

# GEBRAUCHSANWEISUNG

Detektionssystem (Kit mit gebrauchsfertigen Komponenten)



## ZytoChem Plus (AP) Polymer Kit

REF	Beschreibung
POLAP-006	1 Kit, 60 Tests
POLAP-100	1 Kit, 1.000 Tests
POLAP-500K	1 Kit, 5.000 Tests

### 1 Spezifikationen

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

### 2 Zweckbestimmung




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 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 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
POLAP-006	<ul style="list-style-type: none"><li>• Blocking Solution, 6 ml ready-to-use</li><li>• PostBlock Reagent, 6 ml ready-to-use</li><li>• AP-Polymer, 6 ml ready-to-use</li></ul> 	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-100	<ul style="list-style-type: none"><li>• Blocking Solution, 100 ml ready-to-use</li><li>• PostBlock Reagent, 100 ml ready-to-use</li><li>• AP-Polymer, 100 ml ready-to-use</li></ul> 	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"><li>• PostBlock Reagent, 500 ml ready-to-use</li><li>• AP-Polymer, 500 ml ready-to-use</li></ul> 	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](mailto:info@zytomed-systems.de) angefordert werden und ist unter [www.zytomed-systems.de](http://www.zytomed-systems.de) verfügbar. Gemäß Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 (REACH) gilt Natriumazid in einer Konzentration von <0,1 % nicht als gefährlicher Stoff und ist nicht kennzeichnungspflichtig.

### 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
- Chromogenes Substrat
- Hämatoxylin oder eine andere Gegenfärbung
- Eindeckmedium
- Ggf. Dampfgarer oder Wasserbad
- Ggf. Immunfärbearomat
- FFPE Gewebe
- Positiv- und Negativkontrolle
- Adhäsive Objektträger
- Deckgläser
- Färbeflässe / Färbewannen
- Thermometer
- Wecker
- Mikroskop

# GEBRAUCHSANWEISUNG

Detektionssystem (Kit mit gebrauchsfertigen Komponenten)



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

## 8 Färbeverfahren

Das Produkt ist für die Verwendung in Kombination mit anderen Reagenzien vorgesehen. Bitte beachten Sie, dass Sie zusätzlich ein chromogenes Substrat, das für die Verwendung in Kombination mit dem Detektionssystem alkalische Phosphatase (AP) geeignet ist, benötigen. 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 Detektionsskits, 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
<b>Blocking Solution</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Reagenz 1</b></li> <li>• 5-10 min bei Raumtemperatur (<i>Dieser Schritt ist optional.</i>)</li> </ul>
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC052)</li> <li>(<i>Dieser Schritt ist nur dann notwendig, wenn der Proteinblock durchgeführt wurde.</i>)</li> </ul>
Primärantikörper (oder negatives Kontrollreagenz)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Angaben zur Verdünnung bei Antikörperkonzentraten sowie Inkubationszeiten und -temperaturen für Primärantikörper sind der produktspezifischen Gebrauchsanweisung zu entnehmen</li> </ul>

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

## Automatisierte Färbung im Gerät IntelliPathFLX® der Firma BioCare Medical

Parameter	Zytomed Systems Empfehlungen
<b>Blocking Solution</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Reagenz 1</b></li> <li>• 5-10 min bei Raumtemperatur (<i>Dieser Schritt ist optional.</i>)</li> </ul>
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC066)</li> <li>(<i>Dieser Schritt ist nur notwendig, wenn der Proteinblock durchgeführt wurde.</i>)</li> </ul>
Primärantikörper (oder negatives Kontrollreagenz)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Angaben zur Verdünnung bei Antikörperkonzentraten sowie Inkubationszeiten und -temperaturen für Primärantikörper sind der produktspezifischen Gebrauchsanweisung zu entnehmen</li> </ul>
Waschschritt	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC066)</li> </ul>
<b>PostBlock</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Reagenz 2</b></li> <li>• 20 min bei Raumtemperatur</li> </ul>
Waschen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems (z.B. ZUC066)</li> </ul>
<b>AP-Polymer</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Reagenz 3</b></li> <li>• 30 min bei Raumtemperatur</li> </ul>

# GEBRAUCHSANWEISUNG

Detektionssystem (Kit mit gebrauchsfertigen Komponenten)



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

## 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 Detektionskit enthalten) ab. Durch Verwendung eines geeigneten Nachweissystems wird das Zielantigen visualisiert.

## 11 Analytische Leistungsmerkmale

Es wurden analytische Leistungsstudien zur Parametergenauigkeit (einschließlich Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit) und zur analytischen Spezifität (einschließlich endogener Interferenzen) durchgeführt. Die relevanten Experimente erfüllten die vorgegebenen Akzeptanzkriterien von mindestens 90 % Gesamtprozentübereinstimmung für alle getesteten Parameter. Somit erreicht POLAP (ZytoChem Plus (AP) Polymer) bei sachgemäßer Anwendung und unter Berücksichtigung des allgemein anerkannten Stands der Technik eine analytische Leistung 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](mailto: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 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.

# GEBRAUCHSANWEISUNG

## Detektionssystem (Kit mit gebrauchsfertigen Komponenten)

- 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 Komponente enthalten Material  tierischen Ursprungs.
- 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. 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 werden Stabilisatoren aus einem 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.

### 16 Literatur





1. Elias JM. Immunohistopathology – A practical Approach to Diagnosis" ASCP Press 2003
2. Nadji 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



[www.zytomed-systems.de](http://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"> <li>• Anpassung an aktuelles Template V05</li> <li>• Ergänzung von Hinweisen in Abschnitt 15</li> <li>• Allgemeine redaktionelle Korrekturen</li> </ul>