

Permanent Red Chromogen Kit

Zur Verwendung In Der In Vitro Diagnostik (IVD)
Anwendungsvorschriften

BESTIMMUNGSZWECK

Das Permanentrot-Chromogen-Kit ist zur Verwendung in auf alkalischer Phosphatase basierenden immunhistochemischen (IHC) Färbeprotokollen vorgesehen. Das Reagenz ist für die Detektion von Zielantigenen in formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitten bestimmt, wenn es bei der immunhistochemischen Färbung in Verbindung mit Antikörpern und einem geeigneten Chromogen verwendet wird.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Bei Anwesenheit von alkalischer Phosphatase erzeugt Permanentrot-Chromogen einen nicht-verblassenden, leuchtend roten Niederschlag, der leicht mit Lichtmikroskopie sichtbar gemacht werden kann.

PRINZIPIEN UND VERFAHREN

Das Chromogen ist der letzte Schritt in der Phase der Detektion im IHC-Verfahren; es ermöglicht die Darstellung des Antikörper-Antigen-Komplexes unter dem Lichtmikroskop. Permanentrot wirkt als Elektronenspender in Gegenwart des Enzyms alkalische Phosphatase. Dadurch wird Permanentrot reduziert und die Farbänderung erfolgt.

MATERIALIEN UND VERFAHREN

Reagenzien geliefert als:

Kit Kat.-Nr.	Reagenz Kat.-Nr.	Inhalt	Vol. (mL)
960D-10 30 mL kit	960D-11	Perm. Red Reagent 1	0.7 mL
	960D-12	Perm. Red Reagent 2	0.7 mL
	960D-13	Perm. Red Reagent 3	0.7 mL
	960D-14	Perm. Red Buffer	30.0 mL
960D-20 100 mL kit	960D-21	Perm. Red Reagent 1	2.3 mL
	960D-22	Perm. Red Reagent 2	2.3 mL
	960D-23	Perm. Red Reagent 3	2.3 mL
	960D-24	Perm. Red Buffer	100 mL

Benötigte, nicht mitgelieferte Materialien und Reagenzien

- | | |
|--|--|
| 1. TBS- oder PBS-Waschpuffer* | 8. Gestell für Objektträger* |
| 2. Messflasche/Zylinder mit Messkala | 9. Färbepplatten* |
| 3. Positiv geladene Objektträger | 10. Druckkocher* |
| 4. Trockenofen | 11. Vorbehandlungsreagenzien* |
| 5. Positive und negative Kontrollen | 12. Proteolytische Enzyme |
| 6. Reinigungsmittel (Xylol, Clearene usw.) | 13. Avidin/Biotin-Block* |
| 7. Ethanol oder Reagenzalkohol | 14. Peroxid-Block |
| | 15. Reagenzien für Negativ-Kontrollen* |
| | 16. Hämatoxylin* |
| | 17. 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 2-8°C längstens 24 Monat/Monate ab Herstellungsdatum lagern (siehe Verfalldatum auf Produktetikett). Vor Licht geschützt lagern.

Vorbereitung des Reagenzes

- Zu 5 mL Permanentrot-Puffer:
 - 2 Tropfen Reagenz hinzufügen 1. Gut mischen.
 - 2 Tropfen Reagenz hinzufügen 2. Gut mischen.
 - 2 Tropfen Reagenz hinzufügen 3. Gut mischen.

Empfohlene Protokollanweisungen

- Bei Raumtemperatur für 15 bis 30 Minuten inkubieren, je nachdem wieviel für eine vollständige Farbentwicklung erforderlich ist.
- Das Gewebe mit destilliertem Wasser spülen.
- Mit Hämatoxylin gegenfärben.
- Dehydrieren und mit permanentem Befestigungsmaterial abdecken.

Anmerkungen zum Protokoll

- Eine verbesserte Färbung kann durch Entwickeln des Substrats in der Dunkelheit erhalten werden.
- Die Arbeitslösung innerhalb von 15 Minuten nach der Herstellung verwenden, da sonst eine verringerte Empfindlichkeit auftritt.
- Keine PBS-Waschpuffer verwenden, da Phosphate als kompetitiver Inhibitor für alkalische Phosphatase-Enzyme wirken können.
- Kein Levamisol verwenden, da es die Aktivität des alkalischen Phosphatase-Enzyms hemmen kann, wenn es vor der Herstellung der Arbeitslösung verwendet wird.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Das Cell Marque Permanentrot-Kit bewirkt, dass ein helles rotes Reaktionsprodukt an den Antigenstellen ausfällt, die durch den primären Antikörper lokalisiert wurden. Bevor die Ergebnisse interpretiert werden können, hat ein qualifizierter Pathologe die Kontrollen zu evaluieren und das gefärbte Produkt zu qualifizieren.

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. Nicht in hellem Licht verwenden oder lagern, da das Produkt lichtempfindlich ist.
13. Produkt bei 2 - 8 °C aufbewahren, wenn es nicht in Gebrauch ist, da es temperaturempfindlich ist.

EINSCHRÄNKUNGEN

Die Immunhistochemie ist ein in mehreren Schritten aufgebautes Diagnoseverfahren, das spezifische Schulung und eine Auswahl geeigneter Reagenzien und Kontrollsubstanzen erfordert. Die Protokolle für eine spezifische Anwendung können variieren. Es unterliegt der Verantwortung des Endanwenders, die optimalen Bedingungen festzulegen.

PROBLEMLÖSUNG

Die reagensspezifischen 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.

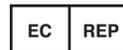
LITERATUR

1. NCCLS Quality Assurance for Immunocytochemistry approved guideline, December 1999 MM4-A Vol. 19 No.26 for more information on tissue controls.
2. Bulman AS, et al. Alkaline phosphatase for immunocytochemical labelling: problems with endogenous enzyme activity. J Clin Pathol. 1981; 34:1349-51.
3. Roche PC, et al. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. NR Rose Ed. ASM Press, 2002.

HAFTUNGSAUSSCHLUSS



www.cellmarque.com



EMERGO EUROPE

Prinsessegracht 20, 2514 AP, The Hague, The Netherlands



CM Template #1.2v2