

REF WF19P0001

USAGE PRÉVU

La Solution de récupération PA (pH6.0) est une solution prête à l'emploi pour la récupération d'épitopes par chauffage (HIER) sur des coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine, avant la coloration immunohistochimique sur le Système automatisé de coloration en pathologie (modèle : PA-3600).

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

RÉSUMÉ

L'utilisation d'un prétraitement HIER sur les tissus fixés au formol et inclus en paraffine sur le système automatisé PA-3600, restaure les épitopes qui ont été modifiés par la fixation au formol, permettant l'accessibilité de l'anticorps primaire à l'épitope.

PRINCIPE

La fixation des tissus par le formol entraîne la formation de liaisons covalentes entre les groupes aldéhyde et amino présents dans le tissu. La formation de ces liaisons dénature les protéines et peut entraîner la perte d'accessibilité des épitopes ou des acides nucléiques cibles. De plus, le formaldéhyde peut former des ponts méthylène réticulant les protéines tissulaires, réduisant ainsi la pénétration de grosses molécules, telles que les anticorps.

La Solution de récupération PA (pH 6.0) est un tampon à base de Tris légèrement basique qui, à des températures élevées, est capable d'hydrolyser les liaisons covalentes formées par le formol dans les tissus. La suppression de ces liaisons permet la renaturation des molécules protéiques et augmente l'accessibilité des anticorps ou des sondes. Ces modifications entraînent souvent une augmentation significative de la fixation des anticorps ou sondes et une amélioration du rapport signal/bruit.

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. Éviter tout contact des réactifs avec les yeux, la peau et les muqueuses. Porter des gants et des vêtements de protection.
6. En cas de contact avec des zones sensibles, rincer abondamment à l'eau. Éviter l'inhalation des réactifs.
7. S'assurer que le conteneur à déchets est vide avant de démarrer une série sur l'appareil. À défaut, le conteneur pourrait déborder, exposant l'utilisateur à un risque de glissade et de chute.
8. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément à toutes les réglementations locales, régionales, nationales et internationales.
9. Tout incident grave survenu en relation avec le 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 WF19P0001 (100 Tests)

Contenu	Principaux composants	Quantité
Solution de récupération pH 6.0	La Solution de récupération pH6.0 contient un tampon à base de citrate.	15mL/bouteille * 3
Notice d'utilisation	Notice d'utilisation	1

Matériels requis mais non fournis

1. Réactif de libération d'échantillon PA

2. Réactif immunochromogène PA
3. Réactif bleuissant PA
4. Potentialisateur (Linker) PA
5. Tampon de lavage PA
6. Lames de microscope
7. Tissus 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 de laboratoire général
14. Microscope à fond clair (grossissement de l'objectif 4-40x)
15. Flacon réactif 7 ml (étiqueté avec RFID)

Équipement requis

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

STOCKAGE ET STABILITÉ

1. Conserver à 2 ~ 8 °C, valable 18 mois
2. Conserver 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 à 2 ~ 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 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 incluses 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.

NOTE : 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 de microscope pour l'échantillon.

PROCÉDURE DE TEST

Utilisé en combinaison avec le Système de coloration pathologique entièrement automatisé (modèle : PA-3600), le processus allant de la déparaffinisation 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 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 à réactifs et vérifier que le type et la quantité de réactifs sont corrects et suffisants pour réaliser l'expérience.
- 6.Démarrer l'opération pour 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 attendus sont quantitatifs uniquement lors du test de sensibilité et de spécificité de chaque antigène spécifique ou séquence d'acide nucléique cible. En tant que réactif autonome, ce produit ne peut pas être testé pour sa spécificité ou sa sensibilité.

De multiples anticorps primaires Wondfo ont été développés avec la Solution de récupération PA (pH 6.0) pour des applications IHC, ICC et ISH. Dans le cadre des tests de ces essais, les

caractéristiques de performance suivantes ont été démontrées pour la Solution de récupération PA (pH6.0)

- 1.Précision intra-série, inter-jours, inter-nuits et inter-appareils sur les instruments PA-3600.
- 2.Sensibilité et spécificité de la coloration sur une gamme de types tissulaires normaux et néoplasiques et de tissus cibles spécifiques à l'essai.

Toutes les études ont satisfait à leurs 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 ; un contrôle positif peut être référencé dans l'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 inclus 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 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 non spécifique du réactif

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 selon les 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.

 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
Site web : en.wondfo.com



QbD RepS BV
Groenenborgerlaan 16,2610 Wilrijk,Belgium

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