

GEBRAUCHSANWEISUNG

Chromogenes Substrat (Kit mit gebrauchsfertigen und konzentrierten Komponenten)



Permanent AP-Red Kit

REF	Beschreibung
ZUC001-125	1 Kit, 1.250 Tests
ZUC001-500	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 Permanent AP-Red Kit wird für Färbeverfahren in der Immunhistochemie (IHC) in Kombination mit einem Detektionssystem mit Alkalischer Phosphatase (AP) für den qualitativen Nachweis von Antigenen in humanen formalinfixierten, paraffineingebetteten (FFPE) Gewebeschnitten verwendet. Permanent Red bildet an der Stelle des Zielantigens einen permanenten rot-pinken Niederschlag, der mit einem Lichtmikroskop sichtbar gemacht werden kann. Das Produkt ist für den professionellen Laborgebrauch durch qualifiziertes Personal bestimmt. Das Permanent AP-Red 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
ZUC001-125	Permanent AP-Red Chromogen, 2 ml Konzentrat; Permanent AP-Red Buffer, 125 ml; 1 Verdünnungsröhrchen	Substratpuffer und flüssiges Chromogen-Konzentrat. Permanent AP Red Chromogen enthält 1-10 % Chlorwasserstoff
ZUC001-500	Permanent AP-Red Chromogen, 8 ml Konzentrat; Permanent AP-Red Buffer, 500 ml; 1 Verdünnungsröhrchen	Substratpuffer und flüssiges Chromogen-Konzentrat. Permanent AP Red Chromogen enthält 1-10 % Chlorwasserstoff

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
- Detektionssystem
- Hämatoxylin oder eine andere Gegenfärbung
- Eindeckmedium
- Ggf. Dampfgarer 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.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Chromogenes Substrat (Kit mit gebrauchsfertigen und konzentrierten Komponenten)



- 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 das chromogene Substrat nur für die Verwendung in Kombination mit dem Detektionssystem alkalische Phosphatase (AP) geeignet ist. Die Zytomed Systems GmbH hat die Verwendung des Produkts in Kombination mit den folgenden Reagenzien und Geräten validiert:

- Alle CE/IVD-markierten Primäntikörper von Zytomed Systems
- Ggf. CE/IVD-markierter, zum Primäntikörper passender Verdünnungspuffer von Zytomed Systems
- Ggf. CE/IVD-markierter, zum Primäntikörper passender Vorbehandlungspuffer von Zytomed Systems
- CE/IVD-markierter Waschpuffer von Zytomed Systems
- CE/IVD-markierter, zum Primäntikörper passender Sekundäntikörper oder passendes Polymer von Zytomed Systems
- Immunfärbearomat 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 Färbung		
Parameter	Zytomed Systems Empfehlungen	
	REF	Verdünnung
Herstellen der Färbelösung	ZUC001-125	16 µl Permanent AP-Red Chromogen in 1 ml Permanent AP-Red Buffer geben, gut mischen
	ZUC001-500	16 µl Permanent AP-Red Chromogen in 1 ml Permanent AP-Red Buffer geben, gut mischen
Inkubationszeit	10 min	
Färbung	<ul style="list-style-type: none"> • 3x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems waschen • Gebrauchsfertige Permanent Red Chromogenarbeitslösung auf den Gewebeschnitt auftragen. • 3x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems waschen 	
Gegenfärbung	<ul style="list-style-type: none"> • Hämatoxylin für 30 sec bis 10 min (<i>je nach gewünschter Farbeintensität</i>) bei Raumtemperatur. • Bläuen in 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	Permanent eindecken	

Automatisierte Färbung im Gerät IntelliPathFLX® der Firma BioCare Medical

Parameter	Zytomed Systems Empfehlungen	
	REF	Verdünnung
Herstellen der Färbelösung	ZUC001-125	35 µl Permanent AP-Red Chromogen mit 565 µl destilliertem Wasser mischen. Diese die Chromogenlösung mit 1,4 ml Permanent AP-Red Substratpuffer mischen.
	ZUC001-500	35 µl Permanent AP-Red Chromogen mit 565 µl destilliertem Wasser mischen. Diese die Chromogenlösung in 1,4 ml Permanent AP-Red Substratpuffer mischen.
Inkubationszeit	2 x 15 min	
Färbung	<ul style="list-style-type: none"> • 3x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems waschen • Gebrauchsfertige Permanent Red Chromogenarbeitslösung auf den Gewebeschnitt auftragen. • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems waschen • Gebrauchsfertige Permanent Red Chromogenarbeitslösung auf den Gewebeschnitt auftragen. • 2x mit CE/IVD-markiertem Waschpuffer von Zytomed Systems waschen 	
Gegenfärbung	<ul style="list-style-type: none"> • Hämatoxylin für 30 sec bis 10 min (<i>je nach gewünschter Farbeintensität</i>) bei Raumtemperatur. • Bläuen in 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	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 Primäntikörpers, des Nachweissystems, der optimalen Gegenfärbung sowie des passenden Eindeckmediums ab. Durch Verwendung eines geeigneten chromogenen Substrats wird die Antikörper-Enzymkonjugat-Bindung durch einen Farbkomplex, der am Ort der Antigen-Antikörper-Bindung präzipitiert, dauerhaft visualisiert.

11 Analytische Leistungsmerkmale

Analytische Leistungsstudien für die Parametergenauigkeit (einschließlich Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit). Die Experimente erfüllten die vorgegebenen Akzeptanzkriterien von mindestens 90 %

GEBRAUCHSANWEISUNG

Chromogenes Substrat (Kit mit gebrauchsfertigen und konzentrierten Komponenten)

Gesamtprozentübereinstimmung für alle getesteten Parameter. Somit erreicht ZUC001 (Permanent AP-Red 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 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.
- 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.
- 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. 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

1. Elias JM "Immunohistopathology – A practical Approach to Diagnosis" ASCP Press 2003
2. Nadji M and Morales AR Ann N.Y. Acad Sci 420:134-9, 1983



www.zytomed-systems.de



Zytomed Systems GmbH • Anhalterstraße 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 V05• Ergänzung von Hinweisen in Abschnitt 15• Allgemeine redaktionelle Korrekturen