

REF WF19P0001

USO PREVISTO

La PA-Solución de recuperación (Retrieval Solution) (pH6,0) es una solución lista para usar que permite la recuperación de epítopos inducida por calor (HIER) de secciones de tejido fijadas en formalina e incluidas en parafina antes de la tinción inmunohistoquímica en el sistema totalmente automatizado de tinción patológica (n.º de modelo: PA-3600).

Para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional.

RESUMEN

El uso de un pretratamiento HIER en tejido fijado con formalina e incluido en parafina en el sistema automatizado PA-3600 restaura los epítopos que han sido modificados por la fijación con formalina, lo que permite el acceso del anticuerpo primario al epítopo.

PRINCIPIO

La fijación del tejido con formalina da lugar a la formación de enlaces covalentes entre los grupos aldehído y amino presentes en el tejido. La formación de estos enlaces desnaturaliza las proteínas y puede provocar la pérdida de accesibilidad de los epítopos o los ácidos nucleicos diana. Además, el formaldehído puede formar puentes de metileno que entrecruzan las proteínas del tejido, lo que reduce la penetración de moléculas grandes, como los anticuerpos, en el tejido.

La PA-Solución de recuperación (Retrieval Solution) (pH6,0) es un tampón a base de Tris con un pH ligeramente básico que, a temperaturas elevadas, es capaz de hidrolizar los enlaces covalentes formados por el formaldehído en el tejido. La

eliminación de estos enlaces permite la renaturalización de las moléculas de proteína y aumenta la accesibilidad de los anticuerpos o sondas. A menudo, estos cambios dan lugar a un aumento significativo de la unión de anticuerpos o sondas y a una mejora de la relación señal-ruido

PRECAUCIONES

- Este kit es únicamente para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*.
- No reutilizar, no utilizar productos caducados.
- El kit debe ser utilizado únicamente por profesionales.
- Una cantidad insuficiente de reactivos en el experimento puede dar lugar a resultados incorrectos.
- Evite el contacto de los reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa y guantes de protección.
- Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con abundante agua. Evite la inhalación de los reactivos.
- Asegúrese de que el contenedor de residuos esté vacío antes de iniciar un ciclo en el instrumento. Si no se toma esta precaución, el contenedor de residuos puede desbordarse y el usuario corre el riesgo de resbalar y caer.
- La solución no utilizada debe desecharse de acuerdo con todas las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.
- Cualquier incidente grave relacionado con el dispositivo debe ser reportado al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro donde esté establecido el usuario y/o el paciente.

MATERIALES**Materiales proporcionados****Para WF19P0001 (100 pruebas)**

Contenido	Componentes principales	Cantidades
Solución de recuperación pH6,0	La solución de recuperación pH6,0 contiene un tampón a base de citrato.	15 mL/botella * 3
Instrucciones de uso	Instrucciones de uso	1

Materiales necesarios pero no proporcionados

- PA-Reactivo de liberación de muestra
- PA-Reactivo inmunocromogénico
- PA-Reactivo azulante
- PA-Potenciador (Linker)
- PA-Tampón de lavado
- Portaobjetos
- Tejido positivo y negativo para utilizar como controles del proceso
- Agua destilada o desionizada
- Etanol absoluto
- Xileno o sustitutos del xileno
- Medio de montaje permanente
- Cubreobjetos
- Equipo de laboratorio de uso general
- Microscopio de campo claro (aumento objetivo de 4-40x)
- Vial de reactivo de 7 mL (etiquetado con RFID)

Equipo necesario

El sistema totalmente automatizado de tinción patológica (n.º de modelo: PA-3600).

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Almacenar de 2 - 8°C. Válido durante 18 meses.
- Mantener alejado de la luz solar, la humedad y el calor.
- Prohibido congelar y descongelar.
- Utilizar en los tres meses siguientes a su apertura.
- Cerrar bien el tapón y devolver inmediatamente a 2 - 8 °C después de su uso.
- No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del vial.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras pueden ser secciones de tejido fijadas con formalina e incluidas en parafina. El tiempo de fijación depende del fijador y del tipo y grosor del tejido. Por ejemplo, los bloques de tejido con un grosor de 3 a 5 mm deben fijarse en formalina tamponada neutra durante 18 a 24 horas. El grosor óptimo de las secciones incluidas en parafina es de aproximadamente 3 a 5 µm. Después del corte, los tejidos deben montarse en portaobjetos de

microscopio y colocarse en un horno calibrado a 65 ± 2 °C durante 1 hora.

Las secciones deben montarse en los portaobjetos lo más planas y sin arrugas posible. Las arrugas tendrán un impacto negativo en los resultados de la tinción.

NOTA: La posición de las muestras en los portaobjetos de microscopio debe ser adecuada para el instrumento PA3600. Consulte el Manual de usuario para conocer la definición del área útil de tinción del portaobjetos para la muestra.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

En combinación con el sistema de tinción patológica totalmente automatizado (n.º de modelo: PA-3600), el proceso de desparafinado y contratinción se completa con el instrumento.

1. Coloque los portaobjetos preparados en un horno calibrado a 65 ± 2 °C durante 1 hora.
2. Siga las instrucciones de funcionamiento del software del instrumento.
3. Configure el protocolo con el software del instrumento e imprima las etiquetas.
4. Cargue los portaobjetos etiquetados en el instrumento.
5. Coloque los reactivos en el rack de reactivos y confirme que el tipo de reactivo es correcto y que la cantidad de reactivos es suficiente para completar el experimento.
6. Inicie la operación de tinción automática.
7. Una vez completada la tinción, retire las secciones y enjuague con agua destilada.
8. A continuación, deshidrate y aclare los portaobjetos. Por último, móntelos con un medio de montaje permanente y cubra con un cubreobjetos.

Para obtener información completa y el procedimiento de funcionamiento, consulta el Manual de Usuario de PA-3600.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los resultados esperados son cuantitativos únicamente al comprobar la sensibilidad y la especificidad de cada antígeno específico o secuencia de ácido nucleico objetivo. Como reactivo independiente, no se puede comprobar la especificidad ni la sensibilidad de este producto.

Se han desarrollado múltiples anticuerpos primarios Wondfo con PA-Solución de recuperación (Retrieval Solution) (pH6,0) en aplicaciones de IHC, ICC e ISH. Como parte de las pruebas para esos ensayos, se demostraron las siguientes características de rendimiento para PA-Solución de recuperación (Retrieval Solution) (pH6,0):

1. Precisión dentro de la misma serie, entre el día y la noche, y entre instrumentos en los instrumentos PA-3600.
2. Sensibilidad y especificidad de la tinción en una amplia gama de tipos de tejidos normales y neoplásicos, así como en tejidos diana específicos del ensayo.

Todos los estudios han cumplido los criterios de aceptación.

CONTROL DE CALIDAD

Se debe establecer un control positivo para cada lote de experimentos con el fin de supervisar el proceso operativo y la calidad de los reactivos; un control positivo puede basarse en lo indicado en *Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline—Second Edition (I/LA28-A2), CLSI, 2011*.

Los tejidos de control positivo y negativo (suministrados por el laboratorio) deben incluirse en cada procedimiento de tinción. Estos controles de calidad tienen como finalidad garantizar la validez del procedimiento de tinción, incluidos los reactivos, el procesamiento de los tejidos y el rendimiento de los instrumentos. Se recomienda teñir los tejidos de control en el mismo portaobjetos que el tejido del paciente.

Control positivo

El control positivo debe ser un tejido que exprese el biomarcador. Los materiales de control positivo externos deben ser muestras frescas fijadas, procesadas e incluidas lo antes posible de la misma manera que las muestras del paciente. Se debe incluir un control de tejido externo positivo para cada conjunto de condiciones de prueba en cada ciclo de tinción.

Si los controles de tejido positivos no muestran una tinción positiva, los resultados con las muestras de prueba deben considerarse inválidos.

Control negativo

El control negativo debe ser un tejido o elemento tisular sin expresión de biomarcadores. Se debe utilizar un control de tejido negativo fijado, procesado e incluido de forma idéntica a las muestras del paciente en cada ciclo de tinción para verificar la especificidad del anticuerpo primario de IHC para la detección del antígeno diana y para proporcionar una indicación de la tinción de fondo específica (falso positivo).

Si se produce una tinción específica (falso positivo) en el control de tejido negativo, los resultados con las muestras del paciente deben considerarse inválidos.

Control negativo inespecífico de reactivo

Utilice un control de negativo no específico de reactivo en lugar del anticuerpo primario en una sección de cada muestra del paciente para evaluar la tinción inespecífica y permitir una mejor interpretación de la tinción específica en el sitio del antígeno.

El tiempo de incubación del control negativo inespecífico de reactivo debe corresponder al del anticuerpo primario.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. La inmunohistoquímica es un proceso de varios pasos, cada uno de los cuales puede influir en el resultado. Entre ellos se incluyen, entre otros, la fijación, el método de recuperación de antígenos, el tiempo de incubación, el grosor de la sección de tejido, el kit de detección utilizado y la interpretación de los resultados de la tinción.
2. Los protocolos recomendados se basan en el uso exclusivo de productos Wondfo.
3. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva o negativa debe ser evaluada en el contexto de la presentación clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos por un patólogo cualificado.
4. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva o negativa debe complementarse con estudios morfológicos que utilicen controles internos y externos positivos y negativos adecuados, así como otras pruebas diagnósticas.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Conformidad positiva

Se tomó el control positivo y se llevó a cabo la prueba inmunohistoquímica de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los resultados cumplieron los requisitos de que el resultado de la tinción positiva del tejido/célula fuera positivo, la localización de la tinción positiva fuera precisa y no se observó tinción de fondo ni tinción inespecífica.

Conformidad negativa

Se tomó un control negativo de acuerdo con las instrucciones del fabricante para las pruebas inmunohistoquímicas, y los resultados cumplieron los requisitos de que la tinción negativa de tejidos/células fuera negativa, sin tinción de fondo ni tinción no específica.

Conformidad del control en blanco (sin anticuerpo primario)

Se tomó un control en blanco de acuerdo con las instrucciones del fabricante para las pruebas inmunohistoquímicas. Para ello, se utilizó diluyente de anticuerpos en lugar del anticuerpo primario como control en blanco. Las pruebas inmunohistoquímicas se realizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los resultados cumplieron los requisitos de negativo, sin fondo y sin tinción inespecífica de los tejidos/células infectadas.

Precisión intralote

Se tomaron tres cortes de tejido del mismo origen que contenía el antígeno diana y se utilizó el mismo lote de productos para la detección inmunohistoquímica. Los resultados cumplieron los requisitos, no presentaron diferencias evidentes en la intensidad y localización de la tinción de los cortes de tejido procedentes de la misma fuente tisular.

Precisión entre lotes

Se tomaron tres cortes de tejido del mismo origen que contenía el antígeno diana y se utilizaron tres lotes diferentes de producto para la detección inmunohistoquímica al mismo tiempo. Los resultados cumplieron los requisitos, no presentaron diferencias evidentes en la intensidad y localización de la tinción de los cortes de tejido procedentes de la misma fuente tisular con diferentes lotes de reactivos.

BIBLIOGRAFÍA

- [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 DEL SÍMBOLO

	Consultar las instrucciones de uso		Fabricante		Fecha de fabricación
IVD	Dispositivo sanitario de diagnóstico in vitro		Fecha de caducidad		Número de catálogo
	Límite de temperatura	LOT	Código de lote		Contiene suficiente para <n> pruebas
	Mantener alejado de la luz solar	Vol.	Abreviatura de volumen		Marcado CE
	Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea		Importador		Identificador único del dispositivo



Guangzhou Wondfo Biotech Co., Ltd.
No.8 Lizhishan Road, Science City, Huangpu District, 510663,
Guangzhou, P.R.China
Teléfono: (+86) 400-830-8768
Correo electrónico: sales@wondfo.com.cn
Sitio web: en.wondfo.com



EC REP

QbD RepS BV
Groenenborgerlaan 16, 2610 Wilrijk, Belgium