



Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA
USA 94553
P: 1-800-799-9499
www.biocare.net

COVER

Pour usage diagnostique *in vitro*

1	FORMATS DE PRODUITS DISPONIBLES	2
2	USAGE PRÉVU DU PRODUIT	2
3	RÉSUMÉ ET EXPLICATION	2
4	PRINCIPE DE PROCÉDURE	2
5	RECONSTITUTION, MÉLANGE, DILUTION	2
6	FOURNIS PAR	2
7	MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE REQUIS NON FOURNI	3
8	CONDITIONS DE STOCKAGE ET DE STABILITÉ	3
9	PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS	3
10	AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	3
11	MODE D'EMPLOI	5
12	CONTRÔLE QUALITÉ	5
13	VÉRIFICATION DU DOSAGE	6
14	DÉPANNAGE	6
15	INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS	7
16	LIMITATIONS	7
17	CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	8
18	BIBLIOGRAPHIE	8
19	SYMBOLES SUR L'ÉTIQUETTE ET LA BOÎTE	8
20	CHANGELOG	9

Ce document est une traduction de ses versions originales espagnole et anglaise. Si vous avez des questions sur son interprétation, veuillez consulter le document original sur www.vitro.bio ou en demander une copie à regulatory@vitro.bio



1 FORMATS DE PRODUITS DISPONIBLES

VITRO, SA Réf.	BIOCARE Réf.	Présentation
MAD-003983VSBC	NPRI10002T1300	1 x 2000 mL

Tableau 1. Références et présentation

2 BUT PRÉVU DU PRODUIT

Pour diagnostic *in vitro*. Cette huile minérale prête à l'emploi sert de revêtement protecteur pour empêcher l'évaporation des solutions à faible et à forte AR lors de la récupération d'antigènes par la chaleur à partir de coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine (FFPE) dans le cadre de protocoles d'immunohistochimie automatisée (IHC). Elle est destinée à être utilisée par des professionnels qualifiés et formés aux techniques d'immunohistochimie. L'interprétation clinique de toute coloration ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée dans le contexte des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Ce produit est destiné aux personnes de tous âges qui nécessitent une analyse de détection d'antigènes par des techniques immunohistochimiques.

3 RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Le produit Cover est composé d'huile minérale et forme un film protecteur empêchant l'évaporation lors de la récupération d'antigènes par la chaleur à partir de coupes de tissus fixées au formol, dans le cadre d'une coloration IHC sur l'automate de coloration NeoPATH Pro. Ce produit est fourni prêt à l'emploi.

4 PRINCIPE DE PROCÉDURE

En général, les techniques de coloration immunohistochimique (IHC) permettent la visualisation des antigènes par l'application séquentielle d'un anticorps spécifique dirigé contre l'antigène (anticorps primaire), d'un anticorps secondaire dirigé contre l'anticorps primaire (anticorps de liaison), d'un complexe enzymatique et d'un substrat chromogène, avec lavages intercalaires. L'activation enzymatique du chromogène produit un produit de réaction visible au site antigénique. L'échantillon peut ensuite être contre-coloré et recouvert d'une lamelle. Les résultats sont interprétés au microscope optique et facilitent le diagnostic différentiel des processus physiopathologiques, associés ou non à un antigène particulier.

L'huile minérale est utilisée comme revêtement protecteur pour empêcher l'évaporation des solutions à faible et à forte AR lors de la récupération d'antigènes par la chaleur dans le NeoPATH Pro. Cette récupération a considérablement amélioré la coloration immunohistochimique des antigènes en pathologie chirurgicale conventionnelle. L'utilisation de ces techniques présente des avantages majeurs dans le cas des antigènes nucléaires, où une augmentation remarquable de l'intensité du signal immunohistochimique a été observée.

5 RECONSTITUTION, MÉLANGE, DILUTION

Ce produit est prêt à l'emploi. Il n'est pas nécessaire de le reconstituer, de le mélanger ou de le diluer.

6 FOURNI COMME

100% huile minérale



7 MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE REQUIS NON FOURNI

7.1 Réactifs et matériaux

- anticorps primaire
- Dewax Solution, Ref. MAD-004080VS
- High AR, Ref. MAD-004075VS or Low AR MAD-004079VS
- DAB Enhancer, Ref. MAD-001560QV
- Contrast Hematoxylin HDH3, Ref. MAD-HDH3-100VS
- TBS Tween 20 Buffer 10X, Ref. MAD-004077R-10
- Cleaning Solution 10X, Ref. MAD-003931CSVS
- Probe Cleaning Kit, Ref. MAD-PCLK
- Master Polymer Plus Detection System, Ref. MAD-000237QKVS
- IHC Treated Slides, Ref. MAD-15-188-55/100
- Mixing Tubes, Ref. MAD-60732-100VS

7.2 Équipement

- Neopath Pro
- Microscope optique et/ou scanner numérique de lames histologiques

8 CONDITIONS DE STOCKAGE ET DE STABILITÉ

Composant	Conditions d'utilisation
Conditions de stockage	Conserver à température ambiante (15°-25°C) et à l'abri des sources de chaleur/froid intense jusqu'à la date de péremption du produit.
Stabilité en utilisation	Une fois ouvert, conserver à température ambiante (15°-25°C) et tenir à l'écart des sources de chaleur/froid intense jusqu'à la date de péremption du produit.
Conditions d'expédition	L'expédition doit être effectuée à température ambiante (15-25°C).

Tableau 2. Conditions de stockage et de stabilité.

Le produit est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette lorsqu'il est conservé entre 15° et 25°C. Ne pas utiliser après cette date.

9 PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Coupes en paraffine : les tissus fixés au *formol* peuvent être utilisés avant l'inclusion en paraffine. Les tissus osseux doivent être décalcifiés avant le traitement des tissus pour faciliter la coupe des tissus et éviter d'endommager les lames du microtome.

10 MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

- **Lire la notice d'utilisation avant d'utiliser ce produit.** En cas de résultats atypiques ou inattendus, veuillez contacter votre fournisseur/distributeur agréé.
- **Usage professionnel.** Ce produit est destiné uniquement à un usage professionnel en laboratoire et non à un usage pharmacologique, domestique ou autre. Utilisé comme aide au diagnostic, il doit être manipulé uniquement par des utilisateurs formés et dans des laboratoires agréés.
- ** Test prescrit par un médecin.** Ce produit est réservé à un usage professionnel, sur prescription d'un médecin ou d'un autre professionnel de santé.

- Les échantillons, avant et après fixation, ainsi que tout matériel qui y a été exposé, doivent être manipulés comme s'ils pouvaient transmettre une infection et éliminés avec les précautions appropriées. Ne jamais pipeter les réactifs par voie orale et éviter tout contact de la peau et des muqueuses avec les réactifs et les échantillons. En cas de contact des réactifs ou des échantillons avec des zones sensibles, rincer abondamment à l'eau.
- La contamination microbienne des réactifs peut entraîner une augmentation de la coloration non spécifique et/ou des résultats erronés.
- Des durées ou températures d'incubation différentes de celles indiquées peuvent donner des résultats erronés. L'utilisateur doit valider toute modification.
- Ne pas utiliser le réactif après la date de péremption imprimée sur l'étiquette.
- **Incident grave.** Tout incident grave lié à l'utilisation de ce produit entraînant ou pouvant entraîner une détérioration grave, temporaire ou permanente, de l'état de santé d'un patient, d'un utilisateur ou d'une autre personne, voire le décès, ou une menace grave pour la santé publique, doit être signalé dans les meilleurs délais au fabricant par courriel à l'adresse regulatory@vitro.bio et à l'autorité sanitaire compétente de l'État membre de l'UE où l'utilisateur ou le patient est établi. Si l'utilisateur est situé aux États-Unis, signalez tout incident grave lié à ce dispositif en contactant le distributeur local (informations figurant sur l'étiquetage du produit) et l'autorité compétente de l'État membre concerné. Les incidents causés par une mauvaise utilisation du produit ou par une utilisation au-delà de la durée de vie utile indiquée sur son étiquetage relèvent de la responsabilité de l'utilisateur.
- **Les précautions de sécurité et d'élimination sont décrites dans la fiche de données de sécurité (FDS) de ce produit.** La version actuelle de la fiche de données de sécurité (FDS) peut être téléchargée sur le site web www.vitro.bio ou demandée à regulatory@vitro.bio.
- **Élimination des déchets :** La gestion des déchets générés par l'utilisation des produits commercialisés par Vitro SA doit être effectuée conformément à la législation en vigueur dans le pays d'utilisation. À titre indicatif, le tableau suivant indique la classification des déchets générés par ce kit selon la législation européenne, et plus précisément selon la *décision de la Commission européenne du 18 décembre 2014* modifiant la décision 2000/532/CE relative à la liste des déchets conformément à la directive 2008/98/CE du Parlement européen et du Conseil.



DÉCHETS POTENTIELS GÉNÉRÉS APRÈS L'UTILISATION DE CE PRODUIT	CODE ELW*	TYPE DE DÉCHETS SELON ELW*
Récipient pour réactifs utilisés classés comme dangereux (selon la Fiche de Données de Sécurité).	150110	« Conteneurs contenant des déchets ou contaminés par des substances dangereuses »
Déchet liquide aqueux contenant des substances dangereuses (hors solvants).	161001	« Liquides générés par l'utilisation d'instruments IHC/HIS automatiques : - Dépôt de déchets d'immunocolorants. - tampons PT-Module utilisés »
Consommables (tubes, embouts, etc.). Tout élément ayant été en contact avec des échantillons de tissus.	180103	« Déchets dont la collecte et l'élimination sont soumises à des exigences particulières afin de prévenir l'infection »
Liquides contenant des solvants (xylol, hématoxyline, alcool, éosine), générés à partir de techniques d'immunocoloration.	160506	« Produits chimiques de laboratoire constitués ou contenant des substances dangereuses, y compris les mélanges de produits chimiques de laboratoire »

Tableau 3. Classification des déchets générés par l'utilisation de ce kit selon la législation européenne. *ELW :
Législation européenne des déchets.

***Remarque :** Cette classification est incluse comme ligne directrice générale d'action, étant sous la responsabilité finale de l'utilisateur l'accomplissement de toutes les réglementations locales, régionales et nationales sur l'élimination de ce type de matériaux .

11 MODE D'EMPLOI

Ajoutez la solution de cover prête à l'emploi au flacon NeOPATH Pro COVER 1 avant de commencer l'immunomarquage dans l'instrument. Suivez les protocoles et conditions d'utilisation recommandés pour les anticorps primaires. Les temps et températures d'incubation varient selon le protocole d'anticorps spécifique suivi.

12 CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les différences de traitement des tissus et de procédures techniques dans le laboratoire de l'utilisateur peuvent entraîner une variabilité significative des résultats, nécessitant la réalisation régulière de contrôles internes en plus des procédures suivantes. Consultez les directives de contrôle qualité de l' Normes de qualité pour la conception et la mise en œuvre des tests d'immunohistochimie ; Ligne directrice approuvée - Deuxième édition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011 .

Contrôle positif des tissus : Les contrôles positifs externes doivent être des échantillons frais d'autopsie, de biopsie ou chirurgicaux, fixés, traités et inclus dès que possible, de la même manière que les échantillons du patient. Les contrôles positifs des tissus témoignent de tissus correctement préparés et de techniques de coloration appropriées. Un contrôle positif externe des tissus pour chaque série de conditions de test doit être inclus dans chaque série de coloration.

Les tissus utilisés pour les contrôles positifs externes doivent être sélectionnés parmi des échantillons de patients présentant de faibles niveaux bien caractérisés d'activité de la cible positive, ce qui entraîne une faible coloration positive. Ce faible niveau de positivité des contrôles positifs externes vise à garantir la détection de variations subtiles de la sensibilité de l'anticorps primaire, dues à une instabilité ou à des problèmes liés à la méthodologie IHC. Les lames ou échantillons de tissus disponibles dans le commerce, traités différemment des échantillons de patients, valident uniquement les performances du réactif et ne vérifient pas la préparation des tissus.

Les contrôles tissulaires positifs connus ne doivent être utilisés que pour surveiller le bon fonctionnement des tissus traités et des réactifs de test, et non pour aider à formuler un diagnostic précis des échantillons de patients. Si les contrôles tissulaires positifs ne présentent pas de coloration positive, les résultats des échantillons de test doivent être considérés comme invalides.

Contrôle tissulaire négatif : Utiliser un contrôle tissulaire négatif fixé, traité et inclus de manière identique à l'échantillon du patient à chaque coloration afin de vérifier la spécificité de l'anticorps primaire IHC pour la mise en évidence de l'antigène cible et d'indiquer une coloration de fond spécifique (faux positif). De plus, la diversité des types cellulaires présents dans la plupart des coupes de tissus peut être utilisée par le laborantin comme site de contrôle négatif interne pour vérifier les performances de l'IHC.

Si une coloration spécifique (coloration faussement positive) se produit dans le contrôle tissulaire négatif, les résultats obtenus avec les échantillons du patient doivent être considérés comme non valides.

Contrôle réactif négatif non spécifique : Utiliser un contrôle réactif négatif non spécifique à la place de l'anticorps primaire avec une section de chaque échantillon de patient afin d'évaluer la coloration non spécifique et de permettre une meilleure interprétation de la coloration spécifique au site antigénique. Idéalement, un contrôle réactif négatif contient un anticorps produit à partir du surnageant de culture tissulaire de la même manière que l'anticorps primaire, mais ne présente aucune réactivité spécifique avec les tissus humains dans la même matrice/solution que l'anticorps primaire. Anticorps. Le diluant seul peut être utilisé comme alternative moins souhaitable aux témoins négatifs décrits précédemment. La période d'incubation du témoin négatif doit correspondre à celle de l'anticorps primaire.

Lorsque des panels de plusieurs anticorps sont utilisés sur des coupes en série, les zones de coloration négative d'une lame peuvent servir de contrôle de fond de liaison négatif/non spécifique pour d'autres anticorps.

Pour différencier l'activité enzymatique endogène ou la liaison non spécifique des enzymes de l'immunoréactivité spécifique, des tissus supplémentaires du patient peuvent être colorés exclusivement avec un substrat-chromogène ou des complexes enzymatiques (PAP, avidine-biotine, streptavidine) et un substrat-chromogène, respectivement.

13 VÉRIFICATION DES ANALYSES

Avant la première utilisation d'un anticorps ou d'un système de coloration dans une procédure diagnostique, l'utilisateur doit vérifier la spécificité de l'anticorps en le testant sur une série de tissus internes présentant des caractéristiques immunohistochimiques connues, représentant des tissus positifs et négatifs connus. Se référer aux procédures de contrôle qualité décrites précédemment dans cette section de la notice d'emballage et aux recommandations de contrôle qualité du programme de certification CAP. pour l'immunohistochimie et/ou la directive IHC du NCCLS). Ces procédures de contrôle qualité doivent être répétées pour chaque nouveau lot d'anticorps, ou chaque fois que il y a un changement dans les paramètres d'analyse.

14 DÉPANNAGE

Suivre les recommandations du protocole spécifique à l'anticorps, conformément à la fiche technique fournie. En cas de résultats atypiques, contacter le service réglementaire de Vitro à l'adresse suivante : regulatory@vitro.bio. Si l'utilisateur est situé aux USA, contactez le distributeur local (informations identifiées sur l'étiquette du produit) .

15 INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'interprétation des résultats doit être effectuée par un pathologiste qualifié. Une coloration avec l'anticorps primaire et les réactifs auxiliaires doit être réalisée sur les tissus du patient et sur les témoins positifs et négatifs.

Contrôle tissulaire positif : Le contrôle tissulaire positif coloré avec L'anticorps primaire doit être examiné en premier afin de vérifier le bon fonctionnement de tous les réactifs. La présence d'un produit de réaction brun rougeâtre (tétrachlorure de 3,3'-diaminobenzidine, DAB) avec la cellule cible (localisation dans la cellule) indique une réactivité positive. Si les contrôles tissulaires positifs ne présentent pas de coloration positive, les résultats des échantillons testés doivent être considérés comme invalides.

Contrôle tissulaire négatif : Le contrôle tissulaire négatif doit être examiné après le contrôle tissulaire positif afin de vérifier la spécificité du marquage de l'antigène cible par l'anticorps primaire. L'absence de coloration spécifique dans le contrôle tissulaire négatif confirme l'absence de réactivité croisée des anticorps avec les cellules/composants cellulaires. Si une coloration spécifique (faux positif) apparaît dans le contrôle tissulaire externe négatif, les résultats de l'échantillon du patient doivent être considérés comme invalides.

La coloration non spécifique, si elle est présente, est généralement diffuse. Une coloration sporadique du tissu conjonctif peut également être observée sur des coupes de tissus fixés excessivement au formol. Utiliser des cellules intactes pour l'interprétation des résultats de coloration. Les cellules nécrotiques ou dégénérées présentent souvent une coloration non spécifique.

Tissus du patient : Examiner les échantillons de patients colorés en dernier avec l'anticorps primaire. L'intensité de la coloration positive doit être évaluée en tenant compte de toute coloration de fond non spécifique du témoin négatif. Comme pour tout test immunohistochimique, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté, et non qu'il était absent des cellules/tissus analysés. Si nécessaire, utiliser un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

Consultez les instructions d'utilisation de l'anticorps primaire pour obtenir des informations sur l'immunoréactivité de l'anticorps.

16 LIMITES

- Les résultats du test doivent être évalués par un professionnel de la santé dans le contexte des antécédents médicaux, des symptômes cliniques et d'autres tests diagnostiques.
- La bonne réalisation du test dépend de la qualité de l'échantillon.
- NeoPATH Pro et ses réactifs auxiliaires doivent être utilisés avec des coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine. L'utilisation de tout autre type d'échantillon peut générer des résultats erronés ; ses performances doivent être vérifiées au préalable.
- L'immunohistochimie est un processus de diagnostic en plusieurs étapes qui consiste en une formation spécialisée dans la sélection des réactifs appropriés ; la sélection, la fixation et le traitement des tissus ; la préparation de la lame IHC ; et l'interprétation des résultats de coloration.
- La coloration des tissus dépend de leur manipulation et de leur traitement préalables. Une fixation, une congélation, une décongélation, un lavage, un séchage, un chauffage, une coupe inappropriés ou une contamination par d'autres tissus ou liquides peuvent produire des artéfacts, un piégeage d'anticorps ou des résultats faussement négatifs. Des résultats incohérents peuvent être dus à des variations dans les méthodes de fixation et d'inclusion, ou à des irrégularités inhérentes au tissu.
- Une contre-coloration excessive ou incomplète peut compromettre l'interprétation correcte des résultats.
- L'interprétation clinique de toute coloration positive ou négative doit être évaluée en fonction de la

présentation clinique, de la morphologie et d'autres critères histopathologiques. Elle doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles internes et externes positifs et négatifs appropriés, ainsi que d'autres tests diagnostiques. Il incombe à un pathologiste qualifié, familiarisé avec l'utilisation des anticorps, des réactifs et des méthodes d'IHC, d'interpréter toutes les étapes de préparation et d'interpréter la préparation IHC finale.

- Le fabricant fournit ce réactif à utiliser en suivant les instructions fournies pour l'IHC sur Coupes de tissus préparées. Tout écart par rapport aux procédures de test recommandées peut invalider les résultats attendus déclarés ; des contrôles appropriés doivent être mis en œuvre et documentés. Les utilisateurs qui s'écartent des procédures de test recommandées assument la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients dans ces circonstances.
- Les tissus provenant de personnes infectées par le virus de l'hépatite B et contenant l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) peuvent présenter une coloration non spécifique avec la peroxydase de raifort.

17 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

La reproductibilité intra-série des performances du réactif Cover a été déterminée par coloration de 42 lames contenant le même tissu. Le même résultat a été obtenu pour toutes les lames. La reproductibilité inter-série a été déterminée par coloration de lames contenant le même tissu sur 42 lames, avec deux équipements différents, deux opérateurs et à des jours différents. La coloration a été réalisée en utilisant les protocoles Ki67 et CD3 comme anticorps primaires. Des études complémentaires ont été menées pour tester une large gamme d'anticorps à différentes concentrations et sur différents tissus, à différents jours, par différents opérateurs et différents équipements, sur une longue période.

18 BIBLIOGRAPHIE

- Food and Drug Administration. Guidance for Submission of Immunohistochemistry Applications to the FDA. 1997.
- Norton A.J., et al; Brief, high temperature heat denaturation (pressure-cooking): a simple and effective method of antigen retrieval for routinely processed tissues. J Pathol 173 (4): 371-391(1994).
- Clive R. Taylor, M.D., Ph.D., Shan-Rong Shi, M.D., and Richard J. Cote, M.D. Appl Immunohistochem 4 (3): 144-166, 1996.
- Suthipintawong C., et al; Immunostaining of cell preparations: a comparative evaluation of common fixatives and protocols. Diagn Cytopathol 15: 167-174 (1996).
- Shidham VB, Layfield LJ. Cell-blocks and immunohistochemistry. Cytojournal. 2021;18:2. Published 2021 Jan 30. doi:10.25259/Cytojournal_83_2020.
- García del Moral, Raimundo (1993). Interamericana Mc Graw Hill. Laboratorio de anatomía patológica.
- Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
- Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA 1991;7(9). Order code M29-P.

- College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
- O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
- Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011.
- Elias JM, Gown AM, Nakamura RM, Wilbur DC, Herman GE, Jaffe ES, Battifora H, Brigati J. Special report: Quality control in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1989; 92:836.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983;14:767.
- Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1980;73:626.

19 SYMBOLES SUR L'ÉTIQUETTE ET LA BOÎTE

Explication des symboles de l'étiquette et de la boîte du produit :

	Dispositif médical de diagnostic in vitro		Date d'expiration
	Numéro de catalogue		Limite de température
	Code de lot		Fabricant
	Se référer à la notice d'utilisation		Fiche de données de sécurité
	Distributeur		Importateur

20 JOURNAL DES MODIFICATIONS

Date	Description
2024-01-23	Création du document.
2024-06-25	Le document est mis à jour pour le mettre en conformité avec le règlement (UE) IVDR 2017/746.
2025-02-27	Le document est mis à jour pour le rendre conforme à la réglementation de la FDA.
2025-02-27	Document traduit en français.