

# ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

## Catalog No: DS9665

Leica Biosystems Newcastle Ltd  
Balliol Business Park West  
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

### 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.

### Bruksanvisning

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.

### Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

### Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

### 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.



# 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 user<sup>1</sup>.

## Precautions

- WARNING - some mounting media may cause the red chromogen to crystallize or fade.
- DO NOT USE DPX, Entellan<sup>®</sup>, Leica CV Mount, Eukitt<sup>®</sup> quick-hardening mounting medium, Surgipath MM 24<sup>®</sup>, Surgipath Sub-X<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> (Polysciences Inc. Cat 08381), VectaMount<sup>™</sup> (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.  
P281: Use personal protective equipment as required.  
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](http://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 precautions<sup>3</sup>. 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 user<sup>1</sup>.
- Do not mix reagents from different detection systems.

## Instructions for Use

The ChromoPlex 1 Dual Detection was 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. 4<sup>th</sup> Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 is a trademark of Supelco, a part of Sigma-Aldrich Corporation.

## **Date of Issue**

09 February 2015

# 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) ≤ 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'utilisateur<sup>1</sup>.

## 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.

P281: Utiliser l'équipement de protection individuel requis.

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](http://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 adéquates<sup>3</sup>. 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'utilisateur<sup>1</sup>.
- 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. 4<sup>th</sup> Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
- ProClin 950 est une marque commerciale de Supelco, membre du groupe Sigma-Aldrich Corporation.

### **Date de publication**

09 février 2015



# 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 tetraidrocloruro 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 tetraidrocloruro 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'utilizzatore<sup>1</sup>.

## 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'-diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate.  
GHS07: Punto esclamativo.  
GHS08: Pericolo per la salute.  
Avvertenza: 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.  
P281: Utilizzare il dispositivo di protezione individuale richiesto.  
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](http://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 appropriate<sup>3</sup>. 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'utilizzatore<sup>1</sup>.
- 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. 4<sup>th</sup> Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
- ProClin 950 è un marchio di fabbrica di Supelco, società del gruppo Sigma-Aldrich.

### **Data di pubblicazione**

09 febbraio 2015

# 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 Anwender<sup>1</sup> zu prüfen.

## Vorsichtsmaßnahmen

- **WARNHINWEIS:** Einige Einbettmittel können bewirken, dass das rote Chromogen kristallisiert oder verblasst.
- **VEWENDEN SIE FOLGENDE EINBETTMITTEL NICHT:** DPX, Entellan<sup>®</sup>, Leica CV Mount, Eukitt<sup>®</sup> quick-hardening mounting medium, Surgipath MM 24<sup>®</sup>, Surgipath Sub-X<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> (Polysciences Inc. Kat.-Nr. 08381), VectaMount<sup>™</sup> (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.  
P281: Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden.  
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](http://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 entsorgen<sup>3</sup>. 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 prüfen<sup>1</sup>.
- 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. 4<sup>th</sup> Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
- ProClin 950 ist eine Marke von Supelco, einem Unternehmen der Sigma-Aldrich Corporation.

### **Ausgabedatum**

09 Februar 2015

# 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 usuario<sup>1</sup> 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.  
P281: Utilizar el equipo de protección individual obligatorio.  
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](http://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 correspondientes<sup>2</sup>. No pipetee 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 realice<sup>1</sup>.
- 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. 4<sup>th</sup> Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 es una marca comercial de Supelco, parte de Sigma-Aldrich Corporation.

### **Fecha de publicación**

09 de febrero de 2015

# 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 dos 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 utilizador<sup>1</sup>.

## 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.

P281: Usar o equipamento de proteção individual exigido.

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 activadoras 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](http://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 infecções 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 utilizador<sup>1</sup>.
- 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 optimizados 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 optimizado 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. 4<sup>th</sup> Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 é uma marca comercial de Supelco, parte da Sigma-Aldrich Corporation.

### **Data de Emissão**

09 de Fevereiro de 2015

# 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 laboratorieresed 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 satsar på 2 eller fler per infärgningsenhet. Körningar med satsar 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 övntad 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 användaren<sup>1</sup>.

### 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: Hälsofara.  
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  
P281: Använd föreskriven personlig skyddsutrustning.  
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](http://www.LeicaBiosystems.com)
- Prover, innan och efter fixering, samt alla material som exponeras för proverna ska hanteras som smittsamma och kasseras enligt lokala bestämmelser<sup>3</sup>. 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 häri kan ge felaktiga resultat. Alla sådana ändringar ska valideras av användaren<sup>1</sup>.
- 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 av Leica Biosystems 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. 4<sup>th</sup> Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 är ett varumärke för Supelco som ingår i Sigma-Aldrich Corporation.

## **Utgivningsdatum**

09 februari 2015

# 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 υπεροξειδωδίου 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 χρονοδιάστημα 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.ά.) 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.ά.) 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.ά.) 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 ανασύνθεση, ανάμειξη, αραίωση ή πιλοδότηση 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 χρήστη<sup>1</sup>.

## 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.  
P281: Χρησιμοποιείτε μέσα ατομικής προστασίας όταν απαιτείται.  
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 νιτριλίου μίας 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](http://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 προφυλάξεις<sup>3</sup>. 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 ενδοχόμενων 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 χρήστη<sup>1</sup>.
- Μην αναμενείτε 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 μονοκλωνικής 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. 4<sup>th</sup> Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. Το ProClim 950 είναι εμπορικό σήμα της Supelco, τμήμα της Sigma-Aldrich Corporation.

## Ημερομηνία Έκδοσης

09 Φεβρουαρίου 2015

# 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 formalinfikseret 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 brugeren<sup>1</sup>.

## 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 monteringsmediene 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.  
P281: Anvend de påkrævede personlige værnemidler.  
P264: Vask hænder grundigt efter brug.  
P270: Der må ikke spises, drikkes eller ryges 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 materielskade.

- Aktivatoren og substratopløsningerne kan forårsage irritation af huden, øjnene, slimhinderne og de øvre luftveje. Anvend engangshandsker af nitril ved håndtering af reagenser. Bortskaffes 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](http://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 forholdsregler<sup>2</sup>. 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 brugeren<sup>1</sup>.
- 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 BONDMAX- 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-øgningens 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. 4<sup>th</sup> Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. ProClin 950 er et varemærke tilhørende Supelco, en del af Sigma-Aldrich Corporation.

## **Datum van uitgifte**

09 februar 2015

# 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 gebruiker<sup>1</sup> 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.

P281: De nodige persoonlijke beschermingsuitrusting gebruiken.

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, slijmvliezen 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](http://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 voorzorgsmaatregelen<sup>3</sup>. Pipetteer nooit reagentia met de mond en vermijd contact met de huid en slijmvliezen met reagentia of monsters. Als er reagentia of monsters in contact komen met gevoelige 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 gebruiker<sup>1</sup>.
- 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 objectglaasjes 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 terughaalcondities 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**

09 februari 2015



# 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 bunntfall.
- Det andre substrat-kromogenet, (Fast Red), synliggjør kanin-antistoffer gjennom et rødt bunntfall.
- 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 brukeren<sup>1</sup>.

## 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'-diaminobenzidindine 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.  
P281: Bruk påkrevd personlig verneutstyr.  
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](http://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 forholdsregler<sup>3</sup>. 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 brukeren<sup>1</sup>.
- 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-prosessmodulert. 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 fortennet 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.

## For 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**

09 februar 2015

# ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND - 50 Test

## Katalog No: DS9665

### Kullanım Amacı

Bu saptama sistemi *in vitro* diagnostik kullanım içindir.

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 fosfat (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 patoloğ 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 ve böylelikle, 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 Düzeneğine 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. **Önemler**).

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 tutacağıın etiketinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Kullandıktan hemen sonra 2–8 °C sıcaklık ortamına geri döndürün.

Bu ürünün instabilitesini gösterecek herhangi bir belirin 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 alınız.

P202: Kullanmadan önce tüm güvenlik talimatlarını okuyunuz ve anlayınız.

P281: Önceden belirlenen kişisel koruyucu donanımlar kullanınız.

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](http://www.LeicaBiosystems.com)
- Fiksasyondan önce ve sonra numunelere ve bunlara maruz kalan tüm materyallere enfeksiyon bulaştırabilmiş gibi muamele edilmedi 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 doğrulanmalıdır<sup>1</sup>.
- 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 etkinliğini bağlı olarak farklılıklar gösterebilir ve ampirik olarak belirlenmelidir. Geri alım (retrieval) koşullarını ve primer antikor konsantrasyonlarını optimize ederken negatif reaktif kontrolleri kullanılmalıdır.

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**

09 Şubat 2015



