

REF WF18P0001

## USAGE PRÉVU

La Solution de récupération PA (pH 9.0) est un tampon de démasquage prêt à l'emploi, destiné au démasquage thermique des antigènes (HIER) des coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine avant la réalisation de la coloration immunohistochimique sur le Système automatisé de coloration IHC (Numéro de modèle : PA-3600).

Usage diagnostique in vitro uniquement. Usage réservé aux professionnels.

## RÉSUMÉ

L'utilisation du prétraitement HIER (démasquage thermique des antigènes) sur les tissus fixés au formol et inclus en paraffine avec le système automatisé PA-3600 permet de démasquer les épitopes rendus inaccessibles par la fixation au formol, facilitant ainsi la liaison du premier anticorps à sa cible.

## PRINCIPE

La fixation des tissus au formol provoque la réaction des groupes aldéhyde avec les groupes amines des protéines entraînant la formation de liaisons de réticulation. Cette réticulation peut masquer les épitopes et réduire leur accessibilité. Le formaldéhyde peut également générer des ponts méthylène reliant les protéines tissulaires, ce qui limite la diffusion des macromolécules, notamment des anticorps, au sein du tissu.

La Solution de récupération PA (pH 9.0) est un tampon Tris à pH alcalin qui, sous l'effet de températures élevées, permet de rompre partiellement les réticulations induites par la fixation au formol.

Cette action contribue au démasquage des épitopes et améliore l'accessibilité des anticorps ou des sondes. Ces modifications se traduisent généralement par une augmentation de l'intensité de marquage et par une amélioration du rapport signal/bruit.

## PRÉCAUTIONS

1. Ce kit est destiné uniquement à un usage diagnostique *in vitro*.
2. Ne pas réutiliser. Les réactifs périmés ne doivent pas être utilisés.
3. Le kit doit être utilisé par du personnel professionnellement qualifié.
4. Une quantité insuffisante de réactifs ou un volume incorrect peut entraîner des résultats non valides.
5. Éviter tout contact des réactifs avec les yeux, la peau et les muqueuses. Utiliser des vêtements de protection et des gants.
6. Si les réactifs entrent en contact avec des zones sensibles, laver avec une grande quantité d'eau. Éviter d'inhaler les réactifs.
7. Vérifier que le conteneur à déchets de l'appareil est vide avant de lancer un cycle; un débordement pourrait entraîner des risques de glissade.
8. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément à toutes les réglementations locales, régionales, nationales et internationales.
9. Tout incident lié à ce dispositif doit être signalé au fabricant ainsi qu'à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

## MATÉRIELS

### Matériels fournis

### Pour WF18P0001 (100 Tests)

Contenu	Principaux composants	Quantité
Solution de récupération pH 9.0	La Solution de récupération pH 9.0 contient un tampon à base de Tris-EDTA.	15 mL/bouteille * 3

Notice d'utilisation	Notice d'utilisation	1
----------------------	----------------------	---

### Matériels requis mais non fournis

1. Réactif PA de préparation/démasquage de l'échantillon
2. Réactif chromogène PA (substrat chromogène)
3. Réactif bleuissant PA
4. Réactif d'amplification PA (Linker)
5. Tampon de lavage PA
6. Lames de microscope
7. Tissus témoins positifs et négatifs à utiliser comme contrôles de processus
8. Eau distillée ou déionisée
9. Éthanol absolu
10. Xylène ou substituts de xylène
11. Milieu de montage permanent
12. Lamelle couvre-objet
13. Équipement général de laboratoire
14. Microscope en champ clair 'objectif 4× à 40×)
15. Flacon réactif 7 ml (étiqueté avec RFID)

### Équipement requis

Système automatisé de coloration histologique (Numéro de modèle : PA-3600).

## STOCKAGE ET STABILITÉ

1. Conserver entre 2 et 8 °C. Durée de conservation : 18 mois
2. Conserver à l'abri de la lumière, 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 flacon et le remettre immédiatement entre 2 et 8 °C après utilisation.
6. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon.

## PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons peuvent être des coupes de tissus fixés au formol

et inclus en paraffine. La durée de fixation dépend du type de fixateur ainsi que du type et de l'épaisseur du tissu. Par exemple, des blocs tissulaires d'environ 3 à 5 mm d'épaisseur doivent être fixés dans du formol tamponné neutre pendant 18 à 24 heures. L'épaisseur recommandée des coupes paraffinées est de 3 à 5 µm. Après microtoming, les sections doivent être montées sur des lames de microscope puis séchées dans une étuve réglée à 65 ± 2 °C pendant 1 heure.

Les coupes doivent être montées sur les lames aussi planes et exemptes de plis que possible, car les plis peuvent altérer la qualité de la coloration.

NOTE : La position des sections sur les lames de microscope doit être compatible avec les exigences de l'appareil PA-3600. Veuillez consulter le Guide d'utilisation pour la définition de la zone de dépôt de l'échantillon adaptée à la coloration sur cet appareil.

## PROCÉDURE DE TEST

Utilisé en combinaison avec le Système de coloration histologique entièrement automatisé (Numéro de modèle : PA-3600), le processus du déparaffinage à la contre-coloration est complété par l'appareil.

1. Placer les lames préparées dans une étuve calibrée à 65 ± 2 °C pendant 1 heure.
2. Suivre les instructions opératoires 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 prévu à cet effet, et vérifier la conformité du type de réactif et la quantité de réactifs est suffisante pour l'ensemble du cycle de coloration.
6. Lancer l'opération pour effectuer la 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 opératoire, veuillez-vous référer au Manuel d'utilisation du PA-3600.

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats correspondent à la performance analytique évaluée uniquement lors des tests de sensibilité et de spécificité pour chaque antigène ou séquence d'acide nucléique cible.

Plusieurs anticorps primaires Wondfo ont été optimisés avec la Solution de récupération PA (pH 9.0) pour des applications IHC, ICC et ISH. Dans le cadre de la validation de ces essais, les performances suivantes ont été démontrées pour la Solution de récupération PA (pH 9.0) :

1. Précision intra-série, inter-série et inter-appareils sur les appareils PA-3600.
2. Sensibilité et spécificité de la coloration évaluées sur un panel de tissus normaux et néoplasiques et sur des tissus cibles spécifiques à chaque essai.

Toutes les études ont satisfait aux critères d'acceptation.

## CONTRÔLE DE QUALITÉ

Un contrôle positif doit être inclus pour chaque série d'expériences afin de surveiller le processus opératoire et la qualité des réactifs ; il peut être réalisé conformément au CLSI : Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunohistochemistry Assays, Approved Guideline – Second Edition (I/LA28-A2), 2011. Des tissus témoins 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, y compris 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 patient.

### Contrôle positif

Le contrôle positif doit être un tissu exprimant le biomarqueur cible. Les tissus témoins positifs externes doivent être des échantillons frais, fixés, traités et inclus selon le même protocole que l'échantillon patient, dès que possible après prélèvement.

Un contrôle positif externe doit être inclus pour chaque série de conditions expérimentales dans chaque série de coloration.

Si les contrôles positifs échouent à démontrer une coloration positive, les résultats des échantillons test doivent être considérés comme invalides.

### Contrôle négatif

Le contrôle négatif doit être un tissu dépourvu d'expression du biomarqueur cible.

Un contrôle négatif doit être inclus à chaque série de coloration et traité selon le même protocole que l'échantillon patient afin de : Vérifier la spécificité de l'anticorps primaire IHC pour la détection de l'antigène cible, Et évaluer le fond spécifique (coloration faussement positive). Si le contrôle négatif présente une coloration spécifique (faussement positive), les résultats des échantillons test doivent être considérés comme invalides (conformément à CLSI, 2011).

### Contrôle négatif non spécifique du réactif

Un contrôle de réactif négatif non spécifique doit être utilisé sur une coupe de chaque échantillon patient afin d'évaluer la coloration de fond non spécifique et permettre une meilleure interprétation de la coloration spécifique à l'antigène cible.

La durée d'incubation du contrôle négatif du réactif doit être identique à celle de l'anticorps primaire.

## LIMITATIONS DE LA PROCÉDURE

1. L'immunohistochimie est un processus multi-étape, chaque étape peut influencer le résultat. Ces étapes comprennent, sans s'y limiter, la fixation, le traitement pour la récupération antigénique, le temps d'incubation, l'épaisseur des coupes tissulaires, le kit de détection utilisé ainsi que l'interprétation des résultats de coloration.
2. Les protocoles recommandés sont basés sur l'utilisation exclusive des produits Wondfo.
3. L'interprétation clinique de tout marquage immunohistochimique positif ou négatif doit être réalisée par un pathologiste qualifié, en tenant compte du contexte clinique, de la morphologie tissulaire et d'autres critères histopathologiques.
4. L'interprétation clinique de toute coloration positive ou négative doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles internes et externes positifs et négatifs appropriés ainsi que d'autres tests diagnostiques.

## CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

### Conformité positive

Le contrôle positif a été inclus, et le test immunohistochimique a été réalisé conformément aux instructions du fabricant. Les résultats répondaient aux critères stipulant que le résultat de coloration des tissu/cellules positifs devait être observé, que la distribution du marquage positif devait être précise, et qu'aucun marquage de fond ou marquage non spécifique n'était présent.

### Conformité négative

Un contrôle négatif a été réalisé selon les instructions du fabricant pour les tests immunohistochimiques. Les résultats étaient conformes aux critères attendus, à savoir : absence de marquage dans les tissus ou cellules négatifs, absence de marquage de fond et absence de marquage non spécifique.

### Conformité du contrôle blanc

Un contrôle blanc a été réalisé selon les instructions du fabricant pour les tests immunohistochimiques, en utilisant le diluant d'anticorps à la place de la solution d'anticorps primaire. Les tests immunohistochimiques ont été effectués selon les recommandations du fabricant. Les résultats étaient conformes aux critères attendus, à savoir : absence de marquage, absence de marquage de fond et absence de marquage non spécifique dans les tissus ou cellules étudiés.

### Précision intra-lot

Trois coupes issues du même tissu et contenant l'antigène cible ont été utilisées, et un même lot de réactifs a servi à la détection immunohistochimique. Les résultats étaient conformes aux critères attendus, démontrant l'absence de variation significative de l'intensité et de la localisation du marquage entre les différentes coupes provenant du même tissu.

### Précision inter-lots

Trois coupes issues du même tissu et contenant l'antigène cible ont été utilisées, et trois lots différents de réactifs ont été employés

simultanément pour la détection immunohistochimique. Les résultats étaient conformes aux critères attendus, ne montrant aucune variation significative de l'intensité ou de la localisation du marquage entre les coupes provenant du même tissu, malgré l'utilisation de 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
	Représentant autorisé dans la Communauté européenne/Union européenne		Importateur		Identifiant unique de l'appareil



Guangzhou Wondfo Biotech Co., Ltd.  
No.8 Lizhishan 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