

GEBRAUCHSANWEISUNG

Detektionssystem (Kit mit gebrauchsfertigen Komponenten)



ZytoChem Plus (HRP) Broad Spectrum Kit



Beschreibung

HRP-060	1 Kit, 600 Tests
HRP-125	1 Kit, 1.250 Tests
HRP-500	1 Kit, 5.000 Tests
HRP-500X	1 Kit ohne Blocking solution, 5.000 Tests

1 Spezifikationen

Detektionssystem im Rahmen der IHC zur Visualisierung eines Zielantigens in humanem FFPE Gewebe.

2 Zweckbestimmung

Das ZytoChem Plus (HRP) Broad Spectrum Kit arbeitet nach dem Streptavidin-Biotin-Prinzip und dient dem qualitativen Nachweis von Antigenen im Rahmen der Immunhistochemie (IHC) an humanen formalinfixierten, paraffineingebetteten (FFPE) Gewebeschnitten. Das Kit enthält einen polyvalenten biotinylierten Sekundärantikörper, der mono- und polyklonale Primärantikörper von Maus und Kaninchen bindet. Es muss in Kombination mit Substraten verwendet werden, die mit dem Enzym Meerrettichperoxidase (HRP) kompatibel sind. Das Produkt ist für den professionellen Laborgebrauch durch qualifiziertes Personal bestimmt. Das ZytoChem Plus (HRP) Broad Spectrum 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 Enzymkonjugats und eines chromogenen Substrats in Kombination mit dazwischenliegenden Waschschritten. 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
HRP-060	<ul style="list-style-type: none"> Blocking Solution (1) 15 ml, ready-to-use Biotinylated Secondary Antibody polyvalent (2) 15 ml, ready-to-use Streptavidin-HRP Conjugate (3) 15 ml, ready-to-use 	Detektionskit bestehend aus Blocking Solution mit Casein-Protein, biotinylierten Sekundärantikörpermolekülen aus Ziege und mit Meerrettichperoxidase (HRP) konjugierten Streptavidinmolekülen in Pufferlösung mit einem Isothiazolon-gemisch zur Stabilisierung
HRP-125	<ul style="list-style-type: none"> Blocking Solution (1) 125 ml, ready-to-use Biotinylated Secondary Antibody polyvalent (2) 125 ml, ready-to-use Streptavidin-HRP Conjugate (3) 125 ml, ready-to-use 	Detektionskit bestehend aus Blocking Solution mit Casein-Protein, biotinylierten Sekundärantikörpermolekülen aus Ziege und mit Meerrettichperoxidase (HRP) konjugierten Streptavidinmolekülen in Pufferlösung mit einem Isothiazolon-gemisch zur Stabilisierung
HRP-500	<ul style="list-style-type: none"> Blocking Solution (1) 500 ml, ready-to-use Biotinylated Secondary Antibody polyvalent (2) 500 ml, ready-to-use Streptavidin-HRP Conjugate (3) 500 ml, ready-to-use 	Detektionskit bestehend aus Blocking Solution mit Casein-Protein, biotinylierten Sekundärantikörpermolekülen aus Ziege und mit Meerrettichperoxidase (HRP) konjugierten Streptavidinmolekülen in Pufferlösung mit einem Isothiazolon-gemisch zur Stabilisierung
HRP-500X	<ul style="list-style-type: none"> Biotinylated Secondary Antibody polyvalent (2) 500 ml, ready-to-use Streptavidin-HRP Conjugate (3) 500 ml, ready-to-use 	Detektionskit bestehend aus biotinylierten Sekundärantikörpermolekülen aus Ziege und mit Meerrettichperoxidase (HRP) konjugierten Streptavidinmolekülen in Pufferlösung mit einem Isothiazolon-gemisch zur Stabilisierung

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

GEBRAUCHSANWEISUNG

Detektionssystem (Kit mit gebrauchsfertigen Komponenten)



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
- Chromogenes Substrat (nur falls nicht im Detektionskit enthalten)
- Hämatoxylin oder eine andere Gegenfärbung
- Eindeckmedium
- Ggf. Dampfgarer oder Wasserbad
- Ggf. Immunfärbeautomat
- FFPE Gewebe
- Positiv- und Negativkontrolle
- Adhäsive Objektträger
- Deckgläser
- Färbeflässe / 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. 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.

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 Schnittstärke beträgt 2-4 µm.
- Bringen Sie die Gewebeschnitte faltenfrei auf adhäsive Objektträger auf und beschriften Sie diese entsprechend Ihrer internen Standards.

8 Färbeverfahren

Das Produkt ist für die Verwendung in Kombination mit anderen Reagenzien vorgesehen. 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-markiertes, zum Sekundärantikörper/Polymer passendes Chromogenes Substrat 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 Detektionskits, des Testsystems und des im jeweiligen klinischen Kontext verwendeten Protokolls verantwortlich. Bitte beachten Sie die folgenden Empfehlungen für das Färbeverfahren.

Manuelle Färbung	
Parameter	Zytomed Systems Empfehlungen
Peroxid Block	<ul style="list-style-type: none"> • 3 % H₂O₂-Lösung • 10 min bei Raumtemperatur
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC052)
Blocking Solution	<ul style="list-style-type: none"> • Reagenz 1 • 5 min bei Raumtemperatur (<i>Dieser Schritt ist optional.</i>)
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC052) (<i>Dieser Schritt ist nur notwendig, wenn der Proteinblock durchgeführt wurde.</i>)
Primärantikörper (oder negatives Kontrollreagenz)	<ul style="list-style-type: none"> • Angaben zur Verdünnung bei Antikörperkonzentraten sowie Inkubationszeiten und -temperaturen für Primärantikörper sind der produktspezifischen Gebrauchsanweisung zu entnehmen.
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC052)
Biotinylated Secondary Antibody, polyvalent	<ul style="list-style-type: none"> • Reagenz 2 • 10-15 min bei Raumtemperatur
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC052)
Streptavidin-HRP-Conjugate	<ul style="list-style-type: none"> • Reagenz 3 • 10-15 min bei Raumtemperatur
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC052)
Chromogenes Substrat	<p>Chromogen Substrat Kits mit DAB: REF: DAB-057, DAB-530 REF: DABPLUS-500, DABPLUS-5000 Chromogen Substrat Kits mit AEC: REF: ZUC042-050, ZUC042-500 <i>Achtung: Nicht im Lieferumfang enthalten!</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • gebrauchsfertige Chromogen Lösung gemäß Gebrauchsanweisung herstellen • 5-15 min, die Farbentwicklung unter dem Lichtmikroskop kontrollieren
Stoppen der Farbreaktion	<ul style="list-style-type: none"> • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC052)
Gegenfärbung	<ul style="list-style-type: none"> • Hämatoxylin für 30 sec bis 10 min (<i>je nach gewünschter Färbintensität</i>) bei Raumtemperatur. • Bläuen in warmem Leitungswasser für ~3 min.
Eindecken	<ul style="list-style-type: none"> • AEC: wässrig • DAB: permanent (über Ethanol und Xylol oder Xylol-Ersatz)

GEBRAUCHSANWEISUNG

Detektionssystem (Kit mit gebrauchsfertigen Komponenten)



Automatisierte Färbung im Gerät IntelliPathFLX® der Firma BioCare Medical	
Parameter	Zytomed Systems Empfehlungen
Peroxid Block	<ul style="list-style-type: none"> • 3 % H₂O₂-Lösung • 10 min bei Raumtemperatur
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC066)
Blocking Solution	<ul style="list-style-type: none"> • Reagenz 1 • 5 min bei Raumtemperatur (<i>Dieser Schritt ist optional.</i>)
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC066) (<i>Dieser Schritt ist nur notwendig, wenn der Proteinblock durchgeführt wurde.</i>)
Primärantikörper (oder negatives Kontrollreagenz)	<ul style="list-style-type: none"> • Angaben zur Verdünnung bei Antikörperkonzentrationen sowie Inkubationszeiten und -temperaturen für Primärantikörper sind der produktspezifischen Gebrauchsanweisung des zu entnehmen.
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC066)
Biotinylated Secondary Antibody, polyvalent	<ul style="list-style-type: none"> • Reagenz 2 • 10-15 min bei Raumtemperatur
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC066)
Streptavidin-HRP-Conjugate	<ul style="list-style-type: none"> • Reagenz 3 • 10-15 min bei Raumtemperatur
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC066)
Chromogenes Substrat	<p>Chromogen Substrat Kits mit DAB: REF: DAB-057, DAB-530 REF: DABPLUS-500, DABPLUS-5000 Chromogen Substrat Kits mit AEC: REF: ZUC042-050, ZUC042-500 <i>Achtung: Nicht im Lieferumfang enthalten!</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • gebrauchsfertige Chromogen Lösung gemäß Gebrauchsanweisung herstellen • 5-15 min je nach gewünschter Färbeintensität, Gebrauchsanleitung beachten
Stoppen der Farbreaktion	<ul style="list-style-type: none"> • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC066)
Gegenfärbung	<ul style="list-style-type: none"> • Hämatoxylin für 30 sec bis 10 min (<i>je nach gewünschter Färbeintensität</i>) bei Raumtemperatur. • Bläuen in warmem Leitungswasser für ~3 min.
Eindecken	<ul style="list-style-type: none"> • AEC: wässrig • DAB: permanent (über Ethanol und Xylol oder Xylol-Ersatz)

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 sowie des chromogenen Substrats (sofern nicht im Detektionssystem enthalten) ab. Durch Verwendung eines geeigneten Nachweissystems wird das Zielantigen visualisiert.

11 Analytische Leistungsmerkmale

Es wurden analytische Leistungsstudien für die Parametergenauigkeit (einschließlich Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit) und die analytische Spezifität 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. Daher erreicht HRP (ZytoChem Plus (HRP) Broad Spectrum 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. 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 eine falsche Eindeckelung kann 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.
- Die Leistung wurde anhand der in dieser Gebrauchsanweisung beschriebenen Verfahren

GEBRAUCHSANWEISUNG

Detektionssystem (Kit mit gebrauchsfertigen Komponenten)



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 Färberegebnisse 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.
- Alle Komponenten enthalten Material  tierischen Ursprungs.
- Beim Umgang mit CMR-Stoffen (z. B. Xylol) 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. Zur Stabilisierung werden Isothiazolone verwendet. Die Entsorgung 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
- Omata M et al. Am J Clin Pathol 73: 626-632, 1980
- Nadji M and Morales AR. Ann N.Y. Acad Sci 420:134-139, 19834



www.zyto-med-systems.de
Zyto-med 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