

Dako
Levamisole
Endogenous Alkaline
Phosphatase Inhibitor

English**Code X3021****Intended use**

For In Vitro diagnostic use.

This product is intended for use in AP-based immunohistochemical (IHC) and in situ hybridization (ISH) staining procedures on cell preparations, frozen tissue sections, and formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections.

Levamisole, Endogenous Alkaline Phosphatase Inhibitor consists of a concentrated solution of levamisole which is added to the user's substrate or substrate buffer. Once the levamisole has been added to the substrate buffer, the substrate is then prepared according to the user's protocol and applied to the specimen.

Summary and explanation

This product suppresses nonspecific staining due to endogenous AP activity in AP-based IHC and ISH staining procedures. It has been tested with the following AP substrates: Fast Red (codes K0597 and K0699), New Fuchsin (codes K0596 and K0698), BCIP/NBT (code K0598), and BCIP/NBT/INT (code K0599).

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

Reagent provided

15 mL of an endogenous alkaline phosphatase (AP) inhibiting reagent, containing levamisole and preservative.

Add sufficient drops of Levamisole, Endogenous Alkaline Phosphatase Inhibitor to substrate or substrate buffer to achieve a final concentration of approximately 0.0002 mol/L levamisole (one drop of the inhibitor per mL of substrate).

Precautions

1. For professional users.
2. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
3. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store at 2–8°C. Do not freeze.

Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user.¹ There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the product is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation

This product may be used on cell preparations, such as smears of peripheral blood, frozen tissue sections and formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections.

Performance characteristics

In IHC and ISH staining procedures endogenous AP activity with specimens is frequently observed. Endogenous AP activity is strongly present in a number of cells and tissues including epithelium of the bladder, the lamina propria of ovary, kidney and salivary gland.² Intestinal AP is commonly found on the brush borders of epithelial cells of the small intestine³ and human placental AP is normally produced by the microvilli of the syncytiotrophoblast of placenta.⁴ In cell smear preparations AP is present in neutrophilic segmented cells, neutrophilic band cells, and neutrophilic metamyelocytes. Alkaline phosphatase may also be found in leukemic cells of chronic and acute granulocytic leukemia, and in some neutrophilic leukemoid reaction.⁵

In the evaluation of tissue specimens by IHC or ISH using AP methods, the presence of endogenous AP can obscure the specific staining of the target antigen. Endogenous AP activity can be inhibited by the addition without significantly reducing specific staining of antigenic sites.^{6,7} Levamisole, Endogenous Alkaline Phosphatase Inhibitor is most useful on frozen tissue sections in suppressing endogenous AP activity, but it may also be used on cell preparations and formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections.

Product specific limitations

Intestinal AP is not blocked by the use of Levamisole, Endogenous Alkaline Phosphatase Inhibitor.

Français

Code X3021

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique *in vitro*.

Ce produit est destiné à être utilisé dans le cadre de procédures de coloration immunohistochimiques (IHC) et d'hybridation *in situ* (ISH), à base de phosphatase alcaline, sur des préparations cellulaires, des coupes tissulaires congelées et des coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine.

Le Levamisole, Endogenous Alkaline Phosphatase Inhibitor est constitué d'une solution concentrée de levamisole qui est ajoutée au substrat de l'utilisateur ou au tampon du substrat. Une fois que le levamisole a été ajouté au tampon du substrat, le substrat est préparé conformément au protocole de l'utilisateur et appliqué à l'échantillon.

Résumé et explication

Ce produit supprime la coloration non spécifique due à l'activité de la PA endogène dans les procédures de coloration IHC et ISH basées sur la PA. Il a été testé avec les substrats PA suivants : Fast Red (codes K0597 et K0699), New Fuchsin (codes K0596 et K0698), BCIP/NBT (code K0598) et BCIP/NBT/INT (code K0599).

Se référer aux « Instructions générales de coloration immunohistochimique » Dako ou aux « Instructions » du système de détection concernant les procédures IHC pour : (1) Principe de procédure, (2) Matériels requis mais non fournis, (3) Conservation, (4) Préparation des échantillons, (5) Procédure de marquage, (6) Contrôle qualité, (7) Dépannage, (8) Interprétation du marquage, (9) Limites générales.

Réactifs fournis

15 ml d'un réactif inhibant la phosphatase alcaline (PA) endogène, contenant du levamisole et un conservateur.

Ajouter un nombre suffisant de gouttes de Levamisole, Endogenous Alkaline Phosphatase Inhibitor au substrat ou au tampon du substrat pour parvenir à une concentration finale d'environ 0,0002 mol/L de levamisole (une goutte d'inhibiteur par ml de substrat).

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
3. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler.

Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles qui sont indiquées, celles-ci doivent être vérifiées par l'utilisateur.¹ Il n'existe aucun signe évident qui indique une instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, ne pouvant être expliquée par un changement des procédures du laboratoire et en cas de suspicion d'un problème dans le kit, contacter l'assistance technique Dako.

Préparation des échantillons

Ce produit peut être utilisé sur des préparations cellulaires comme des frottis de sang périphérique, des coupes de tissus congelés et des coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine.

Performances

Lors des procédures de coloration IHC et ISH, une activité de la PA endogène est fréquemment observée avec les échantillons. L'activité de la PA endogène est fortement présente dans un certain nombre de cellules et de tissus, notamment l'épithélium de la vessie, le chorion de l'ovaire, les reins et les glandes salivaires.² La PA intestinale est couramment observée sur les bordures en brosse des cellules épithéliales de l'intestin grêle.³ La PA placentaire humaine est normalement produite par les microvillosités du syncytiotrophoblaste du placenta.⁴ Dans les frottis cellulaires, la PA est présente dans les neutrophiles segmentés, les polynucléaires neutrophiles et les métamyélocytes neutrophiles. La présence de phosphatase alcaline peut également être observée dans les cellules leucémiques des cas de leucémie granulocytaire chronique et aiguë, ainsi que dans quelques réactions pseudoleucémiques à neutrophiles.⁵

Lors de l'évaluation d'échantillons de tissus par IHC ou ISH via des méthodes utilisant la PA, la présence de PA endogène peut souvent masquer la coloration spécifique de l'antigène cible. L'activité de la PA endogène peut être inhibée par l'addition sans causer de réduction significative de la coloration des sites antigéniques.^{6,7} Le Levamisole, Endogenous Alkaline Phosphatase Inhibitor est le plus utile sur les coupes de tissus congelés où il supprime l'activité de la PA, mais il peut également l'être sur les préparations cellulaires et les coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine.

Limites spécifiques du produit

La PA intestinale n'est pas bloquée par l'emploi du Levamisole, Endogenous Alkaline Phosphatase Inhibitor.

Deutsch

Code-Nr. X3021

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Dieses Produkt ist für immunhistochemische (IHC) und In-situ-Hybridisierungen (ISH)-Färbeverfahren auf AP-Basis für Zellpräparate, Gefrier- und formalinfixierte, paraffineingebettete Gewebeschnitte bestimmt.

Bei Levamisole, Endogenous Alkaline Phosphatase Inhibitor handelt es sich um eine konzentrierte Levamisollösung, die dem Substrat bzw. Substratpuffer zugesetzt wird. Nach Zugabe des Levamisols zum Substratpuffer wird das Substrat gemäß Anwenderprotokoll angesetzt und auf die Probe aufgebracht.

Zusammenfassung und Erklärung

Dieses Produkt unterdrückt unspezifische Färbungen durch Aktivität der endogenen alkalischen Phosphatase in IHC- und ISH-Färbeverfahren auf AP-Basis. Es wurde mit folgenden AP-Substraten getestet: Fast Red (Code-Nr. K0597 und K0699), New Fuchsin (Code-Nr. K0596 und K0698), BCIP/NBT (Code-Nr. K0598) sowie BCIP/NBT/INT (Code-Nr. K0599).

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzipien, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlersuche und -behebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Mitgelieferte Reagenzien

15 mL einer die endogene alkalische Phosphatase (AP) hemmenden Reagenzlösung, enthält Levamisol und Konservierungsmittel.

Dem Substrat oder Substratpuffer eine ausreichende Anzahl Tropfen Levamisole, Endogenous Alkaline Phosphatase Inhibitor zusetzen, um eine Endkonzentration von etwa 0,0002 mol/L Levamisol zu erzielen (ein Tropfen Inhibitor pro mL Substrat).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Entsprechende Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
3. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Aufbewahrung

Bei 2–8 °C aufbewahren. Nicht einfrieren.

Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft werden.¹ Es gibt keine sichtbaren Anzeichen für eine Instabilität dieses Produkts. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht aus Unterschieden bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Kit hindeutet, muss der technische Kundendienst von Dako verständigt werden.

Vorbereitung der Probe

Dieses Produkt kann auf Zellpräparaten wie Zellausstrichen aus peripherem Blut, Gefrier- sowie formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden.

Leistungsmerkmale

Bei IHC- und ISH-Färbeverfahren kommt es häufig zu Reaktionen der endogenen alkalischen Phosphatase mit den Proben. Eine vermehrte Aktivität der endogenen AP ist in einer Reihe von Zellen und Gewebarten, darunter dem Blasenepithel und der Lamina propria von Eierstöcken, Niere und Speicheldrüse nachweisbar.² Intestinale AP tritt gewöhnlich auf dem Bürstensaum von Dünndarm-Epithelzellen³ auf, während AP der Humanplazenta normalerweise von den Mikrozoiten des Synzytiotrophoblasten der Plazenta erzeugt wird.⁴ In Zellausstrichpräparaten liegt AP in segmentierten und stabkernigen Neutrophilen sowie Metamyelozyten vor. AP findet sich ferner in den Leukämiezellen bei chronischer und akuter Granulozytenleukämie sowie in einigen neutrophilen leukämoiden Reaktionen.⁵





Bei der IHC- bzw. ISH-Auswertung von Gewebeproben, die in AP-Verfahren verwendet werden, verdeckt endogene alkalische Phosphatase oft die spezifische Färbung des Zielantigens. Die Aktivität der endogenen AP kann durch den Zusatz verhindert werden, ohne dass die spezifische Färbung der Antigenstellen beeinträchtigt wird.^{6,7} Levamisole, Endogenous Alkaline Phosphatase Inhibitor eignet sich besonders gut zur Unterdrückung der Aktivität der endogenen AP auf Gefrierschnitten, aber es kann ebenso gut auf Zellpräparaten und formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden.

Produktspezifische Beschränkungen

Die Verwendung von Levamisole, Endogenous Alkaline Phosphatase Inhibitor hemmt die intestinale AP nicht.

References
Bibliographie
Literaturangaben

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57FR7163. February 28, 1992
2. Ponder BA, Wilkinson MM. Inhibition of endogenous tissue alkaline phosphatase with the use of alkaline phosphatase conjugates in immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 1981; 29(8):981
3. Uchida T, et al. Immunohistochemical localization of placental and intestinal alkaline phosphatases. DeLellis RA, ed. *Advances in immunohistochemistry*. New York: Masson Publishing 1984; 185
4. Groote GD, et al. Use of monoclonal antibodies to detect human placental alkaline phosphatase. *Clin Chem* 1983; 29(1):115
5. Seiverd CE. Additional staining procedures. Seiverd CE, ed. *Hematology for medical technologies*. Philadelphia: Lea & Febiger 1972
6. Boenisch T, Farmilo AJ, Stead RH. *Handbook: Immunochemical Staining Methods*. 3rd Edition. Dako 2001
7. Elias JM. *Immunohistochemical methods: endogenous alkaline phosphatase activity*. Immunopathology. A practical approach to diagnosis. Chicago: ASCP Press 1990; 49

REF Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Consult instructions for use <i>Consulter les instructions d'utilisation</i> <i>Gebrauchsanweisung beachten</i>
 Manufacturer Fabricant Hersteller	LOT Batch code Code du lot Chargenbezeichnung	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis
EC REP Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU	IVD In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	



Dako North America, Inc.
 6392 Via Real
 Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655
 Fax 805 566 6688
 Technical Support 800 424 0021
 Customer Service 800 235 5763

EC REP

Dako Denmark A/S
 Produktionsvej 42
 DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500
 Fax +45 4485 9595
 www.dako.com

PT0039/Rev C

Edition 05/07