

REF WF17P0001

**USO PREVISTO**

Il tampone di lavaggio PA è una soluzione tampone concentrata 20X, che richiede una diluizione iniziale. La soluzione diluita serve a lavare sezioni tissutali fissate in formalina e incluse in paraffina tra le fasi di colorazione e a fornire un ambiente acquoso stabile per le applicazioni di immunoistochimica, immunocitochimica e ibridazione in situ su uno strumento PA-3600.

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

**SINTESI**

Il tampone di lavaggio PA è una soluzione salina tamponata con Tris (TBS) e contiene un tensioattivo. Queste soluzioni tamponate aiutano a mantenere le caratteristiche morfologiche degli anticorpi e dei rispettivi epitopi, facilitando il legame specifico necessario in una reazione immunoistochimica. Il componente tensioattivo viene aggiunto per favorire un lavaggio efficace, riducendo così la colorazione di fondo, e per migliorare la distribuzione del reagente sulla sezione tissutale nell'esecuzione dei protocolli di colorazione automatizzati.

**PRINCIPIO**

Il tampone di lavaggio PA viene utilizzato alla fine di ogni fase di incubazione. Lo strumento PA-3600 lava i campioni con il tampone PA di lavaggio per arrestare la reazione e rimuovere il materiale non legato che ostacolerebbe la reazione desiderata nei passaggi successivi.

Il tampone PA di lavaggio è anche un componente chiave per mantenere un ambiente acquoso appropriato necessario per lo

svolgimento di molte reazioni, come l'incubazione degli anticorpi e altri accessori quando vengono utilizzati sullo strumento.

**PRECAUZIONE**

- Questo kit è solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Non riutilizzare, i prodotti scaduti non possono essere utilizzati.
- Il kit deve essere utilizzato da professionisti.
- Una quantità insufficiente di reagenti nell'esperimento può portare a risultati errati.
- La soluzione ProClin 950 è utilizzata come conservante in questa soluzione. Evitare il contatto dei reagenti con occhi, pelle e mucose. Utilizzare indumenti e guanti protettivi.
- Se i reagenti vengono a contatto con aree sensibili, lavare abbondantemente con acqua. Evitare di inalare i reagenti.
- 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.
- La soluzione non utilizzata deve essere smaltita in conformità a tutte le normative locali, regionali, nazionali e internazionali.
- 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 WF17P0001 (1L)**

Contenuti	Componenti principali	Quantità
Wash buffer (Tampone di lavaggio)	Il tampone di lavaggio PA contiene soluzione fisiologica tamponata Tris, tensioattivo e $\geq 1\%$ (v/v) ProClin™ 950.	1L/bottiglia* 1
Istruzioni per l'uso	Istruzioni per l'uso	1

**Materiali richiesti ma non forniti**

- Reagente PA per il rilascio dei campioni
- Soluzione PA di recupero (pH 9,0)
- Soluzione PA di recupero (pH 6,0)
- Reagente PA immunocromogenico
- Reagente PA-Bluing
- Potenziatore PA (collegante)
- Vetrini per microscopia
- Tessuti positivi e negativi da utilizzare come controlli del processo
- Acqua distillata o deionizzata
- Etanolo assoluto
- Xilene o sostituti dello xilene
- Mezzo di montaggio permanente
- Copri vetrini
- Attrezzatura di laboratorio di uso generico
- Microscopio a campo chiaro (ingrandimento obiettivo 4-40x)
- 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**

- Conservare a 2~30°C, validità 18 mesi
- Tenere lontano dalla luce solare dall'umidità e dal calore.
- È vietato il congelamento e lo scongelamento.
- Utilizzare entro 3 mesi dall'apertura.
- Serrare il tappo e riportare a 2~8 °C subito dopo l'uso.
- 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 inклuse 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  $65 \pm 2$  °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

Il tampone di lavaggio PA è una soluzione tampone concentrata 20X, che richiede una diluizione iniziale. Per preparare 1 L di tampone di lavaggio, miscelare 50 mL di tampone di lavaggio PA concentrato 20X con 950 mL di acqua deionizzata. Il tampone di lavaggio PA diluito deve essere versato nel contenitore di massa contrassegnato con "Contenitore del tampone" situato sotto il porta-reagenti del PA-3600. Questo contenitore può contenere fino a 3,5 litri.

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 tampone di lavaggio PA è utilizzato per il risciacquo dei vetrini tra le fasi di colorazione e per fornire un ambiente acquoso stabile per le applicazioni IHC, ICC e ISH sullo strumento PA-3600. 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 tampone di lavaggio PA in applicazioni IHC, ICC e ISH. Nell'ambito dei test per queste analisi, sono state dimostrate le seguenti caratteristiche di prestazione del tampone di lavaggio PA:

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 aspecifico 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. Questo reagente è stato formulato in maniera ottimale per una diluizione 1:20. Un'ulteriore diluizione può comportare prestazioni insufficienti dello strumento e la perdita della colorazione.
2. 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.

3. I protocolli raccomandati si basano sull'uso esclusivo dei prodotti Wondfo.
4. 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.
5. 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 intra-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 e Autorizzato nella Comunità Europea/Unione Europea		Importatore		Identificatore univoco del dispositivo
	Non far rotolare		Cautela		In posizione verticale

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

Groenengborgerlaan 16, 2610 Wilrijk, Belgio