

REF WF33P0001

**VERWENDUNGSZWECK**

Das PA-Blaufärbungsreagenz ist gebrauchsfertig. Das PA-Blaufärbungsreagenz ist für die Verwendung mit Hämatoxylin und zum Anpassen des Farbtons der Hämatoxylin-Gegenfärbungen auf Blau auf dem PA-3600-Instrument.

Nur zur diagnostischen *in vitro*-Verwendung. Nur zur professionellen Verwendung.

**ZUSAMMENFASSUNG**

Das PA-Blaufärbungsreagenz ist hochstabil und ist entwickelt für die Blaufärbung von hämatoxylingefärbten Zellkernen. Beim Auftragen auf Gewebschnitte ändert Hämatoxylin seinen Farbton von Violett nach Blau.

**PRINZIP**

Das PA-Blaufärbungsreagenz ist eine wässrige Lösung von gepuffertem Lithiumkarbonat. Das PA-Blaufärbungsreagenz funktioniert durch die kombinierte Wirkung von Lithiumionen und der Erhöhung des pH-Wertes des Waschpuffers, um den Farbton von Hämatoxylin nach Blau zu ändern.

**VORSICHTSMASSNAHMEN**

1. Dieses Kit ist nur zur diagnostischen *in vitro*-Diagnose vorgesehen.
2. Nicht wiederverwenden, abgelaufene Produkte dürfen nicht verwendet werden.
3. Das Kit darf nur von Fachleuten benutzt werden.
4. Die Verwendung einer unzureichenden Menge an Reagenzien

beim Experiment kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

5. Vermeiden Sie jedweden Kontakt der Reagenzien mit den Augen, der Haut und den Schleimhäuten. Tragen Sie Schutzkleidung und -handschuhe.
6. Wenn Reagenzien mit empfindlichen Bereichen in Kontakt kommen, waschen Sie diese mit ausreichend Wasser. Vermeiden Sie es, Reagenzien einzutauen.
7. Stellen Sie sicher, dass der Abfallbehälter leer ist, bevor Sie das Instrument in Betrieb nehmen. Wenn diese Vorkehrung nicht ergriffen wird, kann der Abfallbehälter überlaufen und für den Benutzer besteht die Gefahr des Ausrutschens und Stürzens.
8. Nicht verwendete Lösung muss gemäß allen lokalen, regionalen, nationalen und internationalen Vorschriften entsorgt werden.
9. Jeder ernsthafte Zwischenfall, der in Bezug auf das Gerät auftritt, sollte dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates, in dem der Benutzer und/oder Patient ansässig ist, gemeldet werden.

**MATERIALIEN****Bereitgestellte Materialien****Für WF33P0001 (100 Tests)**

Inhalt	Hauptkomponenten	Mengen
Blaufärbungspuffer	Der Blaufärbungspuffer enthält eine Lösung aus <1 % (w/v) Lithiumkarbonat.	15 ml/Flasche * 2
Gebrauchsanweisung	Gebrauchsanweisung	1

**Erforderliche, aber nicht bereitgestellte Materialien**

1. PA-Probenfreisetzungslösung
2. PA-Immunochromogenes Reagenz

3. PA-Retrieval-Lösung (pH 9,0)
4. PA-Retrieval-Lösung (pH 6,0)
5. PA-Verstärker (Linker)
6. PA-Waschpuffer
7. Objektträger
8. Positives und negatives Gewebe zur Verwendung bei Prozesskontrollen
9. Destilliertes oder deionisiertes Wasser
10. Reines Ethanol
11. Xylen oder Xylenersatzstoffe
12. Permanentes Trägermedium
13. Deckglas
14. Allzweck-Labourausrüstung
15. Hellfeldmikroskop (4 - 40-fache Objektivvergrößerung)
16. 7ml-Reagenzfläschchen (mit RFID gekennzeichnet)

**Erforderliche Ausrüstung**

Vollautomatisches Pathologie-Färbungssystem (Modellnr.: PA-3600).

**LAGERUNG UND STABILITÄT**

1. Bei 2 ~ 8 °C lagern, gültig für 18 Monate
2. Von Sonnenlicht, Feuchtigkeit und Hitze fernhalten.
3. Einfrieren und Auftauen verboten
4. Innerhalb von 3 Monaten nach dem Öffnen aufbrauchen.
5. Den Deckel nach Gebrauch fest verschließen und wieder auf eine Temperatur von 2 ~ 8 °C zurückkehren.
6. Nach dem auf dem Flaschenetikett aufgedruckten Ablaufdatum nicht mehr verwenden.

**PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG**

Bei den Proben kann es sich um mit Formalin fixierte, in Paraffin eingebettete Gewebschnitte handeln. Die Fixierungszeit hängt vom Fixativ und der Art/Dicke des Gewebes ab. Gewebeblöcke mit einer Dicke von 3 ~ 5 mm sollten z. B. für 18 ~ 24 Stunden in neutral-gepuffertem Formalin fixiert werden. Die optimale Dicke

von in Paraffin eingebetteten Schnitten beträgt ca. 3 ~ 5 µm. Nach dem Schneiden sollten die Gewebe auf Objektträger aufgebracht und dann 1 Stunde lang in einen kalibrierten Ofen bei  $65 \pm 2$  °C gelegt werden.

Die Schnitte sollten möglichst eben und faltenfrei auf den Objektträger aufgebracht werden. Falten wirken sich negativ auf das Färbungsergebnis aus.

**HINWEIS:** Die Position der Proben auf den Objektträgern muss für das PA3600-Instrument geeignet sein. Die Definition des nutzbaren Färbungsbereichs eines Objektträgers für die Probe finden Sie im Benutzerhandbuch.

## TESTVERFAHREN

In Verbindung mit dem vollautomatischen pathologischen Färbungssystem (Modell-Nr.: PA-3600) wird der Prozess von der Entparaffinierung bis zur Gegenfärbung durch das Instrument abgeschlossen.

1. Legen Sie die vorbereiteten Objektträger für 1 Stunde in einen kalibrierten Ofen bei  $65 \pm 2$  °C.
2. Befolgen Sie die Bedienungsanleitung der Gerätesoftware.
3. Verwenden Sie die Gerätesoftware, um das Protokoll einzurichten und Etiketten auszudrucken.
4. Legen Sie die etikettierten Objektträger in das Gerät.
5. Stellen Sie die Reagenzien in die Reagenzien ständer und stellen Sie sicher, dass die Reagenzien vom richtigen Typ sind und in ausreichender Menge vorhanden sind, um das Experiment abzuschließen.
6. Starten Sie den Betrieb für die automatische Färbung.
7. Nach Abschluss der Färbung entnehmen Sie die Objektträger und spülen Sie diese mit destilliertem Wasser ab.
8. Dann werden die Objektträger getrocknet und transparent gemacht, schließlich werden sie mit einem dauerhaften Trägermedium fixiert und mit einem Deckglas abgedeckt.

Für vollständige Informationen und die Verfahrensweise zum Betrieb lesen Sie bitte die PA-3600-Bedienungsanleitung durch.

## ERGEBNISDEUTUNG

Das PA-Blaufärbungsreagenz wird zum Anpassen des Farbtöns der Hämatoxylin-Gegenfärbungen auf Blau auf den PA-3600-Geräten verwendet.

Eine breite Palette an Wondfo-Primärantikörpern, -Sonden, -Färbekits und Detektions kits wurde zur Verwendung mit PA-Blaufärbungsreagenz und Hämatoxylin-Gegenfärbung für IHC-, ICC- und ISH-Anwendungen entwickelt. Im Rahmen der Tests für diese Studie wurden die folgenden Leistungseigenschaften nachgewiesen:

1. Die Genauigkeit der PA-3600-IHC/ISH-Geräte während des Betriebs, bei Tag und Nacht und zwischen den Geräten.
2. Sensitivität und Spezifität wurden für eine Reihe von Normal- und Tumorgewebetypen, sowie für die Erkennung spezifischer Zielgewebe bewertet.

## QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Überwachung des Operationsprozesses und der Qualität der Reagenzien sollten für jede Charge Positivkontrollen einbezogen werden. Siehe Qualitätssicherung für die Designkontrolle und Durchführung von immunhistochemischen Assays; Genehmigte Richtlinie – Zweite Ausgabe (I/LA28-A2) CLSI. 2011.

Bei jedem Färbungsverfahren sollten positive und negative Kontrollgewebe (vom Labor bereitgestellt) mitgeführt werden. Diese Qualitätskontrollen sollen die Gültigkeit des Färbungsverfahrens, einschließlich der Reagenzien, der Gewebehandhabung und der Geräteleistung, sicherstellen. Es wird empfohlen, die Kontrollgewebe auf demselben Objektträger wie das Patientengewebe zu färben.

### Positivkontrolle

Die Positivkontrolle sollte ein Gewebe mit Biomarkerexpression sein. Externe Materialien für die Positivkontrolle sollten aus frischen Proben bestehen, die so schnell wie möglich auf die gleiche Weise wie die Patientenproben fixiert, verarbeitet und

eingebettet werden. Jedem Färbungsdurchgang sollte eine positive externe Gewebekontrolle für jeden Satz an Testbedingungen beigefügt werden.

Ergibt die positive Gewebekontrolle keine positive Färbung, sollten die Ergebnisse mit den Testproben als ungültig angesehen werden.

### Negativkontrolle

Die Negativkontrolle sollte ein Gewebe oder ein Gewebeelement ohne Biomarkerexpression sein. Eine negative Gewebekontrolle, die auf eine identische Weise zur/zu den Patientenprobe(n) fixiert, verarbeitet und eingebettet wurde, sollte bei jedem Färbungsdurchgang verwendet werden, um die Spezifität des IHC-Primärantikörpers für das Zielantigen zu überprüfen und einen Hinweis auf eine spezifische Hintergrundfärbung (falsch-positive Färbung) zu geben.

Wenn in der negativen Gewebekontrolle eine spezifische Färbung (falsch-positive Färbung) auftritt, sollten die Ergebnisse der Patientenprobe als ungültig angesehen werden.

### Nichtspezifische Negative Reagenzkontrolle

Verwenden Sie anstelle des Primärantikörpers eine unspezifische negative Reagenzkontrolle mit einem Schnitt jeder Patientenprobe, um die unspezifische Färbung zu beurteilen und die spezifische Färbung an der Antigenstelle besser deuten zu können.

Der Inkubationszeitraum der negativen Reagenzkontrolle sollte dem des Primärantikörpers entsprechen.

## VERFAHRENSEINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Immunhistochemie ist ein mehrstufiger Prozess, und jeder Schritt kann das Ergebnis beeinflussen, einschließlich, aber nicht darauf beschränkt, die Fixierung, die Antigen-Erkennungsmethode, die Inkubationszeit, die Gewebeschneiddicke, das verwendete Detektionskit und die Deutung der Färbungsergebnisse.
2. Die empfohlenen Protokolle basieren auf der ausschließlichen Verwendung von Wondfo-Produkten.

3. Die klinische Deutung jeder positiven oder negativen Färbung sollte von einem qualifizierten Pathologen innerhalb des Kontextes des klinischen Erscheinungsbilds, der Morphologie und anderer histopathologischer Kriterien bewertet werden.
4. Die klinische Deutung jeder positiven oder negativen Färbung sollte durch morphologische Untersuchungen unter Verwendung geeigneter positiver und negativer interner und externer Kontrollen sowie anderer diagnostischer Tests ergänzt werden.

## LEISTUNGSEIGENSCHAFTEN

### Positive Konformität

Die Positivkontrolle wurde gesammelt und ein immunhistochemischer Test wurde gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt. Die Ergebnisse erfüllten die Anforderungen, dass eine positive Gewebe-/Zellfärbung positiv sein sollte, die Position der positiven Färbung genau sein sollte und keine Hintergrundfärbung oder unspezifische Färbung vorhanden sein sollte.

### Negative Konformität

Führen Sie eine Negativkontrolle gemäß den Anweisungen des Herstellers für die immunhistochemischen Tests durch. Die Ergebnisse erfüllten die Anforderungen für negative Gewebe-/Zellfärbung, negative Färbung, keine Hintergrundfärbung oder unspezifische Färbung.

### Leerkontrollkonformität

Führen Sie eine Leerkontrolle gemäß den Anweisungen des Herstellers für immunhistochemische Tests durch. Als Leerkontrolle wurde anstelle der Arbeitsflüssigkeit des primären Antikörpers ein Antikörperverdünner verwendet. Immunhistochemische Tests wurden gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt. Die Ergebnisse erfüllten die Anforderungen in Bezug auf negative, hintergrundfreie und unspezifische Färbung der infizierten Gewebe/Zellen.

### Präzision innerhalb einer Charge

Drei Gewebeschnitte aus derselben Gewebequelle, die das Zielantigen enthielt, wurden entnommen und dieselbe Produktcharge wurde für den immunhistochemischen Nachweis verwendet. Die Ergebnisse erfüllten die Anforderungen, dass es keinen offensichtlichen Unterschied in der Färbungsintensität und -position von Gewebeschnitten aus derselben Gewebequelle gibt.

### Präzision zwischen Chargen

Drei Gewebeschnitte aus derselben Gewebequelle, die das Zielantigen enthielt, wurden entnommen und 3 verschiedene Produktchargen wurden gleichzeitig für den immunhistochemischen Nachweis verwendet. Die Ergebnisse erfüllten die Anforderungen, dass es keinen offensichtlichen Unterschied in der Färbungsintensität und -position von Gewebeschnitten aus derselben Gewebequelle mit unterschiedlichen Reagenzchargen gibt.

## 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.

## SYMBOLINDEX

	Gebrauchsanweisung beachten		Hersteller		Herstellungsdatum
	In vitro-diagnostisches medizinisches Gerät		Verfallsdatum		Katalognummer
	Temperaturbegrenzung		Chargencode		Enthält ausreichende Menge für <n> Tests
	Vor Sonnenlicht fernhalten		Abkürzung für Volumen		CE Kennzeichnung
	Importeur		Eindeutige Gerätekennung		Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/ Europäische Union

Guangzhou Wondfo Biotech Co., Ltd.  
No.8 Lizishan 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)  
Website: en.wondfo.com

QbD RepS BV  
Groenenborgerlaan 16,2610 Wilrijk,Belgium