

REF WF15P0001

USO PRETENDIDO

O Reagente Imunocromogénico PA é um sistema conjugado de anticorpo ligante polimérico de peroxidase de rábano (HRP) sem biotina. O Reagente Imunocromogénico PA está pronto para uso. O Kit destina-se à detecção de anticorpos primários de rato e coelho. Destina-se à coloração de secções de tecido fixado em formalina e embebido em parafina no Sistema de Coloração Patológica Totalmente Automatizado (Modelo Nº: PA-3600).

Apenas para uso em diagnóstico *in vitro*. Apenas para uso profissional.

RESUMO

As técnicas de imuno-histoquímica podem ser utilizadas para demonstrar a presença de抗ígenos em tecidos e células. Antes da coloração, as secções de tecido fixado em formalina e embebido em parafina devem ser submetidas à desparafinação, seguida de recuperação de epítotos induzida por calor (HIER), utilizando o método de recuperação alvo especificado no Manual de Instruções do anticorpo primário. A peroxidase endógena deve ser bloqueada com o Tampão Bloqueador incluído no kit de Reagente de Liberação de Amostras PA. Os anticorpos primários não estão incluídos no kit. Recomendamos o uso de anticorpos primários prontos para uso da Wondfo. O reagente do Intensificador Polimérico localiza anticorpos de rato. O reagente de Polímero HRP localiza anticorpos de coelho.

O Intensificador (Ligante) (WDA8P0001) pode ser aplicado para amplificação opcional do sinal de anticorpos primários de coelho. O sistema de substrato do kit consiste em dois componentes: substrato DAB e cromógeno DAB. O sistema de substrato produz um produto final marrom nítido no local do抗ígeno-alvo. A contracoloração com hematoxilina fornece uma coloração nuclear azul clara. O uso do Reagente Imunocromogénico PA em

combinação com o Sistema de Coloração Patológica Totalmente Automatizado reduz a possibilidade de erro humano e a variabilidade inerente resultante da diluição individual de reagentes, pipetagem manual e aplicação de reagentes.

PRINCÍPIO DO TESTE

O Kit de Reagente Imunocromogénico PA detecta anticorpos primários específicos de rato e coelho ligados a um抗ígeno em secções de tecido fixado em formalina e embebido em parafina (FFPE). O anticorpo primário é localizado por um anticorpo secundário específico marcado com enzima. O complexo é então visualizado com substrato de peróxido de hidrogénio e cromogénio 3,3'-diaminobenzidina tetra-hidroclorídrica (DAB), que produz um precipitado marrom facilmente observado por microscopia de luz.

PRECAUÇÕES

- Este kit destina-se apenas a uso em diagnóstico *in vitro*.
- Não reutilize. Produtos expirados não devem ser utilizados.
- O kit deve ser utilizado por profissionais.
- Quantidade insuficiente de reagentes no ensaio pode levar a resultados incorrectos.
- A solução ProClin 300 é utilizada como conservante nesta solução. Evite o contacto dos reagentes com os olhos, a pele e as membranas mucosas. Utilize roupa de protecção e luvas.
- Evite o contacto dos reagentes com os olhos, a pele e as membranas mucosas. Utilize luvas descartáveis e roupas de protecção adequadas ao manusear materiais suspeitos de serem carcinogénicos ou tóxicos.
- Se os reagentes entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave com bastante água. Evite a inalação dos reagentes.
- Certifique-se de que o recipiente de resíduos esteja vazio antes de iniciar o funcionamento no instrumento. Se esta precaução não for tomada, o recipiente de resíduos pode transbordar e o utilizador corre risco de escorregar e cair.
- O Reagente Imunocromogénico PA contém material de origem animal. Como qualquer produto derivado de fontes biológicas,

devem ser seguidos procedimentos adequados de manuseio conforme os requisitos locais.

10. Use Equipamento de Protecção Individual apropriado para evitar contacto com olhos e pele.

11. As soluções não utilizadas devem ser descartadas em conformidade com todas as regulamentações locais, regionais, nacionais e internacionais.

12. Qualquer incidente grave ocorrido em relação ao dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador e/ou paciente se encontra estabelecido.

MATERIAIS**Materiais Fornecidos****Para WF15P0001 (100 Testes)**

Conteúdo	Principais componentes	Quantidades
Intensificador de Polímero	O Intensificador de Polímero contém IgG anti-rato de coelho (aproximadamente 40 µg / mL) em um tampão contendo proteína com 0,05 % de ProClin 300.	15 mL/frasco * 1
Polímero HRP	O Polímero HRP contém Anti-coelho Poly-HRP-IgG (aproximadamente 30 µg / mL) em um tampão contendo proteína com 0,05 % de ProClin 300.	15 mL/frasco * 1
Substrato DAB	O substrato DAB contém ≤ 0,1 % (v/v) de peróxido de hidrogénio em uma solução tampão estabilizadora proprietária.	15 mL/frasco * 1
Cromógeno DAB	O cromógeno DAB contém ≤ 0,2 % (w/v) de 3,3'-diaminobenzidina tetra-hidroclorídrica (DAB) em uma solução estabilizadora proprietária.	15 mL/frasco * 1
Hematoxilina	A hematoxilina contém ≤ 0,1 % (w/v) de hematoxilina em uma solução estabilizadora de glicerol e ácido acético.	15 mL/frasco * 1
Manual de Instruções	Manual de Instruções	1

Materiais Necessários Mas Não Fornecidos

1. Reagente de Liberação de Amostras PA
2. Solução de Recuperação PA (pH 9.0)
3. Solução de Recuperação PA (pH 6.0)
4. Reagente de Azulamento PA
5. Intensificador PA (Ligante)
6. Tampão de Lavagem PA
7. Lâminas de microscópio
8. Tecidos positivos e negativos para uso como controlos de processo
9. Água destilada ou desionizada
10. Etanol absoluto
11. Xileno ou substitutos de xileno
12. Meio de montagem permanente
13. Lamínula de cobertura
14. Equipamento laboratorial de uso geral
15. Microscópio de campo claro (magnificação objetiva de 4-40x)
16. Frasco de reagente de 7 mL (etiquetado com RFID)

Equipamento Necessário

Sistema de Coloração Patológica Totalmente Automatizado (Modelo Nº: PA-3600).

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

1. Armazenamento a 2 ~ 8°C, validade de 18 meses.
2. Mantenha afastado da luz solar, humidade e calor.
3. Congelamento e descongelamento proibidos.
4. Utilize no máximo 3 meses após abertura.
5. Aperte a tampa e retorne imediatamente à temperatura de 2~8°C após o uso.
6. Não utilize após a data de validade impressa na etiqueta do frasco.

COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras podem ser secções de tecido fixado em formalina e embebido em parafina. O tempo de fixação depende do fixador e do tipo/espessura do tecido. Por exemplo, blocos de tecido com espessura de 3 ~ 5 mm devem ser fixados em formalina tamponada

neutra por 18 ~ 24 horas. A espessura ideal das secções embebidas em parafina é aproximadamente 3~5 µm. Após o corte das secções, os tecidos devem ser montados em Lâminas de Microscópio e, em seguida, colocados num forno calibrado a $65 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 1 hora. As secções devem ser montadas nas lâminas de forma plana e sem rugas. Rugas terão impacto negativo nos resultados da coloração. NOTA: A posição das amostras nas lâminas de microscópio deve ser adequada para o instrumento PA-3600. Consulte o Guia do Utilizador para a definição da área utilizável para coloração da lâmina de microscópio para a amostra.

PROCEDIMENTO DE TESTE

Utilizado em combinação com o Sistema de Coloração Patológica Totalmente Automatizado (Modelo Nº: PA-3600), o processo desde a desparafinização até a contracoloração é concluído pelo instrumento.

1. Coloque as lâminas preparadas num forno calibrado a $65 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 1 hora.
2. Siga as instruções operacionais do software do instrumento.
3. Configure o protocolo utilizando o software do instrumento e imprima as etiquetas.
4. Carregue as lâminas etiquetadas no instrumento.
5. Coloque os reagentes no suporte de reagentes e confirme que o tipo de reagente está correcto e que a quantidade de reagentes é suficiente para concluir o ensaio.
6. Inicie a operação de coloração automática.
7. Após a coloração ser concluída, remova as secções e enxágue com água destilada.
8. Em seguida, desidrate e torne as lâminas transparentes, e finalmente instale as lâminas com meio de montagem permanente e cubra-as com lamínula.

Para informações completas e procedimento de operação, consulte o Manual de Operação PA-3600.

INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

A Solução de Trabalho do Substrato contendo diaminobenzidina fornece uma cor castanha no local do antígeno-alvo reconhecido

pelo anticorpo primário. A cor castanha deve estar presente na amostra de controlo positivo na localização esperada do antígeno-alvo. Se houver coloração não específica, isso será reconhecida como uma coloração castanha difusa nas lâminas tratadas com o reagente de controlo negativo. Os núcleos serão corados de azul pela contracoloração com hematoxilina.

CONTROLO DE QUALIDADE

Consulte o documento Garantia da Qualidade para o Controlo de Projecto e Implementação de Ensaios de Imuno-histoquímica; Directriz Aprovada – Segunda Edição (I/LA28-A2) CLSI. 2011.

Tecidos de controlo positivo e negativo (fornecidos pelo laboratório) devem ser processados em cada procedimento de coloração. Estes controlos de qualidade destinam-se a garantir a validade do procedimento de coloração, incluindo reagentes, processamento de tecidos e desempenho do instrumento. Recomenda-se que os tecidos de controlo sejam corados na mesma lâmina que o tecido do paciente.

Controlo Positivo

O controlo positivo deve ser um tecido com expressão positiva do biomarcador. Os materiais de controlo positivo externo devem ser amostras frescas, fixadas, processadas e embebidas o mais rapidamente possível, de forma idêntica às amostras do(s) paciente(s). Um controlo positivo externo de tecido para cada conjunto de condições de teste deve ser incluído em cada processo de coloração.

Se os controlos positivos de tecido não demonstrarem coloração positiva, os resultados das amostras de teste devem ser considerados inválidos.

Controlo Negativo

O controlo negativo deve ser um tecido ou elemento de tecido sem expressão do biomarcador. Utilize um controlo negativo de tecido fixado, processado e embebido de forma idêntica às amostras do(s) paciente(s) em cada processo de coloração, para verificar a especificidade do anticorpo primário IHC na demonstração do antígeno-alvo e para fornecer uma indicação de coloração de fundo específica (coloração falso-positiva).

Se ocorrer coloração específica (coloração falso-positiva) no

controlo negativo de tecido, os resultados das amostras do paciente devem ser considerados inválidos.

Controlo Negativo de Reagente Não Específico

Utilize um controlo negativo de reagente inespecífico em substituição do anticorpo primário, numa secção de cada amostra do paciente, para avaliar a coloração inespecífica e permitir uma melhor interpretação da coloração específica no local do抗ígeno. O período de incubação para o controlo negativo de reagente deve corresponder ao do anticorpo primário.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. A imuno-histoquímica é um processo em múltiplas etapas, em que cada uma pode influenciar o resultado, incluindo, mas não se limitando a fixação, método de recuperação de抗ígeno, tempo de incubação, espessura da secção de tecido, kit de detecção utilizado e interpretação dos resultados de coloração.
2. Os protocolos recomendados baseiam-se no uso exclusivo de produtos da Wondfo.
3. A interpretação clínica de qualquer coloração positiva ou negativa deve ser avaliada no contexto da apresentação clínica, morfologia e outros critérios histopatológicos por um patologista qualificado.
4. A interpretação clínica de qualquer coloração positiva ou negativa deve ser complementada por estudos morfológicos utilizando controlos internos e externos adequados (positivos e negativos), assim como outros testes de diagnóstico.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Conformidade Positiva

O controlo positivo foi realizado e o teste imuno-histoquímico foi efetuado de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados cumpriram os requisitos de que o resultado de coloração do tecido/célula positivo deveria ser positivo, a localização da coloração positiva deveria ser precisa e não deveria haver coloração de fundo ou coloração não específica.

Conformidade Negativa

Foi utilizado um controlo negativo de acordo com as instruções do fabricante para testes imuno-histoquímicos. Os resultados

cumpriram os requisitos de coloração do tecido/célula negativo, sem coloração de fundo ou coloração não específica.

Conformidade do Controlo em Branco

Foi utilizado um controlo em branco de acordo com as instruções do fabricante para testes imuno-histoquímicos, utilizando diluente de anticorpo em vez do líquido de trabalho do anticorpo primário como controlo em branco. Os testes imuno-histoquímicos foram conduzidos conforme as instruções do fabricante. Os resultados cumpriram os requisitos de coloração negativa, sem coloração de fundo ou coloração não específica nos tecidos/células testados.

Precisão intra-lote

Foram retiradas três secções de tecido da mesma fonte de tecido contendo o抗ígeno-alvo e foi utilizado o mesmo lote de produtos para a detecção imuno-histoquímica. Os resultados atenderam aos requisitos de não haver diferença óbvia na intensidade de coloração e na localização das lâminas de tecido da mesma fonte de tecido.

Precisão entre lotes

Foram retiradas três secções de tecido da mesma fonte de tecido contendo o抗ígeno-alvo e foram utilizados três lotes diferentes de produtos para detecção imuno-histoquímica ao mesmo tempo. Os resultados atenderam aos requisitos de não haver diferença óbvia na intensidade e localização da coloração das lâminas de tecido da mesma fonte de tecido com diferentes lotes de reagentes.

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.
- [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.

ÍNDICE DE SÍMBOLOS

	Consulte o manual de instruções		Fabricante		Data de fabricação
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Data de validade		Número do catálogo
	Limite de temperatura		Código do lote		Contém suficiente para <n> testes
	Mantenha afastado da luz solar		Abreviatura de volume		Marca CE
	Riscos biológicos		Contém material biológico de origem animal		Representante autorizado na Comunidade Europeia/União Europeia
	Importador		Identificador único do dispositivo		



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



QbD RepS BV
Groenengorgerlaan 16, 2610
Wilrijk, Belgium

IFU-WF15(1)-01-01
Versão: 00
5/10/2024