

REF WF15P0001

USO PREVISTO

Il reagente PA-immunocromogenico è un sistema di coniugazione anticorpo-perossidasi di rafano (HRP) polimerica senza biotina. Il Reagente PA-Immunocromogenico è pronto all'uso. Il kit è destinato alla rilevazione di anticorpi primari di topo e coniglio. È destinato alla colorazione di sezioni tissutali fissate in formalina e incluse in paraffina sul Sistema di colorazione per patologia completamente automatizzato (Modello n: PA-3600).

Solo per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.

SINTESI

Le tecniche immunoistochimiche possono essere utilizzate per dimostrare la presenza di antigeni nei tessuti e nelle cellule. Prima della colorazione, le sezioni tissutali incluse in paraffina, fissate in formalina, devono essere sottoposte a deparaffinizzazione, seguita da recupero dell'epitopo indotto dal calore (HIER) utilizzando il metodo di recupero del bersaglio specificato nelle istruzioni per l'uso dell'anticorpo primario. La perossidasi endogena deve essere bloccata con il tampone di blocco incluso nel kit del Reagente PA per il rilascio dei campioni. Gli anticorpi primari non sono forniti con il kit. Si consiglia l'uso di anticorpi primari pronti all'uso Wondfo. Il reagente Potenziatore del polimero localizza gli anticorpi di topo. Il reagente Polimero HRP localizza gli anticorpi di coniglio.

Il Potenziatore (collegante) (WDA8P0001) può essere applicato per un'amplificazione opzionale del segnale degli anticorpi primari di coniglio.

Il sistema di substrati del kit è costituito da due componenti: substrato DAB e cromogeno DAB. Il sistema di substrati produce un prodotto finale marrone nitido nel sito dell'antigene bersaglio. La controcolorazione con ematossilina fornisce una colorazione nucleare blu chiaro. L'uso del reagente PA-immunocromogenico, in

combinazione con il Sistema di colorazione completamente automatizzato per patologia, riduce la possibilità di errore umano e la variabilità intrinseca derivante dalla diluizione individuale dei reagenti, dal pipettaggio manuale e dall'applicazione dei reagenti.

PRINCIPIO DEL TEST

Il kit di reagenti PA-Immuncromogeni rileva anticorpi primari specifici di topo e coniglio legati a un antigene in sezioni tissutali incluse in paraffina e fissate in formalina (FFPE). L'anticorpo primario è localizzato da un anticorpo secondario specifico marcato con un enzima. Il complesso viene quindi visualizzato con il substrato del perossido di idrogeno e il cromogeno 3, 3'-diaminobenzidina tetracloruro (DAB), che produce un precipitato marrone facilmente osservabile al microscopio ottico.

PRECAUZIONI

- Questo kit è solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Non riutilizzare, i prodotti scaduti non possono essere utilizzati.
- Il kit deve essere utilizzato da professionisti.
- Una quantità insufficiente di reagenti nell'esperimento può portare a risultati errati.
- La soluzione ProClin 300 è utilizzata come conservante in questa soluzione. Evitare il contatto dei reagenti con occhi, pelle e mucose. Utilizzare indumenti e guanti protettivi.
- Evitare il contatto dei reagenti con occhi, pelle e mucose. Utilizzare guanti monouso e indossare indumenti protettivi adeguati quando si maneggiano materiali sospetti di essere cancerogeni o tossici.
- Se i reagenti vengono a contatto con aree sensibili, lavare abbondantemente con acqua. Evitare di inalare i reagenti.
- Assicurarsi che il contenitore dei rifiuti sia vuoto prima di avviare un'analisi sullo strumento Se non si prende questa precauzione, il contenitore dei rifiuti potrebbe traboccare e l'operatore rischierebbe di scivolare e cadere.
- Il reagente PA-immunocromogeno contiene materiale di origine animale. Come per qualsiasi prodotto derivato da fonti biologiche, è necessario adottare procedure di manipolazione adeguate in base ai requisiti locali.
- Indossare un equipaggiamento protettivo personale adeguato a evitare il contatto con gli occhi e la pelle.

11.La soluzione non utilizzata deve essere smaltita in conformità a tutte le normative locali, regionali, nazionali e internazionali.

12.Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello Stato membro in cui è stabilito l'utilizzatore e/o il paziente.

MATERIALI**Materiali forniti****Per WF15P0001 (100 Test)**

Contenuti	Componenti principali	Quantità
Potenziatore di polimeri	Il potenziatore di polimeri contiene IgG di coniglio anti-topo (circa 40 µg/mL) in una soluzione tampone contenente proteine con ProClin 300 allo 0,05%.	15 mL/bottiglia * 1
Polimero HRP	Il Polimero HRP contiene anticorpo anti-coniglio IgG coniugato a polimero di HRP (circa 30 µg/mL) in una soluzione tampone contenente proteine con ProClin 300 allo 0,05%.	15 mL/bottiglia * 1
Substrato DAB	Il substrato DAB contiene ≤0,1% (v/v) di perossido di idrogeno in una soluzione tampone stabilizzante proprietaria.	15 mL/bottiglia * 1
Cromogeno DAB	Il cromogeno DAB contiene ≤0,2% (p/v) di 3,3'-diaminobenzidina tetracloruro (DAB) in una soluzione stabilizzante proprietaria.	15 mL/bottiglia * 1

Ematossilina	L'ematossilina contiene ≤0,1% (p/v) di ematossilina in una soluzione stabilizzante di glicole e acido acetico.	15 mL/bottiglia * 1
Istruzioni per l'uso	Istruzioni per l'uso	1

Materiali richiesti ma non forniti

1. Reagente PA per il rilascio dei campioni
2. Soluzione PA di recupero (pH 9,0)
3. Soluzione PA di recupero (pH 6,0)
4. Reagente PA-Bluing
5. Potenziatore PA (collegante)
6. Tampone di lavaggio PA
7. Vetrini per microscopia
8. Tessuti positivi e negativi da utilizzare come controlli del processo
9. Acqua distillata o deionizzata
10. Etanolo assoluto
11. Xilene o sostituti dello xilene
12. Mezzo di montaggio permanente
13. Copri vetrini
14. Attrezzatura di laboratorio di uso generico
15. Microscopio a campo chiaro (ingrandimento obiettivo 4-40x)
16. Fiala di reagenti da 7 ml (etichettata con RFID)

Apparecchiature necessarie

Sistema di colorazione per patologia completamente automatizzato (modello n.: PA-3600).

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

1. Conservare a 2~8°C, validità 18 mesi
2. Tenere lontano dalla luce solare dall'umidità e dal calore.
3. È vietato il congelamento e lo scongelamento.
4. Utilizzare entro 3 mesi dall'apertura.
5. Serrare il tappo e riportare a 2~8 °C subito dopo l'uso.
6. Non utilizzare dopo la data di scadenza riportata sull'etichetta del flacone.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni possono essere sezioni tissutali fissate in formalina e incluse in paraffina. Il tempo di fissazione dipende dal fissativo e dal tipo/spessore di tessuto. Ad esempio, i blocchi tissutali con uno spessore di 3~5 mm devono essere fissati in formalina tamponata neutra per 18~24 ore. Lo spessore ottimale delle sezioni incluse in paraffina è di circa 3~5 µm. Dopo il sezionamento, i tessuti devono essere montati su vetrini da microscopio e quindi posti in un forno calibrato a 65 ± 2 °C per 1 ora.

Le sezioni devono essere montate sui vetrini il più possibile piatte e prive di pieghe. Le pieghe influiscono negativamente sui risultati della colorazione.

NOTA: La posizione dei campioni sui vetrini da microscopio deve essere adatta allo strumento PA3600. Fare riferimento al manuale utente per la definizione dell'area di colorazione utilizzabile del vetrino del microscopio relativo al campione.

PROCEDURA DI TEST

Utilizzato in combinazione con il Sistema completamente automatico di colorazione patologica (modello n. PA-3600), il processo di deparaffinazione fino alla fase di controcolorazione vengono completati dallo strumento.

1. Porre i vetrini preparati in una stufa asciugavetrini tarata a 65 ± 2 °C per 1 ora.
2. Seguire le istruzioni operative del software dello strumento.
3. Impostazione del protocollo tramite il software dello strumento e stampa delle etichette.
4. Caricare i vetrini etichettati nello strumento.
5. Inserire i reagenti nel porta-reagenti e verificare che il tipo di reagente sia corretto e che la quantità di reagenti sia sufficiente per completare l'esperimento.
6. Avviare l'operazione di colorazione automatica.
7. Al termine della colorazione, rimuovere le sezioni e risciacquare con acqua distillata.
8. Quindi disidratare e rendere trasparenti i vetrini, infine montare i vetrini con un mezzo di montaggio permanente e coprirli con un copri vetrino.

Per informazioni complete e per la procedura operativa, consultare il manuale operativo del PA-3600.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La soluzione di lavoro del substrato contenente diaminobenzidina produce una colorazione marrone nel sito dell'antigene bersaglio riconosciuto dall'anticorpo primario. La colorazione marrone deve essere presente sul campione di controllo positivo in corrispondenza della localizzazione prevista dell'antigene bersaglio. Se è presente una colorazione aspecifica, questa sarà riconosciuta come una colorazione marrone piuttosto diffusa sui vetrini trattati con il reagente di controllo negativo. I nuclei saranno colorati di blu dalla controcolorazione con ematossilina.

CONTROLLO QUALITÀ

Fare riferimento a "Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline – Second Edition (I/LA28-A2), CLSI". 2011.

Per ogni procedura di colorazione devono essere eseguiti tessuti di controllo positivi e negativi (forniti dal laboratorio). Questi controlli di qualità hanno lo scopo di garantire la validità della procedura di colorazione, compresi i reagenti, il trattamento dei tessuti e le prestazioni dello strumento. Si raccomanda di colorare i tessuti di controllo sullo stesso vetrino del tessuto del paziente.

Controllo positivo

Il controllo positivo deve essere un tessuto con espressione positiva del biomarcatore. I materiali di controllo positivi esterni devono essere campioni freschi fissati, processati e inclusi il prima possibile nello stesso modo dei campioni del paziente. Per ogni serie di condizioni di test è necessario includere un controllo tissutale esterno positivo in ogni ciclo di colorazione.

Se i controlli positivi del tessuto non dimostrano una colorazione positiva, i risultati con i campioni in esame devono essere considerati non validi.

Controllo negativo

Il controllo negativo deve essere un tessuto o un elemento di tessuto senza espressione del biomarcatore. Utilizzare un controllo tissutale negativo fissato, processato e incluso in modo identico al campione o ai campioni del paziente con ciascuna colorazione per verificare la specificità dell'anticorpo primario IHC per determinare l'antigene bersaglio e per fornire un'indicazione della colorazione di fondo specifica (colorazione falsa positiva).

Se nel controllo negativo del tessuto si verifica una colorazione specifica (falso positivo), i risultati ottenuti con i campioni del paziente devono essere considerati non validi.

Controllo negativo aspecifico del reagente

Utilizzare un controllo negativo non specifico al posto dell'anticorpo primario con una sezione di ciascun campione paziente per valutare la colorazione non specifica e consentire una migliore interpretazione della colorazione specifica nel sito dell'antigene.

Il periodo di incubazione del controllo negativo deve corrispondere a quello dell'anticorpo primario.

LIMITI DELLA PROCEDURA

1. L'immunoistochimica è un processo a più fasi, ognuna delle quali può influenzare il risultato, tra cui, ma non solo, la fissazione, il metodo di recupero dell'antigene, il tempo di incubazione, lo spessore della sezione di tessuto, il kit di rilevazione utilizzato e l'interpretazione dei risultati della colorazione.
2. I protocolli raccomandati si basano sull'uso esclusivo dei prodotti Wondfo.
3. L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione positiva o negativa deve essere valutata, nel contesto della presentazione clinica, della morfologia e di altri criteri istopatologici, da un patologo qualificato.
4. L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione positiva o negativa deve essere integrata da studi morfologici che utilizzino adeguati controlli interni ed esterni positivi e negativi e da altri test diagnostici.
- 5.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Conformità positiva

È stato prelevato il controllo positivo e il test immunoistochimico è stato eseguito secondo le istruzioni del produttore. I risultati soddisfano i requisiti di positività della colorazione del tessuto/cellula, di accuratezza del posizionamento della colorazione positiva e di assenza di colorazione di fondo o di colorazione non specifica.

Conformità negativa

Eseguire un controllo negativo secondo le istruzioni del produttore per i test immunoistochimici, i risultati sono conformi ai requisiti di colorazione negativa di tessuti/cellule, assenza di colorazione di fondo o di colorazione non specifica.

Conformità del controllo vuoto

Eseguire un controllo vuoto secondo le istruzioni del produttore per i test immunoistochimici; come controllo vuoto è stato utilizzato il diluente anticorpale al posto del liquido di lavoro dell'anticorpo primario. I test immunoistochimici sono stati condotti secondo le istruzioni del produttore. I risultati hanno soddisfatto i requisiti di negatività, assenza di sfondo e colorazione non specifica dei tessuti/cellule infetti.

Precisione intra-lotto

Sono state prelevate tre fette di tessuto dalla stessa fonte di tessuto contenente l'antigene bersaglio e lo stesso lotto di prodotti è stato utilizzato per la rilevazione immunoistochimica. I risultati hanno soddisfatto i requisiti di assenza di differenze evidenti nell'intensità di colorazione e nella localizzazione delle fette di tessuto provenienti dalla stessa fonte.

Precisione inter-lotto

Sono state prelevate tre fette di tessuto dalla stessa fonte di tessuto contenente l'antigene bersaglio e sono stati utilizzati contemporaneamente 3 diversi lotti di prodotti per la rilevazione immunoistochimica. I risultati hanno soddisfatto i requisiti di assenza di differenze evidenti nell'intensità e nella localizzazione della colorazione di fette di tessuto provenienti dalla stessa fonte di tessuto con lotti diversi di reagenti.

BIBLIOGRAFIA

- [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.

INDICE DEI SIMBOLI

	Consultare le istruzioni per l'uso		Produttore		Data di produzione
IVD	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>		Data di scadenza	REF	Numero di catalogo
	Limite di temperatura	LOT	Codice lotto		Contiene un numero sufficiente di <n> test
	Tenere lontano dalla luce del sole	Vol.	Abbreviazione di volume	CE	Marchio CE
	Rischi biologici		Contiene materiale biologico di origine animale	EC REP	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea/Unione Europea
	Importatore	UDI	Identificatore univoco del dispositivo		



Guangzhou Wondfo Biotech Co., Ltd.
No.8 Lizhishan Road, Science City, Huangpu
District, 510663, Guangzhou, P.R.China
Tel: (+86) 400-830-8768
Indirizzo e-mail: sales@wondfo.com.cn
Sito internet: en.wondfo.com



QbD RepS BV
Groenenborgerlaan 16, 2610 Wilrijk, Belgio

