

Declere™

Zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik (IVD)
Anwendungsvorschriften

BESTIMMUNGSZWECK

Declere™ ist für die Verwendung bei immunhistochemischen (IHC) Färbeprotokollen bestimmt. Dieses Reagenz ist dazu bestimmt, formalfixierte, in Paraffin eingebettete Gewebeschnitte vorzubehandeln.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Declere™ ist ein Produkt, in dem die drei Vorbehandlungsschritte kombiniert werden: Entparaffinierung, Rehydrierung und Demaskierung in immunhistochemischen Färbungen. Die Verwendung dieses Produkts standardisiert das Vorbehandlungsverfahren.

PRINZIPIEN UND VERFAHREN

Die Vorbehandlungspuffer werden zur Vorbereitung von Proben für immunhistochemische Färbeprotokolle verwendet. Diese Lösung hilft dabei, die morphologischen Eigenschaften des Gewebes aufrechtzuerhalten, während Epitope für die spezifische Bindung von Antikörpern in einer immunhistochemischen Reaktion vorbereitet werden.

MATERIALIEN UND METHODEN

Lieferform der Reagenzien:

Reagenz Kat.- Nr.	Inhalt	Vol. (ml)
921P-04	20-fach konzentriert	50.0 mL
921P-06	20-fach konzentriert	200.0 mL
921P-09	20-fach konzentriert	1000.0 mL

Benötigte, nicht mitgelieferte Materialien und Reagenzien

- | | |
|--|--|
| 1. Primäre(r) Antikörper | 9. Gestell für Objektträger* |
| 2. TBS- oder PBS-Waschpuffer* | 10. Färbplatten* |
| 3. Messflasche/Zylinder mit Messkala | 11. Druckkocher* |
| 4. Positiv geladene Objektträger | 12. Proteolytische Enzyme |
| 5. Trockenofen | 13. Peroxidaseblockade |
| 6. Positive und negative Kontrollen | 14. Reagenzien für Negativ-Kontrollen* |
| 7. Reinigungsmittel (Xylol, Clearene usw.) | 15. Nachweissysteme* |
| 8. Ethanol oder Reagenzalkohol | 16. Chromogen* |
| | 17. Hematoxylin* |
| | 18. Eindeckmedium |

*Der Cell Marque-Katalog enthält die Produktnummern. Einige der aufgelisteten Reagenzien basieren auf der spezifischen Anwendung und dem verwendeten Detektionssystem.

Lagerung und Haltbarkeit

Bei 20–26 °C bis zu 36 Monate nach Herstellungsdatum lagern (siehe Produktetikett für Verfallsdatum).

Vorbereitung des Reagenzes

Für die Arbeitslösung konzentriertes Declere™ mit deionisiertem Wasser im Verhältnis 1:20 verdünnen. Es kann auch das gesamte Reagenz (200,0 ml) verdünnt werden, um 4 Liter Arbeitslösung aus Declere™ zu erhalten.

Empfohlene(s) Protokoll(e)

Verfahren in einem Schritt

- Schneiden Sie 3 bis 4 Mikroschnitte und legen Sie sie auf die positiv geladenen Objektträger. An der Luft trocknen lassen.
- Trocknen Sie die Schnitte mindestens 2 Stunden lang bei 58 °C im Inkubator.
- Legen Sie bis zu 24 Objektträger in das Objektträger-Gestell aus Kunststoff.
- Das Objektträger-Gestell in die Färbeschale stellen und mit ausreichend Arbeitslösung aus Declere™ befüllen, sodass das gesamte Gewebe auf den Objektträgern bedeckt ist. Eine zweite Färbeschale vorbereiten und mit ca. 200,0 ml Arbeitslösung aus Declere™ füllen (diese Lösung wird als heiße Spülung nach der Verarbeitungszeit in der ersten Färbeschale verwendet). Falls Sie einen elektrischen Druckkocher für HIER (hitzeinduzierte Antigen-Demaskierung – Heat Induced Epitope Retrieval) verwenden, stellen Sie sicher, dass die Färbeschalen von der Unterseite des Deckels des Druckkochers aus gesehen nicht gegen den Ventilstift drücken. Falls dies passiert, kommt es zu einer Beeinträchtigung des Spermechanismus und das Entsperren und Öffnen des Deckels nach Abschluss des Druckzyklus wird erschwert.
- Es können verschiedene Erhitzungsmethoden angewandt werden; die Methode mit dem Druckkocher führt jedoch häufig zu konsistenteren Ergebnissen.
- Methode mit elektrischem Druckkocher: Geben Sie etwa 700 ml Wasser in die Basis des Geräts und stellen Sie das umgedrehte Gestell (d. h. mit den Füßen nach oben zeigend) ins Wasser. Stellen Sie beide Färbeschalen in den Druckkocher. Verschließen Sie den Deckel des Druckkochers auf dem Druckkocher und stellen Sie sicher, dass der Lüftungstaster am Griff des Deckels in der geschlossenen Position ist. Drehen Sie das Druckgewicht soweit, bis es vollständig in seiner Aufnahme sitzt, da der Druckkocher sonst keinen Druck aufbauen kann. Stellen Sie den Druckmodus mit den Tasten am Bedienfeld auf „hoch“ ein und bewegen Sie den Pfeil nach „oben“, bis Sie 15 erreichen, dann drücken Sie auf die Taste „Starten“.
- Der Timer beginnt mit dem Rückwärtszählen, sobald der korrekte Druck und die korrekte Temperatur erreicht werden.
- Wenn der Timer auf „Null“ geht, drücken Sie die Taste „Aus“.
- Warten Sie etwa 5 Minuten lang, dann bewegen Sie den Lüftungstaster aus der geschlossenen Position, so dass Druck abgelassen wird. Der rote Stift oben am Deckel sinkt nach unten, wenn der Druck vollständig abgelassen ist, so dass Sie den Deckel sicher abnehmen können. Drücken Sie einfach auf die rote Taste unten am Griff des Deckels, während Sie den Deckel aufdrehen.

10. Transferieren Sie die Objektträger aus dem ersten Behälter in die heiße Spülung (zweiter Behälter), indem Sie das Objektträger-Gestell mithilfe einer Zange sehr langsam in die heiße Spüllösung senken. Achtung: Da die heiße Spüllösung stark erhitzt ist, kann ein schnelles Eintauchen des Objektträger-Gestells zu einem plötzlichen Aufkochen der heißen Lösung führen.
11. Bewegen Sie die Objektträger hin und her und lassen Sie sie höchstens 2 Minuten lang stehen (die erste Lösung kann entsorgt werden und Sie können die heiße Spüllösung anschließend im ersten Behälter wiederverwenden).
12. Spülen Sie die Objektträger in PBS- oder TBS IHC-Waschpuffer und fahren Sie mit dem IHC-Protokoll fort.
13. Declere™ mit PBS- oder TBS-IHC-Waschpuffer abspülen. Das Declere™ in der Färbeschale, in die das Objektträger-Gestell ursprünglich gestellt wurde, muss nun entsorgt werden. Das Declere™ in der zweiten Färbeschale (für die heiße Spülung) kann als erste Declere™-Lösung beim nächsten Verfahren wiederverwendet werden, d. h. die Lösungen können einmal umgefüllt werden.
14. Fahren Sie mit der IHC-Färbung gemäß dem routinemäßig angewandten Verfahren fort.

Verfahren in drei Schritten

1. Schneiden und trocknen Sie Ihre Paraffinschnitte wie oben beschrieben und entparaffinieren und rehydrieren Sie Ihre Schnitte.
2. Das Objektträger-Gestell in die Färbeschale stellen und mit ausreichend Arbeitslösung aus Declere™ befüllen, sodass das gesamte Gewebe auf den Objektträgern bedeckt ist.
3. Methode mit elektrischem Druckkocher (bevorzugt): die oben beschriebenen Schritte 6–12 befolgen, aber nur ein Behältnis mit Declere™ verwenden. Nach Entfernen des Deckels vom Druckkocher dürfen die Objektträger und das Behältnis höchstens 2 Minuten lang im Druckkocher verbleiben. Danach das Declere™ mit PBS- oder TBS-IHC-Waschpuffer abspülen.
4. Fahren Sie mit der IHC-Färbung gemäß dem routinemäßig angewandten Verfahren fort.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die klinische Interpretation von Färbungen oder das Fehlen einer Färbung muss durch morphologische Studien und die Bewertung der angemessenen Kontrollen ergänzt werden. Die Beurteilung muss von einem qualifizierten Pathologen vor dem Hintergrund der Patientenanamnese und anderer diagnostischer Tests durchgeführt werden.

QUALITÄTSKONTROLLVERFAHREN

Konsultieren Sie bitte die genehmigten Richtlinien des NCCLS für die Qualitätssicherung in der Immunhistochemie, Dezember 1999 MM4-A, Band 19, Nr. 26, für nähere Angaben zu Gewebekontrollen.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Dieses Produkt ist ausschließlich für die *In-vitro*-Diagnose durch Fachkräfte bestimmt.
2. Das Produkt darf nach dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum nicht mehr verwendet werden. Der Anwender hat Lagerungsbedingungen, die von den auf der Packungsbeilage angegebenen Bedingungen abweichen, selbst zu validieren.
3. Alle Reagenzien, Objektträger und Proben vor Gebrauch auf Raumtemperatur erwärmen (18–24 °C).
4. Kreuzkontamination von Reagenzien oder Proben kann zu falschen Ergebnissen führen.
5. Die Mikrobenkontamination von Reagenzien ist zu vermeiden, da eine Kontamination zu fehlerhaften Ergebnissen führen kann.
6. Den Kontakt der Reagenzien mit Augen und Schleimhäuten ist zu vermeiden. Falls die Reagenzien in Kontakt mit empfindlichen Bereichen geraten, mit reichlich Wasser abspülen.
7. In Räumen, in denen Proben oder Reagenzien gehandhabt werden, darf weder geraucht noch gegessen oder getrunken werden.
8. Die Erzeugung von Spritzern oder Aerosolen ist stets zu vermeiden.
9. Mehrfach verwendbare Laborglaswaren müssen vor Gebrauch gewaschen werden und dürfen nach dem Waschen keine Rückstände des Reinigungsmittels mehr aufweisen. Sämtliche Laborglaswaren müssen vor Gebrauch gereinigt und abgetrocknet werden.
10. Niemals mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Reagenzien und Probenmaterial mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Falls es zum Kontakt kommt, mit antibakterieller Seife und reichlich Wasser spülen.
11. Das SDB des Produkts enthält wichtige Hinweise.
12. Stellen Sie stets sicher, dass sich der Druck normalisiert, bevor Sie ein unter Druck stehendes Gerät öffnen.
13. Tragen Sie stets persönliche Schutzkleidung, um Kontakt mit stark erhitzten Lösungen zu vermeiden.
14. Die Färbeergebnisse eines Gewebes sind von sachgemäßer Behandlung und Aufbereitung des Gewebes vor dem Färben abhängig. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erhitzen, Schneiden oder eine Kontaminierung mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Gewebeverlust, falsch positiven oder falsch negativen Ergebnissen führen.

EINSCHRÄNKUNGEN

Die Immunhistochemie ist ein mehrstufiges Verfahren, das von den präanalytischen Variablen abhängig ist, die bei der Probenbearbeitung vor der IHC-Färbung beteiligt sind. Es liegt in der Verantwortung des Endbenutzers, optimale Bedingungen festzulegen.

PROBLEMLÖSUNG

Die reagenzspezifischen Protokollempfehlungen auf dem mitgelieferten Datenblatt müssen beachtet werden.

Falls Sie weitere Hilfe benötigen, wenden Sie sich bitte an den Technischen Kundendienst von Cell Marque unter +1-800-665-7284.

LITERATUR

1. NCCLS Quality Assurance for Immunocytochemistry approved guideline, December 1999 MM4-A Vol. 19 No.26 for more information on tissue controls.

HAFTUNGSAUSSCHLUSS

www.cellmarque.com



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



CM Template #1.1