

ZytoChem Plus (AP) Polymer Kit

REF	POLAP-006	1 Kit, 60 Tests
	POLAP-100	1 Kit, 1000 Tests
	POLAP-500K	1 Kit, 5.000 Test

Für die Anwendung in der qualitativen Immunhistochemie (IHC)

In-vitro-Diagnostikum gemäß IVDR (EU) 2017/746



1. Spezifikationen

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

2. Verwendungszweck

Das ZytoChem Plus (AP) Polymer Kit wird für den qualitativen Nachweis von Antigenen im Rahmen der Immunhistochemie (IHC) an humanen formalinfixierten, paraffineingebetteten (FFPE) Gewebeschnitten verwendet. Es wurde für die Verwendung in Kombination mit mono- und polyklonalen Primärantikörpern von Maus und Kaninchen entwickelt und muss in Verbindung mit Substraten verwendet werden, die mit dem Enzym alkalische Phosphatase (AP) kompatibel sind. Das Produkt ist für den professionellen Laborgebrauch durch qualifiziertes Personal bestimmt. Das ZytoChem Plus (AP) Polymer 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 GmbH und ZytoVision GmbH 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. Prinzip der Methode

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. Enthaltene Reagenzien

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

REF	Beschreibung	Zusammensetzung
POLAP-006	<ul style="list-style-type: none"> Blocking Solution, 6 ml ready-to-use PostBlock Reagent, 6 ml ready-to-use AP-Polymer, 	Blocking Solution enthält Casein. PostBlock enthält Sekundärantikörper aus Kaninchen gegen Maus-Ig, 10 % normales Ziegen Serum und eine Mischung aus Isothiazolonen und <0,1 % Natriumazid;

	6 ml ready-to-use 	AP Polymer enthält an AP konjugierte Antikörpermoleküle aus Ziege und 10 % Ziegen Serum
POLAP-100	<ul style="list-style-type: none"> Blocking Solution, 100 ml ready-to-use PostBlock Reagent, 100 ml ready-to-use AP-Polymer, 100 ml ready-to-use 	Blocking Solution enthält Casein. PostBlock enthält Sekundärantikörper aus Kaninchen gegen Maus-Ig, 10 % normales Ziegen Serum und eine Mischung aus Isothiazolonen und <0,1 % Natriumazid; AP Polymer enthält an AP konjugierte Antikörpermoleküle aus Ziege und 10 % Ziegen Serum
POLAP-500K	<ul style="list-style-type: none"> PostBlock Reagent, 500 ml ready-to-use AP-Polymer, 500 ml ready-to-use 	PostBlock enthält Sekundärantikörper aus Kaninchen gegen Maus-Ig, 10 % normales Ziegen Serum und eine Mischung aus Isothiazolonen und <0,1 % Natriumazid; AP Polymer enthält an AP konjugierte Antikörpermoleküle aus Ziege und 10 % Ziegen Serum

Ein Sicherheitsdatenblatt kann unter info@zytomed-systems.de angefordert werden und ist unter www.zytomed-systems.de verfügbar. Gemäß Verordnung (EG) 1907/2006 (REACH) gilt Natriumazid in einer Konzentration von <0,1 % nicht als gefährlicher Stoff und ist nicht kennzeichnungspflichtig.

5. Benötigte, aber nicht bereitgestellte Materialien

- Vorbehandlungspuffer
- Verdünnungspuffer (nur für konzentrierte Antikörper)
- Primärantikörper
- Waschpuffer
- Deionisiertes oder destilliertes Wasser
- Xylol oder Xylol-Ersatz
- Ethanol oder 2-Propanol
- Chromogenes Substrat
- Hämatoxylin oder eine andere Gegenfärbung
- Eindeckmedium
- ggf. Dampfgarer, Dampfdrucktopf oder Wasserbad
- ggf. Immunfärbeautomat
- FFPE-Gewebe
- Positiv- und Negativkontrolle
- Adhäsive Objektträger
- Deckgläser
- Färbeflässe / Färbewannen
- Thermometer
- Wecker
- Mikroskop

6. Vorbereitung der Präparate

- 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 Ihren internen Standards.

ZytoChem Plus (AP) Polymer Kit

7. Testverfahren

Das Produkt ist für die Verwendung in Kombination mit anderen Reagenzien vorgesehen. Die Zytovision GmbH hat die Verwendung des Produkts in Kombination mit den folgenden Reagenzien und Geräten validiert:

- Alle Primärantikörper (CE/IVD) der Zytovision GmbH und Zytomed Systems GmbH
- Ggf. Verdünnungspuffer (CE/IVD) der Zytovision GmbH
- Keine oder thermische Vorbehandlung mit einem Vorbehandlungspuffer (CE/IVD) der Zytovision GmbH
- Waschpuffer (CE/IVD) der Zytovision GmbH;
 - Empfehlung für die manuelle IHC-Färbung: ZUC052
 - Empfehlung für die automatisierte IHC-Färbung im Gerät IntelliPathFLX® der Firma BioCare Medical: ZUC066, ZUC052
- Chromogen Substrat (CE/IVD) der Zytovision GmbH
- automatisierte Färbungen: 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 Antikörpers, des Testsystems und des im jeweiligen klinischen Kontext verwendeten Protokolls verantwortlich.

Bitte beachten Sie die folgenden Empfehlungen für die Vorbereitung und das Färbeverfahren.

Manuelle Färbung	
<i>Hinweis: Nach jedem Reagenz muss eine Waschschrift erfolgen: 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC052)</i>	
Parameter	Zytomed Systems Empfehlungen
Blocking Solution	<ul style="list-style-type: none"> • Reagenz 1 • 5-10 min bei Raumtemperatur (<i>Dieser Schritt ist optional.</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 zu entnehmen
PostBlock	<ul style="list-style-type: none"> • Reagenz 2 • 20 min bei Raumtemperatur
AP-Polymer	<ul style="list-style-type: none"> • Reagenz 3 • 30 min bei Raumtemperatur
Chromogenes Substrat	Permanent AP-Red Kit (REF: ZUC001-125, ZUC001-500) <i>Achtung: Nicht im Lieferumfang enthalten!</i> <ul style="list-style-type: none"> • gebrauchsfertige AP-Red Lösung gemäß Gebrauchsanweisung herstellen • 10 min bei Raumtemperatur, 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 Färbeintensität</i>) bei Raumtemperatur • Bläuen in <u>kalt</u> Leitungswasser für ~3 min
Entwässerung	<ul style="list-style-type: none"> • Dehydratisieren in der aufsteigenden Alkoholreihe (<i>Dieser Schritt ist nur dann notwendig, wenn permanent eingedeckt wird.</i>) Empfehlung: <ul style="list-style-type: none"> • 96 % Ethanol (1 x 10 sec) • 100 % Ethanol (2 x 30 sec)
Eindecken	<ul style="list-style-type: none"> • permanent (über Ethanol) • wässrig

Automatisierte Färbung im Gerät IntelliPathFLX® der Firma BioCare Medical

Hinweis: Nach jedem Reagenz muss eine Waschschrift erfolgen: 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC066)

Parameter	Zytomed Systems Empfehlungen
Blocking Solution	<ul style="list-style-type: none"> • Reagenz 1 • 5-10 min bei Raumtemperatur (<i>Dieser Schritt ist optional.</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 zu entnehmen
PostBlock	<ul style="list-style-type: none"> • Reagenz 2 • 20 min bei Raumtemperatur
AP-Polymer	<ul style="list-style-type: none"> • Reagenz 3 • 30 min bei Raumtemperatur
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> • 3x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC052, container buffer 2)
Chromogenes Substrat	Permanent AP-Red Kit (REF: ZUC001-125, ZUC001-500) <i>Achtung: Nicht im Lieferumfang enthalten!</i> <ul style="list-style-type: none"> • gebrauchsfertige AP-Red Lösung gemäß Gebrauchsanweisung herstellen • 15 min bei Raumtemperatur
Stoppen der Farbreaktion	<ul style="list-style-type: none"> • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC052, container buffer 2)
Gegenfärbung	<ul style="list-style-type: none"> • Hämatoxylin für 30 sec bis 10 min (<i>je nach gewünschter Färbeintensität</i>) bei Raumtemperatur • Bläuen in <u>kalt</u> Leitungswasser für ~3 min
Entwässerung	<ul style="list-style-type: none"> • Dehydratisieren in der aufsteigenden Alkoholreihe (<i>Dieser Schritt ist nur dann notwendig, wenn permanent eingedeckt wird.</i>) Empfehlung: <ul style="list-style-type: none"> • 96 % Ethanol (1 x 10 sec) • 100 % Ethanol (2 x 30 sec)
Eindecken	<ul style="list-style-type: none"> • permanent (über Ethanol) • Wässrig

8. 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. Bei konzentrierten Antikörpern muss die Stabilität der Arbeitslösung vom Anwender validiert werden.

9. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Lesen Sie das Sicherheitsdatenblatt vor Verwendung des Produkts.
- Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn es beschädigt ist, Sie einen unerwarteten Farbumschlag am Produkt beobachten oder unerwartete Trübungen auftreten.
- Das Produkt vor dem Gebrauch gut durchmischen.
- Achten Sie bei der Färbung darauf, dass die verwendeten Reagenzien kompatibel sind und die Färbung bei Raumtemperatur erfolgt.

ZytoChem Plus (AP) Polymer Kit

- Das Produkt muss vor der Verwendung für diagnostische Zwecke außerhalb der Zweckstimmung oder im Rahmen einer LDT-Anwendung vom Anwender selbst validiert werden.
- 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 Färbeergebnisse 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.
- Das Produkt enthält 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 wird Natriumazid verwendet. Anreicherungen von Natriumazid können zur Bildung von hochexplosiven Metallaziden in Abflussrohren aus Blei und Kupfer führen. Um solche Anreicherungen zu vermeiden, ist nach der Entsorgung von z. B. Waschlösungen mit reichlich Wasser nachzuspülen. Das Sicherheitsdatenblatt für den Reinstoff Natriumazid ist auf Anfrage erhältlich.
- Zur Stabilisierung wird ein Gemisch aus Isothiazolonen verwendet. Die Entsorgung erfolgt über den Sondermüll.
- Proben menschlichen Ursprungs und damit kontaminierte Verbrauchsmaterialien müssen gemäß den regionalen gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.
- Schwerwiegende Vorfälle im Zusammenhang mit dem Produkt müssen dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaates des Anwenders gemeldet werden.

Gefahren- und Sicherheitshinweise für ZUC030 und ZUC031:

Die gefahrbestimmende Komponente ist 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on.



Achtung

H317	Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
P261	Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.
P272	Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen.
P280	Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P302+P352	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser waschen.
P333+P313	Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P362+P364	Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.

10. Einschränkungen

- Zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik.
- Nur für den professionellen Gebrauch. Die Färbung muss in einem professionellen Labor von qualifiziertem Personal mit geeigneter, kalibrierter Laborausstattung 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 Zusatz-reagenzien, 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 sowie der Reagenzien vor der Färbung ab. Eine falsche Gewebeverarbeitung, eine unsachgemäße Handhabung der Gewebeproben oder fehlerhaftes Ansetzen oder Verdünnen von Reagenzien vor der eigentlichen IHC-Färbung kann zu ungenauen Ergebnissen führen. Bei gleichzeitiger Handhabung mehrerer Typen von Geweben oder Reagenzien ist stets auf eine korrekte Verarbeitung zu achten, um Verwechslungen zu vermeiden.
- 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.
- ZytoVision 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 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.

11. Störsubstanzen

Endogene Peroxidaseaktivitäten können bei der Nutzung von HRP-basierten Detektionssystemen unspezifische Färbungen verursachen. Dies kann durch eine Inaktivierung endogener Peroxidasen mittels H₂O₂ oder einem Peroxid Block minimiert werden.

Endogenes Biotin kann bei der Nutzung von Avidin-Biotin-basierten Detektionssystemen unspezifische Färbungen verursachen. Dies kann durch eine adäquate Proteinblockierung minimiert werden. Diese ist in Verdünnungspuffern der ZytoVision GmbH sowie in gebrauchsfertigen Primäntikörpern der ZytoVision GmbH und Zytomed Systems GmbH bereits enthalten.

12. Interpretation der Ergebnisse

Die Interpretation der Ergebnisse liegt in der Verantwortung des professionellen Anwenders.

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. Empfohlene Qualitätskontrollverfahren

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. Für geeignete Positiv- und Negativkontrollen beachten Sie bitte die Gebrauchsanweisung des Primäntikörpers.



Detektionssystem (Kit mit gebrauchsfertigen Komponenten)



ZytoChem Plus (AP) Polymer Kit

14. Leistungsmerkmale

Es wurden analytische Leistungsstudien zur Präzision und analytischen Spezifität durchgeführt.

Folgende Präzisionsstudien sind erfolgt:

- Präzision innerhalb eines Tages (Wiederholbarkeit)
- Präzision an unterschiedlichen Tagen (Reproduzierbarkeit)
- Präzision zwischen verschiedenen Chargen
- Präzision zwischen unterschiedlichen Färbeautomaten eines Herstellers (IntelliPathFLX® der Firma BioCare Medical)

Die Untersuchung der analytischen Spezifität erfolgte durch Verwendung von Primärantikörpern aus Maus und Kaninchen.

Die vorab festgelegten Akzeptanzkriterien für alle getesteten Parameter sind erfüllt. Damit erreicht das zu bewertende Produkt bei bestimmungsgemäßer Verwendung und unter Berücksichtigung des allgemein anerkannten Stands der Technik die von der Verordnung (EU) 2017/746, Anhang I, 9.1(a) geforderte analytische Leistung.

Die Untersuchung der klinischen Leistung entfällt, da es sich um ein Produkt der Risikoklasse A handelt, welches selbst keinen Analyten detektiert, sondern lediglich als Zubehör in einem *in-vitro* diagnostischen Verfahren verwendet wird.

15. Entsorgung

Die Entsorgung der Reagenzien muss in Übereinstimmung mit den örtlichen Vorschriften erfolgen.

16. Fehlerbehebung

Jede Abweichung von der Gebrauchsanweisung kann zu schwachen Färbungen oder dem Ausfall von Färbungen führen. Unsere Experten stehen Ihnen gerne zur Verfügung, um Ihre Fragen zu beantworten. Bitte wenden Sie sich an info@zytomed-systems.de.

17. Literatur

1. Elias JM. Immunohistopathology – A practical Approach to Diagnosis” ASCP Press 2003
2. Nadjji M and Morales AR. Ann N Y Acad Sci 420:134-139, 1983
3. Omata M et al. Am J Clin Pathol 73:626-632, 1980

Im Rahmen der systematischen Literaturrecherche zur SoA und Scientific Validity wurde weitere relevante Literatur identifiziert.

18. Revision



www.zytomed-systems.de

Die aktuelle Gebrauchsanweisung finden Sie unter www.zytomed-systems.de.



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/ Germany
Telefon: +49 471 4832-300
Fax: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
Email: info@zytovision.com