

GEBRAUCHSANWEISUNG

Chromogenes Substrat (Kit mit gebrauchsfertigen und konzentrierten Komponenten)



DAB High Contrast Kit

REF	Beschreibung
DABPLUS-500	1 Kit, 500 Tests
DABPLUS-5000	1 Kit, 5.000 Tests

1 Spezifikationen

Chromogenes Enzymsubstrat zur Visualisierung einer Antikörper-Enzymkonjugat-Bindung im Rahmen der IHC an humanen FFPE-Gewebeschnitten.

2 Zweckbestimmung

Das DAB High Contrast Kit wird für Färbeverfahren in der Immunhistochemie (IHC) in Kombination mit einem Detektionssystem mit Meerrettichperoxidase (HRP) für den qualitativen Nachweis von Antigenen in humanen formalinfixierten, paraffineingebetteten (FFPE) Gewebeschnitten verwendet. DAB (3,3'-Diaminobenzidin) bildet durch Oxidation an der Stelle des Zielantigens einen permanenten braunen Niederschlag, der stabil in wässriger und organischer Lösung ist und mit einem Lichtmikroskop sichtbar gemacht werden kann. Das DAB High Contrast Kit eignet sich insbesondere für Anwendungen, bei denen ein besonders deutlicher Kontrast zwischen dem Chromogen und der Gegenfärbung mit Hämalau oder Hämatoxylin gewünscht ist. Die Farbreaktion ergibt einen intensiveren Braunton im Vergleich zum DAB Substrate Kit. Das Produkt ist für den professionellen Laborgebrauch durch qualifiziertes Personal bestimmt. Das DAB High Contrast Kit wurde für den Einsatz im manuellen und automatisierten Verfahren getestet. Das Produkt ist ein Zubehör zu einem *In-vitro*-Diagnostikum und ist für die Verwendung in Kombination mit Reagenzien und Lösungen von Zytomed Systems vorgesehen, die für die immunhistologische Färbung erforderlich sind (z. B. Primärantikörper). Das Zubehör unterstützt den Nachweis eines physiologischen oder pathologischen Zustands durch das *In-vitro*-Diagnostikum (z. B. Primärantikörper).

3 Testprinzip

Die Immunhistochemie (IHC) ist eine Methode, die histologische und immunologische Techniken kombiniert. Ein primärer Antikörper wird zum Nachweis eines spezifischen Antigens verwendet. Der Nachweis des Antigens beruht auf der Affinität des Antikörpers zu diesem Antigen, was zu einer spezifischen Bindung zwischen beiden führt. Die Kombination mit einem enzymgekoppelten Nachweissystem ermöglicht die Visualisierung des Antigens durch die aufeinanderfolgende Verwendung des spezifischen primären Antikörpers gegen das Antigen, eines sekundären Antikörpers oder Linkers gegen den primären Antikörper, eines Enzymkonjugates und eines chromogenen Substrats in Kombination mit dazwischenliegenden Waschschrritten. Die enzymatische Aktivierung des Chromogens führt zu einem sichtbaren Reaktionsprodukt an der Position des Antigens im Gewebe. Der Gewebeschnitt wird gegengefärbt, mit einem Deckglas eingedeckelt und das Ergebnis unter dem Lichtmikroskop interpretiert.

4 Lieferumfang

Das Produkt wird in den folgenden Formaten mit Zusätzen zur Konservierung und Stabilisierung angeboten.

REF	Beschreibung	Zusammensetzung
DABPLUS-500	<ul style="list-style-type: none">DAB Chromogen, 3 ml KonzentratDAB Substrate Buffer High Contrast, 11 x 5 ml ready-to-use	Flüssiges DAB-Konzentrat, Substratpuffer High Contrast mit Wasserstoffperoxid
DABPLUS-5000	<ul style="list-style-type: none">DAB Chromogen, 30 ml KonzentratDAB Substrate Buffer High Contrast, 500 ml ready-to-use	Flüssiges DAB-Konzentrat, Substratpuffer High Contrast mit Wasserstoffperoxid

Ein Sicherheitsdatenblatt kann unter info@zytomed-systems.de angefordert werden und ist unter www.zytomed-systems.de verfügbar.

5 Erforderliche, aber nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- Vorbehandlungspuffer
- Primärantikörper
- Verdünnungspuffer (nur für konzentrierte Antikörper)
- Waschpuffer
- Deionisiertes oder destilliertes Wasser
- Xylol oder Xylol-Ersatz
- Ethanol oder 2-Propanol
- Ggf. Avidin-/Biotin-Blockierungslösung
- Ggf. Peroxid-Blockierungslösung
- Detektionssystem
- Hämatoxylin oder eine andere Gegenfärbung
- Eindeckmedium
- Ggf. Dampfgerar oder Wasserbad
- Ggf. Immunfärbeautomat
- FFPE Gewebe
- Positiv- und Negativkontrolle
- Adhäsive Objektträger
- Deckgläser
- Färbegefäße / Färbewannen
- Thermometer
- Wecker
- Mikroskop

6 Lagerung und Handhabung

Die Stabilität dieses Produkts wurde gemäß DIN EN ISO 23640 geprüft.

Bei 2-8 °C lagern. Das Produkt nicht einfrieren. Unmittelbar nach Gebrauch wieder bei der angegebenen Temperatur lagern. Das Chromogen (-Konzentrat) lichtgeschützt lagern. Eine mikrobiologische Verunreinigung des Produkts ist zu vermeiden. Den Behälter nur zur Entnahme einer Teilmenge öffnen und danach sofort wieder verschließen. Das Produkt ist bei sachgemäßer Handhabung bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatums darf das Produkt nicht mehr verwendet werden. Aus Konzentraten hergestellte Färbelösungen sind unverzüglich aufzubrauchen.

7 Probenentnahme und Probenvorbehandlung

- Fixieren Sie die humane Gewebeprobe und die Gewebekontrolle in 4% neutral gepuffertem Formaldehyd (oder entsprechend 10 % Formalin).
- Betten Sie die fixierten Gewebeproben in Paraffin ein.
- Fertigen Sie Gewebeschnitte mit einem Mikrotom an. Die empfohlene Schnittdicke beträgt 2-4 µm.
- Bringen Sie die Gewebeschnitte faltenfrei auf adhäsive Objektträger auf und beschriften Sie diese entsprechend Ihren internen Standards.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Chromogenes Substrat (Kit mit gebrauchsfertigen und konzentrierten Komponenten)



8 Färbeverfahren

Das Produkt ist für die Verwendung in Kombination mit anderen Reagenzien vorgesehen. Bitte beachten Sie, dass das chromogene Substrat nur für die Verwendung in Kombination mit einem Detektionssystem mit Meerrettichperoxidase (HRP) geeignet ist. Die Zytomed Systems GmbH hat die Verwendung des Produkts in Kombination mit den folgenden Reagenzien und Geräten validiert:

- Alle CE/IVD-markierten Primärantikörper von Zytomed Systems
- Ggf. CE/IVD-markierter, zum Primärantikörper passender Verdünnungspuffer von Zytomed Systems
- Ggf. CE/IVD-markierter, zum Primärantikörper passender Vorbehandlungspuffer von Zytomed Systems
- CE/IVD-markierter Waschpuffer von Zytomed Systems
- CE/IVD-markierter, zum Primärantikörper passender Sekundärantikörper oder passendes Polymer von Zytomed Systems
- Immunfärbeautomat IntelliPathFLX® der Firma BioCare Medical

Es ist möglich, das Produkt mit abweichenden Reagenzien, Geräten und Protokollen zu verwenden, die gleichwertige Leistungsparameter erfüllen. In diesem Fall ist der Anwender für die Validierung des chromogenen Substrats, des Testsystems und des im jeweiligen klinischen Kontext verwendeten Protokolls verantwortlich.

Bitte beachten Sie die folgenden Empfehlungen für das Färbeverfahren.

Manuelle und automatisierte Färbung (IntelliPathFLX® der Firma BioCare Medical)		
Parameter	Zytomed Systems Empfehlungen	
	REF	Verdünnung
Herstellen der Färbelösung	DABPLUS-500	5 Tropfen DAB Chromogen auf 1 Flasche mit DAB Substrate Buffer High Contrast, gut mischen
	DABPLUS-5000	50 µl DAB Chromogen in 1 ml DAB Substrate Buffer High Contrast lösen, gut mischen
Inkubationszeit	• ~ 10 min, die Farbentwicklung unter dem Lichtmikroskop kontrollieren	
Färbung	• 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems waschen • Gebrauchsfertige DABPLUS Chromogenarbeitslösung auf den Gewebeschnitt auftragen. • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems	
Gegenfärbung	• Hämatoxylin für 30 sec bis 10 min (<i>je nach gewünschter Färbeintensität</i>) bei Raumtemperatur. • Bläuen in Leitungswasser für ~3 min.	
Entwässerung	• Dehydratisieren in der aufsteigenden Alkoholreihe und aus dem Xylol permanent eindecken	
Eindecken	• permanent eindecken	

9 Qualitätskontrolle

Wir empfehlen bei jedem Färbedurchgang eine Positiv- und eine Negativkontrolle mitzuführen. Die Positivkontrolle dient der Überprüfung der korrekten Verarbeitung der Probe. Ist die Negativkontrolle positiv, so weist dies auf eine unspezifische Färbung hin.

10 Erwartete Ergebnisse

Die zu erwartenden Ergebnisse hängen von der Verwendung des Primärantikörpers, des Nachweissystems, der optimalen Gegenfärbung sowie des passenden Eindeckmediums ab. Durch Verwendung eines geeigneten chromogenen Substrates wird die Antikörper-Enzymkonjugat-Bindung durch einen Farbkomplex, der am Ort der Antigen-Antikörper-Bindung präzipitiert, dauerhaft visualisiert.

11 Analytische Leistungsmerkmale

Es wurden analytische Leistungsstudien zur Parametergenauigkeit (einschließlich Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit) und endogenen Interferenzen durchgeführt. Die relevanten Experimente erfüllten die vorgegebenen Akzeptanzkriterien von mindestens 90 % Gesamtprozentübereinstimmung für alle getesteten Parameter. Mögliche endogene Störungen entnehmen Sie bitte dem Abschnitt Einschränkungen in der Gebrauchsanweisung. Somit erreicht DABPLUS (DAB High Contrast Kit) bei sachgemäßer Anwendung und unter Berücksichtigung des allgemein anerkannten Stands der Technik eine Analyseleistung gemäß Anhang I Nummer 9.1 Buchstabe a der Verordnung (EU) 2017/746.

12 Problemlösung

Wenn Sie ungewöhnliche Färbungen oder andere Abweichungen von den erwarteten Ergebnissen feststellen, lesen Sie bitte diese Anleitung sorgfältig durch. Weitere relevante Informationen finden Sie in der Anleitung des Nachweissystems. Unsere Experten stehen Ihnen gerne zur Verfügung, um Ihre Fragen zu beantworten. Bitte wenden Sie sich an info@zytomed-systems.de.

13 Einschränkungen

- Zur Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik.
- Nur für den professionellen Gebrauch. Die Färbung muss in einem professionellen Labor von qualifiziertem Personal unter der Aufsicht eines Pathologen/Mediziners durchgeführt werden, der für die Überprüfung der gefärbten Objektträger und die Sicherstellung der Angemessenheit der Positiv- und Negativkontrollen verantwortlich ist.
- Die klinische Interpretation einer positiven Färbung oder ihres Fehlens muss im Zusammenhang mit der klinischen Vorgeschichte, der Morphologie, anderen histopathologischen Kriterien sowie anderen diagnostischen Tests erfolgen. Es liegt in der Verantwortung eines qualifizierten Pathologen/Mediziners, sich mit dem Produkt, den Zusatzreagenzien, dem diagnostischen Panel und den Färbemethoden vertraut zu machen.
- Die Färbung der Proben, insbesondere die Signalintensität und die Hintergrundfärbung, hängt von der Handhabung und Verarbeitung der Proben vor der Färbung ab. Eine falsche Gewebeverarbeitung oder eine unsachgemäße Handhabung der Gewebeproben vor der eigentlichen IHC-Färbung kann zu ungenauen Ergebnissen führen.
- Die endogene Peroxidase-Aktivität, die Pseudo-Peroxidase-Aktivität in Erythrozyten oder der endogene Biotingehalt können je nach verwendetem Nachweissystem unspezifische Färbungen verursachen.
- Eine unzureichende Gegenfärbung oder falsches Eindecken können die Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen.
- Zytomed Systems GmbH garantiert, dass das Produkt bei sachgemäßer Lagerung und Handhabung alle beschriebenen Anforderungen bis zu dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum erfüllt. Weitere Garantien können nicht gegeben werden.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Chromogenes Substrat (Kit mit gebrauchsfertigen und konzentrierten Komponenten)

- Die Leistung wurde anhand der in dieser Gebrauchsanweisung beschriebenen Verfahren validiert. Änderungen an diesen Verfahren können die Leistung verändern und müssen vom Anwender validiert werden. Dieses IVD ist nur dann konform mit der Verordnung (EU) 2017/746, wenn es wie in dieser Gebrauchsanweisung beschrieben im Rahmen des vorgesehenen Verwendungszwecks eingesetzt wird.

14 Wichtige Informationen für den Anwender

- Das Produkt ist als Zubehör eines *In-vitro*-Diagnostikums in der professionellen Anwendung zu verwenden. Es unterstützt die Detektion eines pathologischen oder physiologischen Zustands durch dieses *In-vitro*-Diagnostikum.
- Schwerwiegende Vorfälle im Zusammenhang mit dem Produkt müssen dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaates des Anwenders gemeldet werden.

15 Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Lesen Sie das Sicherheitsdatenblatt vor Verwendung des Produkts.
- Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn es beschädigt ist.
- Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn Ihnen am Produkt etwas Ungewöhnliches auffällt, das auf eine Kontamination hinweist, wie z.B. eine ungewöhnliche Trübung oder ein ungewöhnlicher Geruch. Kontaktieren Sie in diesem Fall bitte unseren Kundenservice.
- Tragen Sie eine Schutzausrüstung, um Augen-, Haut- oder Schleimhautkontakt mit dem Reagenz zu vermeiden. Wenn Sie mit dem Reagenz in Berührung kommen, waschen Sie es mit reichlich Wasser ab.
- Eine mikrobiologische Verunreinigung des Produkts ist zu vermeiden, da sonst unspezifische Färbeargebnisse auftreten können. Den Behälter nur zur Entnahme einer Teilmenge öffnen und ihn dann sofort wieder verschließen. Lagern Sie das Produkt bei den empfohlenen Lagertemperaturen.
- Öffnen Sie das benötigte Reagenz nur für die Entnahme von Teilmengen und beschriften Sie ggf. verwendete Sekundärbehälter sorgfältig, um die Verwechslungsgefahr bei gleichfarbigen Lösungen zu minimieren.
- Beachten Sie bei DABPLUS-500 den Füllstand des DAB Substrate Buffer High Contrast, wenn Sie das DAB Chromogen hinzufügen (5 Tropfen DAB Chromogen auf 1 Flasche DAB Substrate Buffer High Contrast), um die korrekte Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung zu erzielen.
- Beim Umgang mit CMR-Stoffen (z. B. Xylo) ist darauf zu achten, dass die technische und persönliche Schutzausrüstung an den CMR-Stoff angepasst ist.
- Entsorgen Sie das Produkt gemäß den Angaben im Sicherheitsdatenblatt und den regionalen Vorschriften. Die Entsorgung des Chromogens (-Konzentrats) erfolgt über den Sondermüll.
- Proben menschlichen Ursprungs und damit kontaminierte Verbrauchsmaterialien müssen gemäß den regionalen gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

16 Literatur

- 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



www.zytomed-systems.de
Zytomed Systems GmbH • Anhaltinerstraße
16 • 14163 Berlin, Germany • Tel: (+49) 30-
804 984 990

17 Erklärungen zu den Symbolen auf dem Produktetikett

Die Symbole werden gemäß der ISO 15223-1 verwendet. Weitere Symbole auf dem Produktetikett können sein:



GSH02: Entzündlich



GSH05: Ätzend



GSH07: Achtung



GSH08: Systemische
Gesundheitsgefährdungen

RUO

Nur für Forschungszwecke

18 Änderungen gegenüber der Vorversion

Version	Änderungen
02	<ul style="list-style-type: none">Anpassung an aktuelles Template V05Ergänzung von Hinweisen in Abschnitt 15Allgemeine redaktionelle Korrekturen