



## DAB Substrate Kit High Contrast

**REF** / Cat. No.: DAB500plus 500 Tests  
DAB5000plus 5.000 Tests

### Gebrauchsanweisung

#### Zweckbestimmung

Das DAB Substrate Kit High Contrast ist für immunhistochemische und *in situ*-Hybridisierungs-Färbeverfahren mit Meerrettich-Peroxidase (HRP) bestimmt. DAB (3,3'-Diaminobenzidin) bildet durch Oxidation am Ort des Zielantigens oder der Ziel-Nukleinsäure ein braunes Präzipitat, das in wässrigen oder organischen Lösungsmitteln unlöslich und mit dem Lichtmikroskop darstellbar ist.

Das DAB Substrate Kit High Contrast ist insbesondere für Anwendungen geeignet, bei denen ein besonders deutlicher Kontrast zwischen dem Chromogen und der Gegenfärbung mit Hämalaun oder Hämatoxylin gewünscht wird. Die Farbreaktion ergibt einen etwas dunkleren Brauntönen und bewirkt letztendlich etwas höhere Sensitivität als Standard DAB Präparationen.

Zum Gebrauch als *in vitro* Diagnostikum.

#### Gelieferte Reagenzien:

**REF** / Cat. No. DAB500plus

3 ml DAB Chromogen (flüssiges DAB Konzentrat)

11 x 5 ml DAB Substrate Buffer High Contrast (Substratpuffer)

**REF** / Cat. No. DAB5000plus

30 ml DAB Chromogen (flüssiges DAB Konzentrat)

500 ml DAB Substrate Buffer High Contrast (Substratpuffer)

#### Lagerung und Handhabung

Die Lösungen sollten bei 2-8°C gelagert werden ohne weiter verdünnt zu werden. Bitte bewahren Sie die Lösungen an einem lichtgeschützten Ort auf. Nicht einfrieren. Die angesetzte Arbeits-Lösung sollte am Tag der Verwendung frisch hergestellt werden. Sie kann nach dem Ansetzen bis zu 6 Stunden verwendet werden. Nicht verwendete Arbeits-Lösung sollte verworfen werden (Entsorgung als Gefahrstoff).

Die gelieferten Lösungen sind haltbar bis zum Verfallsdatum, wenn sie bei 2-8°C gelagert wurden. Die Lösungen dürfen nicht über das Verfallsdatum hinaus verwendet werden. Positiv- und Negativkontrollen müssen parallel zum Untersuchungsmaterial mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Färbung oder Abweichungen vom zu erwartenden Färbergebnis beobachtet werden, die auf das Reagenz zurückzuführen sind, kontaktieren Sie bitte den Hersteller.

#### Vorsichtsmaßnahmen

Anwendung durch geschultes Fachpersonal. Das DAB Chromogen ist gesundheitsschädlich. Sicherheitsdatenblätter für das Fachpersonal sind auf Anfrage erhältlich.

Tragen Sie Schutzausrüstung, um Augen-, Haut- oder Schleimhautkontakt mit den Reagenzien zu vermeiden. Falls Sie mit einem der Reagenzien an empfindlicher Stelle in Kontakt kommen, waschen Sie diese mit reichlich Wasser. Eine mikrobielle Verunreinigung der Reagenzien sollte vermieden werden, da sonst eine unspezifische Färbung auftreten könnte.

#### Vorbereitung der Reagenzien (Ansatz der Arbeitslösung)

Bei DAB500plus: 5 Tropfen der DAB Chromogen Lösung (DAB-Konzentrat) in eine Flasche DAB Substrate Buffer High Contrast (Substratpuffer) geben und gut mischen.

Bei DAB5000plus: 50 µl DAB Chromogen Lösung (DAB-Konzentrat) auf 1 ml DAB Substrate Buffer High Contrast (Substratpuffer) geben und gut mischen.

*Hinweis: Die übliche Arbeitskonzentration beträgt 50 µl (0,9 mg) DAB pro ml Substratpuffer. Durch Erhöhung oder Verringerung der DAB-Konzentration kann die Intensität der Färbung angepasst werden. Maximale Sensitivität wird in der Immunhistochemie mit ca. 80 µl (ca. 1,5mg) DAB pro ml Substratpuffer erreicht.*

### Färbeprotokoll

- 1) Gewebe nach dem vorherigen Inkubationsschritt mit Waschpuffer spülen.
  - 2) Die DAB Arbeitslösung auf den Gewebeschnitt auftragen – Inkubation für 5-15 Minuten.
  - 3) Mit dest. oder deion. H<sub>2</sub>O spülen.
  - 4) Gegenfärbung mit Hämatoxylin (je nach Stärke) 30 Sekunden bis 5 Minuten.
  - 5) Mit dest. oder deion. H<sub>2</sub>O abspülen.
  - 6) Bläuen in Leitungswasser für mindestens 5 Minuten.
  - 7) Dehydratisieren in der aufsteigenden Alkoholreihe und aus dem Xylol permanent eindecken.
- Hinweis: DAB kann auch wässrig eingedeckt werden.

### Qualitätskontrolle

Zur genauen Auswertung sollten bei jedem Färbedurchgang eine Positiv- und eine Negativkontrolle mitgeführt werden. Die Positivkontrolle dient der Überprüfung der korrekten Verarbeitung der Probe. Ist die Negativkontrolle positiv, so weist dies auf eine unspezifische Färbung hin.

### Fehlersuche

Sollte eine ungewöhnliche Färbung auftreten, so lesen Sie bitte die Packungsbeilage auf eventuelle Hinweise oder kontaktieren Sie den Hersteller.

### Zu erwartende Resultate

DAB bildet am Ort des Zielantigens oder der Ziel-Nukleinsäure ein dunkelbraunes Präzipitat, das in wässrigen oder organischen Lösungsmitteln unlöslich und mit dem Lichtmikroskop darstellbar ist.

### Grenzen der Methode












In einigen Geweben kann die Aktivität gewebespezifischer (endogener) Peroxidase zu unspezifischen Ergebnissen führen. Diese endogene Aktivität sollte durch Inkubation des Präparates mit einer Wasserstoffperoxid-Lösung, (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, z.B. PeroxideBlock) vor dem primären Antikörper gehemmt werden.

Zycomed Systems garantiert, dass das Produkt bei korrekter Lagerung und Handhabung bis zum Ablauf des Haltbarkeitsdatums allen beschriebenen Anforderungen entspricht. Darüber hinaus gehende Garantien können nicht gegeben werden.

### Leistungsdaten

Zycomed Systems hat Studien hinsichtlich der Leistung des Kits in Kombination mit einem Standard-Detektionssystem durchgeführt. Das Produkt wurde als geeignet für den vorgesehenen Verwendungszweck beurteilt.

Erläuterung der auf dem Produktetikett verwendeten Symbole:

	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 Zycomed Systems GmbH Anhaltinerstraße 16 14163 Berlin, Germany Tel: (+49) 30-804 984 990 www.zycomed-systems.de
	Achtung/Gefahr Warning/Danger Attention/Danger		Achtung Warning Attention	