών που απαιτούνται για την επεξεργασία δειγμάτων και την ανοσοϊστοχημική χρώση με τη χρήση του συστήματος BOND.

Φύλαξη και Σταθερότητα

Φυλάσσεται στους 2–8 °C. Μην καταψύχετε. Μην το χρησιμοποιείτε μετά από την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα της λαβής του δίσκου. Επαναφέρετε στους 2–8 °C αμέσως μετά από τη χρήση.

Δεν υπάρχουν προφανείς ενδείξεις αστάθειας του προϊόντος. Επομένως, πρέπει να εξετάζονται θετικοί και αρνητικοί οροί ελέγχου ταυτόχρονα με τα άγνωστα δείγματα (ανατρέξτε στην παράγραφο «Έλεγχος ποιότητας» της ενότητας «Χρήση αντιδραστηρίων BOND» στην τεκμηρίωση χρήστη για το BOND).

Εάν παρατηρηθεί μη αναμενόμενη χρώση, η οποία δεν μπορεί να ερμηνευθεί με τη διαφοροποίηση των εργαστηριακών διαδικασιών, και υπάρχει υποψία για πρόβλημα του συστήματος ανίχνευσης, επικοινωνήστε αμέσως με τον πλησιέστερο αντιπρόσωπο ή τα τοπικά γραφεία της Leica Biosystems.

Συνθήκες αποθήκευσης διαφορετικές από αυτές που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθευτούν από τον χρήστη¹.

Προφυλάξεις

- ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ – ορισμένα μέσα στερέωσης ενδέχεται να προκαλέσουν κρυστάλλωση ή εξασθένηση του κόκκινου χρωμογόνου.
- ΜΗ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΕ τα μέσα στερέωσης DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt® quick-hardening mounting medium, Surgipath MH 24®, Surgipath Sub-X® και Pertex διότι δεν είναι κατάλληλα για χρήση με το παρόν προϊόν.
- Δεν έχει παρατηρηθεί εξασθένηση ή κρυστάλλωση με τα εξής: Leica CV Ultra Mounting Media (αρ. κατ. 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc. αρ. κατ. 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories αρ. κατ. H-5000) και Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences αρ. κατ. 17987-01).
- Η συμβατότητα άλλων μέσων στερέωσης πρέπει να επικυρωθεί πλήρως από τον χρήστη πριν από τη χρήση. Διαφορετικά, μπορεί να προκληθεί μείωση της χρώσης λόγω εξασθένησης ή κρυστάλλωσης.

DAB Part 1

Περιέχει Ethylene Glycol (>90%) και 66 mM (<10%) 3,3' diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate.

GHS07: Θαυμαστικό.
GHS08: Κίνδυνος για την υγεία.

Προειδοποιητές λέξεις: Κίνδυνος.

H302: Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης.

H341: Ύποπτο για πρόκληση γενετικών ελαττωμάτων.

H350: Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.

P201: Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση.

P202: Μην το χρησιμοποιήσετε πριν διαβάσετε και κατανοήσετε τις οδηγίες προφύλαξης.

P280: Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.

P264: Πλύνετε χέρια σχολαστικά μετά το χειρισμό.

P270: Μην τρώτε, πίνετε ή καπνίζετε, όταν χρησιμοποιείτε αυτό το προϊόν.

P301+312: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό, εάν αισθανθείτε αδιαθεσία.

P330: Ξεπλύνετε το στόμα.

P308+313: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό.

Red Part C

Περιέχει 1.0 M (<10%) Hydrochloric Acid.
GHS05: Διάβρωση.
Προειδοποιητές λέξεις: Προσοχή.

H290: Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα.

P234: Να διατηρείται μόνο στον αρχικό περιέκτη.

P390: Σκουπίστε τη χυμένη ποσότητα για να προλάβετε υλικές ζημιές.

- Τα διαλύματα ενεργοποιητή και υποστρώματος ενδέχεται να προκαλέσουν ερεθισμό στο δέρμα, στα μάτια, στις βλεννογόνους και στην άνω αναπνευστική οδό. Να φοράτε γάντια κανονικής χρήσης κατά τον χειρισμό των αντιδραστηρίων. Απορρίψτε σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς.
- Για να λάβετε ένα αντίτυπο του δελτίου δεδομένων ασφαλείας υλικού (MSDS), απευθυνθείτε στον πλησιέστερο αντιπρόσωπο ή στα τοπικά γραφεία της Leica Biosystems. Εναλλακτικά, επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems, στη διεύθυνση www.LeicaBiosystems.com
- Τα δείγματα, πριν και μετά από τη σταθεροποίηση και όλα τα υλικά που εκτίθενται σε αυτά, πρέπει να θεωρούνται ως ικανά για μετάδοση λοιμώξεων και να απορρίπτονται με τις κατάλληλες προφυλάξεις³. Ποτέ μη λαμβάνετε τα αντιδραστήρια με πιπέτα με το στόμα και να αποφεύγετε την επαφή των αντιδραστηρίων ή των δειγμάτων με το δέρμα και τις βλεννογόνους. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έρθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε τα με άφθονο νερό. Ζητήστε συμβουλή από ιατρό.
- Να ακολουθείτε τους τοπικούς και κρατικούς κανονισμούς για την απόρριψη ενδεχομένως τοξικών συστατικών.
- Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή ρύπανση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκληθεί αύξηση της μη ειδικής χρώσης.
- Τυχόν χρόνοι ή θερμοκρασίες επίωσης που διαφέρουν από τους καθορισμένους, ενδέχεται να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα. Οποιαδήποτε τέτοια μεταβολή πρέπει να επικυρωθεί από τον χρήστη¹.
- Μην αναμιγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικά συστήματα ανίχνευσης.

Οδηγίες Χρήσης

Το ChromoPlex 1 Dual Detection έχει αναπτυχθεί για χρήση στο αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III), σύμφωνα με το *IHC Protocol K - 50 Test. Οι παράμετροι λειτουργίας για την εφαρμογή των αντιδραστηρίων του συστήματος ανίχνευσης στη μονάδα επεξεργασίας BOND έχει βελτιστοποιηθεί από τη Leica Biosystems. Αυτές υποδεικνύονται με την τήρηση των οδηγιών που αναφέρονται στην τεκμηρίωση χρήστη για το BOND.

Να χρησιμοποιείτε ταχεία αφυδάτωση αλκοόλης/ξυλολίου.

Μετά από την ολοκλήρωση ή μεταίωση του *IHC Protocol K - 50 Test, υπάρχει μια υστέρηση 15 λεπτών περίπου, πριν από την εκκίνηση άλλης εξέτασης από το σύστημα BOND στην ίδια διάταξη χρώσης πλακών.

Ειδικό Περιορισμοί του Προϊόντος

Το ChromoPlex 1 Dual Detection έχει βελτιστοποιηθεί στη Leica Biosystems για χρήση με βοηθητικά αντιδραστήρια BOND. Τα εργαστήρια μπορούν να χρησιμοποιήσουν τα δικά τους κοκτέιλ κύριων αντισωμάτων, με την προϋπόθεση ότι αυτά έχουν αραιωθεί σε κατάλληλη συγκέντρωση με τη χρήση του BOND Primary Antibody Diluent (αρ. καταλόγου AR9352). Οι χρήστες που αποκλίνουν από τις συνιστώμενες διαδικασίες εξετάσεων οφείλουν να αναλάβουν την ευθύνη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των ασθενών υπό τις συγκεκριμένες συνθήκες.

Η κατάλληλη συγκέντρωση των κύριων αντισωμάτων που παρέχονται από τον χρήστη ενδέχεται να διαφέρει λόγω διαφοροποίησης της μονοποίησης ιστού και της αποτελεσματικότητας της ενίσχυσης των αντιγόνων και πρέπει να καθοριστεί εμπειρικά. Για τη βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάκτησης και των συγκεντρώσεων των κύριων αντισωμάτων, πρέπει να χρησιμοποιηθούν αρνητικοί οροί ελέγχου των αντιδραστηρίων.

Η κλινική ερμηνεία τυχόν χρώσης ή απουσίας της πρέπει να συνδυαστεί με μορφολογικές εξετάσεις και κατάλληλους ορούς ελέγχου. Αυτά πρέπει να αξιολογηθούν στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από εξειδικευμένο παθολόγο.

Ορισμένα μέσα στερέωσης δεν είναι συμβατά με το ChromoPlex 1 Dual Detection (ανατρέξτε στις «Προφυλάξεις»).

Για περισσότερες πληροφορίες, απευθυνθείτε στον πλησιέστερο αντιπρόσωπο ή στα τοπικά γραφεία της Leica Biosystems.

Αντιμετώπιση Προβλημάτων

Ανατρέξτε στην παραπομπή 4 για τις διορθωτικές ενέργειες.

Επικοινωνήστε με τον πλησιέστερο αντιπρόσωπο ή τα τοπικά γραφεία της Leica Biosystems για να αναφέρετε τυχόν ασυνήθιστη χρώση.

Πρόσθετες Πληροφορίες

Περαιτέρω πληροφορίες σχετικά με την ανοσοχρώση με αντιδραστήρια BOND για τις ενότητες «Αρχή της διαδικασίας», «Απαιτούμενα υλικά», «Προετοιμασία δειγμάτων», «Έλεγχος ποιότητας», «Επαλήθευση δοκιμασίας», «Ερμηνεία της χρώσης», «Υπόμνημα συμβόλων των ετικετών» και «Γενικοί περιορισμοί», δίνονται στην ενότητα «Χρήση αντιδραστηρίων BOND» της τεκμηρίωσης χρήστη για το BOND.

Βιβλιογραφία

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. Το ProClin 950 είναι εμπορικό σήμα της Supelco, τμήμα της Sigma-Aldrich Corporation.

Ημερομηνία Έκδοσης

24 Σεπτεμβρίου 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Katalognummer.: DS9665

Tilsigtet anvendelse

Dette detektionssystem er beregnet til *in vitro*-diagnostik.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection er et biotinfrit antistofkonjugatsystem indeholdende polymerisk peberrod-peroxidase (HRP)-linker og polymerisk basisk fosfatase (AP)-linker til detektion af vævsbundne primære IgG-antistoffer fra mus og kaniner. Det er beregnet til farvning af sektioner af formalinfixeret paraffinindlejret væv på det automatiserede BOND-system (bestående af Leica BONDMAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Klinisk fortolkning af tilstedeværelse eller fravær af farvning skal komplementeres med morfologiske undersøgelser. Passende kontroller skal evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske test af en uddannet patolog.

ChromoPlex 1 Dual Detection skal anvendes ifølge bedste laboratoriepraksis for brug af vævskontroller. Som en sikkerhed skal laboratorierne farve alle patientprøver sammen med positive, negative og andre vævs-specifikke kontroller efter behov.

Resumé og forklaring

Immunhistokemiske teknikker kan anvendes til at påvise tilstedeværelse af antigener i væv og celler (se "Anvendelse af BOND-reagenser" i din BOND-brugerdokumentation).

ChromoPlex 1 Dual Detection bruger en helt ny, kontrolleret polymeriseringsteknologi til at fremstille polymeriske antistofkonjugater af HRP-linker og AP-linker. Detektionssystemet undgår brug af streptavidin og biotin og eliminerer dermed ikke-specifik farvning som følge af endogen biotin.

ChromoPlex 1 Dual Detection virker på følgende måde:

- Prøven inkuberes med hydrogenperoxid for at undertrykke endogen peroxidaseaktivitet.
- Det tilføres en brugerleveret specifik cocktail af primære antistoffer fra mus og kaniner.
- Poly-HRP IgG-reagens lokaliserer museantistoffer.
- Poly-AP IgG-reagens lokaliserer kaninantistoffer.
- Det første substrat-kromogen, 3,3'-diaminobenzidin-tetrahydrochlorid hydrat (DAB), visualiserer museantistoffer via et brunt bundfald.
- Det andet substrat-kromogen, (Fast Red), visualiserer kaninantistoffer via et rødt bundfald.
- Kontrastfarvning med hæmatoxylin (blå) tillader visualisering af cellekerner.

Anvendelse af ChromoPlex 1 Dual Detection i kombination med det automatiserede BOND-system (bestående af Leica BONDMAX-systemet og Leica BOND-III-systemet), reducerer muligheden for menneskelige fejl og iboende variabilitet som følge af individuel reagensfortyndning, manuel pipettering og reagenstilsætning.

Leverede reagenser

De medfølgende reagenser rækker til 25 individuelle BOND-farvninger eller et maksimum på 50 præparater.

For at få de maksimale 50 præparater ud af dette detektionssystem skal man samle præparater i batches på 2 eller mere ifølge præparatfarvningsenheden. Samling i batches på mindre end 2 vil resultere i færre farvede præparater.

1. Peroxide Block (7.5 mL) 3-4 % hydrogenperoxid.
2. Polymer mHRP (7.5 mL) Poly-HRP anti-mus indeholdende 10 % (v/v) dyreserum i Tris-bufret saltvand og 0,09 % ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7.5 mL) Poly-AP anti-kanin indeholdende 10 % (v/v) dyreserum i Tris-bufret saltvand og 0,09 % ProClin 950.
4. DAB Part 1 (1 mL) 66 mM 3,3'-diaminobenzidin-tetrahydrochlorid hydrat i en stabilisatoropløsning.
5. DAB Part B (20 mL) ≤0,1 % (v/v) hydrogenperoxid i en stabilisatoropløsning.
6. Red Part A (5.5 mL) Aktivator indeholdende 0,5 % ProClin 950.
7. Red Part B (1.0 mL) Substrat.
8. Red Part C (1.0 mL) Substrat.
9. Red Part D (35 mL) Bufferopløsning indeholdende 0,5 % ProClin 950.
10. Hæmatoxylin DS9665 (7.5 mL) <0,1 % hæmatoxylin.

Fortynding og blanding

ChromoPlex 1 Dual Detection er optimeret til brug på BOND-systemet (bestående af Leica BONDMAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering af disse reagenser er ikke nødvendig.

Nødvendige materialer, der ikke medfølger

Monteringsmedium, som er kompatibelt med ChromoPlex 1 Dual Detection (se **Forholdsregler**).

Se "Anvendelse af BOND-reagenser" i din brugerdokumentation for BOND, hvor der findes en komplet liste over de materialer, der skal bruges til prøvebehandling og immunhistokemisk farvning ved hjælp af BOND-systemet.

Opbevaring og stabilitet

Opbevares ved 2-8 °C. Må ikke anvendes efter den udløbsdato, der er angivet på etiketten på bakkens håndtag. Skal sættes på køl igen ved 2-8 °C straks efter brug.

Dette produkt udviser ingen åbenlyse tegn på ustabilitet; der skal derfor køres positive og negative kontroller samtidig med ukendte prøver (se "Kvalitetskontrol" i afsnittet "Anvendelse af BOND-reagenser" i din BOND-brugerdokumentation).

Hvis der observeres uventet farvning, der ikke kan forklares ved variationer i laboratorieprocedurer, og der er mistanke om et problem ved detektionssystemet, skal du straks kontakte din lokale distributør eller Leica Biosystems' regionskontor.

Andre opbevaringsbetingelser end de ovenfor angivne skal verificeres af brugeren¹.

Forholdsregler

- ADVARSEL - visse monteringsmedier kan få det røde kromogen til at krystallisere eller falme.
- MÅ IKKE ANVENDES DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt® quick-hardening mounting medium, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® og Pertex monteringsmedierne da de ikke egner sig til brug med dette produkt.
- Der er ikke observeret falmning eller krystallisering med: Leica CV Ultra Mounting Media (Kat 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc. Kat 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories Kat H-5000) og Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences Kat 17987-01).
- Andre monteringsmediers kompatibilitet skal valideres fuldt ud af brugeren, inden de anvendes. Gøres dette ikke, kan det medføre nedsat farvning på grund af falmning eller krystallisering.

DAB Part 1

Indeholder 1,2-Etandiol (>90%) og 66 mM (<10%) 3,3' diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate.

GHS07: Udråbstegn.

GHS08: Sundhedsfarer.

Signalord: Fare.

H302: Farlig ved indtagelse.

H341: Mistænkt for at forårsage genetiske defekter.

H350: Kan fremkalde kræft.

P201: Indhent særlige anvisninger før brug.

P202: Anvend ikke produktet, før alle advarsler er læst og forstået.

P280: Bær beskyttelseshandsker/ beskyttelsestøj øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

P264: Vask hænder grundigt efter brug.

P270: Der må ikke spises, drikkes eller rygges under brugen af dette produkt.

P301+312: I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: I tilfælde af ubehag ring til en GIFTINFORMATION eller en læge.

P330: Skyl munden.

P308+313: VED eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp.

Red Part C

Indeholder 1.0 M (<10%)

Hydrochloric Acid.

GHS05: Ætsning.

Signalord: Advarsel.

H290: Kan ætse metaller.

P234: Opbevares kun i den originale beholder.

P390: Absorber udslip for at undgå materielsskade.

- Aktivatoren og substratopløsningerne kan forårsage irritation af huden, øjnene, slimhinderne og de øvre luftveje. Anvend engangshandsker af nitril ved håndtering af reagenser. Bortskaftes i henhold til lokale bestemmelser.
- En kopi af sikkerhedsdatabladet kan rekvireres hos den lokale distributør eller Leica Biosystems' regionskontor. Som alternativ kan man besøge Leica Biosystems' hjemmeside, www.LeicaBiosystems.com
- Prøver og alle materialer, der har været i kontakt med dem, skal før og efter fiksering håndteres, som om de er i stand til at overføre infektioner, og bortskaffes under brug af passende forholdsregler². Reagenser må aldrig mundpipetteres, og eksponering af hud og slimhinder for reagenser og prøver skal undgås. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal der vaskes med rigelige mængder vand. Søg lægehjælp.
- Se de statslige eller lokale bestemmelser for bortskaffelse af potentielt giftige komponenter.
- Mikrobiel kontaminering af reagenser skal minimeres, da der ellers kan forekomme ikke-specifik farvning.
- Andre inkubationstider eller temperaturer end de angivne kan give forkerte resultater. Enhver ændring af denne art skal valideres af brugeren¹.
- Reagenser fra forskellige detektionssystemer må ikke blandes.

Brugsanvisning

ChromoPlex 1 Dual Detection er blevet udviklet til brug på det automatiserede BOND-system (bestående af Leica BOND MAX- systemet og Leica BOND-III-systemet) ved brug af *IHC Protocol K - 50 Test. Leica Biosystems har optimeret betjeningsparametrene for anvendelse af detektionssystemets reagenser på BOND-procesmodulet. Dem kan man få vist ved at følge anvisningerne i BOND-brugerdokumentationen.

Anvend hurtig alkohol/xylen-dehydrering.

Efter gennemførelse eller afbrydelse af *IHC Protocol K - 50 Test går der ca. 15 minutter, før BOND-systemet vil påbegynde en ny kørsel på samme præparatfarvningsenhed.

Produktspecifikke begrænsninger

ChromoPlex 1 Dual Detection er blevet optimeret hos Leica Biosystems til brug med BOND hjælpereagenser. Laboratorierne kan bruge deres egne primære antistof-cocktails, forudsat at de er blevet fortyndet til en passende koncentration med BOND Primary Antibody Diluent (Katalognr. AR9352). Brugere, der afviger fra anbefalede testprocedurer, må påtage sig ansvaret for fortolkning af patientresultaterne under disse omstændigheder.

Hvilken koncentration af brugerens egne primære antistoffer der er passende kan variere på grund af variationer i vævsfiksering og antigen-øngningens effektivitet og skal bestemmes empirisk. Der skal anvendes negative kontroller ved optimering af genfindingsbetingelser og koncentrationer af primære antistoffer.

Klinisk fortolkning af tilstedeværelse eller fravær af farvning skal komplementeres med morfologiske undersøgelser og korrekte kontroller. Disse skal evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske test af en uddannet patolog.

Visse monteringsmedier er ikke kompatible med ChromoPlex 1 Dual Detection (se Forholdsregler).

Yderligere oplysninger kan fås ved henvendelse til den lokale distributør eller Leica Biosystems' regionskontor.

Fejlfinding

Se reference 4 for afhjælpning.

Usædvanlig farvning skal indberettes til den lokale distributør eller Leica Biosystems' regionskontor.

Yderligere oplysninger

Yderligere oplysninger om immunfarvning med BOND-reagenser kan findes under overskrifterne Princippet i proceduren, Nødvendige materialer, Prøveforberedelse, Kvalitetskontrol, Verificering af assays, Fortolkning af farvningen, Symbolforklaring og Generelle begrænsninger i "Anvendelse af BOND-reagenser" i din BOND-brugerdokumentation.

Bibliografi

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 er et varemærke tilhørende Supelco, en del af Sigma-Aldrich Corporation.

Datum van uitgifte

24 september 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Catalog No: DS9665

Beoogd gebruik

Dit detectiesysteem is bedoeld voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection is een biotine-vrije, polymere mierikswortel peroxidase (HRP)-verbinder en polymere alkaline fosfaat (AP)-verbinder antilichaam conjugaatsysteem voor de opsporing van weefselgebonden muis en konijn IgG primaire antilichamen. Het is bedoeld voor het aankleuren van secties van formaline vaste, in paraffine ingebed weefsel op het BOND geautomatiseerde systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

De klinische interpretatie van elke aankleuring of de afwezigheid daarvan moet aangevuld worden door morfologische studies. De juiste controlemaatregelen moeten binnen de context van de klinische achtergrond van de patiënt en andere diagnostische tests door een gekwalificeerde patholoog geëvalueerd worden.

De ChromoPlex 1 Dual Detection moet volgens de voorgeschreven protocollen voor behandeling van weefsels van het laboratorium gebruikt worden. Ter controle moeten laboratoria elk patiëntmonster aankleuren met positieve, negatieve en andere weefsel-specifieke benodigde controlemaatregelen.

Samenvatting en uitleg

Immunohistochemische technieken kunnen gebruikt worden ten behoeve van het aantonen van de aanwezigheid van antigenen in weefsel en cellen (zie: "BOND reagentia gebruiken" in uw BOND gebruikshandleiding).

ChromoPlex 1 Dual Detection maakt gebruik van een nieuw gecontroleerde polymerisatietechnologie om polymerische HRP-verbinder en AP-verbinder antilichaam conjugaat te maken. Het detectiesysteem vermijdt het gebruik van streptavidine en biotine, en elimineert daarom niet specifiek aankleuren als resultaat van endogene biotine.

ChromoPlex 1 Dual Detection werkt als volgt:

- Het monster is geïncubeerd met hydrogene peroxide om de endogene peroxidase activiteit te dempen.
- Een door een gebruiker geleverde specifieke primaire muis en konijn antilichaamcocktail wordt toegepast.
- Poly-HRP IgG reagens lokaliseert muis-antilichamen.
- Poly-rAP IgG reagens lokaliseert konijn-antilichamen.
- Het eerste substraat chromogeen, 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrateren (DAB), visualiseert muis-antilichamen via een bruine neerslag.
- Het tweede substraat chromogeen, (Fast Red), visualiseert konijn-antilichamen via een rode neerslag.
- Hematoxyline (blue) tegenkleuring ondersteunt de visualisatie van celkernen.

Door gebruik te maken van ChromoPlex 1 Dual Detection in combinatie met het BOND (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem), geautomatiseerde systeem daalt de mogelijkheid van een menselijke fout en inherente variabiliteit resulterend uit individuele reagens verdunning, handmatig pipetteren en reagens toepassing.

Geleverde reagentia

De geleverde reagentia zijn afdoende voor 25 individuele BOND aankleuringen, of een maximum aan 50 objectglasjes.

Voor een maximum van 50 objectglasjes uit dit detectiesysteem, moeten de objectglasjes in batches van 2 of groter gemaakt worden, per set van objectglasjes met aankleuring. Batches maken van 2 of minder zal resulteren in minder aangekleurde objectglasjes.

1. Peroxide Block (7.5 mL) 3-4% hydrogene peroxide.
2. Polymer mHRP (7.5 mL) poly-HRP anti-muis bevat 10% (v/v) dierserum in tris gebufferde saline en 0,09% ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7.5 mL) poly-AP anti-konijn bevat 10% (v/v) dierserum in tris gebufferde saline en 0,09% ProClin 950.
4. DAB Part 1 (1 mL) 66 mM 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrateren in een stabilisator oplossing.
5. DAB Part B (20 mL) $\leq 0.1\%$ (v/v) hydrogene peroxide in een stabilisator oplossing.
6. Red Part A (5.5 mL) activator bevat 0,5% ProClin 950.
7. Red Part B (1.0 mL) Substraat.
8. Red Part C (1.0 mL) Substraat.
9. Red Part D (35 mL) buffer oplossing bevat 0,5% ProClin 950.
10. Hematoxylin DS9665 (7.5 mL) $<0,1\%$ Hematoxyline.

Verdunning en mixen

ChromoPlex 1 Dual Detection is geoptimaliseerd voor gebruik op het BOND systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

Bereiding, mixen, verdunning of titratie van deze reagentia is niet vereist.

Vereiste maar niet geleverde materialen

Insluitmiddelen die compatibel zijn met ChromoPlex 1 Dual Detection (zie de **Voorschriften**).

Raadpleeg "BOND reagentia gebruiken" in uw BOND gebruikershandleiding voor een complete lijst met materialen, vereist voor behandelen van monsters en immunohistochemische aankleuring gebruik makend van het BOND systeem.

Opslag en stabiliteit

Opslaan tussen 2–8 °C. Niet invriezen. Niet gebruiken na de houdbaarheidsdatum aangegeven op de label. Direct weer op temperatuur 2–8 °C brengen na gebruik.

Er zijn geen duidelijke signalen die de instabiliteit van dit product aangeven; om die reden moeten er positieve en negatieve controles tegelijkertijd gedaan worden met onbekende monsters (raadpleeg de "kwaliteitscontrole" in de sectie "BOND reagentia gebruiken" van uw BOND gebruikershandleiding).

Als er onverwachte aankleuring wordt aangetroffen die niet kan worden uitgelegd door variaties in laboratoriumprocedures, en er een probleem met het detectiesysteem wordt vermoed, neem dan a.u.b. onmiddellijk contact op uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems.

Andere opslagcondities dan zoals die hierboven zijn gespecificeerd, moeten door de gebruiker¹ worden geverifieerd.

Voorschriften

- WAARSCHUWING – sommige insluitmiddelen kunnen ervoor zorgen dat het rode chromogeen gaat kristalliseren of vervagen.
- NIET GEBRUIKEN: DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt® quick-hardening mounting medium, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® en Pertex insluitmiddelen omdat ze niet geschikt zijn voor gebruik met dit product.
- Vervagen of kristalliseren is niet waargenomen bij: Leica CV Ultra Mounting Media (Cat 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc. Cat 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories Cat H-5000) en Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences Cat 17987-01).
- De compatibiliteit van andere insluitmiddelen moet volledig gevalideerd worden door de gebruiker voorafgaand aan het gebruik ervan. Bij negeren van deze waarschuwing kan dit resulteren in een vermindering van de kleuring als gevolg van de vervaging of de kristallisatie.

DAB Part 1

Bevat 1,2-Ethaandiol (>90%) en 66 mM (<10%) 3,3' diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate.

GHS07: Uitroepteken.

GHS08:

Gezondheidsgevaar.

Signaalwoorden: Gevaar.

H302: Schadelijk bij inslikken.

H341: Verdacht van het veroorzaken van genetische schade.

H350: Kan kanker veroorzaken.

P201: Alvorens te gebruiken de speciale aanwijzingen raadplegen.

P202: Pas gebruiken nadat u alle veiligheidsvoorschriften gelezen en begrepen heeft.

P280: Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsb escherming dragen.

P264: Na het werken met dit product handen grondig wassen.

P270: Niet eten, drinken of roken tijdens het gebruik van dit product.

P301+312: NA INSLIKKEN: bij onwel voelen een ANTIGIFCENTRUM of een arts raadplegen.

P330: De mond spoelen.

P308+313: NA (mogelijke) blootstelling: een arts raadplegen.

Red Part C

Bevat 1.0 M (<10%)

Hydrochloric Acid.

GHS05: Corrosie.

Signaalwoord:

Waarschuwing.

H290: Kan bijtend zijn voor metalen.

P234: Uitsluitend in de oorspronkelijke verpakking bewaren.

P390: Gelekte/gemorste stof opnemen om materiële schade te vermijden.

- De activator en de substraatoplossingen kunnen irritatie aan de huid, ogen, slijmvlies en de hogere luchtwegen veroorzaken. Draag nitril wegwerphandschoenen bij het werken met reagentia. Afvoeren volgens de lokale voorschriften.
- Neem a.u.b. contact op met uw lokale distributeur of regionale kantoor van Leica Biosystems voor een exemplaar van het Veiligheidsinformatieblad (Material Safety Data Sheet). Of u kunt de website van Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com raadplegen.
- Monsters, voor en na fixatie, en alle materialen die er aan zijn blootgesteld, dienen te worden behandeld alsof ze de infectie zouden kunnen overgeven en moeten verwijderd worden met alle mogelijke voorzorgsmaatregelen³. Pipetteer nooit reagentia met de mond en vermijd contact met de huid en slijmvlies met reagentia of monsters. Als er reagentia of monsters in contact komen met gevoeliger gebieden, was dan met veel water. Zoek medische hulp.
- Maak gebruik van federale, provinciale of lokale regelgeving voor de afvoer van mogelijke giftige componenten.
- Minimaliseer bacteriële besmetting van de reagentia of een verhoging van niet-specifieke kleuring kan optreden.
- Incubatietijden of temperaturen anders dan die gespecificeerd kunnen foutieve resultaten genereren. Elke verandering moet gevalideerd worden door de gebruiker¹.
- Meng geen reagentia van andere detectiesystemen.

Instructies voor gebruik

Het ChromoPlex 1 Dual Detection werd ontwikkeld voor gebruik op het geautomatiseerde BOND systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem). Gebruik makend van het *IHC Protocol K - 50 Test. Bedieningsparameters voor de toepassing van de reagentia van het detectiesysteem op de BOND Processing Module zijn geoptimaliseerd door Leica Biosystems. Deze kunnen weergegeven worden door de instructies te volgen in uw BOND gebruikershandleiding.

Gebruik snelle alcohol / xylene dehydratie.

Na het afronden of afbreken van het *IHC Protocol K - 50 Test is er een vertraging van ongeveer 15 minuten voordat het BOND systeem een volgende run zal starten op dezelfde set van objectglasjes met aankleuring.

Productspecifieke beperkingen

ChromoPlex 1 Dual Detection is geoptimaliseerd bij Leica Biosystems voor gebruik met BOND hulpreagentia. Laboratoria mogen eigen primaire antilichaam-cocktails gebruiken, voor zover ze zijn verdund naar de juiste concentratie met BOND Primary Antibody Diluent (catalogus nr. AR9352). Gebruikers die afwijken van de aanbevolen testprocedures moeten de verantwoordelijkheid accepteren voor interpretatie van patiëntresultaten in deze situatie.

De juiste concentratie van de eigen primaire antilichamen van de gebruiker kan afwijken volgens een afwijking in weefselfixatie en de effectiviteit van antigeenversterking, en moet empirisch worden vastgesteld. Negatieve reagens controles moeten gebruikt worden bij het optimaliseren van terughalcondities en primaire antilichaamconcentraties.

De klinische interpretatie van elke aankleuring of de afwezigheid daarvan moet aangevuld worden door morfologische studies en de juiste controles. Ze moeten binnen de context van de klinische achtergrond van de patiënt en andere diagnostische tests door een gekwalificeerde patholoog geëvalueerd worden.

Sommige insluitmiddelen zijn niet compatibel met ChromoPlex 1 Dual Detection (zie de **Voorschriften**).

Neem contact met uw lokale distributeur of regionale kantoor van Leica Biosystems voor meer informatie.

Probleemoplossing

Raadpleeg referentie 4 voor een oplossing.

Neem contact met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems om ongewone kleuring te rapporteren.

Meer informatie

Meer informatie over immunokleuring met BOND reagentia, onder de hoofdstukken "Principe van de procedure", "Vereiste materialen", "Monstervoorbereiding", "Kwaliteitscontrole", "Testverificatie", "Interpretatie van kleuring", "Sleutel voor symbolen op labels" en "Algemene beperkingen" vindt u in "BOND reagentia gebruiken" in uw BOND gebruikershandleiding.

Bibliografie

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 is een handelsmerk van Supelco, een onderdeel van Sigma-Aldrich Corporation.

Datum van uitgifte

24 september 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Catalog No: DS9665

Tiltenkt bruk

Dette deteksjonssystemet er for bruk i *in vitro* diagnostikk.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection er et biotinfritt antistoff-konjugat-system som inneholder polymerisk pepperrot-peroksidase (HRP)-bindinger og polymerisk basisk fosfatase (AP)-bindinger til deteksjon av vevsbundne primære IgG-antistoffer fra mus og kaniner. Det er beregnet til farging av seksjoner av formalinfiksert paraffinnnstøpt vev på det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAXsystemet og Leica BOND-III-systemet).

Klinisk tolkning av enhver fargedannelse eller fravær av slik fargedannelse bør suppleres med morfologiske studier. Egnede kontroller må vurderes i sammenheng med pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester av kvalifisert patolog.

ChromoPlex 1 Dual Detection må brukes i samsvar med korrekt laboratoriepraksis for bruk i vevskontroll. Som en ekstra sikkerhet, bør laboratoriene farge alle pasientprøver sammen med positive, negative og andre vevspesifikke kontroller etter behov.

Sammendrag og forklaring

Immunohistokjemiske teknikker kan brukes til å demonstrere tilstedeværelse av antigener i vev og celler (se "Bruk av BOND-reagenser" i din BOND-brukerdokumentasjon).

ChromoPlex 1 Dual Detection bruker en helt ny, kontrollert polymeriseringsteknologi til å produsere polymeriske antistoffkonjugater med HRP-bindinger og AP-bindinger. Deteksjonssystemet unngår bruk av streptavidin og biotin, og eliminerer dermed uspesifikk farging på grunn av endogen biotin.

ChromoPlex 1 Dual Detection fungerer på følgende måte:

- Prøven inkuberes med hydrogenperoksid for å dempe endogen peroksidaseaktivitet.
- Det tilføres en brukerlevert spesifikk cocktail av primære mus- og kanin-antistoffer.
- Poly-HRP IgG-reagens lokaliserer muse-antistoffer.
- Poly-AP IgG-reagens lokaliserer kanin-antistoffer.
- Det første substrat-kromogenet, 3,3'-diaminobenzidintetrahydroklorid hydrat (DAB), synliggjør muse-antistoffer gjennom et brunt bunnfall.
- Det andre substrat-kromogenet, (Fast Red), synliggjør kanin-antistoffer gjennom et rødt bunnfall.
- Kontrastfarging med hematoxylin (blå) muliggjør visualisering av cellekjerener.

Bruk av ChromoPlex 1 Dual Detection i kombinasjon med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet), reduserer muligheten for menneskelige feil og iboende variabilitet på grunn av individuell reagensfortynning, manuell pipettering og reagenstilsetning.

Medfølgende reagenser

De medfølgende reagensene er nok til 25 individuelle BOND-farginger eller maksimalt 50 preparater.

For å få maksimalt 50 preparater ut av dette deteksjonssystemet, må preparatene prepareres i grupper på 2 eller mer i et rekkefølgesystem. Farging av preparat grupper på mindre enn 2 vil resultere i færre fargete preparater totalt.

1. Peroxide Block (7.5 mL) 3 - 4 % hydrogenperoksid.
2. Polymer mHRP (7.5 mL) Poly-HRP anti-mus inneholdende 10 % (v/v) dyreserum i Tris-bufret saltvann og 0,09 % ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7.5 mL) Poly-AP anti-kanin inneholdende 10 % (v/v) dyreserum i Tris-bufret saltvann og 0,09 % ProClin 950.
4. DAB Part 1 (1 mL) 66 mM 3,3'-diaminobenzidintetrahydroklorid hydrat i en stabilisatorløsning.
5. DAB Part B (20 mL) ≤0,1% (v/v) hydrogenperoksid i en stabilisatorløsning.
6. Red Part A (5.5 mL) Aktivator inneholdende 0,5 % ProClin 950.
7. Red Part B (1.0 mL) Substrat.
8. Red Part C (1.0 mL) Substrat.
9. Red Part D (35 mL) Bufferløsning inneholdende 0,5% ProClin 950.
10. Hematoxylin DS9665 (7.5 mL) <0,1% hematoksylin.

Fortynning og blanding

ChromoPlex 1 Dual Detection er optimalisert for bruk på BOND -systemet (herunder Leica BOND-MAXsystemet og Leica BOND-III-systemet).

Rekonstituering, blanding, fortynning eller titrering av disse reagensene er ikke nødvendig.

Nødvendige materialer som ikke medfølger

Monteringsmedia, som er kompatibelt med ChromoPlex 1 Dual Detection (se **Forholdsregler**).

Se "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen for en komplett liste over materialer som er nødvendige til behandling av prøvene og immunohistokjemisk farging ved bruk av BOND-systemet.

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevares ved 2-8 °C. Må ikke fryses. Må ikke brukes etter utløpsdatoen som er angitt på etiketten på brettets håndtak. Må umiddelbart nedkjøles til 2 – 8 °C etter hver bruk.

Dette produktet viser ingen tydelige tegn til ustabilitet; det skal derfor utføres positive og negative kontroller samtidig med ukjente prøver (se "Kvalitetskontroll" i avsnittet "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjon).

Hvis det observeres uventet farging som ikke kan forklares med variasjoner i laboratorieprosedyrer, og det er mistanke om et problem ved deteksjonssystemet, kontakt straks din lokale forhandler eller Leica Biosystems' regionskontor.

Andre oppbevaringsbetingelser enn de som er nevnt ovenfor må verifiseres av brukeren¹.

Forholdsregler

- ADVARSEL - noen monteringsmedier kan få det røde kromogenet til å krystalliseres eller falme.
- MÅ IKKE ANVENDES DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt® quick-hardening mounting medium, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® og Pertex Monteringsmediene da de ikke egner seg til bruk med dette produktet.
- Det er ikke observert falming eller krystallisering med: Leica CV Ultra Mounting Media (Kat 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc. Kat 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories Kat H-5000) og Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences Kat 17987-01).
- Kompatibiliteten for andre monteringsmedier må valideres fullstendig av brukeren før bruk. Unnlattelse av dette kan resultere i redusert farging på grunn av falming eller krystallisering.

DAB Part 1

Inneholder Ethylene Glycol (>90%) og 66 mM (<10%) 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate.
GHS07: Utropstegn.
GHS08: Helsefare.
Signalord: Fare.

H302: Farlig ved svelging.
H341: Mistenkes å kunne gi genetiske skader.
H350: Kan forårsake kreft.

P201: Innhent særskilt instruks før bruk.
P202: Skal ikke håndteres før alle advarsler er lest og oppfattet.
P280: Bruk vernehansker/verneklær/vernebriller ansiktsbeskyttelse.
P264: Vask hender grundig etter bruk.
P270: Ikke spis, drikk eller røyk ved bruk av produktet.
P301+312: VED SVELGING: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER eller lege ved ubehag.
P330: Skyll munnen.
P308+313: Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.

Red Part C

Inneholder 1.0 M (<10%) Hydrochloric Acid.
GHS05: Etsende.
Signalord: Advarsel.

H290: Kan være etsende for metaller.

P234: Oppbevares bare i originalbeholder.
P390: Absorber spill for å hindre materiell skade.

- Aktivator og substratløsninger kan forårsake irritasjon på hud, øyne, slimhinner og øvre luftveier. Bruk engangshansker av nitril ved håndtering av reagenser. Destrueres i henhold til lokale forskrifter.
- En kopi av sikkerhetsdatabladet er tilgjengelig fra din lokale forhandler eller Leica Biosystems' regionkontor. Alternativt kan man besøke Leica Biosystems' nettside, www.LeicaBiosystems.com
- Prøver og alle materialer som har vært i kontakt med dem, både før og etter fiksering, skal håndteres som smittefarlig materiale og skal destrueres etter gjeldende forholdsregler³. Reagenser må aldri munnpipetteres, og unngå kontakt mellom reagenser/prøver og hud/slimhinner. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med sensitive områder, skal disse områdene vaskes med rikelige mengder vann. Søk legehjelp.
- Se offentlige eller lokale forskrifter for destruering av potensielt giftige komponenter.
- Mikrobiell kontaminering av reagenser må minimeres for å unngå økning av ikke-spesifikk farging.
- Andre inkubasjonstider eller temperaturer enn de som er spesifiserte kan gi uriktige resultater. Enhver endring av disse må godkjennes av brukeren¹.
- Reagenser fra ulike deteksjonssystemer må ikke blandes.

Bruksanvisning

ChromoPlex 1 Dual Detection har blitt utviklet for bruk på det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAXsystemet og Leica BOND-III-systemet) ved bruk av *IHC Protocol K - 50 Test. Leica Biosystems har optimalisert driftsparametrene for anvendelse av deteksjonssystemets reagenser på BOND-prosessmodulet. Disse kan sees ved å følge instruksjonene i BOND-brukerdokumentasjon. Bruk rask alkohol/xylen-dehydrering.

Etter fullførelse eller avbrytelse av *IHC Protocol K - 50 Test tar det ca. 15 minutter før BOND-systemet vil starte en ny runde på samme preparatfargingseenhet.

Produktspesifikke begrensninger

ChromoPlex 1 Dual Detection har blitt optimalisert hos Leica Biosystems for bruk med BOND tilleggsreagenser. Laboratoriene kan bruke sine egne primære antistoff-cocktailer, forutsatt at de blir fortynt til en passende konsentrasjon med BOND Primary Antibody Diluent (Katalognr. AR9352). Brukere som avviker fra anbefalte testprosedyrer må ta ansvaret for tolkningen av pasientresultater under disse omstendighetene.

Den mest egnede konsentrasjonen av brukerens egne primære antistoffer kan variere på grunn av variasjoner i vevsfiksering og antigen-effektivitet og må bestemmes empirisk. Negative reagenskontroller må benyttes ved optimalisering av gjenfinningsbetingelser og konsentrasjoner av primære antistoffer.

Klinisk tolkning av enhver fargedannelse eller fravær av slik fargedannelse bør suppleres med morfologiske studier og korrekte kontroller. Disse bør vurderes i sammenheng med pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester av en kvalifisert patolog.

Visse monteringsmedier er ikke kompatible med ChromoPlex 1 Dual Detection (se **Forholdsregler**).

Ytterligere informasjon kan fås ved å kontakte din lokale forhandler eller Leica Biosystems' regionkontor.

Problemløsning

Se referanse 4 for bistand.

Uvanlig farging må meldes fra til din lokale forhandler eller Leica Biosystems' regionkontor.

Før mer informasjon

Ytterligere informasjon om immunofarging med BOND-reagenser finnes under overskriftene: Prinsippet i prosedyren, Nødvendige materialer, Prøveforberedelse, Kvalitetskontroll, Verifisering av analyser, Tolkning av fargingen, Symbolforklaring og Generelle begrensninger i "Bruk av BOND-Reagenser" i din BOND-brukerdokumentasjon.

Litteratur

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 er et varemerke for Supelco, en del av Sigma-Aldrich Corporation.

Utstedelsesdato

24 september 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Katalog No: DS9665

Kullanım Amacı

Bu saptama sistemi *in vitro* diagnostik kullanımdır.

ChromoPlex 1 Dual Detection, dokuya-bağlı fare ve tavşan IgG primer antikorlarının saptanmasına yönelik biyotin içermeyen, polimerik horseradish (bayır turpu) peroksidaz (HRP) bağlayıcı ve polimerik alkalen fosfataz (AP) bağlayıcı bir antikor konjugat sistemidir. BOND otomatik sisteminde (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini kapsar) formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü doku kesitlerini boyamak üzere tasarlanmıştır.

Herhangi bir boyanmanın veya boyanma olmamasının klinik yorumu morfolojik çalışmalarla desteklenmelidir. Uygun kontroller, Hastanın klinik öyküsü ve diğer tanısal testler kapsamında uzman bir patoloj tarafından değerlendirilmelidir.

Doku kontrollerinin kullanılmasında, ChromoPlex 1 Dual Detection iyi laboratuvar uygulaması (laboratory best practice) ile birlikte kullanılmalıdır. Emin olmak için, laboratuvarlar her hasta örneğini pozitif, negatif ve gerektiği gibi diğer dokuya özgü kontrollerle boyamalıdır.

Özet ve Açıklama

Doku ve hücrelerde antijenlerin varlığını göstermek amacıyla immünohistokimyasal teknikler kullanılabilir (BOND kullanıcı belgelerinizde, "BOND Reaktiflerinin Kullanılması" bölümüne bakın).

ChromoPlex 1 Dual Detection polimerik HRP-bağlayıcı ve AP-bağlayıcı antikor konjugatlarını hazırlamak için yeni bir kontrollü polimerizasyon teknolojisi kullanmaktadır. Saptama sistemi streptavidin ve biotin kullanımıyla kaçınılabilir, endojen biotin kaynaklı non-spesifik boyanmayı ortadan kaldırır.

ChromoPlex 1 Dual Detection aşağıdaki şekilde çalışır:

- Numune, endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için hidrojen peroksit ile inkübe edilir.
- Kullanıcı tarafından temin edilen spesifik primer fare ve tavşan antikoruna kokteyli uygulanır.
- Poli-HRP IgG reaktif fare antikorlarının yerini belirler.
- Poli-HRP IgG reaktif tavşan antikorlarının yerini belirler.
- İlk substrat kromojen, 3,3'-Diaminobenzidin tetrahidroklorür hidrat (DAB), fare antikorlarının kahverengi bir presipitat olarak görülmesini sağlar.
- İkinci substrat kromojen (Fast Red), tavşan antikorlarının kırmızı bir presipitat olarak görülmesini sağlar.
- Hematoksiyen (mavi) ile karşıt boyama hücre çekirdeklerinin görülmesine olanak sağlar.

ChromoPlex 1 Dual Detection ile BOND otomatik sisteminin (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini kapsar) birlikte kullanılması, münferit reaktif dilüsyonu, manuel pipetleme ve reaktif uygulamasından kaynaklanan insan hatası olasılığını ve doğal değişkenliği azaltır.

Verilen Reaktifler

Verilen reaktifler 25 ayrı BOND boyama serisi veya maksimum 50 slayt için yeterlidir.

Bu saptama sisteminde maksimum 50 slayda erişmek için slaytlar, Slayt Boyama Düzenine göre, 2'li veya daha fazla miktarlar halinde gruplanmalıdır. 2'den daha az sayıda slayt gruplamak daha az boyanmış slayt elde etmeye sebep olur.

1. Peroxide Block (7.5 mL) % 3 - 4 Hidrojen peroksit.
2. Tris-tamponlu salin içerisinde %10 (v/v) hayvan serumu içeren Polymer mHRP (7.5 mL) Poli-HRP anti-fare ve %0.09 ProClin™ 950.
3. Tris-tamponlu salin içerisinde %10 (v/v) hayvan serumu içeren Polymer rAP (7.5 mL) Poli-AP anti-tavşan ve %0.09 ProClin™ 950.
4. DAB Part 1 (1 mL) 66 mM 3,3'-Stabilizör bir solüsyon içerisinde diaminobenzidin tetrahidroklorür hidrat.
5. DAB Part B (20 mL) ≤%0,1 (v/v) Stabilizör bir solüsyon içerisinde hidrojen peroksit.
6. Red Part A (5.5 mL) %0.5 ProClin 950 içeren aktivatör.
7. Red Part B (1.0 mL) Substrat.
8. Red Part C (1.0 mL) Substrat.
9. Red Part D (35 mL) %0.5 ProClin 950 içeren tampon solüsyon.
10. Hematoxylin DS9665 (7.5 mL) < %0.1 Hematoksiyen.

Dilüsyon ve Karıştırma

ChromoPlex 1 Dual Detection BOND sisteminde (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini kapsar) kullanılmak üzere optimize edilmiştir.

Bu reaktiflerin yeniden hazırlanması, karıştırılması, dilüsyonu veya titrasyonu gerekmez.

Gereken Fakat Verilmeyen Materyaller

ChromoPlex 1 Dual Detection ile uyumlu kapama maddeleri (bkz. **Önlemler**).

BOND sisteminin kullanarak numune işleme ve immünohistokimyasal boyama için gereken materyallerin tam listesi için BOND kullanıcı belgelerinizdeki "BOND Reaktiflerinin Kullanılması" bölümüne bakın.

Saklama ve Stabilité

2–8 °C sıcaklıkta saklayın. Dondurmayın. Tepsi tutacağıнын etiketinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Kullandıktan hemen sonra 2–8 °C sıcaklık ortamına geri döndürün.

Bu ürünün instabilitesini gösterecek herhangi bir belgin işaret yoktur; bu nedenle bilinmeyen numunelerde pozitif ve negatif kontroller eş zamanlı olarak yürütülmelidir (BOND kullanıcı belgelerinizdeki "BOND Reaktiflerinin Kullanılması", «Kalite Kontrol» kısmına bakın).

Laboratuvar prosedürlerindeki varyasyonlarla açıklanamayan beklenmedik bir boyanma gözlenirse ve saptama sisteminde bir sorundan şüphelenilirse, yerel distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölge ofisiyle hemen irtibat kurun.

Yukarıda belirtilenlerin dışındaki saklama koşulları, kullanıcı1 tarafından doğrulanmalıdır.

Önlemler

- UYARI - bazı kapama maddeleri kırmızı kromojen kristalize olmasına veya solmasına sebep olabilir.
- Bu ürüne birlikte kullanıma uygun olmadıkları için DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt® çabuk sertleşen kapama maddesi, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® ve Pertex kapama maddelerini KULLANMAYIN.
- Solma veya kristalizasyon aşağıdakilerle birlikte gözlenmemiştir: Leica CV Ultra Mounting Media (Cat 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc. Cat 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories Cat H-5000) ve Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences Cat 17987-01).
- Diğer kapama maddelerinin uyumluluğu, kullanımdan önce kullanıcı tarafından tamamen doğrulanmalıdır. Bunun yapılmaması, solma veya kristalizasyona bağlı olarak boyanmada azalma ile sonuçlanabilir.

DAB Part 1

İçeriyor Ethylene Glycol (>90%) ve 66 mM (<10%) 3,3' diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate.

GHS07: Ünlm isareti.

GHS08: Sağlık tehlikesi.

İsaret kelimesi: Tehlike.

H302: Yutulması halinde sağlığa zararlıdır.

H341: Muhtemelen genetik kusurlara neden olabilir.

H350: Kanser yapabilir.

P201: Kullanmadan önce özel talimatları alıniz.

P202: Kullanmadan önce tüm güvenli talimatlarını okuyunuz ve anlayınız.

P280: Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması takın.

P264: Kullandıktan sonra ellerinizi iyice yıkayınız.

P270: Kullanım sırasında yemek yemeyiniz, içecek içmeyiniz veya sigara içmeyiniz.

P301+312: YUTMA DURUMUNDA: Kendinizi iyi hissetmemeniz halinde ZEHİR DANISMA MERKEZİNİ arayınız veya bir doktora başvurunuz.

P330: Ağızınızı çalkalayınız.

P308+313: Maruziyet veya etkillenme HALİNDE: Tıbbi tavsiye / bakım alın.

Red Part C

1.0 M (<10%)

Hydrochloric Acid İçeriyor.

GHS05: Korozyon

İsaret kelimesi: Dikkat.

H290: Metallerle karşı asindirici olabilir.

P234: Sadece orijinal kabında muhafaza ediniz.

P390: Materyal hasarlarını önlemek için yiginti kitleyi kaldırınız.

- Aktivatör ve substrat solüsyonları cilt, gözler, müköz membranlar ve üst solunum yolunda irritasyona sebep olabilir. Reaktifleri kullanırken tek kullanımlık nitril eldivenler giyin. Yerel düzenlemelere göre bertaraf edin.
- Malzeme Güvenlik Veri Formunun bir kopyasını almak için, yerel distribütörünüz veya Leico Biosystems bölge ofisiyle irtibat kurun. Alternatif olarak, Leica Biosystems'in Web sitesini ziyaret edin: www.LeicaBiosystems.com
- Fiksasyondan önce ve sonra numunelere ve bunlara maruz kalan tüm materyallere enfeksiyon bulaştırabilmiş gibi muamele edilmiş ve uygun önlemlerle bertaraf edilmelidir. Reaktifleri asla ağızınıza pipetle çekmeyin ve reaktiflerin veya numunelerin cilt ve müköz membranla temasından kaçınınız. Eğer reaktifler veya numuneler hassas alanlarla temas ederse, bol miktarda su ile yıkayın. Tıbbi yardım arayın.
- Potansiyel olarak toksik herhangi bir bileşenin bertaraf edilmesi için Federal, Devlet veya yerel düzenlemelere başvurun.
- Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonunu minimuma indirin, aksi takdirde non-spesifik boyanmada bir artış görülebilir.
- Belirtilenden farklı inkübasyon süreleri veya sıcaklıkları hatalı sonuçlar verebilir. Bu gibi herhangi bir değişiklik kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır¹.
- Farklı saptama sistemlerinin reaktiflerini karıştırmayın.

Kullanım Talimatları

ChromoPlex 1 Dual Detection, *IHC Protokol K - 50 Test kullanılarak, BOND otomatik sisteminde (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini kapsar) kullanılmak amacıyla geliştirilmiştir. BOND işleme modülü üzerinde saptama sistemi reaktiflerinin uygulanmasına yönelik çalışma parametreleri, Leica Biosystems tarafından optimize edilmiştir. Bunlar, BOND kullanıcı belgenizdeki talimatlara uyarak görüntülenebilir.

Hızlı alkol/ksilen dehidrasyonu kullanın.

*IHC Protokol K - 50 Test'nin tamamlanması veya sonlandırılmasının ardından, BOND sistemi aynı Slayt Boyama Düzeneğinde başka bir işlem başlatmadan önce yaklaşık 15 dakikalık bir gecikme mevcuttur.

Ürüne Özgü Sınırlamalar

ChromoPlex 1 Dual Detection, Leica Biosystems tarafından BOND yardımcı reaktifleriyle kullanılmak üzere optimize edilmiştir. Laboratuvarlar, BOND Primary Antibody Diluent (Katalog No. AR9352) ile uygun konsantrasyonda seyreltilmiş olmaları koşuluyla kendi primer antikor kokteyllerini kullanabilir. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar, bu koşullar altında hasta sonuçlarının yorumu için sorumluluğu kabul etmelidir.

Kullanıcının kendi primer antikorlarının uygun konsantrasyonu, doku fiksasyonundaki varyasyona ve antijen çoğalmasının etkinliğine bağlı olarak farklılıklar gösterebilir ve empirik olarak belirlenmelidir. Geri alım (retrieval) koşullarını ve primer antikor konsantrasyonlarını optimize ederken negatif reaktif kontrolleri kullanılmıdır.

Herhangi bir boyanmanın veya boyanma olmamasının klinik yorumu morfolojik çalışmalarla ve uygun kontrollerle desteklenmelidir. Bunlar, hastanın klinik öyküsü ve diğer tanısal testler kapsamında uzman bir patoloğ tarafından değerlendirilmelidir.

Bazı kapama maddeleri ChromoPlex 1 Dual Detection ile uyumlu değildir (bkz. **Önlemler**).

İlave bilgi için yerel distribütörünüz veya Leico Biosystems bölge ofisiyle irtibat kurun.

Sorun Giderme

Düzeltilici işlemler için referans 4'e başvurun.

Olağan dışı boyanmayı bildirmek için yerel distribütörünüz veya Leico Biosystems bölge ofisiyle irtibat kurun.

İlave Bilgiler

BOND reaktifleri ile immün boyama hakkında daha fazla bilgi, BOND kullanıcı belgelerinizde, "BOND Reaktiflerinin Kullanması" bölümünde Prosedürün Prensibi, Gereken Materyaller, Numune Hazırlama, Kalite Kontrol, Deney Doğrulama, Boyamanın Yorumlanması, Etiketler Üzerindeki Sembollerin Anahtarı ve Genel Sınırlamalar başlıkları altında bulunabilir.

Kaynakça

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950, Sigma-Aldrich Şirketinin bir parçası olan Supelco'nun bir ticari markasıdır.

Yayın Tarihi

24 Eylül 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Каталожен №: DS9665

Предназначение

Тази система за откриване е за употреба при *in vitro* диагностика.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection е конюгираща система за антитела без биотин, с линкер полимерна хрянова пероксидаза (HRP) и линкер полимерна алкална фосфатаза (AP) за откриване на свързани с тъканите първични IgG миши и заешки антитела. Тя е предназначена за оцветяване на срези от фиксирани във формалин, вградени в парафин тъкани с автоматизираната система BOND (включва системата Leica BOND-MAX и системата Leica BOND-III).

Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или на неговата липса трябва да бъде допълнена от морфологични изследвания. Подходящите контроли трябва да бъдат оценени от квалифициран патолог в контекста на клиничната история на пациента и на други диагностични изследвания.

Системата ChromoPlex 1 Dual Detection трябва да се използва при спазване на най-добрите лабораторни практики в използването на тъканни контроли. За допълнителни гаранции лабораториите трябва да оцветят всяка проба на пациент, заедно с позитивни, негативни и други специфични тъканни контроли, според необходимостта.

Описателна и разяснителна

Могат да бъдат използвани имунохистохимични техники за демонстриране на наличието на антигени в тъканта и клетките (вж. „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND).

Системата ChromoPlex 1 Dual Detection използва новаторска технология за контролирана полимеризация за подготвяне на свързваща полимерна HRP система и свързваща AP система за антитела. Системата за откриване избягва използването на стрептавидин и биотин и така елиминира неспецифичното оцветяване като резултат на ендогенния биотин.

Системата ChromoPlex 1 Dual Detection работи както следва:

- Спесиментът се инкубира с водороден пероксид, за да се потисне активността на ендогенната пероксидаза.
- Прилага се осигурен от потребителя коктейл от специфични първични миши и заешки антитела.
- IgG реактивът Poly-HRP локализира мишите антитела.
- IgG реактив Poly-AP локализира заешките антитела.
- Първият субстратен хромоген, 3,3'-диаминобензидин тетраhydroхлорид хидрат (DAB), визуализира мишите антитела чрез кафява утайка.
- Вторият субстратен хромоген (Fast Red) визуализира заешките антитела чрез червена утайка.
- Nematocylin (синьо) контраоцветяване позволява визуализация на клетъчните ядра.

Употребата на ChromoPlex 1 Dual Detection заедно с автоматизираната система BOND (включва системата Leica BOND-MAX и системата Leica BOND-III) намалява възможността от човешка грешка и присъщата изменчивост в резултат на отделно разреждане на реактиви, ръчно пипетиране и прилагане на реактиви.

Предоставени реактиви

Предоставените реактиви са достатъчни за 25 отделни оцветявания с BOND или за максимум от 50 предметни стъкла.

За да достигнете максимум 50 предметни стъкла с тази система за откриване, предметните стъкла трябва да бъдат обработвани в количества от по 2 или повече стъкла, за група оцветени предметни стъкла. Обработката в количества по-малки от 2 ще доведе до по-малко оцветени предметни стъкла.

1. Peroxide Block (7,5 mL) водороден пероксид 3 – 4%.
2. Polymer mHRP (7,5 mL) поли-HRP анти-миши, съдържащ 10% (v/v) животински серум в трометамин-буфериран физиологичен разтвор и 0,09% ProCli™ 950.
3. Polymer rAP (7,5 mL) Poly-AP анти-заешки, съдържащ 10% (v/v) животински серум в трометамин-буфериран физиологичен разтвор и 0,09% ProCli™ 950.
4. DAB Part 1 (1 mL) 66 mM 3,3'-диаминобензидин тетраhydroхлорид хидрат в стабилизиращ разтвор.
5. DAB Part B (20 mL) ≤0,1% (v/v) водороден пероксид в стабилизиращ разтвор.
6. Активатор Red Part A (5,5 mL), съдържащ 0,5% ProCli™ 950.
7. Субстрат Red Part B (1,0 mL).
8. Субстрат Red Part C (1,0 mL).
9. Буферен разтвор Red Part D (35 mL), съдържащ 0,5% ProCli™ 950.
10. Nematocylin DS9665 (7,5 mL) <0,1% Nematocylin.

Разреждане и смесване

ChromoPlex 1 Dual Detection е оптимизирана за употреба със системата BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

Не се изисква възстановяване, смесване, разреждане или титриране на тези реактиви.

Необходими, но непредоставени материали

Микроскопски препарати, съвместими с ChromoPlex 1 Dual Detection (вж. **Предпазни мерки**).

Вижте „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND за пълен списък от материалите, необходими за третиране на спесимени и имунохистохимично оцветяване, използвайки системата BOND.

Съхранение и стабилност

Да се съхранява при температура 2 – 8 °С. Да не се замразява. Да не се използва след срока на годност, отбелязан върху етикета на дръжката на таблата. Да се върне на температура 2 – 8 °С веднага след употреба.

Не са налице очевидни признаци, указващи нестабилност на този продукт, ето защо позитивните и негативните контроли трябва да бъдат обработвани едновременно с неизвестните спесимени (вижте „Контрол на качеството“ в раздел „Употреба на реактиви BOND“ от Вашата документация за потребителя за BOND).

Ако се наблюдава неочаквано оцветяване, което не може да бъде обяснено с промяна в лабораторните процедури, и ако е налице подозрение за проблем със системата за откриване, свържете се незабавно с Вашия местен дистрибутор или с регионалния офис на Leica Biosystems.

Другите условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя¹.

Предпазни мерки

- ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ – някои микроскопски препарати могат да причинят кристализиране или избледняване на червения хромоген.
- НЕ ИЗПОЛЗВАЙТЕ DPX, Entellan®, Leica CV Mount, бързо втвърдяващ се микроскопски препарат Eukitt®, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® и микроскопски препарати Pertex, тъй като те не са подходящи за употреба с този продукт.
- Избледняване или кристализация не са наблюдавани с: Leica CV Ultra Mounting Media (каталожен № 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc., каталожен № 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories, каталожен № H-5000) и Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences, каталожен № 17987-01).
- Съвместимостта на други микроскопски препарати трябва да бъде цялостно проверена от потребителя преди употреба. Неспазването на това може да доведе до намаляване на оцветяването поради избледняване или кристализация.

DAB Part 1

Съдържа етиленгликол (>90%) и 66 mM (<10%) 3,3' диаминобензидин тетрахиdroхлорид хидрат.
GHS07: Удивителен знак.
GHS08: Опасност за здравето.
Сигнални думи: Опасност.

H302: Вреден при поглъщане.
H341: Предполага се, че причинява генетични дефекти.
H350: Може да причини рак.

P201: Преди употреба се снабдете със специални инструкции.
P202: Не използвайте, преди да сте прочели и разбрали всички предпазни мерки за безопасност.
P280: Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.
P264: Измийте ръцете си старателно след употреба.
P270: Да не се яде, пие или пуши при употреба на продукта.
P301+312: ПРИ ПОГЛЪЩАНЕ: Ако се чувствате зле, обадете се на ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ.
P330: Изплакнете устата.
P308+313: ПРИ явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/помощ.

Red Part C

Съдържа 1,0 M (<10%) гидрохлорна киселина.
GHS05: Корозия.
Сигнални думи: Предупреждение.

H290: Може да бъде корозивно за металите.

P234: Да се съхранява само в оригиналната опаковка.
P390: Полийте разлятото, за да се предотвратят материални вреди.

- Активираният и субстратният разтвори могат да причинят раздразнение на кожата, очите, лигавиците и горните дихателни пътища. При работа с реактивите носете нитрилови ръкавици за еднократна употреба. Изхвърлете в съответствие с местните регламенти.
- За да получите копие на информационния лист за безопасност на материалите, свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионален офис на Leica Biosystems. Алтернативно можете посетите уебсайта на Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Спесимените преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тяхното влияние, трябва да бъдат третирани като способни да предадат инфекция и да бъдат изхвърлени, прилагайки съответните предпазни мерки³. Никога не пипетирайте реактиви с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реактиви или спесимени. В случай че реактиви или спесимени влязат в контакт с чувствителни участъци, промийте с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.
- Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.
- Свеждайте до минимум микробната контаминация на реактивите, иначе може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване.
- Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до грешни резултати. Такива промени трябва да бъдат валидирани от потребителя¹.
- Не смесвайте реактиви от различни системи за откриване.

Инструкции за употреба

ChromoPlex 1 Dual Detection е разработена за употреба с автоматизираната система BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III), като се използва *IHC Protocol K - 50 Test. Работните параметри за прилагане с реактивите на системата за откриване на BOND Processing Module са оптимизирани от Leica Biosystems. Те могат да бъдат показани, следвайки указанията във Вашата документация на потребителя на BOND.

Използвайте бърза алкохолна/киселинова дехидрация.

След завършване или отмяна на *IHC Protocol K - 50 Test. трябва да изминат прибл. 15 минути, преди системата BOND да започне нов цикъл по същия комплект за оцветяване на предметни стъкла.

Специфични ограничения на продукта

Системата ChromoPlex 1 Dual Detection е оптимизирана от Leica Biosystems за употреба със спомагателни реактиви BOND. Лабораториите може да използват коктейли от собствени първични антитела, при условие че са разтворени в подходяща концентрация с BOND Primary Antibody Diluent (каталожен № AR9352). Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните процедури за тестване, трябва да поемат отговорност за интерпретацията на резултатите на пациентите при тези обстоятелства.

Подходящата концентрация на собствените първични антитела на потребителя може да варира поради вариацията във фиксацията на тъканта и ефективността на усилването на антигена и трябва да се определи емпирично. Трябва да се използват негативни контроли на реактивите при оптимизиране на условията на извличане и първичните концентрации на антитела.

Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или на неговата липса трябва да бъде допълнена от морфологични изследвания и съответните контроли.

Те трябва да бъдат оценени в контекста на клиничната история на пациента и на други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

Някои микроскопски препарати не са съвместими с ChromoPlex 1 Dual Detection (вж. **Предпазни мерки**).

Свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионалния офис на Leica Biosystems за повече информация.

Отстраняване на неизправности

Разгледайте референция 4 за коригиращи действия.

Свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионалния офис на Leica Biosystems, за да съобщите за необичайно оцветяване.

Допълнителна информация

Допълнителна информация за имунооцветяване с реактиви BOND можете да намерите в „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND под заглавията „Принцип на процедурата“, „Необходими материали“, „Приготвяне на спесимен“, „Контрол на качеството“, „Потвърждаване на анализа“, „Интерпретация на оцветяването“, „Легенда на символите на етикетите“ и „Общи ограничения“.

Библиография

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 е търговска марка на Supelco, част от Sigma-Aldrich Corporation.

Дата на издаване

24 Септември 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Katalógusszám: DS9665

Alkalmazási terület

Ez a detektáló rendszer *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.

A ChromoPlex™ 1 Dual Detection biotinmentes, polimer tormaperoxidázhoz (horseradish peroxidase, HRP) és polimer alkalikus foszfatázhoz (alkaline phosphatase, AP) kötődő antitest-konjugáló rendszer a szövethez kötött egér és nyúl IgG elsődleges antitestek kimutatására. Formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövet metszeteinek festésére szolgál BOND automata rendszer (így a Leica BOND-MAX rendszer és a Leica BOND-III rendszer) használatával.

Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni. A megfelelő kontrollok kiértékelését a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

A ChromoPlex 1 Dual Detection kítet a helyes laboratóriumi gyakorlatnak megfelelően, szövetkontrollokkal kell alkalmazni. A biztonság kedvéért a laboratóriumok minden betegminta festését pozitív, negatív, illetve szükség szerint más szövetspecikus kontrollokkal párhuzamosan végezzék el.

Összefoglalás és magyarázat

Az immunhisztokémiai módszerek antigének jelenlétének kimutatására szolgálnak szövetekben és sejtekben (lásd a „BOND reagensek használata” című részt a BOND felhasználói dokumentációban).

A ChromoPlex 1 Dual Detection új kontrollált polimerizáló technológiát alkalmaz a polimer HRP-kötő és AP-kötő antitest-konjugátumok előállításához. A detektáló rendszer nem alkalmaz sztreptavidint és biotint, ezáltal kiiktatja az endogén biotin eredményeképp létrejövő nem specifikus festődést.

A ChromoPlex 1 Dual Detection az alábbi módon működik:

- A rendszer inkubálja a mintát hidrogén-peroxidban az endogén peroxidázaktivitás megszüntetése céljából.
- A felhasználó által biztosított specifikus elsődleges egér és nyúl antitestekből kell alkalmazni a metszeten.
- A Poly-HRP IgG reagens lokalizálja az egér antitesteket.
- A Poly-AP IgG reagens lokalizálja a nyúl antitesteket.
- Az első kromogén szubsztrát, a 3,3'-diaminobenzidin-tetrahidroklorid-hidrát (DAB) barna csapadékként megjeleníti az egér antitesteket.
- A második kromogén szubsztrát (Fast Red) vörös csapadékként megjeleníti a nyúl antitesteket.
- A hematoxiin (kék) kontrasztfesték lehetővé teszi a sejtmagok megjelenítését.

Ha a ChromoPlex 1 Dual Detection kítet BOND automata rendszerrel együtt használják (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel), csökken az emberi hibák lehetősége, és mérsékelhetők az egyes reagensek hígításából, a manuális pipetázásból és a reagensek alkalmazásából származó eredendő eltérések.

Biztosított reagensek

A biztosított reagensmennyiség 25 önálló BOND megfestési sorozathoz vagy legfeljebb 50 tárgylemezhez elég.

Ahhoz, hogy a detektáló rendszerrel a maximális 50 tárgylemez legyen vizsgálható, a tárgylemezeket tárgylemezfestő készletenként legalább 2-esével kell csoportosítani. 2-nél kevesebb tárgylemez tartalmazó sorozatok alkalmazásával kevesebb tárgylemez megfestése lehetséges.

1. Peroxide Block (7,5 ml) 3–4%-os hidrogén-peroxid.
2. Polymer mHRP (7,5 ml) Poly-HRP egér ellenes, tris-pufferelt sóoldatban 10 térfogatszázalék állati szérumot és 0,09% ProClin™ 950-et tartalmaz.
3. Polymer rAP (7,5 ml) Poly-AP nyúl ellenes, tris-pufferelt sóoldatban 10 térfogatszázalék állati szérumot és 0,09% ProClin 950-et tartalmaz.
4. DAB Part 1 (1 ml) 66 mM 3,3'-diaminobenzidin-tetrahidroklorid-hidrát stabilizáló oldatban.
5. DAB Part B (20 ml) ≤0,1 térfogatszázalékos hidrogén-peroxid stabilizáló oldatban.
6. Red Part A (5,5 ml) aktivátor, 0,5% ProClin 950-et tartalmaz.
7. Red Part B (1,0 ml) szubsztrát.
8. Red Part C (1,0 ml) szubsztrát.
9. Red Part D (35 ml) pufferoldat, 0,5% ProClin 950-et tartalmaz.
10. Hematoxiin DS9665 (7,5 ml) <0,1% hematoxiin.

Hígítás és elegyítés

A ChromoPlex 1 Dual Detection BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel és a Leica BOND-III rendszerrel) való használathoz optimalizált.

Nem szükséges a reagensek feloldása, elegyítése, hígítása vagy titrálása.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

A ChromoPlex 1 Dual Detection reagensekkel kompatibilis fedőanyagok (lásd **Övintézkedések**).

A minta kezeléséhez és a BOND rendszerrel végzett immunhisztokémiai festéshez szükséges anyagok teljes listáját lásd a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagensek használata” című részében.

Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. Tilos lefagyasztani. Ne használja a terméket a tálca markolatán feltüntetett lejáratú dátum után. Felhasználás után azonnal tegye vissza 2–8 °C közötti hőmérsékletre.

Nincsenek a termék instabilitására utaló egyértelmű jelek, ezért javasolt pozitív és negatív kontrollok ismeretlen mintákkal való párhuzamos futtatása (lásd a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagensek használata” című részében a „Minőség-ellenőrzés” című szakaszt).

Amennyiben váratlan és a laboratóriumi eljárások eltéréseivel nem magyarázható festődést észlel, és azt gyanítja, hogy a detektáló rendszer okozza a problémát, haladéktalanul forduljon a helyi forgalmazóhoz vagy a Leica Biosystems regionális irodájához.

A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell¹.

Óvintézkedések

- FIGYELEM – egyes fedőanyagok a vörös kromogén kristályosodását vagy halványulását idézhetik elő.
- NE HASZNÁLJON DPX, Entellan® vagy Leica CV Mount fedőanyagot, Eukitt® gyorsan keményedő fedőanyagot, valamint Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® és Pertex fedőanyagot, mert ezek nem megfelelőek a termékkel való használatra.
- Nem figyeltek meg halványulást és kristályosodást a következőkkel: Leica CV Ultra Mounting Media (kat.: 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc., kat.: 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories, kat.: H-5000) és Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences, kat.: 17987-01).
- A többi fedőanyag kompatibilitását a felhasználónak használat előtt maradéktalanul validálnia kell. Ennek elmulasztása a festés csökkenéséhez vezethet a halványulás vagy kristályosodás következtében.

DAB Part 1

Etilén-glikolt (>90%)
és 66 mM (<10%)
3,3'-diaminobenzidin-
tetrahidroklorid-hidrátot
tartalmaz.
GHS07: Felkiáltójel.
GHS08: Egészségi
veszély.
Jelzőszók: Veszély.

H302: Lenyelve ártalmas.
H341: Feltehetően genetikai
károsodást okoz.
H350: Rákot okozhat.

P201: Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó
különböleges utasításokat.
P202: Ne használja addig, amíg az összes biztonsági
óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette.
P280: Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata
kötelező.
P264: A használatot követően a kezét alaposan meg kell mosni.
P270: A termék használata közben tilos enni, inni vagy
dohányozni.
P301+312: LENYELÉS ESETÉN: Rosszullét esetén forduljon
TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz.
P330: A száját ki kell öblíteni.
P308+313: Expozíció vagy annak gyanúja esetén: orvosi ellátást
kell kérni.

Red Part C

1,0 M (<10%) sósvat
tartalmaz.
GHS05: Maró.
Jelzőszók: Figyelem.

H290: Fémekre korrozív hatású
lehet.

P234: Az eredeti edényben tartandó.
P390: A kiömlött anyagot fel kell itatni a körülvevő anyagok
károsodásának megelőzése érdekében.

- Az aktivátor és a szubsztrátoldatok a bőr, a szem, a nyálkahártyák és a felső légutak irritációját okozhatják. A reagensek kezeléséhez viseljen egyszer használatos nitrilkesztyűt. Az ártalmatlanítást a helyi előírásoknak megfelelően végezze.
- Az anyagbiztonsági adatlap igényléséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához. Másik lehetőségként keresse fel a Leica Biosystems weboldalát a www.LeicaBiosystems.com címen.
- A mintákat fixálás előtt és után, valamint a velük érintkező összes anyagot fertőzések terjesztésére képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani³. Soha ne pipettázza szájával a reagenseket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet. Forduljon orvoshoz.
- Minden potenciálisan toxikus összetevő ártalmatlanításával kapcsolatban kövesse a szövetségi, állami és helyi előírásokat.
- Minimálisan kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés.
- A megadottaktól eltérő inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell¹.
- Ne keverje össze a különböző detektáló rendszerekből származó reagenseket.

Használati útmutató

A ChromoPlex 1 Dual Detection kit BOND automata rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) és az *IHC Protocol K - 50 Test protokollal való együttes használatra lett kifejlesztve. A detektáló rendszerhez tartozó reagensek BOND Processing Module feldolgozóegységen történő alkalmazásának működési paramétereit a Leica Biosystems optimalizálta. Ezek a BOND felhasználói dokumentációban található útmutatások követésével jeleníthetők meg.

Alkalmazzon gyors alkoholos/xilolos dehidrálat.

Az *IHC Protocol K - 50 Test befejezését vagy megszakítását követően hozzávetőleg 15 perc szünet következik, mielőtt a BOND rendszer újabb kezelési ciklust kezd ugyanazzal a tárgylemezfestő készlettel.

Termékspecifikus korlátozások

A ChromoPlex 1 Dual Detection terméket a Leica Biosystems a BOND segédreagensekkel való használatra optimalizálta.

A laboratóriumok használhatják saját elsődleges antitestkötőjeiket, ha BOND Primary Antibody Diluent (katalógusszám: AR9352) alkalmazásával megfelelő koncentrációra hígítják őket. A tesztelési eljárásoktól való eltérés esetén a felhasználó felelőssége a betegeredmények értelmezése az adott körülmények között.

A felhasználó saját elsődleges antitestjeinek megfelelő koncentrációja a szövet fixálásának és az antigén-erősítés hatékonyságának eltérései miatt változó lehet, ezért tapasztalati alapon történő meghatározást igényel. Negatív reagenskontrollokat kell használni a feltárási körülmények és az elsődlegesantitest-koncentrációk optimalizálásakor.

Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni. Az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

Egyes fedőanyagok nem kompatibilisek a ChromoPlex 1 Dual Detection reagensekkel (lásd **Övintézkedések**).

További információért forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához.

Hibaelhárítás

A javító intézkedéseket lásd a 4. hivatkozásban.

Szokatlan festődés bejelentéséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához.

További információk

A BOND reagensekkel végzett immunfestésre vonatkozó további információkat a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagensek használata” című részében talál a következő szakaszokban: Az eljárás elve, Szükséges anyagok, A minták előkészítése, Minőség-ellenőrzés, A teszt ellenőrzése, A festődés értelmezése, A címkéken szereplő szimbólumok magyarázata és Általános korlátozások.

Szakirodalom

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
 3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
- A ProClin 950 a Sigma-Aldrich Corporation részét képező Supelco védjegye.

Kiadás dátuma

24 szeptember 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Nr. catalog: DS9665

Utilizare prevăzută

Acest sistem de detecție este destinat utilizării pentru diagnosticare *in vitro*.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection este un sistem conjugat de anticorpi fără biotină cu legătură de peroxidază din hrean (HRP) polimerică și legătură de fosfatază alcalină polimerică (AP) pentru detectarea anticorpilor primari IgG de șoarece și iepure legați la țesuturi. Este destinat colorării secțiunilor de țesut fixat cu formalină și încorporat în parafină cu sistemul automat BOND (include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

Interpretarea clinică a oricărei colorații sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice. Controalele adecvate trebuie evaluate în contextul istoricului clinic al pacientului și al altor teste de diagnosticare de către un patolog calificat.

ChromoPlex 1 Dual Detection trebuie utilizat cu bune practici de laborator în utilizarea de țesuturi de control. Pentru asigurare, laboratoarele trebuie să coloreze fiecare eșantion de la pacient în conjuncție cu țesuturi de control pozitive, negative sau alte controale specifice, după cum este necesar.

Rezumat și explicație

Pot fi utilizate tehnici imunohistochimice pentru a demonstra prezența antigenilor în țesut și celule (a se vedea „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația de utilizare BOND).

ChromoPlex 1 Dual Detection o tehnologie nouă de polimerizare controlată pentru prepararea conjugatelor de anticorpi de legătură HRP și de legătură AP. Sistemul de detecție evită utilizarea streptavidinei și biotinei, eliminând astfel colorația nespecifică din cauza biotinei endogene.

ChromoPlex 1 Dual Detection funcționează după cum urmează:

- Specimenul este incubat cu apă oxigenată pentru a stinge activitatea peroxidazei endogene.
- Se aplică un cocktail de anticorpi primari de șoarece și iepure furnizat de utilizator.
- Reactivul IgG Poly-HRP localizează anticorpii de șoarece.
- Reactivul Poly-AP IgG localizează anticorpii de iepure.
- Primul substrat cromogen, tetraclorură hidratată de 3,3'-diaminobenzidină (DAB), vizualizează anticorpii de șoarece printr-un precipitat cafeniu.
- Al doilea substrat cromogen (Fast Red) vizualizează anticorpii de iepure printr-un precipitat roșu.
- Contracolorația cu Hematoxylin (albastru) permite vizualizarea nucleelor celulelor.

Utilizarea Chromoplex 1 Dual Detection, în combinație cu sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III), reduce posibilitatea producerii erorii umane și variabilitatea inerentă care rezultă din diluția individuală a reactivului, pipetarea manuală și aplicarea reactivului.

Reactivi furnizați

Reactivii furnizați sunt suficienți pentru 25 de colorări BOND individuale sau maxim 50 de lamele.

Pentru a realiza un maxim de 50 de lamele de la acest sistem de detecție, lamelele trebuie grupate în loturi cu cantități de 2 sau mai mari, conform Ansamblului de colorație de Lamele. Loturile cu cantități mai mici de 2 vor produce mai puține lamele colorate.

1. Peroxide Block (7,5 ml) 3-4% apă oxigenată.
2. Polymer mHRP (7,5 ml) Poly-HRP anti-șoarece conținând 10% (v/v) ser animal în soluție salină tamponată cu trometamină și 0,09% ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7,5 ml) Poly-AP anti-iepure conținând 10% (v/v) ser animal în soluție salină tamponată cu trometamină și 0,09% ProClin 950.
4. DAB Part 1 (1 ml) 66 mM hidrat de tetraclorură de 3,3'-diaminobenzidină în soluție stabilizatoare.
5. DAB Part B (20 ml) ≤0,1% (v/v) Apă oxigenată în soluție stabilizatoare.
6. Red Part A (5,5 ml) Activator conținând 0,5% ProClin 950.
7. Substrat Red Part B (1,0 ml).
8. Substrat Red Part C (1,0 ml).
9. Red Part D (35 ml) Soluție tampon conținând 0,5% ProClin 950.
10. Hematoxylin DS9665 (7,5 ml) <0,1% Hematoxylin.

Diluare și amestecare

ChromoPlex 1 Dual Detection este optimizată pentru utilizare pe sistemul BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

Reconstituirea, amestecarea, diluarea sau titrarea acestor reactivi nu sunt necesare.

Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

Mediu de montare compatibil cu ChromoPlex 1 Dual Detection (a se vedea **Măsuri de precauție**).

Consultați „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND pentru o listă completă a materialelor necesare pentru tratarea speciemenelor și colorația imunohistochimică utilizând sistemul BOND.

Depozitare și stabilitate

A se depozita la 2–8 °C. A nu se congela. A nu se utiliza după data expirării indicată pe eticheta de pe mânerul tăvii. A se returna la 2–8 °C imediat după utilizare.

Nu există semne evidente care să indice instabilitatea acestui produs; prin urmare trebuie rulate controale pozitive și negative simultan cu speciemenle necunoscute (consultați „Controlul calității” în secțiunea “Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare BOND).

Dacă se observă o colorație neașteptată care nu poate fi explicată prin variații în procedurile de laborator și se suspectează că există o problemă la sistemul de detecție, contactați imediat distribuitorul local sau biroul regional al Leica Biosystems.

Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator¹.

Precauții

- **AVERTIZARE** - unele medii de montare pot face cromogenul roșu să se cristalizeze sau să se decoloreze.
- **NU UTILIZAȚI DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt®** mediu de montare cu întărire rapidă, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® și mediu de montare Pertex, întrucât acestea nu sunt adecvate pentru utilizare cu acest produs.
- Nu s-a observat decolorație sau cristalizare la: Leica CV Ultra Mounting Media (Cat 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc. Cat 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories Cat H-5000) și Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences Cat 17987-01).
- Compatibilitatea altor medii de montare trebuie validată pe deplin înainte de utilizare. Nerespectarea acestei reguli poate duce la reducerea colorării din cauza decolorării sau cristalizării.

DAB Part 1

Conține etilen glicol (>90%) și tetraclorură hidratată de 3,3' diaminobenzidină 66 mM (<10%).

GHS07: Semn de exclamare.

GHS08: Pericol pentru sănătate.

Cuvinte de avertizare: Pericol.

H302: Nociv în caz de înghițire.

H341: Susceptibil de a provoca anomalii genetice.

H350: Poate provoca cancer.

P201: Procurați instrucțiuni speciale înainte de utilizare.

P202: A nu se manipula decât după ce au fost citite și înțelese toate măsurile de securitate.

P280: Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/ echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței.

P264: Spălați-vă bine mâinile după manipulare.

P270: A nu mânca, bea sau fuma în timpul utilizării produsului.

P301+312: ÎN CAZ DE ÎNGHIȚIRE: Sunați la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ sau un medic, dacă nu vă simțiți bine.

P330: Clătiți gura.

P308+313: ÎN CAZ DE expunere sau de posibilă expunere: Consultați medicul.

Red Part C

Conține acid clorhidric 1,0 M (<10%).

GHS05: Coroziv.

Cuvinte de avertizare: Avertizare:

H290: Poate fi corosiv pentru metale

P234: Păstrați numai în recipientul original.

P390: Absorbiți scurgerile de produs, pentru a nu afecta materialele din apropiere.

- Soluțiile activatoare și de substrat pot cauza iritații ale pielii, ochilor, mucoaselor și căilor respiratorii superioare. Purtați mănuși de unică folosință de nitril atunci când manipulați reactivii. Eliminați conform reglementărilor locale.
- Pentru a obține o copie a fișei tehnice de securitate a materialului, luați legătura cu distribuitorul dvs. local sau cu biroul regional al Leica Biosystems Ca alternativă, vizitați site-ul web Leica Biosystems¹, www.LeicaBiosystems.com
- Speciemenle, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manipulate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate³. Nu pipetați niciodată reactivii cu gura și evitați contactul reactivilor și speciemenelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.
- Consultați reglementările naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea la deșeurii a oricăror componente cu potențial toxic.
- Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorării nespecifice.
- Timpii sau temperaturile de incubație care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificare trebuie validată de către utilizator¹.
- Nu amestecați reactivii din sisteme de detecție diferite.

Instrucțiuni de utilizare

ChromoPlex 1 Dual Detection a fost dezvoltat pentru utilizare cu sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III) utilizând *IHC Protocol K - 50 Test. Parametrii de funcționare pentru aplicarea reactivilor sistemului de detecție la BOND Processing Module au fost optimizați de Leica Biosystems. Aceștia pot fi prezentați urmând instrucțiunile din documentația de utilizare BOND.

Utilizați deshidratare rapidă cu alcool/xilen.

După finalizarea sau întreruperea *IHC Protocol K - 50 Test, există un decalaj de aproximativ 15 minute înainte ca sistemul BOND să înceapă o altă rulare la același Ansamblu de colorație Lamelă.

Restricții specifice produsului

ChromoPlex 1 Dual Detection a fost optimizat la Leica Biosystems pentru utilizare cu reactivii auxiliari BOND. Laboratoarele pot folosi propriile cocktailuri de anticorpi primari dacă au fost diluate la o concentrație corespunzătoare cu BOND Primary Antibody Diluent (Nr. catalog AR9352). Utilizatorii care se abat de la procedurile de testare recomandate trebuie să accepte responsabilitatea pentru interpretarea rezultatelor pacientului în aceste circumstanțe.

Concentrația corectă a anticorpilor primari ai utilizatorului poate varia, din cauza variației în fixarea țesutului și eficacității intensificării antigenului, și trebuie să fie determinată empiric. Atunci când se optimizează condițiile de recuperare și concentrațiile anticorpului primar trebuie să fie utilizați reactivi de control negativ.

Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice și controale adecvate. Acestea trebuie evaluate în contextul istoricului clinic al pacientului și al altor teste de diagnostic de către un patolog calificat.

Unele medii de montare nu sunt compatibile cu ChromoPlex 1 Dual Detection (a se vedea **Măsuri de precauție**).

Contactați distribuitorul dumneavoastră local sau biroul regional al Leica Biosystems pentru mai multe informații.

Rezolvarea problemelor

Consultați referința 4 pentru acțiuni de remediere.

Contactați distribuitorul dumneavoastră local sau biroul regional al Leica Biosystems pentru raportarea colorării neobișnuite.

Informații suplimentare

Informații suplimentare referitoare la imunocolorația cu reactivii BOND, sub titlurile Principiul procedurii, Materiale necesare, Pregătirea specimenului, Controlul calității, Verificarea analizei, Interpretarea colorării, Codul simbolurilor de pe etichete și Limitări generale pot fi găsite în „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND.

Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 este o marcă comercială a Supelco, care face parte din Sigma-Aldrich Corporation.

Data publicării

24 septembrie 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Номер по каталогу: DS9665

Назначение

Данная система обнаружения предназначена для диагностики *in vitro*.

Система двойного обнаружения ChromoPlex™ 1 Dual Detection представляет собой не содержащую биотина систему для формирования конъюгатов антител, в состав которой входят подвергшиеся полимеризации пероксидаза хрена (HRP) и щелочная фосфатаза (AP). Система предназначена для обнаружения первичных антител IgG мыши и кролика. Она предназначена для окрашивания фиксированных формалином и залитых в парафин образцов тканей с использованием автоматизированной системы BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica).

Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна дополняться данными морфологических исследований. Надлежащие контроли должны оцениваться квалифицированным патогистологом с учетом анамнеза пациента и результатов других диагностических исследований.

Система двойного обнаружения ChromoPlex 1 Dual Detection должна использоваться в сочетании с передовыми методами работы лабораторий в отношении применения тканей в качестве контроля. В целях гарантии лаборатории должны окрашивать каждый образец, взятый у пациента, в сочетании с положительными и отрицательными контролями, а также тканями, используемыми в качестве специфического контроля, насколько это необходимо.

Краткое изложение и пояснение

Иммуногистохимические методы могут использоваться для выявления антигенов в тканях и клетках (смотрите монографию «Применение реактивов BOND» в документации пользователя BOND).

В системе двойного обнаружения ChromoPlex 1 Dual Detection используется новая технология контролируемой полимеризации, что позволило подготовить сшивающие белки HRP-линкер и AP-линкер для сшивания полимеров, чтобы обеспечить формирование конъюгата антител с другими соединениями. Система обнаружения позволяет избежать использования стрептавидина и биотина, следовательно, устраняет неспецифическое окрашивание, обусловленное эндогенным биотином.

Система двойного обнаружения ChromoPlex 1 Dual Detection работает следующим образом:

- Образец инкубируется в присутствии пероксида водорода для того, чтобы подавить активность эндогенной пероксидазы.
- Используйте смесь специфических первичных антител мыши и кролика, которые предоставляются пользователем.
- Реактив Poly-HRP IgG локализует антитела мыши.
- Реактив Poly-AP IgG reagent локализует антитела кролика.
- Первый субстрат хромогена, 3,3-диаминобензидина тетрагидрохлорид гидрат (DAB), позволяет визуализировать антитела мыши за счет образования коричневого осадка.
- Второй субстрат хромогена (Fast Red) делает видимыми антитела кролика за счет образования преципитата красного цвета.
- Гематоксилин Hematoxylin (синий), контрастирующий краситель, дает возможность визуализировать ядра клеток.

При использовании системы двойного обнаружения ChromoPlex 1 Dual Detection в комбинации с автоматизированной системой BOND (включает системы Leica BOND-MAX и Leica BOND-III) снижается вероятность человеческой ошибки и вариабельности результатов в связи с разведением реактивов, ручным дозированием и нанесением реактива.

Реактивы, входящие в комплект поставок

Реагенты поставляются в количестве, достаточном для выполнения 25 отдельных процессов окрашивания с использованием BOND, или получения 50 препаратов, максимально.

Чтобы получить максимальное, т.е. 50, число препаратов с использованием этой системы обнаружения, препараты следует объединить в серию (пакет) по 2 или более в расчете на установку, использующую для окрашивания препаратов Slide Staining Assembly. Формирование серий в количествах менее 2 к получению меньшего числа окрашенных препаратов.

1. Блок пероксида Peroxide Block (7,5 млб) 3-4 % пероксид водорода.
2. Полимер Polymer mHRP (7,5 млб) Poly-HRP для связывания антител мыши 10 % (o/o) сыворотку животного в трис-солевом буферном растворе и 0,09 % ProClin™ 950.
3. Полимер Polymer gAP для связывания антител кролика (7,5 млб) Poly-AP, содержащий 10 % (o/o) сыворотку животных в трис-солевом буферном растворе и 0,09 % ProClin 950.
4. Реактив DAB Part 1 (1 млб) 66 мМ раствор DBA (3,3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate) в стабилизирующем растворе.
5. Реагент DAB Part B (20 млб): ≤0,1 % (o/o) пероксида водорода в стабилизирующем растворе.
6. Реагент Red Part A (5,5 млб) Activator - Активатор, содержащий 0,5 % ProClin 950.
7. Субстрат Red Part B (1,0 млб)
8. Субстрат Red Part C (1,0 млб)
9. Реагент Red Part D (35 млб) - буферный раствор, содержащий 0,5 % ProClin 950.
10. Hematoxylin DS9665 (7,5 млб): <0,1 % гематоксилина.

Разведение и смешивание

Система двойного обнаружения ChromoPlex 1 Dual Detection была оптимизирована для использования на автоматизированной системе BOND (включая системы Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

Этот реактив не требует восстановления, смешивания, разведения или титрования.

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

Среды для заливки препаратов, которые совместимы с системой ChromoPlex 1 Dual Detection (смотрите раздел «Меры предосторожности»).

Полный список материалов, необходимых для обработки и иммуногистохимического окрашивания образцов с использованием системы BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica), представлен в разделе «Применение реактивов BOND» документации пользователя системы BOND.

Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2–8 °C. Не замораживать. Не используйте по истечении срока годности, который указан на маркировке ручки лотка. После использования незамедлительно вернуть на хранение при температуре 2–8 °C.

Не имеется очевидных признаков, которые бы указывали на нестабильность данного продукта, поэтому отрицательные и положительные контроли следует обрабатывать одновременно с неизвестными образцами (см. «Контроль качества» в разделе «Использование реактивов BOND» в вашей документации пользователя BOND).

Если наблюдается неожиданное окрашивание, которое не может быть объяснено различиями выполнения лабораторных исследований, а также предполагается проблема с системой обнаружения, незамедлительно обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис Компании Leica Biosystems.

Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть верифицированы пользователем¹.

Меры предосторожности

- ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: некоторые среды для заливки препаратов могут вызвать кристаллизацию хромогена или его обесцвечивание.
- НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ быстро затвердевающие заливочные среды препаратов DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt® и среды для заливки Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® и Pertex, поскольку они несовместимы с данной продукцией.
- Обесцвечивание или кристаллизации не наблюдалось при: Использование заливочных сред Leica CV Ultra Mounting Media (кат. № 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc., кат. № 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories, кат. № H-5000) и Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences, кат. № 17987-01).
- Совместимость с другими заливочными средами препаратов должна быть полностью валидирована пользователем до применения. Невозможность этого может привести к ухудшению окрашивания из-за обесцвечивания или кристаллизации.

Реактив DAB Part 1

Содержит этиленгликоль (>90 %) и 66 мМ (<10 %) 3,3'-диаминобензидина тетрагидрохлорид гидрат. GHS07: Воспламеняющий знак. GHS08: Опасность для здоровья человека. Сигнальное слово: Опасно.

H302: вредно при проглатывании.
H341: Предположительно вызывает генетические дефекты.
H350: Может вызывать рак.

P201: Перед использованием необходимо получить специальные указания.
P202: Не использовать до тех пор, пока не будут прочтены и приняты к сведению все указания по технике безопасности.
P280: Надеть защитные перчатки/защитную одежду/ средства защиты глаз/средства защиты лица.
P264: После обращения с веществом тщательно вымойте руки.
P270: При использовании данной продукции не курите и не употребляйте пищу и напитки.
P301+312: В СЛУЧАЕ ПРОГЛАТЫВАНИЯ: При недомогании немедленно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или за медицинской помощью.
P330: прополощите рот.
P308+313: В случае воздействия или обеспокоенности: обратитесь за медицинской помощью.

Реактив Red Part C

Содержит 1,0 М (<10 %) хлористоводородной кислоты. GHS05: Коррозия. Сигнальное слово: Предупреждение.

H290: Может вызывать коррозию металлов.

P234: Хранить только в оригинальном контейнере.
P390: Промокните в случае разлива во избежание материального ущерба.

- Растворы активатора и субстрата могут вызвать раздражение кожи, глаз, слизистых оболочек и верхних отделов дыхательных путей. При работе с реактивами надевайте одноразовые нитриловые перчатки. Утилизируется в соответствии с местными санитарно-гигиеническими нормами.
- Для получения копии паспорта безопасности химической продукции обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems. В качестве альтернативы посетите веб-сайт компании Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com
- С образцами (до и после фиксации) и всеми материалами, на которые они воздействуют, следует обращаться как с потенциально способными к передаче инфекции и утилизировать, соблюдая соответствующие меры предосторожности³. Никогда не набирайте реактивы в пипетку ртом. Избегайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью.
- По вопросам утилизации любых возможно токсических компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.
- Сведите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания.
- Инкубация при температуре или продолжительностью, которые отличаются от указанных в инструкции, может дать ошибочные результаты. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем¹.
- Не смешивайте реактивы, предназначенные для различных систем обнаружения.

Инструкция по применению

Система двойного обнаружения ChromoPlex 1 Dual Detection была разработана для использования на автоматизированной системе BOND (включая Leica BOND-MAX и Leica BOND-III) с помощью протокола иммуногистохимического исследования *IHC Protocol K - 50 Test. Рабочие параметры для применения реактивов системы обнаружения на обрабатывающем модуле BOND Processing Module были оптимизированы компанией Leica Biosystems. Их можно отобразить, следуя инструкциям, которые изложены в документации пользователя BOND.

Выполняйте быструю дегидратацию, используя спирт/ксилол.

После завершения протокола *IHC Protocol K - 50 Test может быть задержка приблизительно на 15 минут перед тем, как система BOND начнет следующий прогон на том же установке для окрашивания препаратов Slide Staining Assembly.

Ограничения, специфичные для этого продукта

Система ChromoPlex 1 Dual Detection оптимизирована Компанией Leica Biosystems для использования со вспомогательными реактивами BOND. Лаборатории могут использовать свои собственные, предусмотренные спецификой смеси первичных антител. Их следует разводить до соответствующей концентрации, используя разбавитель первичных антител BOND Primary Antibody Diluent (номер по каталогу AR9352). Пользователи, отклоняющиеся от рекомендованных процедур анализа, должны брать на себя ответственность за интерпретацию результатов исследований пациентов, выполненных в таких условиях.

Требуемая концентрация собственных первичных антител пользователя может варьировать в зависимости от варианта фиксации тканей и эффективности «обогащения» антигенов и должна определяться эмпирически. При оптимизации условий демаскировки и длительности протокола следует использовать отрицательные контроли реактивов.

Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна дополняться данными морфологических исследований и соответствующих контролей.

Они должны оцениваться квалифицированным патогистологом с учетом анамнеза пациента и результатов других диагностических исследований.

Некоторые среды для заливки препаратов несовместимы с системой ChromoPlex 1 Dual Detection (смотрите раздел «Меры предосторожности»).

Для получения дополнительной информации обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems.

Поиск и устранение неполадок

Действия по устранению неполадок описаны в (4).

С сообщениями о необычном окрашивании обращайтесь к своему местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems.

Дополнительная информация

Дополнительная информация по иммуногистохимическому окрашиванию с использованием реактивов BOND содержится в рубриках «Принцип метода», «Необходимые материалы», «Подготовка образцов», «Контроль качества», «Проверка достоверности анализа», «Интерпретация окрашивания», «Значения символов в маркировке продукции» и «Ограничения общего характера» раздела «Применение реактивов BOND» документации пользователя системы BOND.

Список литературы

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 — торговая марка компании Supelco, входящей в состав корпорации Sigma-Aldrich.

Дата выпуска

24 Сентябрь 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Nr katalogowy: DS9665

Przeznaczenie

Ten odczynnik jest przeznaczony do diagnostyki *in vitro*.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection jest pozbawionym białek systemem sprzężonych przeciwciał zawierającym linker polimerowy peroksydazy chrzanowej (HRP) i linker polimerowy fosfatazy alkalicznej (AP) do wykrywania pierwszorzędowych przeciwciał tkankowych mysich i króliczych IgG. Jest przeznaczony do barwienia skrawków utwalonej w formalinie i zatopionej w parafinie tkanki w automatycznym systemie BOND (w tym w systemach Leica BOND-MAX i Leica BOND-III).

Kliniczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi. Odpowiednie kontrole powinny przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

The ChromoPlex 1 Dual Detection musi być stosowane zgodnie z dobrymi praktykami laboratoryjnymi stosowanymi w kontroli tkanek. Dla pewności laboratoria powinny barwić wszystkie próbki pobrane od pacjenta, stosując potrzebne kontrole pozytywne, negatywne i inne kontrole specyficzne dla danej tkanki.

Podsumowanie i objaśnienie

W celu wykazania obecności antygenów w tkankach i komórkach (zob. „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND) można skorzystać z technik immunohistochemicznych.

ChromoPlex 1 Dual Detection wykorzystuje nową technologię kontrolowanej polimeryzacji do przygotowania sprzężonych przeciwciał zawierających polimeryczny linker HRP i AP. Ten system detekcji nie wykorzystuje streptawidyny ani białek, co pozwala wyeliminować ryzyko niespecyficznego barwienia spowodowanego białkami endogennymi.

ChromoPlex 1 Dual Detection działa następująco:

- Próbkę inkubuje się z nadtlenkiem wodoru, aby stłumić endogenną aktywność peroksydazy.
- Stosowana jest mieszanka specyficznych przeciwciał pierwszorzędowych mysich i króliczych dostarczonych przez użytkownika.
- Odczynnik Poly-HRP IgG lokalizuje mysie przeciwciała.
- Odczynnik Poly-AP IgG lokalizuje królicze przeciwciała.
- Pierwszy chromogen substratu, tetrachlorowodorek 3,3'-diaminobenzyny (DAB), wizualizuje mysie przeciwciała, wytwarzając brązowy osad.
- Drugi chromogen substratu (Fast Red) wizualizuje królicze przeciwciała za pomocą czerwonego osadu.
- Barwienie kontrastowe hematoksylina (niebieska) umożliwia wizualizację jąder komórkowych.

Używanie ChromoPlex 1 Dual Detection w połączeniu z automatycznym systemem BOND (w tym systemami Leica BOND-MAX i Leica BOND-III), ogranicza prawdopodobieństwo popełnienia błędów przez człowieka i nieodłączną zmienność wynikającą z indywidualnego rozcieńczania odczynnika, ręcznego pipetowania i stosowania odczynnika.

Odczynniki znajdujące się w zestawie

Dostarczone odczynniki wystarczą do przeprowadzenia 25 pojedynczych serii barwienia BOND lub maksymalnie 50 preparatów.

Aby uzyskać maksymalnie 50 preparatów w tym samym systemie detekcji, w pojemniku do barwienia należy umieścić przynajmniej 2 preparaty. Zastosowanie wsadu w ilości mniejszej niż 2 spowoduje mniejszą ilość zabarwionych preparatów.

1. Peroxide Block (7,5 ml) 3-4% nadtlenek wodoru.
2. Polymer mHRP (7,5 mL) anty-mysi polimer HRP zawierający 10% (v/v) zwierzęcą surowicę w roztworze soli fizjologicznej buforowanym odczynnikiem Tris i 0,09% ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7,5 mL) anty-mysi polimer HRP zawierający 10% (v/v) surowicę zwierzęcą w roztworze soli fizjologicznej buforowanego odczynnikiem Tris i 0,09% ProClin™ 950.
4. DAB Part 1 (1 ml) 66 mM uwodnionego tetrachlorowodoru 3,3'-diaminobenzyny w roztworze stabilizowanym.
5. DAB Part B (20 ml) ≤0,1% (v/v) Nadtlenek wodoru w roztworze stabilizowanym.
6. Aktywator Red Part A (5,5 ml) zawierający 0,5% ProClin 950.
7. Substrat Red Part B (1,0 ml).
8. Substrat Red Part C (1,0 ml).
9. Roztwór buforowy Red Part D zawierający (35 ml) 0,5% ProClin 950.
10. Hematoksyna DS9665 (7,5 ml) <0,1% hematoksyliny.

Rozcieńczanie i mieszanie.

ChromoPlex 1 Dual Detection jest zoptymalizowany pod kątem użycia w systemie BOND (w tym systemach Leica BOND-MAX i Leica BOND-III).

W przypadku tego odczynnika nie jest konieczne dodawanie wody, mieszanie, rozcieńczanie ani miareczkowanie.

Wymagane materiały niedołączone do zestawu

Środek do zamykania preparatów mikroskopowych kompatybilny z ChromoPlex 1 Dual Detection (zob. **Środki ostrożności**).

W rozdziale „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND podano pełną listę materiałów wymaganych do przygotowania próbki i barwienia immunohistochemicznego przy użyciu systemu BOND.

Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2-8 °C. Nie zamrażać. Nie używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie umieszczonej na uchwyście tacki. Niezwłocznie po użyciu ponownie umieścić w temperaturze 2-8 °C.

Nie ma wyraźnych oznak wskazujących na niestabilność tego produktu; w związku z tym kontrole pozytywne i negatywne powinny być prowadzone jednocześnie z badaniem nieznanych próbek (patrz „Kontrola jakości” w rozdziale „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND).

W przypadku zaobserwowania nieoczekiwane barwienia, którego nie można wyjaśnić różnicami w procedurach laboratoryjnych i które może wskazywać na problem systemu detekcji, należy natychmiast skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurem Leica Biosystems.

Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych powyżej wymaga weryfikacji użytkownika¹.

Środki ostrożności

- **OSTRZEŻENIE** - niektóre środki do zamykania preparatów mikroskopowych mogą powodować krystalizację lub blaknięcie czerwonego chromogenu.
- **NIE UŻYWAĆ** DPX, Entellan®, Leica CV Mount, szybko twardniejącego środka do zamykania preparatów mikroskopowych Eukitt®, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® ani środka do zamykania preparatów mikroskopowych Pertex ponieważ nie są one wskazane dla tego produktu.
- Nie stwierdzono blaknięcia koloru ani krystalizacji w przypadku: Leica CV Ultra Mounting Media (Cat 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc. Cat 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories Cat H-5000) i Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences Cat 17987-01).
- Kompatybilność innych środków do zamykania preparatów mikroskopowych powinna zostać zweryfikowana przez użytkownika przed zastosowaniem. Nieprzebrnięcie tego zalecenia może spowodować zmniejszone barwienie w wyniku blaknięcia lub krystalizacji.

DAB Part 1

Zawiera glikol etylenowy (>90%) i 66 mM (<10%) uodnionego tetrachlorowodoru 3,3'-diaminobenzydyny. GHS07: Wykryznik. GHS08: Zagrożenie dla zdrowia. Słowa sygnalizujące: Niebezpieczeństwo.

H302: Działa szkodliwie po połknięciu.
H341: Podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne.
H350: Może powodować raka.

P201: Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.
P202: Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa.
P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
P264: Dokładnie umyć ręce po użyciu.
P270: Nie jeść, nie pić i nie palić podczas używania produktu.
P301+312: W PRZYPADKU POŁKNIĘCIA: W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM KONTROLI ZATRUĆ lub lekarzem.
P330: Wypłukać usta.
P308+313: W PRZYPADKU narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

P234: Przechowywać wyłącznie w oryginalnym pojemniku.
P390: Usunąć wyciek, aby zapobiec szkodom materialnym.

Red Part C

Zawiera 1,0 M (<10%) kwasu solnego. GHS05: Korozja. Słowa sygnalizujące: Ostrzeżenie.

H290: Może powodować korozję metali.

- Aktywator i roztwory substratu mogą powodować podrażnienie skóry, oczu, błon śluzowych i górnych dróg oddechowych. Podczas pracy z odczynnikami należy nosić rękawice neoprenowe jednorazowego użytku. Utylizować zgodnie z lokalnymi przepisami.
- Aby otrzymać egzemplarz karty charakterystyki, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurem Leica Biosystems. Ewentualnie należy odwiedzić stronę internetową Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Próbkę przed i po utrwaleniu oraz wszelkie materiały narażone na kontakt z nimi należy traktować jak materiały potencjalnie zakaźne i należy je utylizować z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności.³ Podczas pobierania pipetą nie wolno zasysać odczynników ustami i należy unikać kontaktu odczynników i preparatów ze skórą oraz błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.
- Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.
- Chronić odczynniki przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego.
- W przypadku zastosowania okresów inkubacji i temperatur innych niż podano w instrukcji mogą wystąpić błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.¹
- Nie mieszać odczynników z różnych systemów detekcji.

Instrukcja stosowania

System ChromoPlex 1 Dual Detection jest opracowany z myślą o zastosowaniu w automatycznym systemie BOND (w tym systemach Leica BOND-MAX i Leica BOND-III) z IHC Protocol K - 50 Test. Parametry pracy dla zastosowania odczynników systemu detekcji w module BOND Processing Module zostały zoptymalizowane przez Leica Biosystems. Można je wyświetlić, postępując zgodnie z instrukcjami zawartymi w dokumentacji użytkownika BOND.

Zastosować szybkie odwodnienie przy użyciu alkoholu/ksylenu.

Po zakończeniu lub przerwaniu IHC Protocol K - 50 Test kolejny cykl na tym samym preparacie do barwienia jest uruchamiany w systemie BOND z 15-minutowym opóźnieniem.

Szczególne ograniczenia dla produktu

System ChromoPlex 1 Dual Detection został zoptymalizowany w Leica Biosystems do użytku z odczynnikami pomocniczymi BOND. Laboratoria mogą wykorzystywać własne mieszanki przeciwciał pierwszorzędowych pod warunkiem, że zostały one rozcieńczone do odpowiedniego stężenia przy użyciu BOND Primary Antibody Diluent (Catalog No. AR9352). W tych okolicznościach użytkownicy, którzy postępują niezgodnie z zalecanymi procedurami testowymi muszą wziąć odpowiedzialność za interpretację wyników chorego.

Odpowiednie stężenie własnych przeciwciał pierwszorzędowych użytkownika może się różnić ze względu na zmienność w utrwalaniu tkanek i skuteczność trawienia enzymatycznego - musi ono zostać określone empirycznie. Podczas optymalizacji warunków odmaskowywania i stężenia przeciwciała pierwszorzędowego.

Kliniczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Niektóre środki do zamykania preparatów mikroskopowych nie są kompatybilne z ChromoPlex 1 Dual Detection (zob. **Środki ostrożności**).

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub z regionalnym biurem firmy Leica Biosystems.

Rozwiązywanie problemów

W celu uzyskania dalszych informacji dot. działań zaradczych zob. odsyłacz 4.

W celu zgłoszenia nietypowego barwienia należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub z regionalnym biurem firmy Leica Biosystems.

Dodatkowe informacje

Dodatkowe informacje dotyczące immunobarwienia przy użyciu odczynników BOND, o których mowa w rozdziałach „Zasady postępowania”, „Wymagane materiały”, „Przygotowanie próbek”, „Kontrola jakości”, „Weryfikacja testu”, „Interpretacja barwienia”, „Objaśnienie symboli na etykietach” i „Ograniczenia ogólne” można znaleźć w rozdziale „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika systemu BOND.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 jest znakiem handlowym firmy Supelco, będącej częścią Sigma-Aldrich Corporation.

Data publikacji

24 września 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Kataloška št.: DS9665

Predvidena uporaba

Ta sistem za zaznavanje je namenjen diagnostični uporabi *in vitro*.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection je sistem konjugata protitelesa ter polimerne hrenove peroksidaze (HRP) in povezovalnika ter polimerne alkalne fosfataze (AP) in povezovalnika brez biotina za zaznavanje mišjih in kunčjih primarnih protiteles IgG, vezanih na tkivo. Namenjen je za barvanje tkiva, fiksiranega s formalinom in vstavljenega v parafin, na avtomatiziranem sistemu BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III).

Klinično tolmačenje kakršnega koli obarvanja ali njegove odsotnosti morajo dopolnjevati morfološke študije. Ustrezne kontrole mora v okvirju klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceniti usposobljen patolog.

Izdelek ChromoPlex 1 Dual Detection je treba uporabljati skladno z dobro laboratorijsko prakso za uporabo tkivnih kontrol. Za zagotovitev zanesljivosti morajo laboratoriji obarvati vzorec vsakega bolnika skupaj s pozitivno in negativno kontrolo ter po potrebi vsemi drugimi kontrolami, specifičnimi za tkivo.

Povzetek in razlaga

Imunohistokemijske tehnike se lahko uporabijo za prikaz prisotnosti antigenov v tkivih in celicah (glejte »Uporaba reagentov BOND« v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND).

Izdelek ChromoPlex 1 Dual Detection uporablja novo tehnologijo nadzorovane polimerizacije za pripravo konjugatov protiteles s HRP in povezovalnikom oz. AP in povezovalnikom. Pri sistemu za zaznavanje se ne uporabljata streptavidin in biotin, zato se izognemo nespecifičnem barvanju, ki je posledica endogenega biotina.

ChromoPlex 1 Dual Detection deluje na naslednji način:

- Vzorec se inkubira v vodikovem peroksidu, da se zaustavi delovanje endogene peroksidaze.
- Doda se mešanica specifičnih primarnih mišjih in kunčjih protiteles.
- Reagent Poly-HRP IgG lokalizira mišja protitelesa.
- Reagent Poly-AP IgG lokalizira kunčja protitelesa.
- Kromogen za prvi substrat, 3,3'-diaminobenzidzin tetrahidroklorid hidrat (DAB), prikaže mišja protitelesa v rjavi oborini.
- Kromogen za drugi substrat (Fast Red) prikaže kunčja protitelesa v rdeči oborini.
- Nasprotno barvanje s Hematoxylinom (modro) omogoča vizualizacijo celičnih jeder.

Uporaba izdelka ChromoPlex 1 Dual Detection skupaj z avtomatiziranim sistemom BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III), zniža možnost človeške napake in variabilnosti, ki sama po sebi izhaja iz redčenja posameznega reagenta, ročnega pipetiranja in nanosa reagenta.

Priloženi reagenti

Priloženi reagenti zadostujejo za 25 posameznih barvanj s sistemom BOND oziroma največ 50 preparatov.

Če želite pri sistemu za zaznavanje doseči barvanje 50 preparatov, morate preparate združiti po 2 ali več na sklop za barvanje preparatov. Pri obdelavi več kot 2 vzorcev skupaj bo obarvanih manj preparatov.

1. Peroxide Block (7,5 ml) 3–4-% vodikov peroksid.
2. Polymer mHRP (7,5 ml) Poli-HRP proti mišjim protitelesom, ki vsebuje 10 % (v/v) živalski serum v fiziološki raztopini s pufrom tris in 0,09 % konzervansa ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7,5 ml) Poli-AP proti kunčjim protitelesom, ki vsebuje 10 % (v/v) živalski serum v fiziološki raztopini s pufrom tris in 0,09 % konzervansa ProClin™ 950.
4. DAB Part 1 (1 ml) 66 mM 3,3'-diaminobenzidzin tetrahidroklorid hidrat v raztopini stabilizatorja.
5. DAB Part B (20 ml) ≤ 0,1-% (v/v) vodikov peroksid v raztopini stabilizatorja.
6. Red Part A (5,5 ml) aktivator, ki vsebuje 0,5 % konzervansa ProClin 950.
7. Substrat Red Part B (1,0 ml).
8. Substrat Red Part C (1,0 ml).
9. Red Part D (35 ml) puferska raztopina, ki vsebuje 0,5 % konzervansa ProClin 950.
10. Hematoxylin DS9665 (7,5 ml) < 0,1-% hematoksilin.

Redčenje in mešanje

Izdelek ChromoPlex 1 Dual Detection je optimiziran za uporabo na sistemu BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III).

Rekonstitucija, mešanje, redčenje ali titracija teh reagentov niso potrebni.

Potrebni materiali, ki niso priloženi

Pripravevalni medij, združljiv z izdelkom ChromoPlex 1 Dual Detection (glejte poglavje **Predvidnostni ukrepi**).

Za celoten seznam materialov, potrebnih za obdelavo vzorcev in imunohistokemijsko barvanje pri uporabi sistema BOND, glejte poglavje »Uporaba reagentov BOND« v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND.

Shranjevanje in stabilnost

Hraniti pri temperaturi 2–8 °C. Ne zamrzujte. Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, navedenem na oznaki na ročaju pladnja. Takoj po uporabi ohladite na temperaturo 2–8 °C.

Ni očitnih znakov, ki bi nakazovali nestabilnost tega izdelka, zato morate hkrati z neznanimi vzorci testirati tudi pozitivne in negativne kontrole (glejte »Kontrola kakovosti« v poglavju »Uporaba reagentov BOND« v uporabniški dokumentaciji za sistem BOND).

Če opazite nepričakovano barvanje, ki ga ni mogoče pojasniti z razlikami pri laboratorijskih postopkih, in če sumite na težavo s sistemom za zaznavanje, se takoj obrnite na lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems.

Uporabnik mora potrditi ustreznost pogojev shranjevanja, če se ti razlikujejo od zgoraj navedenih¹.

Previdnosti ukrepi

- OPOZORILO – nekateri mediji za pritrjevanje lahko povzročijo kristalizacijo ali bledenje rdečega kromogena.
- NE UPORABLJAJTE medija DPX, Entellan®, medija za hitro strjevanje Leica CV Mount, Eukitt®, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® in medija za pritrjevanje Pertex, saj niso primerni za uporabo s tem izdelkom.
- Bledenja ali kristalizacije niso opazili pri: izdelkih Leica CV Ultra Mounting Media (kat. št. 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc., kat. št. 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories, kat. št. H-5000) in Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences, kat. št. 17987-01).
- Uporabnik mora pred uporabo v celoti potrditi združljivost drugih medijev za pritrjevanje. V nasprotnem lahko pride do zmanjšane obarvanja zaradi bledenja ali kristalizacije.

DAB Part 1

Vsebuje etilenglikol
(> 90 %) in 66 mM
(< 10 %) 3,3'
diaminobenzidin
tetrahidroklorid hidrat.
GHS07: Ključaj.
GHS08: Nevarno za
zdravje.
Signalne besede:
Nevarno.

H302: Zdravju škodljivo pri zaužitju.
H341: Sum povzročitve genetskih
okvar.
H350: Lahko povzroči raka.

P201: Pred uporabo pridobiti posebna navodila.
P202: Ne uporabljajte, dokler se ne seznanite z vsemi
varnostnimi ukrepi.
P280: Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/
zaščito za obraz.
P264: Po uporabi temeljito umiti roke.
P270: Ne jesti, piti ali kaditi med uporabo tega izdelka.
P301+312: PRI ZAUŽITJU: Ob slabem počutju pokličite
CENTER ZA ZASTRUPITVE ali zdravnika.
P330: Izprati usta.
P308+313: PRI izpostavljenosti ali sumu izpostavljenosti:
Poišcite zdravniško pomoč/oskrbo.

Red Part C

Vsebuje 1,0 M (< 10 %) klorovodikove kisline.
GHS05: Jedko.
Signalne besede:
Opozorilo.

H290: Lahko je jedko za kovine.

P234: Hraniti samo v originalni posodi.
P390: Odpraviti razlivanje, da se prepreči materialna škoda.

- Raztopine aktivatorja in substrata lahko povzročijo draženje kože, oči, sluznic in zgornjih dihal. Kadar delate z reagenti, nosite nitrilne rokavice za enkratno uporabo. Odstranite skladno z lokalnimi predpisi.
- Kopijo varnostnega lista lahko dobite pri lokalnem distributerju ali regionalni pisarni družbe Leica Biosystems. Lahko pa tudi obiščete spletno mesto družbe Leica Biosystems na naslovu www.LeicaBiosystems.com.
- Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate ravnati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju upoštevati ustrezne previdnostne ukrepe.³ Nikoli ne pipetirajte reagentov skozi usta; pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo ali sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poišcite zdravniško pomoč.
- Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno strupenih sestavin.
- Pazite, da ne pride do mikrobnih okužb reagentov, saj lahko povzroči nespecifično barvanje.
- Če uporabite čas ali temperature inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe¹.
- Ne mešajte reagentov različnih sistemov za zaznavanje.

Navodila za uporabo

Izdelek ChromoPlex 1 Dual Detection je bil razvit za uporabo na avtomatiziranem sistemu BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III) po protokolu *IHC Protocol K - 50 Test. Družba Leica Biosystems je optimizirala parametre delovanja pri uporabi reagentov sistema za zaznavanje na modulu BOND Processing Module. Prikažete jih lahko tako, da sledite navodilom v dokumentaciji za uporabnike sistema BOND.

Uporabite hitro dehidracijo z alkoholom/ksilenom.

Ko je protokol *IHC Protocol K - 50 Test končan ali prekinjen, sistem BOND počaka približno 15 minut, preden zažene novi cikel pri istem sklopu za barvanje preparatov.

Specifične omejitve izdelka

Družba Leica Biosystems je izdelek ChromoPlex 1 Dual Detection optimizirala za uporabo s pomožnimi reagenti BOND. Laboratoriji lahko uporabljajo svoje lastne mešanice protiteles, če so ta razredčena na ustrezno koncentracijo z redčilom BOND Primary Antibody Diluent (katalogska št. AR9352). Uporabniki, ki odstopajo od priporočenih preizkusnih postopkov, morajo prevzeti odgovornost za razlago bolnikovih rezultatov pod temi pogoji.

Ustrezna koncentracija uporabnikovih primarnih protiteles se lahko spremeni zaradi razlik pri fiksiranju tkiv in učinkovitosti ojačitve antigena ter se mora določiti empirično. Uporabiti morate negativne kontrolne reagentne, kadar optimizirate pogoje pridobivanja in koncentracije primarnega antigena.

Klinično tolmčenje kakršnega koli obarvanja ali njegove odsotnosti morajo dopolnjevati morfološke študije in ustrezni kontrolni vzorci, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Nekateri pritrjevalni mediji niso združljivi z izdelkom ChromoPlex 1 Dual Detection (glejte poglavje **Previdnostni ukrepi**).

Za dodatne informacije se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems.

Odpravljanje težav

Glejte 4. navedbo za ukrep za odpravljanje napake.

Če želite poročati o nenavadnem obarvanju, se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems.

Dodatne informacije

Dodatne informacije o imunološkem barvanju z reagenti BOND lahko najdete v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND »Uporaba reagentov BOND« v poglavjih Načelo postopka, Potrebni materiali, Priprava vzorcev, Kontrola kakovosti, Verifikacija testa, Tolmačenje obarvanja, Legenda za simbole na oznakah in Splošne omejitve.

Literatura

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 je blagovna znamka družbe Supelco, ki je del družbe Sigma-Aldrich Corporation.

Datum izdaje

24 september 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Kat. č.: DS9665

Zamýšlené použití

Tento detekční systém je určen k diagnostickému použití *in vitro*.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection představuje linker polymerické křenové peroxidázy (HRP) bez obsahu biotinu a systém konjugátu protilátek linkeru polymerické alkalické fosfatázy (AP) k detekci myších a králíčích IgG primárních protilátek navázaných na tkáň.

Je určen k barvení formálním fixované tkáně zalité v parafínu pomocí automatického systému BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system).

Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení či jeho absence je třeba doplnit morfologickými vyšetřeními. a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Systém ChromoPlex 1 Dual Detection musí být používán v rámci správné laboratorní praxe a využívat tkáňové kontroly. Pro zajištění tohoto předpokladu musí laboratoře podle potřeby barvit každý vzorek pacienta ve spojení s pozitivní, negativní a další tkáňové specifickou kontrolou.

Souhrn a vysvětlení

Imunohistochemické techniky lze použít k průkazu přítomnosti antigenů ve tkáni a v buňkách (viz „Použití reagensů BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND).

Systém ChromoPlex 1 Dual Detection využívá novou technologii kontrolované polymerizace k přípravě polymerického HRP linkeru a protilátkových konjugátů AP linkeru. Detekční systém nevyužívá streptavidin a biotin a proto eliminuje nespecifické barvení v důsledku přítomnosti endogenního biotinu.

Systém ChromoPlex 1 Dual Detection funguje následujícím způsobem:

- Vzorek je inkubován v peroxidu vodíku za účelem potlačení endogenní aktivity peroxidázy.
- Používá se koktejl specifické primární myší protilátky a králíčích protilátky, které dodává uživatel.
- Reagencie Poly-HRP IgG lokalizuje myší protilátky.
- Reagencie Poly-AP IgG lokalizuje králíčích protilátky.
- První chromogenní substrát, 3,3' diaminobenzidin tetrahydrochlorid (DAB), vizualizuje myší protilátky hnědým precipitátem.
- Druhý chromogenní substrát (Fast Red) vizualizuje králíčích protilátky červeným precipitátem.
- Kontrastní barvení hematoxylinu (modrého) umožňuje buněčných jader.

Použití těchto produktů v kombinaci s automatickým systémem BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system) snižuje možnost lidské chyby a inherentní variability v důsledku ředění jednotlivých reagensů, manuálního pipetování a použití reagensů.

Dodávané reagencie

Dodávané reagencie jsou dostačující pro 25 samostatných barvení BOND nebo pro maximálně 50 sklíček.

K dosažení maximálního počtu 50 sklíček u tohoto detekčního systému musí být sklíčka dávkována v množství 2 nebo více, podle sestavy k barvení sklíček. Dávkování v množství menším než 2 bude mít za následek méně zbarvená sklíčka.

1. Peroxide Block (7,5 ml) 3–4 % peroxid vodíku.
2. Polymer mHRP (7,5 ml) anti-myší Poly-HRP obsahující 10 % (obj. %) zvířecí sérum ve fyziologickém roztoku pufrovaném roztokem tris-pufu a 0,09 % ProClin™ 950.
3. Polymer rAP (7,5 ml) anti-králíčích Poly-AP obsahující 10 % (obj. %) zvířecí sérum ve fyziologickém roztoku pufrovaném roztokem tris-pufu a 0,09 % ProClin™ 950.
4. DAB Part 1 (1 ml) 66 mM 3,3' diaminobenzidin tetrahydrochloridu ve stabilizačním roztoku.
5. DAB Part B (20 ml) $\leq 0,1$ % (obj. %) peroxidu vodíku ve stabilizačním roztoku.
6. Red Part A (5,5 ml) aktivátor obsahující 0,5 % ProClin 950.
7. Red Part B (1,0 ml) substrát.
8. Red Part C (1,0 ml) substrát.
9. Red Part D (35 ml) roztok pufu obsahující 0,5 % ProClin 950.
10. Hematoxylin DS9665 (7,5 ml) $< 0,1$ % Hematoxylin.

Ředění a míchání

ChromoPlex 1 Dual Detection je optimálně naředěn k použití v systému BOND (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system).

Rekonstituce, míchání, ředění ani titrace těchto reagensů nejsou nutné.

Potřebný materiál, který není součástí dodávky

Fixační média kompatibilní se systémem ChromoPlex 1 Dual Detection (viz **Bezpečnostní pokyny**).

Úplný seznam materiálů potřebných ke zpracování vzorku a k barvení místa hybridizace *in situ* pomocí systému BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system) je uveden v bodě „Použití reagensů BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND.

Skladování a stabilita

Skladujte při teplotě 2–8 °C. Nezmrazujte. Nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na štítku držadla podnosu. Okamžitě po použití vraťte do prostředí s teplotou 2–8 °C.

Neexistují zjevné známky, které by indikovaly kontaminaci nebo nestabilitu. Současně s neznámými vzorky je proto třeba provést i hodnocení příslušné pozitivní a negativní tkáňové kontroly. (viz „Kontrola kvality“ v části „Použití reagensů BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND).

Pokud je pozorováno neočekávané barvení, které nelze vysvětlit odchylkami v laboratorních postupech, a existuje podezření na problém s detekčním systémem, ihned kontaktujte místního distributora nebo oblastní kancelář společnosti Leica Biosystems.

Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel¹ validovat.

Bezpečnostní opatření

- VAROVÁNÍ – některá fixační média mohou způsobit krystalizaci nebo blednutí červeného chromogenu.
- NEPOUŽÍVEJTE fixační média DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt® rychletuhnoucí fixační médium, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® a Pertex, neboť nejsou k použití s tímto výrobkem vhodná.
- Blednutí a krystalizace nebyly zjištěny u: Leica CV Ultra Mounting Media (kat. 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc. kat. 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories kat. H-5000) a Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences kat. 17987-01).
- Kompatibilitu s jinými fixačními médii musí před použitím plně validovat uživatel. Pokud tak neučiníte, může to vést ke snížení barvení kvůli blednutí či krystalizaci.

DAB Part 1

Obsahuje etylen glykol (> 90 %) a 66 mM (< 10 %) 3,3' diaminobenzidín tetrahydrochloridu.
GHS07: Vykřičník.
GHS08: Ohrožení zdraví.
Signální slova: Nebezpečí.

H302: Zdraví škodlivý při požití.
H341: Podezření na genetické poškození.
H350: Může vyvolat rakovinu.

P201: Před použitím si obstarejte speciální instrukce.
P202: Nepoužívejte, dokud jste si nepřečetli všechny bezpečnostní pokyny a neporozuměli jim.
P280: Nosíte zaštitné rukavice/zaštitno obleko/zaštitno za oči/zaštitno za obraz.
P264: Po manipulaci si důkladně omýjte ruce.
P270: Při používání tohoto výrobku nejzte, nepijte ani nekuřte.
P301+312: PŘI POŽITÍ: Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře.
P330: Vypláchněte ústa.
P308+313: PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhleďte lékařskou pomoc/ošetření.

Red Part C

Obsahuje 1,0 M (< 10 %) kyseliny chlorovodíkové.
GHS05: Korozivní.
Signální slova: Varování.

H290: Může být korozivní pro kovy.

P234: Uchovávejte pouze v původním obalu.
P390: Uniklý produkt absorbujte, aby se zabránilo materiálnímu škodám.

- Roztoky aktivátoru a substrátu mohou způsobit podráždění kůže, očí, sliznic a horních cest dýchacích. Při manipulaci s reagensy používejte nitrilové rukavice na jedno použití. Zlikvidujte v souladu s místními předpisy.
- Výtisk bezpečnostního listu materiálu získáte od místního distributora nebo oblastní kanceláře společnosti Leica Biosystems. Můžete případně navštívit webovou stránku Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com
- Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály, které s nimi přišly do kontaktu, je nutno zacházet, jako by mohly přenášet infekci, a zlikvidovat je s použitím příslušných bezpečnostních opatření.³ Nikdy reagenzie nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu reagensů a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagenzie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omýjte je velkým množstvím vody. Vyhleďte lékařskou pomoc.
- Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.
- Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagensů, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení.
- Inkubační doby nebo teploty jiné než předepsané mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.¹
- Nemíchejte reagenzie z různých detekčních systémů.

Návod k použití

ChromoPlex 1 Dual Detection byl vyvinut k použití v automatickém systému BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system) pomocí protokolu *IHC Protocol K - 50 Test. Provozní parametry pro použití reagensů detekčního systému v modulu BOND Processing Module byly optimalizovány společností Leica Biosystems. Lze je zobrazit podle pokynů v uživatelské dokumentaci BOND.

Použijte rychlou dehydrataci alkoholem/xylenem.

Po dokončení nebo přerušení protokolu *IHC Protocol K - 50 test dojde k přibližně 15minutovému zpoždění, než systém BOND spustí další sérii testů na stejné sestavě k barvení sklíček.

Omezení specifická pro tento produkt

ChromoPlex 1 Dual Detection byl společností Leica Biosystems optimalizován k použití s pomocnými reagensy BOND. Laboratoře mohou používat své vlastní koktejly primárních protilátek, které byly naředěny na příslušnou koncentraci pomocí ředícího roztoku BOND Primary Antibody Diluent (katalogové č. AR9352). Uživatelé, kteří se při vyšetření odchýlí od doporučeného postupu, musí za těchto okolností přijmout odpovědnost za interpretaci výsledků u pacienta.

Příslušné koncentrace vlastních primárních protilátek uživatele se mohou lišit v důsledku odchylek při fixaci tkání a účinnosti při zvýraznění antigenu a musí být stanoveny empiricky. Při optimalizaci podmínek při získávání a koncentraci primární protilátky musí být použity reagenzie pro negativní kontrolu.

Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení či jeho absence je třeba doplnit morfológickými vyšetřeními a příslušnými kontrolami. Zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Některá fixační média nejsou kompatibilní se systémem ChromoPlex 1 Dual Detection (viz **Bezpečnostní pokyny**).

Další informace si vyžádejte u místního distributora nebo oblastní kanceláře společnosti Leica Biosystems.

Řešení problémů

Nápravná opatření jsou uvedena v odkaze 4.

S hlášením neobvyklého barvení kontaktujte místního distributora nebo oblastní kancelář společnosti Leica Biosystems.

Další informace

Další informace o imunobarvení reagensii BOND naleznete pod názvy Princip metody, Potřebné materiály, Příprava vzorku, Kontrola kvality, Ověření testů, Interpretace barvení, Vysvětlení symbolů na štítcích a Obecná omezení v uživatelské dokumentaci BOND, v bodě „Použití reagensii BOND“.

Literatura

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 je ochranná známka společnosti Supelco, která je součástí Sigma-Aldrich Corporation.

Datum vydání

24 září 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

Katalógové č.: DS9665

Zamýšľané použitie

Tento detekčný systém je určený na diagnostické použitie *in vitro*.

ChromoPlex™ 1 Dual Detection je systém konjugátu protilátky s mostíkom polymérovej chrovej peroxidázy (HRP) a polymérovej alkalické fosfatázy bez biotínu na detekciu primárnych myšiacich a králičích IgG protilátok viazaných na tkanivo. Tento systém je určený na farbenie rezov tkaniva zaliataho do parafínu a fixovaného formalínom v automatizovanom systéme BOND (vrátane systémov Leica BOND-MAX a Leica BOND-III).

Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho neprítomnosti musí byť doplnená morfológickým preskúmaním. Príslušné kontroly sa musia vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a iných diagnostických testov vykonávaných kvalifikovaným patológom.

Systém ChromoPlex 1 Dual Detection sa musí pri kontrolách tkanivom používať v rámci osvedčených laboratórnych postupov. V záujme istoty majú laboratória farbiť každú patientsku vzorku spolu s pozitívnu, negatívnu a inou kontrolou špecifickým tkanivom podľa potreby.

Zhrnutie a vysvetlenie

Imunohistochemické techniky možno použiť na preukázanie prítomnosti antigénov v tkanivách a bunkách (pozrite si časť „Používanie číndiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND).

V systéme ChromoPlex 1 Dual Detection sa využíva nová technológia riadenej polymerizácie na prípravu konjugátov protilátky s mostíkom polymérovej HRP a mostíkom polymérovej AP. V detekčnom systéme sa zamedzuje použitiu streptavidínu a biotínu, čím sa eliminuje nešpecifické zafarbenie v dôsledku endogénneho biotínu.

ChromoPlex 1 Dual Detection funguje takto:

- Vzorka sa inkubuje s peroxidom vodíka, aby sa oslabil aktivita endogénnej peroxidázy.
- Aplikuje sa kokteíl špecifických primárnych myšiacich a králičích protilátok dodaných používateľom.
- Číndlo Poly-HRP IgG lokalizuje myšie protilátky.
- Číndlo Poly-AP IgG lokalizuje králičie protilátky.
- Prvý substrát/chromogén, 3,3'-diaminobenzidín tetrahydrochlorid hydrát (DAB), vizualizuje myšie protilátky prostredníctvom hnedej zrazeniny.
- Druhý substrát/chromogén (Fast Red) vizualizuje králičie protilátky prostredníctvom červenej zrazeniny.
- Kontrastné farbenie prípravkom Hematoxylin (modré) umožňuje vizualizáciu bunkových jadier.

Použitie systému ChromoPlex 1 Dual Detection v kombinácii s automatizovaným systémom BOND (vrátane systémov Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) znižuje možnosť ľudskej chyby a inherentnej variability vyplývajúcej z individuálneho riedenia číndiel, manuálneho pipetovania a aplikácie číndiel.

Dodané číndlá

Dodané číndlá postačujú na 25 individuálnych cyklov farbenia BOND, resp. maximálne na 50 sklíčok.

Ak chcete v tomto detekčnom systéme dosiahnuť maximum 50 sklíčok, sklíčka sa musia spracovávať dávkovovo v počte 2 alebo viac v súlade so Zostavou farbenia sklíčok. Výsledkom dávkového spracovania počtu menšieho ako 2 bude menší počet zafarbených sklíčok.

1. Peroxide Block (7,5 ml) 3 – 4 % peroxid vodíka.
2. Myšacia protilátka Polymer mHRP (7,5 ml) Poly-HRP obsahujúca 10 % (v/v) zvieracieho séra v tris-pufrovanom fyziologickom roztoku a 0,09 % prípravku ProClin™ 950.
3. Králičia protilátka Polymer rAP (7,5 ml) Poly-AP obsahujúca 10 % (v/v) zvieracieho séra v tris-pufrovanom fyziologickom roztoku a 0,09 % prípravku ProClin 950.
4. DAB Part 1 (1 ml) 66 mM 3,3'-diaminobenzidín tetrahydrochlorid hydrátu v roztoku stabilizátora.
5. DAB Part B (20 ml) ≤0,1 % (v/v) peroxidu vodíka v roztoku stabilizátora.
6. Red Part A (5,5 ml) aktivátor obsahujúci 0,5 % prípravku ProClin 950.
7. Substrát Red Part B (1,0 ml).
8. Substrát Red Part C (1,0 ml).
9. Red Part D (35 ml) pufor obsahujúci 0,5 % prípravku ProClin 950.
10. Hematoxylin DS9665 (7,5 mL) <0,1 % hematoxylinu.

Riedenie a miešanie

Prípravok ChromoPlex 1 Dual Detection je optimalizovaný na použitie v systéme BOND (vrátane systémov Leica BOND-MAX a Leica BOND-III).

Rekonštitúcia, miešanie, riedenie ani titrácia týchto číndiel nie sú potrebné.

Požadovaný nedodaný materiál

Upevňovacie médiá kompatibilné so systémom ChromoPlex 1 Dual Detection (pozri časť **Bezpečnostné opatrenia**).

Úplný zoznam materiálov potrebných na prípravu vzorky a imunohistochemické zafarbenie pomocou systému BOND si pozrite v časti „Používanie číndiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND.

Ukladenie a stabilita

Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Nezmrazujte. Nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie uvedeného na štítku rukoväti tácky. Okamžite po použití vráťte do teploty 2 – 8 °C.

Neexistujú evidentné známky signalizujúce nestabilitu tohto produktu, s neznámymi vzorkami sa preto musia súbežne testovať pozitívne aj negatívne kontroly (pozrite si bod „Kontrola kvality“ v časti „Používanie činidiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND).

Ak spozorujete neočakávané zafarbenie, ktoré nie je možné vysvetliť zmenami laboratórnych postupov a máte podozrenie, že ide o problém detekčného systému, okamžite kontaktujte miestneho distribútora alebo regionálnu pobočku spoločnosti Leica Biosystems. Iné než vyššie uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom¹.

Bezpečnostné opatrenia

- VAROVANIE – niektoré upevňovacie médiá môžu spôsobiť vykryštalizovanie alebo vyblednutie červeného chromogénu.
- NEPOUŽÍVAJTE upevňovacie médiá DPX, Entellan®, Leica CV Mount, Eukitt® rýchlotvrdnúce upevňovacie médium, Surgipath MM 24®, Surgipath Sub-X® a Pertex, pretože nie sú vhodné na použitie s týmito produktom.
- Blednutie ani kryštalizácia neboli pozorované s: Upevňovacie médiá Leica CV Ultra Mounting Media (kat. č. 14070937891), Poly-Mount® (Polysciences Inc., kat. č. 08381), VectaMount™ (Vector Laboratories, kat. č. H-5000) a Limonene Mount (Electron Microscopy Sciences, kat. č. 17987-01).
- V prípade iných upevňovacích médií musí používateľ pred použitím plne validovať ich kompatibilitu. V opačnom prípade môže dôjsť k zníženiu zafarbenia z dôvodu blednutia alebo kryštalizácie.

DAB Part 1

Obsahuje etylglykol (>90 %) a 66 mM (<10 %) 3,3' diaminobenzidín tetrahydrochlorid hydrátu. GHS07: Výkričník. GHS08: Nebezpečný pre zdravie. Signálne slová: Nebezpečenstvo.

H302: Škodlivý po požití. H341: Podozrenie, že spôsobuje genetické poškodenie. H350: Môže spôsobiť rakovinu.

P201: Pred použitím sa oboznámte s osobitnými pokynmi. P202: Nepoužívajte, kým si neprečítate a nepochopíte všetky bezpečnostné opatrenia. P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ ochranné okuliare/ochranu tváre. P264: Po manipulácii si dôkladne umyte ruky. P270: Pri používaní výrobku nejedzte, nepite ani nefajčíte. P301+312: PO POŽITÍ: Ak sa necítite dobre, zavolajte do TOXIKOLOGICKÉHO CENTRA alebo lekárovi. P330: Vypláchnite ústa. P308+313: Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

Red Part C

Obsahuje 1,0 M (<10 %) kyseliny chlorovodíkovej. GHS05: Poleptanie. Signálne slová: Varovanie.

H290: Môže byť korozívna pre kovy.

P234: Uchovávajte iba v pôvodnej nádobe. P390: Absorbujte uniknutý produkt, aby sa zabránilo materiálnym škodám.

- Aktivátor a substrátové roztoky môžu spôsobiť podráždenie kože, očí, sliznic a horných dýchacích ciest. Pri manipulácii s činidlami používajte jednorazové nitrilové rukavice. Zlikvidujte v súlade s miestnymi predpismi.
- Materiálový bezpečnostný list vám poskytne miestny distribútor alebo regionálna pobočka spoločnosti Leica Biosystems. Prípadne navštívte webovú lokalitu spoločnosti Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com.
- So vzorkami pred fixáciou a po nej a všetkými materiálmi, ktoré s nimi prišli do kontaktu, je nutné manipulovať ako s potenciálne infekčnými a zlikvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrení². Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte kontaktu činidiel a vzoriek s kožou a sliznicami. Ak sa činidlá alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody. Vyhľadajte lekársku pomoc.
- Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.
- Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.
- Nedodržanie predpísaných inkubačných dôb alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom¹.
- Nemiešajte činidlá z rôznych detekčných systémov.

Návod na použitie

Prípravok ChromoPlex 1 Dual Detection bol vyvinutý na používanie s automatizovaným systémom BOND (vrátane systémov Leica BOND-MAX a Leica BOND-III). použitím *IHC Protocol K - 50 Test. Prevádzkové parametre na použitie činidiel detekčného systému v module BOND Processing Module boli optimalizované spoločnosťou Leica Biosystems. Možno ich zobrazíť podľa pokynov v používateľskej dokumentácii k systému BOND.

Použite rýchlu alkoholovú/xylénovú dehydratáciu.

Po skončení alebo prerušení protokolu *IHC Protocol K - 50 Test nastane oneskorenie približne 15 minút, kým systém BOND začne ďalší cyklus na tej istej zostave farbenia sklíčok.

Špecifické obmedzenia pre tento výrobok

Systém ChromoPlex 1 Dual Detection bol v spoločnosti Leica Biosystems optimalizovaný na použitie s pomocnými činidlami BOND. Laboratória môžu používať kokteily svojich vlastných primárnych protilátok za predpokladu, že boli zriadené na príslušnú koncentráciu pomocou zriedovadla BOND Primary Antibody Diluent (katalógové č. AR9352). Používatelia, ktorí sa odchyľujú od odporúčaných testovacích postupov, musia akceptovať zodpovednosť za interpretáciu výsledkov pacienta za týchto okolností.

Vhodná koncentrácia používateľových vlastných primárnych protilátok sa môže líšiť z dôvodu odchýlok vo fixácii tkaniva a účinnosti zvýraznenia antigénu a musí sa zistiť empiricky. Pri optimalizácii podmienok záchytu a koncentrácií primárnej protilátky je potrebné použiť činidlá negatívnej kontroly.

Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho neprítomnosti musí byť doplnená morfológickým preskúmaním a príslušnými kontrolami. Musia musia vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a iných diagnostických testov vykonávaných kvalifikovaným patológom.

Niektoré upevňovacie médiá nie sú kompatibilné so systémom ChromoPlex 1 Dual Detection (pozri časť **Bezpečnostné opatrenia**).
Ďalšie informácie vám poskytne miestny distribútor alebo regionálna pobočka spoločnosti Leica Biosystems.

Riešenie problémov

Pri náprave môže byť nápomocná referencia 4.

Neobvyklé zafarbenie ohláste miestnemu distribútorovi alebo regionálnej pobočke spoločnosti Leica Biosystems.

Ďalšie informácie

Ďalšie informácie o imunofarbení s činidlami BOND nájdete v častiach Princíp postupu, Požadované materiály, Príprava vzorky, Kontrola kvality, Overenie testu, Interpretácia zafarbenia, Legenda k symbolom na označení a Všeobecné obmedzenia v používateľskej dokumentácii k systému BOND „Používanie činidiel BOND“.

Literatúra

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
 3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
- ProClin 950 je ochranná známka spoločnosti Supelco, súčasťou spoločnosti Sigma-Aldrich Corporation.

Dátum vydania

24 septembra 2018

ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

رقم الدليل: DS9665

الاستعمال المستهدف

نظام الكشف هذا مخصص للاستعمال في أغراض التشخيص في المختبرات.

يعتبر ChromoPlex™ 1 Dual Detection نظام اقتران للأجسام المضادة خالٍ من البيوتين ويعمل كرابط نيروكسيداز بلرمي مستحصل عليه من نبات الجرجار (HRP) ورايط فوسفاتاز قوية بلرمي، ويستخدم لكشف الأجسام المضادة الأربية للغلوبولين المناعي (IgG) المرتبطة بالأنسجة لدى الفئران والأرانب. الغرض منه هو استعماله في قطاعات التطبيق للنسج المثبت بالفورمالين، والمضمن في البيرافين في نظام BOND الألي (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III).

ينبغي أن يُستكمل التفسير السريري لوجود أي تلوّخ أو غيابه من خلال الدراسات المورفولوجية. ينبغي تقديم الضوابط الملائمة في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي يُجرىها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

يجب استخدام ChromoPlex 1 Dual Detection مع أفضل ممارسات المختبرات في استعمال ضوابط النسيج. من أجل التأكيد، ينبغي على المختبرات تلوّخ كل عينة مريض بالتزامن مع ضوابط النسيج الإيجابية والسلبية المحددة وغيرها من الضوابط على حسب الحاجة.

الملخص والشرح

يمكن استخدام الأساليب الكيميائية النسيجية المناعية لإثبات وجود مؤشرات المضادات في النسيج والخلايا (انظر "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك).

يستخدم ChromoPlex 1 Dual Detection تقنية بلورة جديدة خاضعة للتحكم من أجل تحضير قارات الأجسام المضادة لرابط HRP البلمري ورايط AP البلمري. يتجنب نظام الكشف استخدام سترينبتايندين والبيوتين، وبالتالي يزيل التلوّخ غير المحدد نتيجة لوجود البيوتين ذاتي النشوء.

يعمل ChromoPlex 1 Dual Detection على النحو التالي:

- يتم احتضان العينة مع بيروكسيد الهيدروجين لإخماد نشاط البيروكسيداز الذاتي.
- يتم استخدام خليط أولي محدد من الأجسام المضادة لدى الفئران والأرانب يوفره المستخدم.
- يحدد كاشف الغلوبولين المناعي (IgG) Poly-HRP موضع الأجسام المضادة لدى الفئران.
- يحدد كاشف الغلوبولين المناعي (IgG) Poly-AP موضع الأجسام المضادة لدى الأرانب.
- تُظهر أول ركيزة موهّدة للون، وهو 3,3'-ديامينوبنزيندين تتراهيدروكلوريد هيدرات (DAB)، الأجسام المضادة لدى الفئران في شكل راسب بني اللون.
- تُظهر ثاني ركيزة موهّدة للون (Fast Red) الأجسام المضادة لدى الأرانب في شكل راسب أحمر اللون.
- يسمح Hematoxylin (الأزرق) المضاد للتلوّخ بتصوير نواة الخلية.

إن استخدام ChromoPlex 1 Dual Detection جنبًا إلى جنب مع نظام BOND الألي، (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III) يقلل من إمكانية حدوث خطأ بشري وتغيرات متأصلة ناتجة عن تخفيف الكاشف الفردي، والمص البديوي، واستعمال الكاشف.

الكواشف المتوفرة

الكواشف المتوفرة كافية لإجراء 25 عملية تلوّخ BOND فردية، أو بعد أقصى 50 شريحة.

لتحقيق الحد الأقصى البالغ 50 شريحة من نظام الكشف هذا، يجب أن تتوفر الشرائح في مجموعات من شريحتين أو أكثر، لكل مجموعة تلوّخ شرائح سيودي الخلط بكميات أقل من 2 إلى تقليل عدد الشرائح الملطخة.

1. Peroxide Block (7.5 مل) 3-4% بروكسيد الهيدروجين.
2. Polymer mHRP (7.5 مل) Poly-HRP مضاد للفئران يحتوي على 10% (v/v) من مصّل الحيوان في شكل محلول ملحي ثلاثي منظم و 0.09% ProCin™ 950.
3. Polymer AP (7.5 مل) Poly-AP مضاد للأرانب يحتوي على 10% (v/v) من مصّل الحيوان في شكل محلول ملحي ثلاثي منظم و 0.09% ProCin 950.
4. DAB Part 1 (1 مل) 66 mM 3,3'-ديامينوبنزيندين تتراهيدروكلوريد هيدرات في محلول موازن.
5. DAB Part B (20 مل) 0.1% (v/v) بروكسيد الهيدروجين في محلول موازن.
6. مادة Red Part A (5.5 مل) الفعالة تحتوي على 0.5% ProCin 950.
7. المادة الركيزة Red Part B (1.0 مل).
8. المادة الركيزة Red Part C (1.0 مل).
9. Red Part D (35 مل) محلول منظم يحتوي على 0.5% ProCin 950.
10. Hematoxylin DS9665 (7.5 مل) >0.1% Hematoxylin.

التخفيف والخلط

يتم تحسين ChromoPlex 1 Dual Detection لاستخدامه في نظام BOND (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III). لا يلزم إعادة تشكيل هذه الكواشف، أو خلطها، أو تخفيفها، أو معايرتها.

المواد المطلوبة لكنها غير متوفرة

يتوافق وسيط التركيب مع ChromoPlex 1 Dual Detection (انظر الاحتياطات).

ارجع إلى "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك للحصول على قائمة كاملة بالمواد المطلوبة لمعالجة العينات والتلوّخ الكيميائي النسيجي المناعي باستخدام نظام BOND.

التخزين والاستقرار

يُخزن في درجة حرارة 2-8 درجة مئوية. يجب عدم تجميده. لا يُستعمل بعد تاريخ انتهاء الصلاحية المدون على ملصق مقبض الحاوية. أعد درجة الحرارة إلى 8-2 درجة مئوية بعد الاستعمال مباشرة.

ليس ثمة علامات واضحة تشير إلى عدم استقرار هذا المنتج؛ وبالتالي يجب تشغيل الضوابط الإيجابية والسلبية في وقت واحد مع العينات المجهولة (ارجع إلى "ضبط الجودة" في قسم "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك).

في حالة ملاحظة وجود أي تلوّخ غير متوقع لا يمكن تفسيره من خلال تنفيذ مجموعة متنوعة من الإجراءات المختبرية، وفي حالة الإشباه في حدوث مشكلة بنظام الكشف، اتصل بالموزع المحلي لديك أو بمكتب Leica Biosystems الإقليمي على الفور.

يجب التحقق من ظروف التخزين بمعرفة المستخدم بخلاف الظروف المحددة أعلاه!

الإحتياطات

- تحذير - قد تسبب بعض وسائط التركيب في تبلور مواد اللون الأحمر أو تلاتشيه.
- لا تستخدم وسائط التركيب سريعة التصلب DPX®، وEntellan®، وLeica CV Mount، وEukitt®، وكذلك وسائط التركيب Surgipath MM 24® وSurgipath Sub-X® حيث أنها غير مناسبة للاستخدام مع هذا المنتج.
- لم تتم ملاحظة أي تلاتشيه أو تبلور مع وسيط التركيب Leica CV Ultra Mounting Media (Cat. 14070937891) وPoly-Mount® وLimonene Mount (Vector Laboratories Cat H-5000) VectaMount™ (Polysciences Inc. Cat 08381) وCat 17987-01) (Microscopy Sciences). ينبغي التحقق من توافق وسائط التركيب الأخرى بشكل تام بمعرفة المستخدم قبل الاستعمال. وقد يؤدي عدم القيام بذلك إلى انخفاض التلطيح بسبب التلاتشيه أو التبلور.

DAB Part 1	H302: ضار في حالة البلع.	P201: احصل على تعليمات خاصة قبل الاستخدام.
يحتوي على إيثانين جليكول (>90%) m66	H341: يشكبه في تسببه في حدوث عيوب جينية.	P202: لا تبدأ في التعامل حتى تقرأ جميع إحتياطات السلامة وتفهمها.
3,3' ديامينوبنزدين (>10%)	H350: قد يسبب الإصابة بالسرطان.	P281: استخدم معدات الوقاية الشخصية كما هو مطلوب.
نتراهيروكلوريد هيدرات.		P264: اغسل اليدين جيدًا بعد المعالجة.
GHS07: علامة تعجب.		P270: لا تتناول هذا المنتج، أو تشربه، أو تدخنه عند استخدامه.
GHS08: خطر على الصحة.		P312+P313: في حالة البلع: اتصل بمرکز لعلاج السموم أو بطبيب إذا شعرت بأنك لست على ما يرام.
كلمات الإشارة: خطر.		P330: اشطف الفم جيدًا.
		P308+P313: في حالة التعرض أو المخاوف: احصل على المشورة الطبية/الاهتمام الطبي.

Red Part C	H290: قد يكون مسببًا لتآكل المعادن.	P234: احتفظ به في الحاوية الأصلية فقط.
يحتوي على 1.0 م (>10%) من حمضالهدروكلوريك.		P390: عليك باتصاصات لمنع حدوث ضرر مادي.
GHS05: التآكل.		
كلمات الإشارة: تحذير.		

- قد تؤدي محاليل المادة الفعالة والمادة الركيزة إلى حدوث تهيج في الجلد، والعينين، والأغشية المخاطية، والجهاز التنفسي العلوي. عليك بارتداء قفاز مصنوع من النيتريل مخصص للاستعمال مرة واحدة عند التعامل مع الكواشف. تخلص منه وفقًا للوائح المحلية.
- للحصول على نسخة من صحيفة بيانات سلامة المواد، اتصل بالموزع المحلي لديك أو مكتب Leica Biosystems الإقليمي. بدلاً من ذلك، يمكنك زيارة موقع www.LeicaBiosystems.com الإلكتروني.
- ينبغي التعامل مع العينات قبل التثبيت بعده، وكذلك مع جميع المواد التي تتعرض لها كما لو كانت قادرة على نقل العدوى، وينبغي التخلص منها مع اتخاذ الإحتياطات السليمة. لا تصب الكواشف مطلقًا عن طريق الفم، وتجنب احتكاك الجلد والأغشية المخاطية بالكواشف أو العينات. إذا كنت الكواشف أو العينات تحتك بمناطق حساسة، فعليك بغسل هذه المناطق بكميات وفيرة من الماء. اطلب المشورة الطبية.
- راجع اللوائح الفيدرالية، أو لوائح الولاية، أو اللوائح المحلية للتخلص من أي مكونات سامة محتملة.
- قلّل التلوث الميكروبي للكواشف ولا قد تحدث زيادة في التلطيح غير المحدد.
- قد تؤدي أوقات الحضانة أو درجات الحرارة بخلاف تلك الظروف المحددة إلى الحصول على نتائج خاطئة. يجب التحقق من أي تغيير كذا من جانب المستخدم!
- لا تخلط الكواشف الناتجة من أنظمة كشف مختلفة.

إرشادات الاستعمال

تم تطوير ChromoPlex 1 Dual Detection لاستخدامه في نظام BOND الآلي (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III) باستخدام بروتوكول IHC Protocol K - 50 Test. قد تم تحسين عمليات التشغيل لاستعمال كواشف نظام الكشف على BOND Processing Module من قبل Leica Biosystems. ويمكن عرضها من خلال اتباع التعليمات الواردة في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك.

استخدم التحجيف السريع بالكحول/الزليلين.

بعد إكمال IHC Protocol K - 50 Test* وإبعائه، يحدث تأخير حوالي 15 دقيقة قبل أن يبدأ نظام BOND العمل على نفس مجموعة تلطيح الشرائح.

القيود الخاصة بالمنتج

تم تطوير ChromoPlex 1 Dual Detection من Leica Biosystems للاستخدام مع كواشف BOND المساعدة. يجوز للمختبرات استخدام خليط الأجسام المضادة الأولية الخاصة بها شرط أن يتم تخفيفها إلى تركيز مناسب باستخدام BOND Primary Antibody Diluent (رقم الدليل AR9352). على المستخدمين الذين يحددون عن إجراءات الاختبار الموصى بها قبول تحمل المسؤولية عن تفسير نتائج المرضى في ظل هذه الظروف.

قد يختلف التركيز المناسب من الأجسام المضادة الأولية الخاصة للمستخدم، وذلك بسبب الاختلاف في تثبيت الأنسجة، وفعالية تعزيز المستضد، وذلك يجب تحديده تجريبيًا. ينبغي استعمال ضوابط الكواشف السلبية عند تحسين ظروف الاسترجاع وتركيزات الأجسام المضادة الأولية.

ينبغي أن يُستكمل التاريخ السريري لوجود أي تلطيح أو غيبه من خلال الدراسات المورفولوجية والضوابط الصحية. وينبغي تقييم تلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي تجريها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

لا تتوافق بعض وسائط التركيب مع ChromoPlex 1 Dual Detection (انظر الإحتياطات).

اتصل بالموزع المحلي لديك أو بمكتب Leica Biosystems الإقليمي للحصول على مزيد من المعلومات.

اكتشاف المشكلات وحلها

ارجع إلى المرجع رقم 4 للاطلاع على الإجراء العلاجي.

اتصل بالموزع المحلي لديك أو بمكتب Leica Biosystems الإقليمي للإبلاغ عن أي تلطيح غير اعتيادي.

المزيد من المعلومات

يمكن العثور على المزيد من المعلومات حول التلطيح المناعي باستخدام كواشف BOND، تحت العناوين التالية: مبدأ الإجراء، المواد المطلوبة، إعداد العينة، ضبط الجودة، التحقق من صحة الفحص، تفسير التلطيح، مفتاح الرموز المدونة على الملصقات، والقيود العامة، وذلك في قسم "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك.

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. List of substances which may be candidates for further scientific review and possible identification, classification and regulation as potential occupational carcinogens. Fed Reg 1980; 45:157.
3. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
4. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
يمثل ProClin 950 علامة تجارية لشركة Supelco، وهي جزء من مؤسسة Sigma-Aldrich.

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
☎ +44 191 215 4242



Leica Biosystems Canada
71 Four Valley Drive
Concord, Ontario L4K 4V8
Canada
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Inc
1700 Leider Lane
Buffalo Grove IL 60089
USA
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Melbourne
Pty Ltd
495 Blackburn Road
Mt Waverley VIC 3149
Australia
☎ +61 2 8870 3500