

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «БиоЛайн»
Семенов А.В.



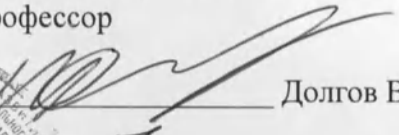

2011 г.
М.П.

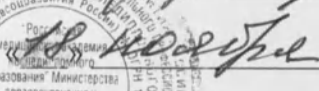
ИНСТРУКЦИЯ

по применению Антитела in vitro для иммуногистохимических исследований «Бонд»,
производства Лейка Микросистем Вертриеб Гмбх (Германия, Leica Mikrosysteme
Vertrieb GmbH)

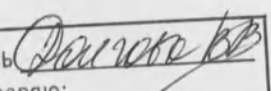
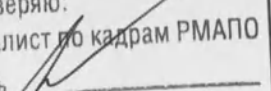
«СОГЛАСОВАНО»

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


Долгов В.В.

 2011 г.



Подпись 
Удостоверяю:
Специалист по кадрам РМАПО
Подпись 
" " 20 года

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 *in vitro* для иммуногистохимических исследований «Бонд», производства Лейка Микросистем Вертриеб Гмбх (Германия, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH) используются как основной реагент при иммуногистохимических окрашиваниях в автоматическом иммуногистостейнере Bond-maX 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.

Антитела *in vitro* для иммуногистохимических исследований «Бонд» готовы к использованию. Специфичность – человек. Так как первичные антитела – немеченые, специфическое связывание первичных антител с антигеном определяется с помощью системы визуализации на основе пероксидазы, или полимера, сцепленного с пероксидазой.

2.2 Состав

1. Антитела *in vitro* для иммуногистохимических исследований «Бонд», производства Лейка Микросистем Вертриеб Гмбх (Германия, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH). Настоящие антитела – немеченые, моноклональные мышиные и поликлональные кроличьи, представлены в готовой к использованию форме. Объем – 7 мл.

3. Аналитические и диагностические характеристики

1. Данные антитела необходимы для иммуногистохимического окрашивания, которое широко используется как в клинической практике для диагностики *in vitro* различных заболеваний, главным образом, в дифференциальной диагностике опухолей, идентификации различных микроорганизмов (бактерий, вирусов), определения гормонов и их рецепторов, так и в научно-исследовательской работе. Первичные немеченые моноклональные мышиные и поликлональные кроличьи антитела специфически связывают в тканях соответствующие антигены, к которым они направлены. Использование антител *in vitro* для иммуногистохимических исследований «Бонд» в автоматическом иммуногистостейнере Bond-maX значительно сокращает время анализа и упрощает процедуру, тем самым позволяя одновременно обрабатывать большое количество образцов.

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) термосток для расправления парафиновых срезов
- 6) предметные и покровные стекла
- 7) адгезивы (для прилипания гистологического среза к стеклу)
- 8) первичные немеченые антитела
- 9) системы детекции и наборы визуализации, в состав которых входят вторичные меченые антитела.
- 10) автоматический иммуногистостейнер Bond-maX
- 11) гистологические красители
- 12) среды для заключения гистологических препаратов
- 13) 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 первичными немечеными антителами. 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.

Флаконы с первичными антителами помещаются в иммуногистостейнер Bond-maX. Антитела готовы к применению и не требуют предварительного смешивания или разведения. Все этапы окрашивания с пункта 2 по пункт 20 проводятся автоматически по заданной программе в иммуногистостейнере Bond-maX, продолжительность каждого этапа может быть изменена, при необходимости некоторые этапы могут быть исключены, для получения наилучшего результата окрашивания.

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 ($t^{\circ} +2 +8 \text{ C}$). 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.

Генеральный директор ООО «БиоЛайн»

Александр Владимирович Семенов/



«16» ноября 2011г.

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

Семенов А.В.

