

REF WF16P0001

### USO PREVISTO

Il Reagente PA per il rilascio dei campioni è una soluzione di deparaffinazione pronta all'uso per la rimozione della paraffina dai campioni tissutali fissati in formalina e inclusi in paraffina, durante le reazioni di immunoistochimica (IHC) e di ibridazione in situ (ISH).

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

### SINTESI

L'uso di una soluzione di deparaffinazione consente di rimuovere la cera di paraffina dalle sezioni tissutali e di eseguire l'immunocolorazione con il sistema automatico PA-3600.

### PRINCIPIO

La rimozione del mezzo di inclusione in paraffina dalle sezioni tissutali sullo strumento PA-3600 si ottiene combinando calore e una soluzione detergente delicata. Il riscaldamento scioglie la paraffina nelle sezioni tissutali. Il detergente riduce la tensione superficiale della soluzione acquosa, favorendo il rilascio della paraffina fusa dalle superfici del tessuto e del vetro, che può così galleggiare sulla superficie della vasca acquosa.

### PRECAUZIONE

1. Questo kit è solo per uso diagnostico *in vitro*.
2. Non riutilizzare, i prodotti scaduti non possono essere utilizzati.
3. Il kit deve essere utilizzato da professionisti.
4. Una quantità insufficiente di reagenti nell'esperimento può portare a risultati errati.
5. Evitare il contatto dei reagenti con occhi, pelle e mucose. Utilizzare indumenti e guanti protettivi.
6. Se i reagenti vengono a contatto con aree sensibili, lavare abbondantemente con acqua. Evitare di inalare i reagenti.

7. 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.
8. La soluzione non utilizzata deve essere smaltita in conformità a tutte le normative locali, regionali, nazionali e internazionali.
9. 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 WF16P0001 (100 Test)

Contenuti	Componenti principali	Quantità
Dewax Solution 1 (Soluzione di deparaffinazione e 1)	La Soluzione di deparaffinazione 1 contiene un solvente miscelato con una soluzione a base di detergente.	15 mL/bottiglia * 2
Soluzione di deparaffinazione e 2)	La Soluzione di deparaffinazione 2 contiene un solvente miscelato con una soluzione a base di detergente.	15 mL/bottiglia * 2
Block Buffer (Tampone di blocco)	Il tampone di blocco contiene una soluzione di perossido di idrogeno al 3-6% (v/v).	15 mL/bottiglia * 2
Istruzioni per l'uso	Istruzioni per l'uso	1

#### Materiali richiesti ma non forniti

1. Soluzione PA di recupero (pH 9,0)
2. Soluzione PA di recupero (pH 6,0)
3. Reagente PA immunocromogenico
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  $65 \pm 2$  °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 DEL RISULTATO

Il Reagente PA per il rilascio dei campioni è utilizzato per rimuovere la paraffina dai tessuti FFPE durante le operazioni di IHC e ISH. Come reagente a sé stante, questo prodotto non può essere testato per la specificità o la sensibilità.

Diversi anticorpi primari e sonde Wondfo sono stati sviluppati con il Reagente PA per il rilascio dei campioni in applicazioni IHC e ISH. Nell'ambito dei test per queste analisi, sono state dimostrate le seguenti caratteristiche di prestazione del Reagente PA per il rilascio dei campioni:

1. Precisione all'interno della corsa, durante il giorno e la notte e tra diversi strumenti su apparecchi PA-3600.
2. Sensibilità e specificità della colorazione in una gamma di tipi di tessuti normali e neoplastici e di tessuti target specifici per il test.

Tutti gli studi hanno soddisfatto i criteri di accettazione.

## CONTROLLO QUALITÀ

Il controllo positivo deve essere impostato per ogni lotto di esperimenti per monitorare il processo operativo e la qualità dei reagenti; per il controllo positivo 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 specifico 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.

## 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.

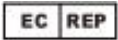
[5] Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.

INDICE DEI SIMBOLI

	Consultare le istruzioni per l'uso		Produttore		Data di produzione
	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>		Data di scadenza		Numero di catalogo
	Limite di temperatura		Codice lotto		Contiene un numero sufficiente di <n> test
	Tenere lontano dalla luce del sole		Abbreviazione di volume		Marchio CE
	Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea/Unione Europea		Importatore		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](mailto:sales@wondfo.com.cn)  
Sito internet: [en.wondfo.com](http://en.wondfo.com)



QbD RepS BV  
Groenenborgerlaan 16,2610 Wilrijk,Belgio