



## DAB Substrate Kit High Contrast

**REF** / Cat. No.: **DAB500plus** 500 Réactions, 55 ml  
**DAB5000plus** 5.000 Réactions, 500 ml

### Mode d'emploi

#### Champs d'application

Le DAB Substrate Kit High Contrast est fait pour le procédé de coloration immunohistochimique et d'hybridation *in situ* avec la peroxydase de raifort sauvage (HRP). DAB (3,3'-Diaminobenzidine) forme, par oxydation sur le lieu de l'antigène cible ou de l'acide nucléique cible, un précipité brun qui est insoluble dans des solvants aqueux ou organiques et visualisable avec le microscope optique.

Le DAB Substrate Kit High Contrast convient en particulier pour des applications où un contraste particulièrement net entre le chromogène et la contre-coloration avec l'hémalum ou l'hématoxyline est désiré. La réaction colorée donne un ton brun un peu plus foncé et a pour effet en définitive une sensibilité un peu plus élevée que des préparations standards DAB.

Pour l'utilisation comme méthode diagnostique in vitro.

#### Réactifs fournis

**REF** / Cat. No. **DAB500plus**

3 ml **DAB Chromogen (DAB concentré liquide)**

11 x 5 ml **DAB Substrate Buffer High Contrast (tampon substrat)**

**REF** / Cat. No. **DAB5000plus**

30 ml **DAB Chromogen (DAB concentré liquide)**

500 ml **DAB Substrate Buffer High Contrast (tampon substrat)**

#### Stockage et utilisation

Les solutions devraient être stockées à 2-8°C sans être diluées. Conserver les solutions à l'abri de la lumière. Ne pas les congeler. Préparer la solution de travail au jour de son emploi. La solution de travail préparée est stable pendant 6 heures. Eliminer des solutions de travail non utilisées (comme produit dangereux).

Les solutions livrées peuvent être conservées jusqu'à la date de péremption en cas de stockage à 2-8°C. Les solutions ne doivent pas être utilisées au-delà de la date de péremption. Les témoins positifs et négatifs doivent être employés parallèlement au matériau d'analyse. Si l'on observe une coloration inattendue ou des différences par rapport au résultat de coloration attendu, qui sont dues au réactif, veuillez contacter le fabricant ou votre distributeur sur place.

#### Mesures de précaution

Utilisation par du personnel spécialisé formé. Le chromogène DAB est malsain. Des fiches de sécurité sont disponibles, sur demande, pour le personnel spécialisé. Porter un équipement de protection approprié afin d'éviter tout contact des réactifs avec les yeux, la peau ou les muqueuses. En cas de contact avec un des réactifs à un endroit sensible, rincer immédiatement avec des quantités importantes d'eau. Il faut éviter toute souillure microbienne des réactifs au risque, sinon, de voir apparaître une coloration non spécifique.

#### Préparation des réactifs (préparation de solution de travail)

##### DAB500plus:

Ajouter 5 gouttes de solution chromogène DAB (concentré DAB) dans un flacon de DAB Substrate Buffer (tampon de substrat) et bien mélanger.

##### DAB5000plus:

Ajouter 50 µl de solution chromogène DAB (concentré) sur 1 ml de tampon substrat DAB High Contrast (tampon substrat) et bien mélanger.

*Remarque: la concentration de travail usuelle s'élève à 50 µl (0,9 mg) DAB par mL de tampon de substrat. L'intensité de la coloration peut être adaptée par l'augmentation ou la diminution de la concentration DAB. On obtient la sensibilité maximale dans l'immunohistochimie avec env. 80 µl (env. 1,5 mg) DAB par ml de tampon de substrat.*

## Protocole de coloration

- 1) Placer le tissu dans du wash buffer après l'étape d'incubation.
- 2) Appliquer la solution de travail DAB sur la coupe de tissu et l'incuber pendant 5 à 15 minutes.
- 3) Laver dans de l'eau (H<sub>2</sub>O) désionisée ou distillée.
- 4) Contre-coloration dans une solution à base de l'hématoxyline pendant 30 secondes à 5 minutes (selon l'intensité).
- 5) Laver dans de l'eau (H<sub>2</sub>O) désionisée ou distillée.
- 6) Bleuier dans de l'eau de conduite pendant 5 minutes au minimum.
- 7) Déshydrater dans l'alcool en ordre ascendant et couvrir avec une solution de fixation permanente à la base du xylène.

Note: DAB peut être couvert aussi avec une solution de fixation à la base aqueuse.

## Contrôle de qualité

Pour une analyse précise, un témoin positif et un témoin négatif devraient être réalisés pour chaque série de coloration. Le témoin positif sert à vérifier le traitement correct de l'échantillon. Si le témoin négatif s'avère positif, cela indique une coloration non spécifique.

## Recherche d'erreurs

En cas de colorations anormales, veuillez lire la notice explicative ou contacter le fabricant ou votre distributeur sur place.

## Résultats à attendre

DAB forme sur le lieu de l'antigène cible ou l'acide nucléique cible un précipité brun foncé qui est insoluble dans des solvants aqueux ou organiques et visualisable avec le microscope optique.

## Limite de la méthode

Dans quelques tissus, l'activité de la peroxydase (endogène) propre au tissu peut conduire à des résultats non spécifiques. Cette activité endogène devrait être inhibée, avant l'anticorps primaire, par l'incubation de la préparation avec une solution de peroxyde d'hydrogène, (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, par ex. bloc de peroxyde).

ZYTOMED Systems garantit que le produit remplira toutes les exigences indiquées et sera conservable jusqu'à la date de péremption, si les conditions de stockage et d'utilisation sont suivies. Nous ne pouvons pas offrir d'autres garanties.

## Performance

ZYTOMED Systems a fait des études sur la performance du coffret en combinaison avec un système de détection standard. Ce produit a été jugé comme approprié pour l'utilisation.

## Littérature

Elias JM "Immunohistopathology – A practical Approach to Diagnosis" ASCP Press 2003  
Nadji M and Morales AR Ann N.Y. Acad Sci 420:134-9, 1983

31. Octobre 2013

Rev: A1013

Doc: DBF\_DAB500plus\_5000plus

Légende des symboles sur les étiquettes:

	Bestellnummer Catalog Number Reference du catalogue		Verwendbar bis Use By Utiliser jusque		Gebrauchsanweisung beachten Consult Instructions for use Consulter les instructions d'utilisation
	Chargenbezeichnung Batch Code Code du lot		Lagerungstemperatur Temperature Limitation Limites de température		Nur für Forschungszwecke For Research Use Only Pour la recherche uniquement
	In vitro Diagnostikum In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro		Achtung/Gefahr Warning/Danger Attention/Danger		Hersteller / Manufacturer / Fabricant Zytomed Systems GmbH Anhaltinerstraße 16 14163 Berlin, Germany Tel: (+49) 30-804 984 990 www.zytomed-systems.de
	Achtung/Gefahr Warning/Danger Attention/Danger		Achtung Warning Attention		Gefahr Danger Danger