

PermaBlue Plus/AP

K058
K058-110

Document #: DS-4001- B
Date d'entrée en vigueur: 3/7/2017

Utilisation prévue

Pour un usage de diagnostic *in vitro*.

Résumé et explication

PermaBlue Plus/AP est un système de chromogène substrat conçu pour être utilisé pour IHC ou ISH lors de l'utilisation de phosphatase alcaline. PermaBlue Plus/AP a été reformulé pour augmenter la stabilité de la solution de travail tout en produisant une couleur bleu vif distincte. PermaBlue Plus/AP est insoluble dans les substituts d'alcool et de xylène; par conséquent, les sections peuvent être déshydratées dans de l'alcool, clarifiées dans un substitut de xylène et montées de manière permanente.

Principes de la procédure

Substrat/chromogène associé à la phosphatase alcaline (AP) basé sur les systèmes d'immuno-coloration ou d'hybridation *in situ*.

Réactifs fournis

Contenu du kit	30 mL	110 mL
Tampon de substrat de PermaBlue Plus/AP	30 mL	110 mL
Chromogène de PermaBlue Plus/AP	1 mL	3 mL
Bouteille de mélange vide	1	1

Préparer les solutions suivantes avant utilisation

1. Aliquoter 1 mL de tampon de substrat de PermaBlue Plus/AP dans un flacon mélangeur.
2. Ajouter une goutte (~ 20µl) de solution chromogène concentrée de PermaBlue Plus/AP.
3. Remplacez la pointe, mélangez et laissez la solution atteindre la température ambiante avant utilisation.

Remarque: La solution de travail chromogène-substrat de PermaBlue Plus/AP est sensible à la lumière et doit être maintenue à l'abri de la lumière autant que possible. La solution de travail est stable jusqu'à 6 heures dans l'obscurité; toute solution non utilisée pendant cette période doit être jetée. Pour une coloration optimale, utilisez une solution fraîchement préparée.

Matériel requis mais non fourni

Certains réactifs et matériaux nécessaires à l'IHC ne sont pas fournis. Les réactifs de prétraitement, les systèmes de détection, les réactifs de contrôle et autres réactifs auxiliaires sont disponibles chez Diagnostic BioSystems. Veuillez consulter le site Web de Diagnostic BioSystems à l'adresse www.dbiosys.com

Stockage et manutention

Conserver à 2-8°C. Cet anticorps peut être utilisé jusqu'à la date de péremption s'il est conservé entre 2 et 8°C. Ne pas utiliser le produit après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont stockés dans des conditions autres que celles spécifiées ici, ils doivent être vérifiés par l'utilisateur. Les réactifs dilués doivent être utilisés rapidement.

Procédure de coloration

1. Une fois les coupes incubées avec de la phosphatase alcaline, lavez les coupes avec du tampon de lavage puis suivez le protocole de votre choix:
 - a) **Solution de travail avant mélange:** La solution de travail (automatisation) de PermaBlue Plus/AP a une stabilité de 6 heures et peut être chargée directement sur l'instrument sous forme de solution unique. Réduisez l'exposition à la lumière pour obtenir une coloration optimale. La solution de travail est appliquée directement sur la diapositive. Incuber pendant 10 à 20 minutes
 - b) **Mélange intégré:** (automatisation) Les instruments dotés d'une capacité de mélange intégré peuvent charger indépendamment les composants du chromogène et du tampon substrat. La solution de travail est constituée de réactifs de mélange à 1:50 dans la station de mélange intégrée avant l'application sur lame. Incuber pendant 10 à 20 min.
 - c) **Utilisation manuelle:** Mélanger le chromogène substrat et le tampon dans un rapport de 1:50 et appliquer directement sur la lame. Incuber 10 à 20 min.
2. Contre-colorer avec de l'hématoxyline ou du rouge rapide nucléaire pour un bon contraste. Laver avec DI H₂O puis avec un tampon de lavage immunologique.
3. Nous recommandons les lames de séchage à l'air (au lieu d'une déshydratation ou d'une clarification dans un substitut d'alcool et de xylène). Après avoir rincé le contre-colorant dans DI H₂O, laissez les diapositives sur le plan de travail pendant au moins 20 minutes pour les laisser sécher à l'air, puis montez-les de façon permanente.
4. Vous pouvez également déshydrater des coupes dans des concentrations croissantes d'éthanol jusqu'à 100%, clarifier dans un substitut de xylène * et monter avec un milieu de montage permanent.
* Notes: Utilisez un substitut de xylène au lieu du xylène.

Recommandation:

Pour une meilleure conservation des couleurs et un stockage à long terme des lames, il est recommandé d'utiliser Immuno Histo-Sealer (K076) après la contre-coloration.

Précautions

1. Consulter les autorités locales et/ou nationales concernant la méthode d'élimination recommandée.
2. Les matières d'origine humaine ou animale doivent être manipulées comme des matières biologiques dangereuses et éliminées avec les précautions appropriées.
3. Évitez la contamination microbienne des réactifs. La contamination pourrait produire des résultats erronés.
4. Ce réactif peut provoquer une irritation. Éviter le contact avec les yeux et les muqueuses.
5. Si le réactif entre en contact avec ces zones, rincez abondamment à l'eau.
6. Ne pas ingérer ou inhaler les réactifs.

Support technique

Si vous observez une coloration inattendue qui ne peut pas être expliquée par des modifications des procédures de laboratoire et si un problème est suspecté, contactez le support technique de Diagnostic BioSystems au (925) 484-3350, extension 2 ou à l'adresse techsupport@dbiosys.com

