

Kit DAB Cromógeno*DAB Chromogen Kit*

Código	EP-12-20541AM	5ml
	EP-12-20541	25ml
	EP-12-20542	125ml

- Quantidade de teste : 25ml (250 testes) | 125ml (1250 testes)*
- Validade e lote do produto : ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar e não expor a luz)

Conteúdo - Componentes do Kit

5ml (versão de teste)

Substrato DAB (EP-12-20484AM) - 5ml

Cromógeno DAB (EP-12-20481AM) - 0,3ml

25ml

Substrato DAB (EP-12-20484) - 25ml

Cromógeno DAB (EP-12-20481) - 1ml

125ml

Substrato DAB (EP-12-20485) - 125ml

Cromógeno DAB (EP-12-20482) - 4,5ml

Aplicações conhecidas

Para aplicações em imuno-histoquímica.

Especificações:

O kit DAB cromógeno é amplamente empregado na coloração de imuno-histoquímica devido à sua estabilidade e permanência na coloração, resultando em uma coloração marrom devido à reação com a peroxidase do antígeno alvo. Sua facilidade de visualização e uso o torna uma escolha popular nesse tipo de técnica.

Após a oxidação do DAB, é formado um produto insolúvel de cor castanha escura. No entanto, variações na proporção entre o cromogênio e o substrato, assim como a exposição à luz intensa, podem influenciar a intensidade da coloração específica e do fundo na reação final. Por essa razão, recomenda-se realizar a revelação em condições de iluminação moderada, a fim de obter resultados mais consistentes.

O potencializador do DAB (vendido separadamente) é uma etapa opcional, altera a coloração amarronzada para uma coloração negra destacando a visualização do DAB.

Armazenagem e estabilidade:

Armazenar entre 2°C e 8°C, porém o uso é feito em temperatura ambiente. Armazenar ao abrigo de luz.

Preparação

Utilizar 1 gota (20µl) de DAB cromógeno concentrado (reagente 1) para cada 1ml de tampão substrato DAB (reagente 2), porém esta razão poderá ser ajustada conforme necessidade do usuário, podendo ter uma coloração mais ou menos intensa e aumentando ou diminuindo o tempo de incubação do anticorpo primário.

Notas técnicas importantes:

1. A solução DAB é sensível a luz. Antes de fazer a mistura, tenha certeza que não existe incidência de luz diretamente na solução.
2. O tempo de estabilidade após o preparo da solução é de seis horas, tempo suficiente para utilização deste cromógeno em sistemas automatizados.

Protocolo:

1 - Desparafinização - Estufa 60-65 °C por 3 horas, depois bateria de Xilol e diluições decrescentes de álcool e lavar em água destilada.

- 2 - Recuperação antigênica - Colocar 600ml de água destilada na câmara pressurizada (Muscae Plus / EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão universal de recuperação antigênica Diva (diluição 1:100), tampar a câmara e deixar 15 minutos em 110° C, conforme pré-programado, esfriar em temperatura ambiente por 20 minutos no próprio Diva.
- 3 - Bloqueador de Peroxidase EasyPath por 5 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 4 - Anticorpo primário (Biocare ou EasyPath) por 30-60 minutos (Conforme padronização do laboratório), lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 5 - Amplificador do anticorpo EasyPath por 15 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 6 - Polímero PolyFusion-HRP EasyPath por 30 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio. Nota: O polímero é sensível à luz. Evitar a exposição desnecessária.
- 7 - Preparar o DAB EasyPath com 15 minutos de antecedência (Proporção: 1ml de DAB Substrato para 1 gota de DAB Cromógeno).
- 8 - DAB EasyPath por 5 minutos, lavar com TBS, depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 9 - Potencializador do DAB EasyPath (etapa não obrigatória) por 2 minutos, lavar com TBS, depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 10 - Hematoxilina EasyPath por 1 minuto e lavar em água corrente por 1 minuto.
- 11 - Bateria de álcool e xilol.
- 12 - Montar a(s) lâmina(s).

INSTRUÇÕES GERAIS

Para a obtenção de um melhor resultado da metodologia e uma completa compreensão da terminologia utilizada, nós recomendamos as seguintes indicações:

Número de testes realizados *

O número mínimo de testes é calculado com 100µl gotas de reagente, aconselhamos seguir esta quantidade de reagentes. Em casos de seções pequenas, no entanto, pode-se utilizar menos.

Tempo de execução

O tempo de execução foi calculado somando-se a duração de todas as etapas do método. Ele não inclui o tempo de desparafinizar, hidratar e desidratar o corte.

Coloração final

A metodologia foi padronizada a uma temperatura média de 20°C e em condições normais de trabalho, utilizando-se os produtos indicados nesta literatura. Pode ocorrer uma pequena variação na coloração final, devido principalmente a variação da temperatura, ocorrendo esta variação, deve-se alterar o tempo utilizado em cada reagente, com o objetivo de intensificar ou diminuir a coloração.

Validade

Indica o tempo em que produto permanece inalterado a partir de sua fabricação, se armazenado adequadamente. Cada Kit possui uma etiqueta com identificação do lote e data de vencimento.

Equipamento básico

Bandeja de incubação comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05022.

Câmara pressurizada Muscae Plus (EasyPath) para recuperação antigênica com controle de pressão, temperatura e tempo.

Duas séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:

- DESCEDENTE: para desparafinizar e levar os cortes das seções para água destilada, composta de: xilol (x2), etanol absoluto (x2), etanol a 96%, etanol a 70% e água destilada.
- ASCENDENTE: para desidratar e limpar, composta de: etanol a 70%, etanol a 96%, etanol absoluto (x2) e xilol (x2).

Aconselhamos o uso do meio de montagem ERV-MOUNT, comercializado pela Grupo Erviegas código EP-51-05042 frasco com 500ml e EP-51-05041 frasco com 100ml.

Equipamento complementar

Podem-se ser utilizadas micropipetas para reduzir a quantidade de reagentes utilizados durante o processo, bem como outros sistemas de recuperação antigênica como micro-ondas, panela de pressão, banho maria ou sistema automatizados para imuno-histoquímica como intelliPATH (Biocare).

Fixação e meios de inclusão

Os tempos dos métodos foram determinados a partir de cortes histológicos de fragmentos fixados em formol tamponado com pH 7 com tampão fosfato e inclusos em parafina, pelo tempo mínimo de fixação. A utilização de outros fixados nas práticas histológicas comuns (piocromoformol de Bouin, B5), temperatura do processamento, inclusão e desparafinização podem interferir na metodologia e tempos de incubações.

Garantia Grupo Erviegas

O Grupo Erviegas garante o funcionamento do produto conforme especificado nesta literatura. Para mais informações sobre o produto ou detalhes sobre outras técnicas e produtos acesse nosso site www.grupoerviegas.com.br.

MS: 10039370003