

NICHIREI

N-Histofine[®]
DAB-3S kit

Peroxidase Chromogen/Substrate kit

500 tests Code: 415192F

1500 tests Code: 415194F

3, 3'-DIAMINOBENZIDINE TETRAHYDROCHLORIDE (DAB) SUBSTRATE KIT
SUBSTRATE FOR HORSE RADISH PEROXIDASE

I-1. DESCRIPTION

N-Histofine[®] DAB 3S kit is designed as one of reagents to visualize antigen binding primary antibody on tissue sections.

I-2. INTENDED USE

N-Histofine[®] DAB 3S kit is designed to allow immunohistochemical tests, to reveal antigens that reacts with a user-supplied primary on tissues and cells. The product is characterized by a coloring reagent/substrate for coloring a detection system reagent labeled with peroxidase. The product is one of the specific chromogen/substrate solutions for peroxidase and develops brown colored precipitate by reaction with peroxidase. The result provides a physiological or pathological state.

For In-vitro Diagnostic Use. For manual staining. Staining Results are qualitative. For formalin-fixed paraffin-embedded human tissue sections.

For professional users.

Interpretation must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

I-3. PRINCIPLE

The antigen / antibody / Universal Immuno-peroxidase Polymer complex can be prepared by allowing the reagent to react with a primary antibody bound to the antigen on tissue section. The enzymatic activity of this complex results in a colored deposit, thus staining the antigen site.

II. FORM

Liquid.

This product consists of followings:

Reagent A: DAB solution concentrate	...	[500 tests] 3 ml × 1 bottle	[1500 tests] 9 ml × 1 bottle
Reagent B: Enhancer solution concentrate	...	3 ml × 1 bottle	9 ml × 1 bottle
Reagent C: Hydrogen peroxide solution concentrate	...	3 ml × 1 bottle	9 ml × 1 bottle
Dropping bottle	...	1 bottle	1 bottle
Tube	...	1 tube	1 tube

III. DESCRIPTION

N-Histofine[®] DAB-3S kit is the chromogen/substrate system suitable for use in peroxidase-based immunohistochemical staining. DAB may produce brown precipitates at the site of the target antigen or nucleic acid reacting with peroxidase.

IV. PREPARATION of Chromogen/Substrate solution

1. Add 1 drop of Reagent A (DAB solution concentrate) to 1 ml of distilled water in the tube, and mix well.
2. Add 1 drop of Reagent B (Enhancer solution concentrate) to 1 ml of above diluted Reagent A solution, and mix well.
3. Add 1 drop of Reagent C (Hydrogen peroxide solution concentrate) to 1 ml of above mixture solution of Reagent A and Reagent B, and mix well as final mixture*¹.

*¹: Final mixture is stable for 14 days at 2-8°C under the light shielded condition.

Precipitates may be produced with time. The precipitates adhered on slides or tissues will not affect on the staining, however, in some cases, obtaining clear image may not be suitable.

To avoid such adhesion, following procedures are recommended.

1. Use supernatant solution of the mixture.
2. Rinse the slides in PBS containing 0.1% Tween 20 or TBS containing Tween 20 at room temperature for 3 minutes, at respective steps of before and after the staining described in USAGE.

V. USAGE

Adjust the final mixture to room temperature prior to use.

React the objective tissue section with peroxidase conjugate in advance.

At the same time, staining of Negative control slide using PBS in place of primary antibody is recommended to be prepared for checking the staining result.

For color development, incubate the tissue section on the slide with 1-2 drops of the final mixture using Dropping bottle*2 at room temperature for 5-20 minutes.

Adjust the reaction time by microscopic observation by contrast with the Negative control slide.

After adequate coloration, wash the slide with tap water.

Mount the slide with permanent mounting media and fix with cover slip after washing, dehydrated in graded series of alcohol and cleared in xylene.

- *2: 1) Dropping bottle is used for dropping the final mixture, not for mixing or storage of reagents.
2) When the final mixture is removed from tube to the dropping bottle, adequate pipetting is required.
3) Rinse the dropping bottle thoroughly with distilled water and dry after use.

VI. STORAGE, HANDLING & SHELF LIFE













1. Store at 2-8°C.
2. Confirm expiration date indicated on the labels of vial and carton before use.
3. Refrigerate this product promptly after use.
4. The reagent is stable 18 months after manufacturing.

VII. PRECAUTIONS

1. Before using this reagent, read these instructions.
2. Do not use reagents after the expiration date.
3. For professional users.
4. Specimens, before and after fixation, and all other materials exposed to them, should be handled like biohazardous materials with proper precautions.
5. Inhalation or ingestion of the highly allergic fixative formaldehyde is harmful. Wear protective mask. If swallowed, induce vomiting. If skin or eye contact occurs, wash thoroughly with water.
6. Organic reagents are flammable. Do not use near open flame.
7. Never pipette reagents by mouth and avoid their contact with skin, mucous membranes and clothes.
8. Avoid microbial contamination of reagents as incorrect result may occur.
9. Avoid splashing of reagents or generation of aerosols.
10. As a chromogen, DAB solution should be handled with care for it contains carcinogen.
11. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.
12. Any serious incident that has occurred in relation to **N**-Histofine® DAB-3S kit shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

VIII. REFERENCE

- (1) Umayahara T, et al. Protective role of Galectin-7 for skin barrier impairment in atopic dermatitis. Clin Exp Allergy. 2020 Aug;50(8):922-931.
- (2) Skálová H, et al. mpact of chemotherapy on the expression of claudins and cadherins in invasive breast cancer. Exp Ther Med. 2019 Oct;18(4):3014-3024.

 REF	Catalog/Code Number		Temperature Limitations	 IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer	 LOT	Batch Code		Contains Sufficient for <N> Tests
	Use By		Consult Instructions for Use	 EC REP	Authorized Representative in the European Community
	CE-mark, code of the notified body		For IVD Performance Evaluation only	 SAMPLE	Sample



NICHIREI BIOSCIENCES INC.
6-19-20, Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104-8402, JAPAN
Phone:81-3-3248-2208, Facsimile:81-3-3248-2243



MedEnvoy Global B.V.
Prinses Margrietplantsoen 33-Suite 123
2595 AM The Hague
The Netherlands

N-Histofine[®] **DAB-3S kit**

kit Peroxidase Chromogène/Substrat

500 tests **Code: 415192F**

1500 tests **Code: 415194F**

KIT 3, 3'-DIAMINOBENZIDINE TETRAHYDROCHLORIDE (DAB) /SUBSTRAT SUBSTRAT POUR PEROXYDASE DE RAIFORT

I-1. DESCRIPTION

N-Histofine[®] DAB-3S kit est l'un des réactifs conçus pour visualiser la fixation de l'anticorps primaire sur l'antigène dans des sections de tissu.

I-2. APPLICATIONS

N-Histofine[®] DAB-3S kit est conçu pour détecter des antigènes dans des coupes de tissus ou des cellules qui réagissent avec des anticorps prêts à l'emploi par des techniques immunohistochimiques. Le produit est caractérisé par un réactif/substrat de coloration pour colorer un réactif de système de détection marqué à la peroxydase. Le produit est l'une des solutions de substrat/chromogène spécifiques pour la peroxydase et il développe un précipité brun par réaction avec la peroxydase. Le résultat fournit un état physiologique ou pathologique. Pour usage diagnostique in vitro. Pour une coloration manuelle. Les résultats de la coloration sont qualitatifs. Pour les coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine. A usage professionnel exclusivement.

L'Interprétation des résultats doit être faite par un biologiste qualifié, en prenant en considération l'historique de la pathologie du patient ainsi que le bilan complet des tests qui ont été pratiqués.

I-3. PRINCIPE

Le Complexe de Polymère Universel antigène / anticorps / Immuno-peroxydase peut être formé en mettant en présence le réactif qui va réagir avec l'anticorps primaire en se fixant sur l'antigène contenu dans la coupe de tissus. L'activité enzymatique de ce complexe fera apparaître un dépôt coloré, mettant ainsi en évidence la présence du site antigénique recherché dans l'échantillon testé.

II. CONDITIONNEMENT

Liquide.

Ce produit est constitué de:

	[500 tests]	[1500 tests]
Réactif A: solution de DAB concentrée	... 3 ml × 1 flacon	9 ml × 1 flacon
Réactif B: solution amplifiante concentrée	... 3 ml × 1 flacon	9 ml × 1 flacon
Réactif C: solution H ₂ O ₂ concentrée	... 3 ml × 1 flacon	9 ml × 1 flacon
Flacon compte-goutte	... 1 flacon	1 flacon
Tube	... 1 flacon	1 flacon

III. DESCRIPTION

Le kit **N-Histofine[®]** DAB-3S est un système chromogène/substrat approprié pour la coloration immunohistochimique avec un système de révélation de type peroxydase. La DAB produit un précipité marron à l'endroit où l'antigène ou l'acide nucléique ciblé a réagi avec la peroxydase.

IV. PREPARATION de la solution Chromogène/Substrat

1. Mélanger une goutte de réactif A (solution de DAB concentrée) avec 1 ml d'eau distillée dans le tube. Bien homogénéiser.
2. Ajouter une goutte de réactif B (solution amplifiante concentrée) au mélange de l'étape 1. Bien homogénéiser
3. Ajouter une goutte de réactif C (solution H₂O₂ concentrée) au mélange de l'étape 2. Bien homogénéiser pour obtenir la solution définitive prête à l'emploi*1.

*1: la solution définitive prête à l'emploi est stable 14 jours, conservée entre 2 et 8°C à l'abri de la lumière.

Un précipité peut être produit avec le temps. Ce dernier adhère aux lames ou aux tissus mais n'affectera pas la qualité de la coloration. Cependant dans certain cas, il ne conviendra pas à l'obtention d'une image claire.

Pour éviter cette adhésion, suivre les procédures suivantes recommandées :

1. N'utiliser que le surnageant de la solution définitive prête à l'emploi.
2. rincer les lames avec du tampon PBS ou TBS contenant du Tween 20 à température ambiante pendant 3 minutes, à toutes les étapes décrites dans UTILISATION.

V. UTILISATION

Mettre la solution définitive prête à l'emploi à température ambiante avant utilisation.

Faire réagir les tissus souhaités préalablement avec la peroxydase

Il est conseillé afin de pouvoir juger de la qualité des résultats, de colorer une lame de contrôle négatif au même moment, où l'anticorps primaire a été remplacé par du tampon PBS.

Pour que la coloration puisse se faire, incuber les coupes de tissus sur les lames avec 1-2 gouttes de la solution définitive prête à l'emploi en utilisant le flacon compte goutte*2, à température ambiante pendant 5 à 20 minutes.

Mettre au point et ajuster le temps d'incubation en fonction des observations microscopiques des coupes et des lames contrôle négatif.

Après obtention de la coloration souhaitée, rincer les lames à l'eau du robinet.

Après Rinçage, déshydratation en gradient d'alcool et xylène, monter les lames avec un milieu de montage permanent.

- *2:
- 1) Le flacon compte-goutte doit être utilisé pour distribuer la solution définitive prête à l'emploi, non pour effectuer le mélange ou stocker la solution.
 - 2) Il est nécessaire d'utiliser une pipette adéquate afin de transvaser la solution définitive prête à l'emploi du tube où le mélange a été effectué vers le flacon compte goutte.
 - 3) Rincer à l'eau distillée et sécher le flacon compte-goutte après utilisation

VI. CONSERVATION, MANIPULATION & PEREMPTION













1. Conserver entre 2 et 8 C.
2. Vérifier la date d'expiration indiquée sur les étiquettes du flacon et du carton avant utilisation.
3. Réfrigérer ce produit rapidement après utilisation.
4. Le réactif est stable Durant 18 mois après sa date de fabrication.

VII. PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Lire soigneusement ce mode d'emploi avant de réaliser ce test.
2. Ne pas utiliser ce produit après la date d'expiration.
3. A usage professionnel exclusivement.
4. Avant et après fixation, manipuler les échantillons ainsi que toutes autres substances auxquelles ils sont exposés avec toutes les précautions s'appliquant aux matières présentant un danger de contamination biologique.
5. Le fixateur à base de formol est sévèrement allergisant et présente un grave danger en cas d'inhalation ou d'ingestion. Porter un masque de protection. En cas d'ingestion, provoquer des vomissements. En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment avec de l'eau.
6. Les réactifs organiques sont inflammables. Ne pas les utiliser en présence d'une flamme ouverte.
7. Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche, éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les vêtements
8. Eviter toutes contaminations microbiennes des réactifs, car celles-ci peuvent être la cause de faux négatifs ou faux positifs.
9. Eviter de faire gicler les réactifs ou de générer des vapeurs.
10. La solution chromogène DAB doit être manipulée avec précaution car elle contient des éléments cancérogènes.
11. Eliminer les réactifs non utilisés selon les dispositions légales locales, départementales et nationales.
12. Tout incident grave survenu en rapport avec **N**-Histofine® DAB-3S kit doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

VII. BIBLIOGRAPHIE

- (1) Umayahara T, et al. Protective role of Galectin-7 for skin barrier impairment in atopic dermatitis. Clin Exp Allergy. 2020 Aug;50(8):922-931.
- (2) Skálová H, et al. Impact of chemotherapy on the expression of claudins and cadherins in invasive breast cancer. Exp Ther Med. 2019 Oct;18(4):3014-3024.

 REF	Référence du catalogue		limites de températures	 IVD	dispositif médical de diagnostic in vitro
	Fabricant	 LOT	code du lot		quantité suffisante pour <N> tests
	Utiliser jusque		consulter les instructions d'utilisation	 EC REP	représentant autorisé dans la communauté européenne
	marquage CE		Pour l'évaluation des performances IVD seulement	 SAMPLE	echantillon



NICHIREI BIOSCIENCES INC.
6-19-20, Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104-8402, JAPAN
Phone:81-3-3248-2208, Facsimile:81-3-3248-2243



MedEnvoy Global B.V.
Prinses Margrietplantsoen 33-Suite 123
2595 AM The Hague
The Netherlands

N-Histofine[®]

DAB-3S-Kit

Peroxidase-Chromogen/Substrat-Kit

500 Tests Code: 415192F

1500 Tests Code: 415194F

3, 3'-DIAMINO BENZIDIN TETRAHYDROCHLORID (DAB) SUBSTRAT-KIT SUBSTRAT FÜR MEERRETTICHPEROXIDASE

I-1. BESCHREIBUNG

N-Histofine[®] DAB-3S kit ist als eines der Reagenzien konzipiert worden, um den primären Antigenbindungsantikörper in Gewebeschnitten sichtbar zu machen.

I-2. VERWENDUNGSZWECK

N-Histofine[®] DAB-3S kit wurde zur Durchführung immunhistochemischer Tests entwickelt. Das System weist auf Geweben und Zellen primärantikörper nach, die vom Anwender zum Erkennen von Antigenen eingesetzt werden. Das Produkt ist gekennzeichnet durch ein färbendes Reagenz/Substrat zum Färben eines mit Peroxidase markierten Detektionssystemreagenzes. Das Produkt ist eine der spezifischen Chromogen-/Substratlösungen für Peroxidase und entwickelt durch Reaktion mit Peroxidase eine braun gefärbte Ablagerung. Das Ergebnis liefert einen physiologischen oder pathologischen Zustand.

Zur Anwendung in der In-Vitro-Diagnostik. Für manuelle Färbung. Die Färbeergebnisse sind qualitativ. Für formalinfixierte, in Paraffin eingebettete Gewebeschnitte. Für professionelle Anwender.

Die Interpretation der Ergebnisse sollte stets im Zusammenhang mit dem klinischen Bild der Patienten und weiteren diagnostischen Parametern durch einen qualifizierten Pathologen erfolgen.

I-3. TESTPRINZIP

Der Antigen/Antikörper/Universelle Immun-Peroxidase Polymerkomplex kann hergestellt werden, in dem das Reagenz mit einem primärantikörper reagiert, der an ein Antigen auf einem Gewebeschnitt gebunden ist. Die enzymatische Aktivität dieses Komplexes resultiert in einem farbigen Niederschlag, der die Stelle des nachzuweisenden Antigens färbt.

II. FORM

Flüssigkeit.

Dieses Produkt setzt sich wie folgt zusammen:

	[500 Tests]	[1500 Tests]
Reagenz A: DAB-Lösungskonzentrat	... 3 ml × 1 Flasche	9 ml × 1 Flasche
Reagenz B: Verstärker-Lösungskonzentrat	... 3 ml × 1 Flasche	9 ml × 1 Flasche
Reagenz C: Wasserstoffperoxid-Konzentrat	... 3 ml × 1 Flasche	9 ml × 1 Flasche
Tropfflasche	... 1 Flasche	1 Flasche
Röhrchen	... 1 Röhrchen	1 Röhrchen

III. BESCHREIBUNG

N-Histofine[®] Das DAB-3S-Kit ist das Chromogen-/Substrat-System, das sich für die Peroxidase-basierte immunhistochemischen Färbung eignet. DAB kann braune Ablagerungen an der Stelle des Zielantigens oder der mit Peroxidase reagierende Nukleinsäure bilden.

VI. ZUBEREITUNG der Chromogen-/Substratlösung

- 1 Tropfen Reagenz A (DAB-Lösungskonzentrat) in das Röhrchen mit 1 ml destilliertem Wasser hinzufügen und gut mischen.
- 1 Tropfen der oben verdünnten Reagenz A-Lösung mit 1 Tropfen Reagenz B (Verstärker-Konzentrat) verdünnen und gut mischen.
- 1 Tropfen Reagenz C (Wasserstoffperoxidlösungskonzentrat) zu 1 ml der obigen Mischlösung aus Reagenz A und Reagenz B geben und das endgültige Gemisch gut mischen*¹.

*¹: Die Endmischung bleibt 14 Tage stabil, wenn Sie bei 2 - 8 °C und gelagert und gegen Lichteinwirkung geschützt wird.

Mit der Zeit bilden sich Ablagerungen. Die Ablagerungen, die auf Objektträgern oder Geweben haften, bleiben, beeinflussen die Färbung nicht. Es kann jedoch sein, dass in bestimmten Fällen kein klares Bild erhältlich ist.

Um eine solche Haftung zu vermeiden, folgende Verfahrensweisen befolgen.

1. Überstehende Lösung der Mischung verwenden.
2. Den Objektträger 3 Minuten lang bei Raumtemperatur in PBS, das 0,1% Tween 20 oder TBS mit Tween 20 enthält, bei den jeweiligen Schritten vor und nach der Färbung, wie unter VERWENDUNG beschrieben, spülen.

V. VERWENDUNG

Die endgültige Mischung vor Gebrauch auf Raumtemperatur erwärmen bzw. abkühlen.

Den Zielgewebeschnitt vorab mit Peroxidase-Konjugat reagieren lassen.

Gleichzeitig wird empfohlen, die Färbung des Negativkontrollobjektträgers mit PBS anstatt mit primären Antikörpern vorzubereiten, um das Ergebnis der Färbung überprüfen zu können.

Zur Farbentwicklung den Gewebeabschnitt auf dem Objektträger mit 1 - 2 Tropfen der finalen Mischung unter Einsatz der Tropfflasche*² während 5 - 20 Minuten bei Raumtemperatur bei Raumtemperatur inkubieren lassen.

Die Reaktionszeit mittels mikroskopischer Beobachtung durch Kontrast mit dem Negativkontrollobjektträger einstellen.

Nach ausreichender Färbung den Objektträger mit Leitungswasser abwaschen.

Den Objektträger mit einem permanenten Eindeckmittel eindecken und mit dem Deckglas fixieren, nachdem er gewaschen, in abgestuften Alkoholreihen entwässert und in Xylol geklärt wurde.

*²: 1) Die Tropfflasche wird zur tropfenweise Zugabe der fertigen Mischung verwendet, keinesfalls zum Mischen oder zur Lagerung von Reagenzien.

2) Wenn die endgültige Mischung aus dem Röhrchen zur Tropfflasche entnommen wird, ist ein angemessenes Pipettieren erforderlich.

3) Die Tropfflasche gründlich mit destilliertem Wasser spülen und nach Gebrauch trocknen.

V. LAGERUNG, HANDHABUNG UND HALTBARKEIT

1. Bei 2 - 8 °C lagern.

2. Vor dem Gebrauch prüfen, ob das Verfallsdatum auf den Etiketten der Durchstechflasche und des Kartons angegeben ist.

3. Das Produkt nach Gebrauch sofort kühlen.

4. Nach Herstellung ist das Reagenz 18 Monate stabil.

VII. VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Vor Verwendung des Reagenzes bitte die Gebrauchsanweisung lesen.

2. Verfallene Reagenzien dürfen nicht mehr benutzt werden.

3. Nur für professionelle Anwender.

4. Das Reagenz enthält Material tierischen Ursprungs. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass auf Grund der Herstellungsverfahren auch Spuren von Material menschlichen Ursprungs enthalten sind. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs muss auch dieses entsprechend gehandhabt werden.

5. Einatmen oder Verschlucken des hochallergischen Formaldehyds ist gesundheitsschädlich. Schutzmaske tragen. Bei Verschlucken Erbrechen induzieren. Bei Haut- oder Augenkontakt gut mit Wasser auswaschen.

6. Organische Reagenzien sind entzündlich, bitte nicht in der Nähe einer offenen Flamme verwenden.

7. Die Reagenzien nie mit dem Mund pipettieren und den Kontakt mit Haut, Schleimhäuten und Kleidung vermeiden.

8. Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden, weil diese die Ergebnisse verfälschen könnten.

9. Das Verspritzen von Reagenzien oder das Entstehen von Aerosolen ist zu vermeiden.

10. Die chromogene DAB-Lösung sollte mit Vorsicht behandelt werden, weil sie Karzinogene enthält. Nicht verwendete DAB- Lösung sollte entsprechend den Vorschriften entsorgt werden.













11. Die national verbindlichen Arbeitsvorschriften sind zu beachten.

12. Jeder schwerwiegende Zwischenfall, der im Zusammenhang mit **N**-Histofine® DAB-3S kit aufgetreten ist, ist dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, zu melden.

VIII. REFERENZEN

(1) Umayahara T, et al. Protective role of Galectin-7 for skin barrier impairment in atopic dermatitis. Clin Exp Allergy. 2020 Aug;50(8):922-931.

(2) Skálová H, et al. Impact of chemotherapy on the expression of claudins and cadherins in invasive breast cancer. Exp Ther Med. 2019 Oct;18(4):3014-3024.

	Katalog-/Codenummer		Temperaturbegrenzungen		Medizinische In Vitro Diagnostik Gerät
	HERSTELLER		Batch-Code		Enthält ausreichend für <N> Tests
	Zu verbrauchen bis		Anweisungen für die Verwendung konsultieren		Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft
	CE-Zeichen, Code der benannte Stelle		Nur für IVD-Leistungsbewertung		Muster



NICHIREI BIOSCIENCES INC.
6-19-20, Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104-8402, JAPAN
Phone:81-3-3248-2208, Facsimile:81-3-3248-2243



MedEnvoy Global B.V.
Prinses Margrietplantsoen 33-Suite 123
2595 AM The Hague
The Netherlands