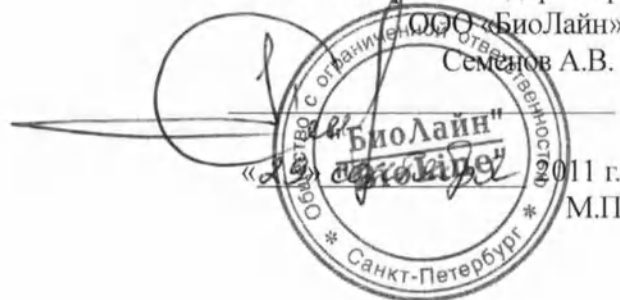


«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «БиоЛайн»
Семенов А.В.



2011 г.
М.П.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Антител моноклональных мышинных in vitro для
иммуногистохимических исследований «Новокастра», производства Лейка
Микросистем Вертриеб Гмбх (Германия, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH)

«СОГЛАСОВАНО»

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава»,
д.м.н., профессор

Долгов В.В.



2011 г.

2011 г.

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ
2. ХАРАКТЕРИСТИКА
 - 2.1. Принцип действия
 - 2.2. Состав
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ
5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ
6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ
7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА
8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ
9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ
10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

1. Назначение

Антитела моноклональные мышинные *in vitro* для иммуногистохимических исследований «Новокастра», производства Лейка Микросистем Вертриеб Гмбх (Германия, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH) используются как основной реагент при иммуногистохимических окрашиваниях для диагностики *in vitro*.

2. Характеристика

2.1 Принцип действия

Основой иммуногистохимического (ИГХ) метода является иммунологическая реакция антигена и антитела. ИГХ-методы позволяют локализовать и идентифицировать клеточные и тканевые антигены, основываясь на их связывании с антителами.

Существует несколько форм антител: лиофилизированные (сухие) антитела и жидкие антитела, которые требуют разведения специальным раствором, и антитела, готовые к использованию. Так как первичные антитела – немеченые, специфическое связывание первичных антител определяется с помощью системы визуализации на основе пероксидазы, или полимера, сцепленного с пероксидазой.

2.2 Состав

1. Антитела моноклональные мышинные *in vitro* для иммуногистохимических исследований «Новокастра», производства Лейка Микросистем Вертриеб Гмбх (Германия, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH). Настоящие антитела – немеченые, моноклональные мышинные, представлены в лиофилизированной, жидкой концентрированной и готовой к использованию формах. Фасовки: 0,1 мл, 1 мл и 7 мл.

3. Аналитические и диагностические характеристики

Данные антитела необходимы для иммуногистохимического окрашивания, которое широко используется как в клинической практике для диагностики *in vitro* различных заболеваний и, главным образом, в дифференциальной диагностике опухолей кровеносной и лимфоидной систем и идентификации различных микроорганизмов (бактерий, вирусов), так и в научно-исследовательской работе. Первичные немеченые моноклональные мышинные антитела специфически связывают в тканях соответствующие антигены, к которым они направлены.

4. Меры предосторожности

- Этот продукт предназначен для диагностики *in vitro*.
- Никогда не пипетируйте ртом и избегайте контакта кожи и слизистых мембран с реагентами или образцами. Если реагенты или образцы соприкоснулись с чувствительными участками, промойте их обильным количеством воды и обратитесь к врачу.
- С образцами тканей и материалами, контактировавшими с ними, следует обращаться как с потенциально инфекционными и обеззараживать в соответствии с федеральными, государственными и местными инструкциями.
- Минимизируйте загрязнение антител микробами, иначе может произойти неспецифическое окрашивание.
- Изменения внешнего вида антител, такие как выпадение осадка или обесцвечивание указывают на нестабильность и непригодность. В таких случаях реагент не должен использоваться.
- Реагенты антител содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия вреден при попадании внутрь. Храните вне досягаемости детей. Храните отдельно от пищевых продуктов, спиртных напитков и кормов для животных. Азид натрия следует смывать большими количествами воды.

5. Оборудование и материалы

Для приготовления гистологических препаратов необходимы следующее оборудование и материалы:

- 1) лабораторная посуда
- 2) буферные растворы
- 3) батарея для депарафинизации и регидратации
- 4) микротом или микротом-криостат для нарезания гистологических срезов
- 5) термостол для расправления парафиновых срезов
- 6) предметные и покровные стекла
- 7) адгезивы (для прилипания гистологического среза к стеклу)
- 8) влажная камера
- 9) первичные немеченые антитела
- 10) системы детекции и наборы визуализации, в состав которых входят вторичные меченые антитела.
- 11) термостаты 37°C, 56°C (для инкубации образца ткани с антителами)
- 12) гистологические красители
- 13) среды для заключения гистологических препаратов
- 14) световой микроскоп (для визуализации результатов окрашивания)

6. Анализируемые образцы

Образцы тканей, биопсии, участки органов.

7. Проведение анализа

- 1) Разместить срезы на стеклах, покрытых адгезивом.
- 2) Провести депарафинизацию в ксилоле или его заменителях.
- 3) Регидратировать через серию спиртов.
- 4) Промыть текущей водопроводной водой.
- 5) Провести процедуры демаскировки антигена, если это требуется (см. инструкцию, приложенную к первичным антителам).
- 6) Промыть де-ионизированной водой.
- 7) Нейтрализовать эндогенную пероксидазу, используя пероксидазный блок, 5 мин.
- 8) Промыть 2 раза по 5 мин TBS буфером.
- 9) Инкубировать срезы 5 минут с протеиновым блоком.
- 10) Промыть 2 раза по 5 мин TBS буфером.
- 11) Обвести срезы гидрофобным карандашом
- 12) Инкубировать срезы с оптимально разведенными первичными немечеными антителами. Лиофилизированные антитела первоначально разводят дистиллированной водой в объеме 0,1 мл или 1 мл в зависимости от фасовки, далее буфером для разведения антител в соотношении, указанном в инструкции, которая прилагается к каждому антителу. Жидкие концентрированные антитела разводят буфером для разведения антител в соотношении, указанном в инструкции, которая прилагается к каждому антителу. Готовые к использованию антитела не требуют предварительного смешивания или разведения. Инкубация с первичными антителами продолжается от 15 до 60 минут (время инкубации см. в инструкции, приложенной к первичным антителам) при 25°C.
- 13) Промыть 2 раза по 5 мин TBS буфером.
- 14) Инкубировать срезы 30 минут с усилителем проникновения полимера.
- 15) Промыть 2 раза по 5 мин TBS буфером.
- 16) Инкубировать срезы 30 минут с вторичными антителами, конъюгированными с полимером сцепленным с пероксидазой.
- 17) Промыть 2 раза по 5 мин TBS буфером.
- 18) Инкубировать срезы с рабочим разведением DAB 5 мин.
- 19) Промыть водой.

- 20) Докрасить гематоксилином.
- 21) Промыть водой 5 минут.
- 22) Провести дегидратацию, очищение, затем покрыть заключающим раствором.

8. Регистрация результатов

Продукт иммуногистохимических реакций может иметь в клетке различную локализацию: мембранную, цитоплазматическую, ядерную, в области аппарата Гольджи.

Результаты иммуногистохимической реакции могут оцениваться полуколичественным или количественным способом, с помощью световой микроскопии, а в ряде случаев только качественной оценкой реакции.

9. Учет результатов реакции

При использовании этого метода необходима постановка контролей, под контролем иммуногистохимической реакции подразумевается проверка специфичности взаимодействия антител и, следовательно, реальность полученной картины. Отрицательный контроль, свидетельствует о том, что исследуемый антиген в ткани не присутствует, положительный – наоборот, свидетельствует о наличии исследуемого антигена. Вместе с тем этот метод наиболее специфичен и чувствителен, чем рутинное гистологическое исследование и позволяет снизить количество ошибок и неверифицируемых диагнозов, произвести иммунофенотипирование опухолей лимфоидной и кровеносной систем.

10. Условия хранения и эксплуатации

Антитела хранят при температуре $+2+8^{\circ}\text{C}$, не замораживают, после применения их необходимо немедленно вернуть в холодильник ($t^{\circ} +2 +8^{\circ}\text{C}$). Лиофилизированные антитела после разведения дистиллированной водой стабильны при температуре $+2 - +8^{\circ}\text{C}$ два месяца, поэтому их аликвотируют и замораживают при температуре -20°C . Избегать размораживания и повторного замораживания. Знаками, указывающими на загрязнение и/или нестабильность, являются мутность раствора, появление запаха и наличие осадка. Антитела не следует применять после истечения срока годности, указанного на этикетке.

Генеральный директор ООО «БиоЛайн»

Александр Владимирович Семенов/



19 сентября 2011г.

В настоящем документе прошито и
пронумеровано 5(пять) листов
Генеральный директор
ООО «БиоЛайн»

Семенов А.В.



СПРАВКА ОБ ИЗДЕЛИИ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ–
Антитела моноклональные мышинные in vitro для иммуногистохимических
исследований «Новокастра», производства Лейка Микросистем Вертриеб Гмбх
(Германия, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH)

1. Наименование изделия:

Антитела моноклональные мышинные in vitro для иммуногистохимических исследований «Новокастра», производства Лейка Микросистем Вертриеб Гмбх (Германия, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH)

2. Описание изделия:

2.1. Перечень антител с указанием объемов приведен в приложении к справке об изделии медицинского назначения (см. приложение).

2.2. Антитела моноклональные мышинные in vitro для иммуногистохимических исследований «Новокастра», производства Лейка Микросистем Вертриеб Гмбх (Германия, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH), предназначены для качественного определения локализации, а также идентификации клеточных и тканевых антигенов. Использование данных антител in vitro для иммуногистохимических исследований лежит в основе исследований самых разных молекулярных образований:

- структурных компонентов клетки
- рецепторов клеточной поверхности
- клеточных продуктов (гормонов, ферментов, иммуноглобулинов) в гистологических (цервикальные биопсии) и цитологических (цитологические мазки) препаратах, посредством применения иммуногисто- и цитохимических методов исследования.

2.3. Настоящие антитела немеченые, моноклональные мышинные, представлены в лиофилизированной, жидкой концентрированной и готовой к использованию формах. Фасовки: 0,1 мл, 1 мл и 7 мл.

2.4. Лиофилизированные антитела первоначально разводят дистиллированной водой в объеме 0,1 мл или 1 мл в зависимости от фасовки, далее буфером для разведения антител в соотношении, указанном в инструкции, которая прилагается к каждому антителу. Жидкие концентрированные антитела разводят буфером для разведения антител в соотношении, указанном в инструкции, которая прилагается к каждому антителу. Готовые к использованию антитела не требуют предварительного смешивания или разведения.

3. Принцип действия.

Основой иммуногистохимического (ИГХ) метода является иммунологическая реакция антигена и антитела. ИГХ-методы позволяют локализовать и идентифицировать клеточные и тканевые антигены, основываясь на их связывании с антителами.

Принцип иммуногисто- и цитохимического метода исследования основан на окраске биологического материала (образцов ткани - гистологических препаратов, биопсий (для гистохимии) и цитологических препаратов, мазков, для цитохимии, в условиях сохранения морфологии клеток, позволяющий определить локализацию искомого антигена в различных тканях, типах клеток, клеточных структурах с помощью специфических антител и чувствительных компонентов системы детекции.

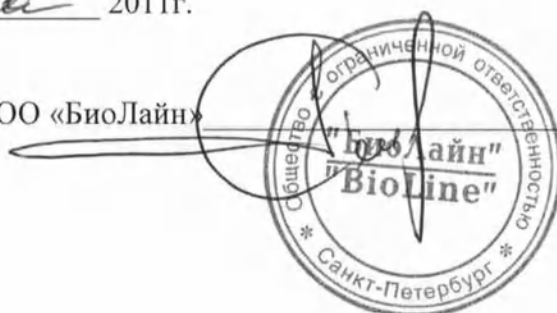
4. Антитела должны быть упакованы в пластиковые флаконы, позволяющие хранить длительное время при температуре 2-8°C. Знаками, указывающими на загрязнение и/или нестабильность, являются мутность раствора, появление запаха и наличие осадка. Антитела не следует применять после истечения срока годности, указанного на этикетке.

5. Данные антитела необходимы для иммуногистохимического окрашивания, которое

широко используется как в клинической практике для диагностики in vitro различных заболеваний и, главным образом, в дифференциальной диагностике опухолей кровеносной и лимфоидной систем и идентификации различных микроорганизмов (бактерий, вирусов), так и в научно-исследовательской работе.

Дата: «26» августа 2011г.

Генеральный директор ООО «БиоЛайн»



Семенов А. В.