

REF WF15P0001

**USAGE PRÉVU**

Le Réactif immunochromogène PA est un système conjugué d'anticorps polymère à la peroxydase de rafort (HRP) dépourvu de biotine. Le Réactif immunochromogène PA est prêt à l'emploi. Le kit est destiné à la détection des anticorps primaires de souris et de lapin. Il est conçu pour la coloration de coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine sur le Système de coloration pathologique entièrement automatisé (Numéro du modèle : PA-3600).

Usage diagnostique *in vitro* uniquement. Usage professionnel uniquement.

**RÉSUMÉ**

Les techniques immunohistochimiques permettent de mettre en évidence la présence d'antigènes dans les tissus et les cellules. Avant la coloration, les coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffiné doivent subir une déparaffinisation suivie d'une récupération d'épitopes induite par la chaleur (HIER) selon la méthode de récupération de l'antigène spécifiée dans la notice d'utilisation de l'anticorps primaire. La peroxydase endogène doit être bloquée avec le tampon de blocage inclus dans le kit de réactif de libération d'échantillon PA. Les anticorps primaires ne sont pas fournis avec le kit. Nous recommandons l'utilisation des anticorps primaires prêts à l'emploi Wondfo. Le réactif de renforcement des polymères permet la localisation des anticorps de souris, tandis que le réactif HRP Polymer permet la localisation des anticorps de lapin.

Le Potentialisateur (Linker) (WDA8P0001) peut être appliqué pour une amplification optionnelle du signal des anticorps primaires de lapin.

Le système de substrat fourni dans le kit se compose de deux éléments : le substrat DAB et le chromogène DAB. Ce système génère un produit final brun net au niveau du site de l'antigène cible. La contre-coloration à l'hématoxyline permet d'obtenir une coloration nucléaire bleue et bien définie. L'utilisation du Réactif immunochromogène PA en combinaison avec le Système de coloration pathologique entièrement automatisé réduit les risques d'erreur humaine et de variabilité inhérente résultant de la dilution manuelle des réactifs, du pipetage manuel et à leur application.

**PRINCIPE DU TEST**

Le kit de Réactif immunochromogène PA détecte les anticorps primaires spécifiques de souris et de lapin liés à un antigène dans des coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE). L'anticorps primaire est localisé à l'aide d'un anticorps secondaire spécifique marqué par une enzyme. Le complexe est ensuite visualisé grâce au substrat de peroxyde d'hydrogène et au chromogène 3,3'-diaminobenzidine tétrahydrochlorure (DAB), produisant un précipité brun facilement observable par microscopie optique.

**PRÉCAUTIONS**

1. Ce kit est destiné uniquement à un usage diagnostique *in vitro*.
2. Ne pas réutiliser. Les produits expirés ne doivent pas être utilisés.
3. Le kit doit être utilisé par des professionnels.
4. Une quantité insuffisante de réactifs lors de l'expérience peut entraîner des résultats incorrects.
5. La solution ProClin 300 est utilisée comme conservateur dans cette solution. Éviter tout contact des réactifs avec les yeux, la peau et les muqueuses. Utiliser des vêtements et des gants de protection.
6. Éviter tout contact des réactifs avec les yeux, la peau et les muqueuses. Utiliser des gants jetables et porter des vêtements de protection adaptés lors de la manipulation de substances potentiellement cancérogènes ou toxiques.
7. En cas de contact des réactifs avec des zones sensibles, rincer abondamment à l'eau. Éviter toute inhalation des réactifs.
8. S'assurer que le conteneur à déchets est vide avant de démarrer une analyse sur l'appareil. À défaut, le conteneur pourrait déborder et entraîner un risque de glissade et de chute.
9. Le Réactif immunochromogène PA contient des matériaux d'origine animale. Comme pour tout produit dérivé de sources biologiques, les procédures de manipulation appropriées doivent être utilisées conformément aux exigences locales.
10. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau.
11. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément à toutes les réglementations locales, régionales, nationales et internationales en vigueur.
12. Tout incident grave survenu lié au dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

**MATÉRIELS****Matériels fournis**

Pour WF15P0001 (100 Tests)

Contenu	Principaux composants	Quantité
Potentialisateur ur polymère	Le Potentialisateur polymère contient des IgG de lapin anti-souris (environ 40 µg/mL) dans un tampon contenant des protéines avec 0,05 % de ProClin 300.	15 mL/bouteille * 1
Polymère HRP	Le Polymère HRP contient des IgG Poly-HRP anti-lapin (environ 30 µg/mL) dans un tampon contenant des protéines avec 0,05 % de ProClin 300.	15 mL/bouteille
Substrat DAB	Le Substrat DAB contient ≤0,1% (v/v) de peroxyde d'hydrogène dans une solution tampon stabilisatrice exclusive.	15 mL/bouteille * 1
Chromogène DAB	Le Chromogène DAB contient ≤0,2% (p/v) de 3,3'-diaminobenzidine tétrahydrochlorure (DAB) dans une solution stabilisatrice exclusive.	15 mL/bouteille * 1
Hématoxyline	L'Hématoxyline contient ≤0,1% (p/v) d'Hématoxyline dans une solution stabilisatrice à base de glycol et d'acide acétique.	15 mL/bouteille * 1
Notice d'utilisation	Notice d'utilisation	1

## **Matériaux requis mais non fournis**

1. Réactif de libération d'échantillon PA
2. Solution de restitution PA (pH9.0)
3. Solution de restitution PA (pH6.0)
4. Réactif bleuissant PA
5. Potentialisateur (Linker) PA
6. Tampon de lavage PA
7. Lames de microscope
8. Tissus positifs et négatifs à utiliser comme contrôles de processus
9. Eau distillée ou déionisée
10. Éthanol absolue
11. Xylène ou substituts de xylène
12. Milieu de montage permanent
13. Lamelle couvre-objet
14. Équipement de laboratoire général
15. Microscope à fond clair (grossissement de l'objectif 4-40x)
16. Flacon réactif 7 ml (étiqueté avec RFID)
- 17.

## **Équipement requis**

Système de coloration pathologique entièrement automatisé (Numéro du modèle : PA-3600).

## **STOCKAGE ET STABILITÉ**

1. Conserver à 2 ~ 8 °C, valable 18 mois
2. Tenir à l'abri de la lumière du soleil, de l'humidité et de la chaleur.
3. La congélation et la décongélation sont interdites.
4. À utiliser dans les 3 mois après ouverture.
5. Bien refermer le bouchon et remettre immédiatement entre 2 ~ 8 °C après utilisation.
6. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon.
- 7.

## **PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS**

Les échantillons peuvent être des coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine. La durée de fixation dépend du fixateur utilisé et du type/épaisseur du tissu. Par exemple, des blocs de tissus d'une épaisseur de 3 ~ 5 mm doivent être fixés dans du formol tamponné neutre pendant 18 ~ 24 heures. L'épaisseur optimale des coupes en paraffine est d'environ 3 ~ 5 µm. Après la microtomie, les tissus doivent être montés sur des lames de microscope puis placés dans une étuve calibrée à 65 ± 2 °C pendant 1 heure.

Les coupes doivent être montées sur les lames de manière aussi plane et sans plis que possible. La présence de plis peut avoir un impact négatif sur les résultats de la coloration.

Remarque : La position des échantillons sur les lames de microscope doit être adaptée à l'appareil PA3600. Veuillez-vous référer au Guide d'utilisation pour la définition de la zone de coloration utilisable sur les lames pour l'application des échantillons.

## **PROCÉDURE DE TEST**

Utilisé en combinaison avec le Système de coloration pathologique entièrement automatisé (modèle : PA-3600), le processus allant de la déparafinisation à la contre-coloration est réalisé par l'appareil.

1. Placer les lames préparées dans une étuve calibrée à 65 ± 2 °C pendant 1 heure.
2. Suivre les instructions d'utilisation du logiciel de l'appareil.
3. Configurer le protocole à l'aide du logiciel de l'appareil et imprimer les étiquettes.
4. Charger les lames étiquetées dans l'appareil.
5. Placer les réactifs dans le portoir à réactifs et vérifier que le type et la quantité de réactifs sont corrects et suffisants pour réaliser l'expérience.
6. Démarrer l'opération de coloration automatique.
7. Après la coloration, retirer les coupes et rincer à l'eau distillée.
8. Déshydrater et rendre transparentes les lames, enfin monter les lames avec un milieu de montage permanent et les couvrir avec une lamelle.

Pour des informations complètes et la procédure d'utilisation, veuillez-vous référer au Manuel d'utilisation du PA-3600.

## **INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS**

La solution de travail du substrat contenant de la diaminobenzidine (DAB) donne une couleur brune au niveau de l'antigène cible reconnu par l'anticorps primaire. La coloration brune doit être présente sur l'échantillon du contrôle positif à l'emplacement attendue de l'antigène cible. En cas de coloration non spécifique, celle-ci se manifestera par une coloration brune diffuse sur les lames traitées avec le réactif du contrôle négatif. Les noyaux seront colorés en bleu par la contre-coloration à l'hématoxyline.

## **CONTRÔLE DE QUALITÉ**

Se référer au document «Assurance qualité pour le Contrôle de conception et la mise en œuvre des tests d'immunohistochimie ; Guide approuvé - Deuxième édition (I/LA28-A2) CLSI. 2011 ». Des tissus de contrôle positifs et négatifs (fournis par le laboratoire) doivent être utilisés pour chaque procédure de coloration. Ces

contrôles de qualité visent à garantir la validité de la procédure de coloration, incluant les réactifs, le traitement des tissus et la performance de l'appareil. Il est recommandé de colorer les tissus de contrôle sur la même lame que le tissu du patient.

### **Contrôle positif**

Le contrôle positif doit être un tissu exprimant positivement le biomarqueur. Les matériaux de contrôle positif externe doivent être des échantillons frais, fixés, traités et inclus le plus rapidement possible de la même manière que l'échantillon du patient. Un contrôle positif tissulaire externe pour chaque ensemble de conditions de test doit être inclus dans chaque série de coloration. Si les contrôles positifs tissulaires ne présentent pas de coloration positive, les résultats des échantillons tests doivent être considérés comme non valides.

### **Contrôle négatif**

Le contrôle négatif doit être un tissu ou un élément tissulaire sans expression du biomarqueur. Utiliser un contrôle négatif tissulaire fixé, traité et inclus de manière identique à l'échantillon du patient avec chaque série de coloration pour vérifier la spécificité de l'anticorps primaire IHC pour la détection de l'antigène cible, et pour fournir une indication de la coloration de fond spécifique (faux positifs).

Si une coloration spécifique (faux positifs) apparaît dans le contrôle tissulaire négatif, les résultats des échantillons du patients doivent être considérés comme non valides.

### **Contrôle négatif avec réactif non spécifique**

Utiliser un contrôle négatif avec réactif non spécifique à la place de l'anticorps primaire sur une section de chaque échantillon patient pour évaluer la coloration non spécifique et permettre une meilleure interprétation de la coloration spécifique au site de l'antigène.

La durée d'incubation pour le contrôle négatif avec réactif doit correspondre à celle de l'anticorps primaire.

## **LIMITATIONS DE LA PROCÉDURE**

1. L'immunohistochimie est un processus multi-étape, chaque étape peut influencer le résultat, y compris, mais sans s'y limiter : la fixation, la méthode de récupération antigénique, le temps d'incubation, l'épaisseur des coupes tissulaires, le kit de détection utilisé et l'interprétation des résultats de coloration.
2. Les protocoles recommandés sont basés sur l'utilisation exclusive des produits Wondfo.
3. L'interprétation clinique de toute coloration positive ou négative doit être évaluée dans le contexte de la présentation clinique, de la morphologie et d'autres critères histopathologiques par un pathologiste qualifié.
4. L'interprétation clinique de toute coloration positive ou négative doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles internes et externes appropriés, positifs et négatifs, ainsi que d'autres tests diagnostiques.

## CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

### Conformité positive

Le contrôle positif a été prélevé, et le test immunohistochimique a été réalisé conformément aux instructions du fabricant. Les résultats ont satisfait aux exigences : la coloration du tissu/cellule positive doit être positive, la localisation de la coloration positive doit être précise, et il ne doit y avoir ni coloration de fond ni coloration non spécifique.

### Conformité négative

Un contrôle négatif a été prélevé conformément aux instructions du fabricant pour les tests immunohistochimiques. Les résultats ont satisfait aux exigences : la coloration du tissu/cellule négative doit être négative, sans coloration de fond ni coloration non spécifique.

### Conformité du contrôle blanc

Un contrôle blanc a été utilisé conformément aux instructions du fabricant pour les tests immunohistochimiques, en remplaçant l'anticorps primaire par le diluant d'anticorps comme contrôle blanc. Les tests immunohistochimiques ont été réalisés selon les instructions du fabricant. Les résultats ont satisfait aux exigences : négatif, sans coloration de fond ni coloration non spécifique des tissus/cellules testés.

### Précision intra-lot

Trois coupes tissulaires de la même source contenant l'antigène cible ont été prélevées et le même lot de produits a été utilisé pour la détection immunohistochimique. Les résultats ont satisfait aux exigences : aucune différence évidente d'intensité ou de localisation de la coloration entre les coupes provenant de la même source.

### Précision inter-lots

Trois coupes tissulaires de la même source tissulaire contenant l'antigène cible ont été prélevées et 3 lots différents de produits ont été utilisés simultanément pour la détection immunohistochimique. Les résultats ont satisfait aux exigences : aucune différence évidente d'intensité ou de localisation de la coloration des coupes tissulaires provenant de la même source avec des lots de réactifs différents.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] Chinese Medical Association. Clinical Technical Operation Standard Pathology volume [M]. People's Military Medical Publication Society, 2004.
- [2] Wu Bingquan, Liu Yanfang. Immunohistochemical Pathological diagnosis (2nd edition) [M]. Science in Beijing Technology Press, 2013.
- [3] He Jianfang, Han An 'an, WU Qiuliang. Practical immunohistochemical pathological diagnosis [M]. Science Press Society, 2018.

[4] JD Bancroft and A Stevens. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.

[5] Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.

## INDEX DES SYMBOLES

	Consulter la notice d'utilisation		Fabricant		Date de fabrication
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Date de péremption		Numéro de catalogue
	Limite de température		Code du lot		Contient suffisamment d'éléments pour <n> tests
	Tenir à l'écart de la lumière du soleil		Abréviation de volume		Marquage CE
	Risques biologiques		Contenir du matériel biologique d'origine animale		Représentant autorisé dans la Communauté européenne/Union européenne
	Importateur		Identifiant unique de l'appareil		



Guangzhou Wondfo Biotech Co., Ltd.  
No.8 Lizishan Road, Science City, Huangpu  
District, 510663, Guangzhou,  
P.R.China  
Tel : (+86) 400-830-8768  
E-mail: [sales@wondfo.com.cn](mailto:sales@wondfo.com.cn)  
Site web : [en.wondfo.com](http://en.wondfo.com)



QbD RepS BV  
Groenenborgerlaan 16, 2610  
Wilrijk, Belgium

IFU-WF15(1)-01-01

Version : 00

05/10/2024