SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-070224
English

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Intended Use:
For *in vitro* Diagnostic Use
SOX10 (M) [BC34] is a mouse monoclonal antibody that is intended for professional laboratory use after the initial diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using nonimmunologic histochemical stains, in the qualitative identification of SOX10 protein by immunohistochemistry (IHC) in formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) human tissues. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist as an aid in making any other clinical determinations.

Summary and Explanation:
The transcription factor SRY-related HMG-Box gene 10 (SOX10) plays an important role in neural crest, peripheral nervous system, and melanocytic cell development.[15-17] SOX10 is widely expressed in normal human tissues including melanocytes and breast tissue. SOX10 is also an important marker in malignant tumors such as melanoma, breast carcinoma, gliomas, and benign tumors such as schwannomas.[17-20] More importantly, SOX10 has been shown to be expressed in 97-100% of desmoplastic and spindle cell melanomas and has also been shown to be expressed in 100% of nevi.[15] Spindle cell and desmoplastic melanomas are rare variants of invasive cutaneous melanoma, with an annual incidence rate of approximately 2 per 100,000.[21] The majority of oligodendrogliomas and a large percentage of astrocytoma and poorly differentiated glioblastomas have also been shown to express SOX10.[17,19]

U.S. Patent 9,816,997 and patents pending.

Principle of Procedure:
This antibody product may be used as the primary antibody in immunohistochemistry testing of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. In general, immunohistochemical (IHC) staining techniques allow for the visualization of antigens via the sequential application of a specific antibody to the antigen (primary antibody), a secondary antibody to the primary antibody (optional link antibody/probe), an enzyme complex and a chromogenic substrate with interposed washing steps. The enzymatic activation of the chromogen results in a visible reaction product at the antigen site. The specimen may then be counterstained, and cover slipped. Results are interpreted using a light microscope and aid in the differential diagnosis of pathophysiological processes, which may or may not be associated with a particular antigen.

Materials and Methods:

Reagents Provided:
Host Source: Mouse monoclonal
Species Reactivity: Human; other species not tested.
Clone: BC34
Isotype: IgG1
Protein Concentration: Contact Biocare's Technical Support for specific Ig concentration.
Specificity: SOX10
Cellular Localization: Nuclear
Method: Affinity purified mouse monoclonal.

Reconstitution, Mixing, Dilution, Titration:
Prediluted antibody reagent is optimally diluted for use with the below staining platforms. Further dilution may result in loss of antigen staining. The user must validate any such change. Differences in tissue processing and technical procedures in the user's laboratory may produce significant variability in results necessitating regular performance of in-house controls (see Quality Control section).
Concentrated reagent requires dilution as indicated in table above.

Known Applications:
Immunohistochemistry (formalin-fixed paraffin-embedded tissues)

Supplied As:
Buffered saline solution, pH 6.1 – 7.4, containing a protein carrier and less than 0.1% sodium azide preservative. See Safety Data Sheet for additional details.

Materials and Reagents Needed but Not Provided:
Microscope slides positively charged.
Positive and negative tissue controls
Desert Chamber (or similar Drying oven)
Xylene or xylene substitute
Ethanol or reagent alcohol
Decloaking Chamber (Pressure cooker)
Deionized or distilled water
Wash buffer
Pretreatment reagents
Peroxidase block
Protein block (optional)
Detection probe and polymer
Negative control reagents
Chromogens
Hematoxylin (counterstain)
Bluing reagent
Mounting medium
Coverglass
Light Microscope (40-400X magnification)
Automated Slide Staining Platform

Configurations of the antibody product are available for use on the instruments indicated in the table above.

Storage and Stability:
Store at 2ºC to 8ºC. The product is stable to the expiration date printed on the vial label, when stored under these conditions. Do not use after expiration date. Storage under any condition other than those specified must be verified. Diluted reagents should be used promptly; store any remaining reagent at 2ºC to 8ºC. The stability of user diluted reagent has not been established by Biocare.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands
IVD CE
TP v6 (11/02/2023)
Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Positive and negative controls should be run simultaneously with all patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Biocare's Technical Support at 1-800-542-2002 or via the technical support information provided on biocare.net.

Specimen Preparation:
Tissues fixed in formalin are suitable for use prior to paraffin embedding. Osseous tissues should be decalcified prior to tissue processing to facilitate tissue cutting and prevent damage to microtome blades.[1,2]

Properly fixed and embedded tissues expressing the specified antigen target should be stored in a cool place. The Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) of 1988 requires in 42 CFR §493.1259(b) that "The laboratory must retain stained slides at least ten years from the date of examination and retain specimen blocks at least two years from the date of examination."[3]

Treatment of Tissues Prior to Staining:
Perform Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) per recommended protocol below. The routine use of HIER prior to IHC has been shown to minimize inconsistency and standardize staining.[4,5]

Warning and Precautions:
1. This antibody contains less than 0.1% sodium azide. Concentrations less than 0.1% are not reportable hazardous materials according to U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard communication and EC Directive 91/155/EC. Sodium azide (NaN_3) used as a preservative is toxic if ingested. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent azide build-up in plumbing. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)[6]
2. Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions. Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents and specimens. If reagents or specimens come into contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water.[7]
3. Microbial contamination of reagents may result in an increase in nonspecific staining.
4. Incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. The user must validate any such change.
5. Do not use reagent after the expiration date printed on the vial.
6. Prediluted antibody reagent is optimally diluted for use. Further dilution may result in loss of antigen staining.
7. Dilution of concentrated antibody reagent must be validated before use. Any diluent used that is not specifically recommended also must be validated for compatibility and stability.
8. Dispose of all used reagents and any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious waste. It is the responsibility of each laboratory to handle solid and liquid waste according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of it (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.
9. Follow local disposal regulations for your location along with recommendations in the Safety Data Sheet to determine the safe disposal of this product
10. The SDS is available upon request and is located at http://biocare.net.
11. To report suspected serious incidents related to this device, contact the local Biocare representative and the competent authority of the Member State or Country in which the user is established.

Instructions for Use:
Recommended Staining Protocols for SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX and manual use:

API3099 and IPI3099 for intelliPATH FLX and manual use, has been standardized with MACH 4 detection system. Use TBS for washing steps.	
Peroxide Block:	Block for 5 minutes with Peroxidazed 1
Pretreatment:	Perform heat retrieval using Diva Decloaker. Refer to the Diva Decloaker data sheet for specific instructions.
Protein Block (Optional):	Incubate for 5-10 minutes at RT with Background Punisher.
Primary Antibody:	Incubate for 30 minutes at RT.
Detection:	Probe: Incubate for 10 minutes at RT with a secondary probe.
	Polymer: Incubate for 10-20 minutes at RT with a tertiary polymer.
Chromogen:	Incubate for 5 minutes at RT with Biocare's DAB -OR- Incubate for 5-7 minutes at RT with Warp Red.
Counterstain:	Counterstain with hematoxylin. Rinse with deionized water. Apply Tacha's Bluing Solution for 1 minute. Rinse with deionized water.
IPI3099 is intended for use with the intelliPATH FLX. Refer to the User Manual for specific instructions for use. When using the intelliPATH FLX, peroxide block with intelliPATH FLX Peroxidase Blocking Reagent (IPB5000) may be performed following heat retrieval.	

ONCORE Pro Automated Slide Staining System:

OPAI3099 is intended for use with the ONCORE Pro. Refer to the User Manual for specific instructions for use. Protocol parameters in the Protocol Editor should be programmed as follows:		
Chromogen Staining Option	**DAB**	**Red**
Protocol Name:	SOX10	SOX10 AP
Protocol Template (Description):	Special Template (ONCORE Pro-Tect Detection Required)	Ms AP Template 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR1, high pH; 103°C	AR1, high pH; 103°C
Block Option:	Buffer	Buffer
Reagent Name, Time, Temp.:	SOX10, 59 min., 37°C	SOX10, 59 min., 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 is intended for use with the BenchMark ULTRA. Refer to the User Manual for specific instructions for use. Recommended protocol parameters are as follows:	
Template/Detection:	ultraView DAB
Pretreatment Protocol:	CC1 Standard
Peroxidase:	N/A
Primary Antibody:	32 minutes, 37°C
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minutes
Peroxidase:	Pre Primary Peroxidase Inhibitor
Primary Antibody:	16 minutes, 36°C

Q Series – For Leica BOND-III:

ALI3099 is intended for use with the Leica BOND-III. Refer to the User Manual for specific instructions for use. Recommended protocol parameters are as follows:		
Chromogen Staining Option	**DAB**	**Red**
Protocol Name:	IHC Protocol F	IHC Protocol J
Detection:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Red
HIER:	20 min with ER2	20 min with ER2
Peroxide Block:	5 min	
Marker (Primary Antibody):	15 min	15 min
Post Primary:	8 min	
Polymer:	8 min	
Post Primary AP:		20 min
Polymer AP:		30 min
Mixed Chromogen Refine:	10 min	10 min + 5 min
Hematoxylin:	5 min	5 min

Quality Control:
Refer to CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011[8]

Positive Tissue Control: Melanoma
External Positive control materials should be fresh specimens fixed, processed, and embedded as soon as possible in the same manner as the patient sample(s). Positive tissue controls are indicative of correctly prepared tissues and proper staining techniques. One positive external tissue control for each set of test conditions should be included in each staining run.

The tissues used for the external positive control materials should be selected from patient specimens with well-characterized low levels of the positive target activity that gives weak positive staining. The low level of positivity for external positive controls is designed to ensure detection of subtle changes in the primary antibody sensitivity from instability or problems with the IHC methodology. Commercially available tissue control slides or specimens processed differently from the patient sample(s) validate reagent performance only and do not verify tissue preparation.

Known positive tissue controls should only be utilized for monitoring the correct performance of processed tissues and test reagents, rather than as an aid in formulating a specific diagnosis of patient samples. If the positive tissue controls fail to demonstrate positive staining, results with the test specimens should be considered invalid.

Negative Tissue Control:
Use a negative tissue control (known to *be SOX10* negative) fixed, processed, and embedded in a manner identical to the patient sample(s) with each staining run to verify the specificity of the IHC primary antibody for demonstration of the target antigen, and to provide an indication of specific background staining (false positive staining). Also, the variety of different cell types present in most tissue sections can be used by the laboratorian as internal negative control sites to verify the IHC's performance specifications. The types and sources of specimens that may be used for negative tissue controls are listed in the Performance Characteristics section.

If specific staining (false positive staining) occurs in the negative tissue control, results with the patient specimens should be considered invalid.

Nonspecific Negative Reagent Control:
Use a nonspecific negative reagent control in place of the primary antibody with a section of each patient specimen to evaluate nonspecific staining and allow better interpretation of specific staining at the antigen site. Ideally, a negative reagent control contains a SOX10 IgG1 antibody produced from tissue culture supernatant in the same way as the primary antibody but exhibits no specific reactivity with human tissues in the same matrix/solution as the Biocare antibody. Dilute a negative control antibody to the same immunoglobulin or protein concentration as the diluted primary antibody using the identical diluent. If fetal calf serum is retained in the neat antibody after processing, fetal calf serum at a protein concentration equivalent to the diluted primary antibody in the same diluent is also suitable for use. (Refer to reagent provided). Diluent alone may be used as a less desirable alternative to the previously described negative reagent controls. The incubation period for the negative reagent control should correspond to that of the primary antibody.

When panels of several antibodies are used on serial sections, the negatively staining areas of one slide may serve as a negative/nonspecific binding background control for other antibodies. To differentiate endogenous enzyme activity or nonspecific binding of enzymes from specific immunoreactivity, additional patient tissues may be stained exclusively with substrate-chromogen or enzyme complexes (PAP, avidin-biotin, streptavidin) and substrate-chromogen, respectively.

Assay Verification:
Prior to initial use of an antibody or staining system in a diagnostic procedure, the user should verify the antibody's specificity by testing it on a series of in-house tissues with known immunohistochemical performance characteristics representing known positive and negative tissues. Refer to the quality control procedures previously outlined in this section of the product insert and to the quality control recommendations of the CAP Certification Program[9] for Immunohistochemistry and/or the NCCLS IHC guideline[10]). These quality control procedures should be repeated for each new antibody lot, or whenever there is a change in assay parameters. Tissues listed in the Performance Characteristics Section are suitable for assay verification.

Troubleshooting:
Follow the antibody specific protocol recommendations according to the data sheet provided. If atypical results occur, contact Biocare's Technical Support at 1-800-542-2002.

Interpretation of Staining:

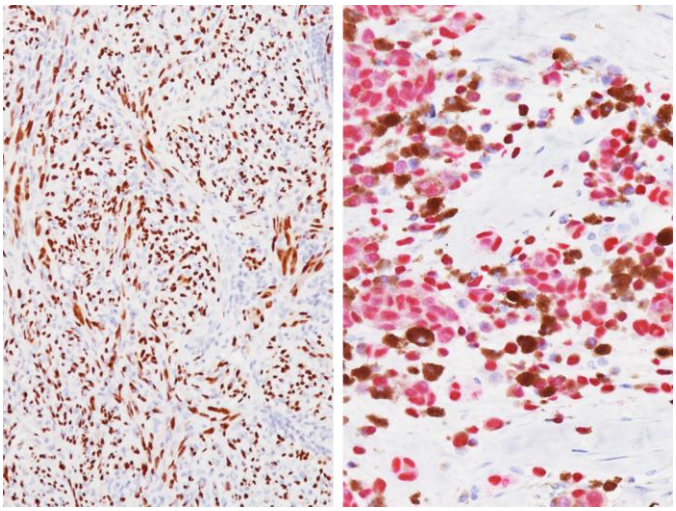
Positive Tissue Control:
The positive tissue control stained with indicated antibody should be examined first to ascertain that all reagents are functioning properly. The appropriate staining of target cells (as indicated above) is indicative of positive reactivity. If the positive tissue controls fail to demonstrate positive staining, any results with the test specimens should be considered invalid.

The color of the reaction product may vary depending on substrate chromogens used. Refer to substrate package inserts for expected color reactions. Further, metachromasia may be observed in variations of the method of staining.[11]
When a counterstain is used, depending on the incubation length and potency of the counterstain used, counterstaining will result in a coloration of the cell nuclei. Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results. Refer to protocol(s) for recommended counterstain.

Negative Tissue Control:
The negative tissue control should be examined after the positive tissue control to verify the specificity of the labeling of the target antigen by the primary antibody. The absence of specific staining in the negative tissue control confirms the lack of antibody cross reactivity to cells/cellular components. If specific staining (false positive staining) occurs in the negative external tissue control, results with the patient specimen should be considered invalid.

Nonspecific staining, if present, usually has a diffuse appearance. Sporadic staining of connective tissue may also be observed in sections from excessively formalin-fixed tissues. Use intact cells for interpretation of staining results. Necrotic or degenerated cells often stain nonspecifically.

Patient Tissue:
Examine patient specimens stained with indicated antibody last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any nonspecific background staining of the negative reagent control. As with any immunohistochemical test, a negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells/tissue assayed. If necessary, use a panel of antibodies to identify false-negative reactions.



(Left) Spindle cell melanoma (DAB); (Right) Pigmented melanoma (Fast red).

Refer to Summary and Explanation, Limitations, and Performance Characteristics for specific information regarding indicated antibody immunoreactivity.

Limitations:

General Limitations:
1. For *in vitro* diagnostic Use
2. This product is for professional use only: Immunohistochemistry is a multistep diagnostic process that consists of specialized training in the selection of the appropriate reagents; tissue selection, fixation, and processing; preparation of the IHC slide; and interpretation of the staining results.
3. Tissue staining is dependent on the handling and processing of the tissue prior to staining. Improper fixation, freezing, thawing, washing, drying, heating, sectioning or contamination with other tissues or fluids may produce artifacts, antibody trapping, or false negative results. Inconsistent results may be due to variations in fixation and embedding methods, or to inherent irregularities within the tissue.[12]
4. Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results.
5. The clinical interpretation of any positive or negative staining should be evaluated within the context of clinical presentation, morphology, and other histopathological criteria. The clinical interpretation of any positive or negative staining should be complemented by morphological studies using proper positive and negative internal and external controls as well as other diagnostic tests. It is the responsibility of a qualified pathologist who is familiar with the proper use of IHC antibodies, reagents, and methods to interpret all the steps used to prepare and interpret the final IHC preparation.
6. The optimum antibody dilution and protocols for a specific application can vary. These include, but are not limited to fixation, heat-retrieval method, incubation times, tissue section thickness and detection kit used. Due to the superior sensitivity of these unique reagents, the recommended incubation times and titers listed are not applicable to other detection systems, as results may vary. The data sheet recommendations and protocols are based on exclusive use of Biocare products. Ultimately, it is the responsibility of the investigator to determine optimal conditions.
7. This product is not intended for use in flow cytometry. Performance characteristics have not been determined for flow cytometry.
8. Tissues from persons infected with hepatitis B virus and containing hepatitis B surface antigen (HBsAg) may exhibit nonspecific staining with horseradish peroxidase.[13]
9. Reagents may demonstrate unexpected reactions in previously untested tissues. The possibility of unexpected reactions even in tested tissue groups cannot be completely eliminated due to biological variability of antigen expression in neoplasms, or other pathological tissues.[14] Contact Biocare's Technical Support at 1-800-542-2002, or via the technical support information provided on biocare.net, with documented unexpected reaction(s).
10. Normal/nonimmune sera from the same animal source as secondary antisera used in blocking steps may cause false-negative or false-positive results due to autoantibodies or natural antibodies.
11. False-positive results may be seen due to non-immunological binding of proteins or substrate reaction products. They may also be caused by pseudo peroxidase activity (erythrocytes), endogenous peroxidase activity (cytochrome C), or endogenous biotin (e.g., liver, breast, brain, kidney) depending on the type of immunostain used.[12]

Product Specific Limitations:
No product specific limitations noted.

Performance Characteristics:
Sensitivity, specificity, and cross-reactivity are summarized in Tables 1 and 2, respectively.

Immunoreactivity:
The following positive and negative immunoreactivities have been demonstrated in Tables 1 and 2 below.

The list provided below is not exhaustive but characterizes the types of immunoreactivities observed with the indicated antibody.

Analytical Performance:
Staining tests for sensitivity and specificity were conducted and the results are listed below.

Sensitivity and Specificity:

Table 1: Sensitivity and specificity were determined by testing formalin-fixed, paraffin-embedded diseased tissues.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Melanoma (Cutaneous)	73	87 (83.9%)
Metastatic melanoma	19	19 (100%)
Spindle cell melanoma	28	29 (96.6%)
Desmoplastic melanoma	3	3 (100%)
Desmoplastic/Spindle cell mixed features	2	2 (100%)
Epithelioid melanoma	2	2 (100%)
Sarcomatoid melanoma	2	2 (100%)
Plasmacytoid melanoma	2	2 (100%)
Balloon cell melanoma	1	1 (100%)
Rhabdoid melanoma	20	20 (100%)
Benign Nevus (Various)	28	28 (100%)
Schwannoma (Neurilemmoma)	73	87 (83.9%)

Table 2: Tissue cross-reactivity was determined by testing formalin-fixed, paraffin-embedded normal tissues.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Cerebrum	4	6*
Cerebellum	2	3*
Adrenal	0	3
Ovary	0	3
Pancreas	0	3
Thyroid	0	3
Parathyroid	0	3
Testis	0	3
Bone	0	3
Spleen	0	3
Tonsil	0	3
Thymus	0	3
Bone marrow	0	3
Lung	0	3
Heart	0	3
Esophagus	0	3
Pituitary	0	3
Breast	2	3*
Stomach	0	3
Small intestine	0	3
Colon	0	3
Liver	0	3
Salivary gland	2	3*
Kidney	0	3
Prostate	0	3
Uterus	0	3
Uterine cervix	0	3
Skeletal muscle	0	3
Skin	3	3*
Peripheral nerve	2	3*
Lung	0	3
Larynx	0	3
Bladder	0	3
Placenta	0	3
Mesothelium	0	3

*Cerebrum and cerebellum: oligodendrocytes and some astrocytes; breast: myoepithelial cells; salivary gland: myoepithelial cells; skin: melanocytes; peripheral nerve: Schwann cells.

Troubleshooting:

1. No staining of any slides – Check to determine appropriate positive control tissue, antibody, and detection products have been used.
2. Weak staining of all slides – Check to determine appropriate positive control tissue, antibody, and detection products have been used.
3. Excessive background of all slides – There may be high levels of endogenous biotin (if using biotin-based detection products), endogenous HRP activity converting chromogen to colored end product (use peroxidase block), or excess non-specific protein interaction (use a protein block, such as serum- or casein-based blocking solution).
4. Tissue sections wash off slides during incubation – Check slides to ensure they are positively charged.
5. Specific staining too dark – Check protocol to determine if proper antibody titer was applied to slide, as well as proper incubation times for all reagents. Additionally, ensure the protocol has enough washing steps to remove excess reagents after incubation steps are completed.

References:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline antibodies are developed solely by Biocare Medical LLC and do not imply approval or endorsement of Biocare antibodies by Ventana Medical Systems, Inc or Roche. Biocare, Ventana and Roche are not affiliated, associated, or related in any way. Ventana®, BenchMark®, ultraView and OptiView are trademarks of Roche.

Q Series antibodies are developed solely by Biocare Medical LLC and do not imply approval or endorsement of Biocare antibodies by Leica Biosystems. Biocare and Leica Biosystems are not affiliated, associated, or related in any way. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX, and BOND-III are trademarks of Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Bulgarian

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Предназначение:
За *инвитро* Диагностична употреба
SOX10 (M) [BC34] е мише моноклонално антитяло, което е предназначено за професионална лабораторна употреба след първоначалната диагноза на тумора чрез конвенционална хистопатология, използваща неимунологични хистохимични оцветявания, при качествената идентификация на SOX10 протеин чрез имунохистохимия (IHC) в човешки тъкани, фиксирани във формалин, вградени в парафин (FFPE). Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или липсата му трябва да бъде допълнена от морфологични изследвания, като се използват подходящи контроли и трябва да бъде оценена в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични тестове от квалифициран патолог като помощ при вземането на други клинични определения.

Резюме и обяснение:
Свързаният с транскрипционния фактор SRY HMG-Box ген 10 (SOX10) играе важна роля в развитието на нервния гребен, периферната нервна система и меланоцитните клетки.[15-17] SOX10 е широко експресиран в нормални човешки тъкани, включително меланоцити и гръдна тъкан. SOX10 също е важен маркер при злокачествени тумори като меланом, карцином на гърдата, глиоми и доброкачествени тумори като шваноми.[17-20] По-важното е, че е доказано, че SOX10 се експресира в 97-100% от дезмопластичните и вретеноклетъчните меланоми и също така е доказано, че се експресира в 100% от невусите.[15] Вретеноклетъчните и дезмопластичните меланоми са редки варианти на инвазивен кожен меланом, с годишна честота на заболеваемост от приблизително 2 на 100 000.[21] По-голямата част от олигодендроглиомите и голям процент от астроцитомите и слабо диференцираните глиобластоми също са показали, че експресират SOX10.[17,19]

Патент на САЩ 9,816,997 и чакащи патенти.

Принцип на процедурата:
Това антитяло може да се използва като първично антитяло при имунохистохимично изследване на фиксирани във формалин, вградени в парафин тъканни срезове. Като цяло имунохистохимичните (IHC) техниките на оцветяване позволяват визуализация на антигени чрез последователно прилагане на а специфично антитяло към антигена (първично антитяло), вторично антитяло към първичното антитяло (по избор свързващо антитяло/сонда), ензимен комплекс и хромогенен субстрат с вмъкнати стъпки на промиване. Ензимното активиране на хромогена води до видим реакционен продукт на мястото на антигена. След това образецът може да бъде насрещно оцветен и покрит с капак. Резултатите се интерпретират с помощта на светлина микроскоп и помощ при диференциалната диагноза на патофизиологични процеси, които могат или може да не са свързани с определен антиген.

Материали и методи:

Осигурени реагенти:
Източник на хост: Мишка моноклонална
Реактивност на видовете: Човек; други видове не са тествани.
Клонинг: BC34
Изотип: IgG1
Концентрация на протеин: Свържете се с техническата поддръжка на Biocare за конкретна концентрация на Ig.
Специфичност: SOX10
Клетъчна локализация: Ядрена
Метод: Афинитетно пречистен миши моноклонален.

Разтваряне, смесване, разреждане, титруване:
Предварително разреден реагент за антитела е оптимално разреден за използване с платформите за оцветяване по-долу. По-нататъшното разреждане може да доведе до загуба на антигенно оцветяване. Потребителят трябва да потвърди всяка такава промяна. Разликите в обработката на тъкани и техническите процедури в лабораторията на потребителя могат да доведат до значителна променливост в резултатите, което налага редовно извършване на вътрешни контроли (вижте раздел Контрол на качеството).
Концентрираният реагент изисква разреждане, както е посочено в таблицата по-горе.

Известни приложения:
Имунохистохимия (фиксирани във формалин тъкани, вградени в парафин)

Доставя се като:
Буфериран физиологичен разтвор, pH 6,1 – 7,4, съдържащ протеинов носител и по-малко от 0,1% консервант натриев азид. Вижте Информационния лист за безопасност за допълнителни подробности.

Необходими, но неосигурени материали и реактиви:
Микроскопски предметни стъкла са положително заредени.
Положителни и отрицателни тъканни контроли
Пустинна камера (или подобна сушилня)
Ксилен или заместител на ксилен
Етанол или реактив алкохол
Камера за разкриване (тенджера под налягане)
Дейонизирана или дестилирана вода
Измиващ буфер
Реагенти за предварителна обработка
Пероксидазен блок
Протеинов блок (по избор)
Сонда за откриване и полимер
Реагенти за отрицателна контрола
Хромогени
Хематоксилин (контраоцветяване)
Реагент за посиняване
Монтажна среда
Покривно стъкло
Светлинен микроскоп (40-400 пъти увеличение)
Автоматизирана платформа за оцветяване на слайдове

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Конфигурациите на продукта с антитела са налични за използване на инструментите, посочени в таблицата по-горе.

Съхранение и стабилност:
Съхранявайте при 2ºC до 8ºC. Продуктът е стабилен до срока на годност, отпечатан върху етикета на флакона, когато се съхранява при тези условия. Да не се използва след изтичане на срока на годност. Съхранението при условия, различни от посочените, трябва да бъде проверено. Разредените реагенти трябва да се използват незабавно; съхранявайте останалия реагент при 2ºC до 8ºC. Стабилността на разредения от потребителя реагент не е установена от Biocare.

Положителните и отрицателните контроли трябва да се провеждат едновременно с всички проби от пациенти. Ако се наблюдава неочаквано оцветяване, което не може да се обясни с вариации в лабораторните процедури и се подозира проблем с антитялото, свържете се с техническата поддръжка на Biocare на 1-800-542-2002 или чрез информацията за техническа поддръжка, предоставена на biocare.net.

Подготовка на пробата:
Тъканчетата, фиксирани във формалин, са подходящи за използване преди вграждане в парафин. Костните тъкани трябва да бъдат декалцифицирани преди обработката на тъканите, за да се улесни разрязването на тъканите и да се предотврати повреда на остриетата на микротома.[1,2]

Правилно фиксирани и вградени тъкани, експресиращи определената антигенна цел, трябва да се съхраняват на хладно място. Законът за подобряване на клиничната лаборатория (CLIA) от 1988 г. изисква в 42 CFR §493.1259(b), че „Лабораторията трябва да съхранява оцветени слайдове най-малко десет години от датата на изследване и съхранявайте блоковете с проби най-малко две години от датата на изследването."[3]

Третиране на тъкани преди оцветяване:
Извършете индуцирано от топлина извличане на епитоп (HIER) съгласно препоръчания протокол по-долу. Доказано е, че рутинното използване на HIER преди IHC минимизира несъответствието и стандартизира оцветяването.[4,5]

Предупреждение и предпазни мерки:
1. Това антитяло съдържа по-малко от 0,1% натриев азид. Концентрации по-малки от 0,1% не са опасни материали, които не подлежат на докладване, съгласно U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA съобщение за опасност и Директива 91/155/ЕС на ЕО. Натриев азид (NaN_3), използван като консервант, е токсичен при поглъщане. Натриевият азид може да реагира с оловни и медни водопроводи, за да образува силно експлозивни метални азиди. При изхвърляне, изплакнете с големи количества вода, за да предотвратите натрупването на азид във водопроводната инсталация. (Център за контрол на заболяванията, 1976 г., Национален институт по безопасност и здраве при работа, 1976 г.)[6]
2. Пробите, преди и след фиксиране, и всички материали, изложени на тях, трябва да се третират като способни да предадат инфекция и да се изхвърлят с подходящи предпазни мерки. Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагентите и пробите. Ако реактиви или проби влязат в контакт с чувствителни зони, измийте ги с обилно количество вода.[7]
3. Микробното замърсяване на реагентите може да доведе до увеличаване на неспецифичното оцветяване.
4. Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да дадат грешни резултати. Потребителят трябва да потвърди всяка такава промяна.
5. Не използвайте реагент след срока на годност, отпечатан върху флакона.
6. Предварително разреден реагент на антитяло е оптимално разреден за употреба. По-нататъшното разреждане може да доведе до загуба на антигенно оцветяване.
7. Разреждането на концентрирания реагент за антитяло трябва да бъде валидирано преди употреба. Всеки използван разредител, който не е специално препоръчан, също трябва да бъде валидиран за съвместимост и стабилност.
8. Изхвърлете всички използвани реагенти и всички други замърсени материали за еднократна употреба, като следвате процедурите за инфекциозни или потенциално инфекциозни отпадъци. Отговорност на всяка лаборатория е да борави с твърди и течни отпадъци според тяхното естество и степен на опасност и да ги третира и изхвърля (или да ги накара да бъдат третирани и изхвърлени) в съответствие с всички приложими разпоредби.
9. Следвайте местните разпоредби за изхвърляне за вашето местоположение заедно с препоръките в информационния лист за безопасност, за да определите безопасното изхвърляне на този продукт
10. ИЛБ е достъпен при поискване и се намира на http://biocare.net.
11. За да съобщите за предполагаеми сериозни инциденти, свързани с това устройство, свържете се с местния представител на Biocare и компетентния орган на държавата членка или държавата, в която е установен потребителят.

Инструкции за употреба:
Препоръчителни протоколи за оцветяване за SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX и ръчна употреба:

API3099 и IPI3099 за intelliPATH FLX и ръчна употреба, е стандартизиран с MACH 4 система за откриване. Използвайте TBS за стъпките на измиване.	
Пероксиден блок:	Блок за 5 минути с Peroxidazed 1
Предварителна обработка:	Извършете извличане на топлина с помощта на Diva Decloaker. Обърнете се към информационния лист на Diva Decloaker за конкретни инструкции.
Протеинов блок (по избор):	Инкубирайте за 5-10 минути при RT с Background Punisher.
Първично антитяло:	Инкубирайте за 30 минути при RT.
Откриване:	Сонда: Инкубирайте за 10 минути при RT с вторична сонда.
	Полимер: Инкубирайте за 10-20 минути при стайна температура с третичен полимер.
Хромоген:	Инкубирайте за 5 минути при стайна температура с DAB -OR- на Biocare Инкубирайте за 5-7 минути при стайна температура с Warp Red.
Counterstain:	Контраоцветяване с хематоксилин. Изплакнете с дейонизирана вода. Нанесете Tacha's Bluing Solution за 1 минута. Изплакнете с дейонизирана вода.
IPI3099 е предназначен за използване с intelliPATH FLX. Обърнете се към ръководството за потребителя за конкретни инструкции за употреба. Когато използвате intelliPATH FLX, може да се извърши пероксиден блок с intelliPATH FLX блокиращ пероксидаза реагент (IPB5000) след възстановяване на топлината.	

Автоматизирана система за оцветяване на слайдове ONCORE Pro:

OPAI3099 е предназначен за използване с ONCORE Pro. Обърнете се към ръководството за потребителя за конкретни инструкции за

употреба. Параметрите на протокола в редактора на протоколи трябва да бъдат програмирани, както следва:		
Опция за оцветяване с хромоген	**DAB**	**червен**
Име на протокола:	SOX10	ПРИЛОЖЕНИЕ SOX10
Шаблон на протокол (описание):	Специален шаблон (Изисква се откриване на ONCORE Pro-Tect)	Г-жа АР Шаблон 1
Депарафинизация (опция DS буфер):	DS2-50	DS2-50
Извличане на антиген (опция AR):	AR1, високо pH; 103°C	AR1, високо pH; 103°C
Опция за блокиране:	Буфер	Буфер
Име на реагента, време, температура:	SOX10, 59 мин., 37°C	SOX10, 59 мин., 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 е предназначен за използване с BenchMark ULTRA. Обърнете се към ръководството за потребителя за конкретни инструкции за употреба. Препоръчителните параметри на протокола са както следва:	
Шаблон/откриване:	ultraView DAB
Протокол за предварителна обработка:	CC1 стандарт
Пероксидаза:	N/A
Първично антитяло:	32 минути, 37°C
Шаблон/откриване:	OptiView DAB IHC
Протокол за предварителна обработка:	CC1 32 минути
Пероксидаза:	Предпървичен пероксидазен инхибитор
Първично антитяло:	16 минути, 36°C

Серия Q – за Leica BOND-III:

ALI3099 е предназначен за използване с Leica BOND-III. Обърнете се към ръководството за потребителя за конкретни инструкции за употреба. Препоръчителните параметри на протокола са както следва:		
Опция за оцветяване с хромоген	**DAB**	**червен**
Име на протокола:	IHC протокол F	IHC протокол J
Откриване:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Red
ТУК:	20 минути с ER2	20 минути с ER2
Пероксиден блок:	5 минути	
Маркер (първично антитяло):	15 мин	15 мин
Публикувай първичен:	8 мин	
Полимер:	8 мин	
След първичен АР:		20 мин
Полимер АР:		30 мин
Смесено хромогенно пречистване:	10 мин	10 мин + 5 мин
Хематоксилин:	5 минути	5 минути

Контрол на качеството:
Обърнете се към стандартите за качество на CLSI за проектиране и прилагане на имунохистохимични анализи; Одобрено ръководство-второ издание (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA САЩ (www.clsi.org). 2011 г.

Положителен тъканен контрол: Меланом
Материалите за външна положителна контрола трябва да бъдат пресни проби, фиксирани, обработени и вградени възможно най-скоро по същия начин като пробата(ите) на пациента. Положителните тъканни контроли са показателни за правилно подготвени тъкани и подходящи техники за оцветяване. Във всеки цикъл на оцветяване трябва да се включи една положителна външна тъканна контрола за всеки набор от условия на теста.

Тъканите, използвани за материалите за външна положителна контрола, трябва да бъдат избрани от проби от пациенти с добре охарактеризирани ниски нива на положителна целева активност, която дава слабо положително оцветяване. Ниското ниво на положителност за външни положителни контроли е предназначено да осигури откриване на фини промени в чувствителността на първичното антитяло от нестабилност или проблеми с IHC методологията. Предлаганите в търговската мрежа предметни стъкла за контрол на тъкани или проби, обработени по различен начин от пробата(ите) на пациента, валидират само ефективността на реагента и не проверяват подготовката на тъканите.

Известни положителни тъканни контроли трябва да се използват само за наблюдение на правилната работа на обработените тъкани и тестови реагенти, а не като помощ при формулиране на конкретна диагноза на проби от пациенти. Ако положителните тъканни контроли не успеят да покажат положително оцветяване, резултатите с тестовите проби трябва да се считат за невалидни.

Отрицателен тъканен контрол:
Използвайте отрицателна тъканна контрола (известна на *бъде SOX10* отрицателни), фиксирани, обработени и вградени по начин, идентичен с пробата(ите) на пациента при всяко оцветяване, за да се провери специфичността на IHC първичното антитяло за демонстрация на целевия антиген и за предоставяне на индикация за специфично фоново оцветяване (фалшиво положително оцветяване). Освен това разнообразието от различни видове клетки, присъстващи в повечето тъканни срезове, може да бъдат използвани от лабораторията като вътрешни отрицателни контролни места за проверка на работата на IHC спецификации. Типовете и източниците на проби, които могат да се използват за отрицателна тъкан контролите са изброени в раздела Характеристики на ефективността.

Ако се появи специфично оцветяване (фалшиво положително оцветяване) в отрицателната тъканна контрола, резултатите от пробите на пациента трябва да се считат за невалидни.

Неспецифичен отрицателен контролен реагент:
Използвайте неспецифична отрицателна контрола на реагента на мястото на първичното антитяло с разрез от всяка проба от пациент, за да оцените неспецифичното оцветяване и
позволяват по-добра интерпретация на специфичното оцветяване на антигенното място. В идеалния случай отрицателната реактивна контрола съдържа SOX10 IgG1 антитяло, произведено от супернатанта на тъканна култура по същия начин като първичното антитяло, но не проявява специфична реактивност с човешки тъкани в същата матрица/разтвор като Biocare антитяло. Разредете отрицателно контролно антитяло до същата концентрация на имуноглобулин или протеин като разреденото първично антитяло, като се използва идентичен разредител. Ако фетален телешки серум се задържа в чистото антитяло след обработката, фетален телешки серум с протеинова концентрация, еквивалентна на разредената първично антитяло в същия разредител също е подходящо за употреба. (Вижте предоставения реагент). Само разредител може да се използва като по-малко желана алтернатива на описаните по-горе отрицателни реактивни контроли. Инкубационният период за отрицателната

реактивна контрола трябва да съответства на този на първичното антитяло.

Когато се използват панели от няколко антитела върху серийни срезове, зоните с отрицателно оцветяване на един слайд могат да служат като отрицателна/неспецифична свързваща фонова контрола за други антитела. За да се разграничи ендогенната ензимна активност или неспецифичното свързване на ензими от специфичната имунореактивност, допълнителни тъкани на пациента могат да бъдат оцветени изключително със субстрат-хромоген или ензимни комплекси (PAP, авидин-биотин, стрептавидин) и съответно субстрат-хромоген.

Проверка на анализа:
Преди първоначалното използване на антитяло или система за оцветяване в диагностична процедура, потребителят трябва да провери специфичността на антитялото, като го тества върху поредица от вътрешни тъкани с известни имунохистохимични характеристики, представляващи известни положителни и отрицателни тъкани. Обърнете се към процедурите за контрол на качеството, посочени по-рано в този раздел на листовката на продукта, и към препоръките за контрол на качеството на програмата за сертифициране на CAP[9] за имунохистохимия и/или насоките за IHC на NCCLS[10]). Тези процедури за контрол на качеството трябва да се повтарят за всяка нова партида антитяло или винаги, когато има промяна в параметрите на анализа. Тъканите, изброени в раздела за характеристиките на ефективността, са подходящи за проверка на анализа.

Отстраняване на неизправности:
Следвайте препоръките за специфичен протокол за антитела съгласно предоставения лист с данни. Ако възникнат нетипични резултати, свържете се с техническата поддръжка на Biocare на 1-800-542-2002.

Тълкуване на оцветяването:

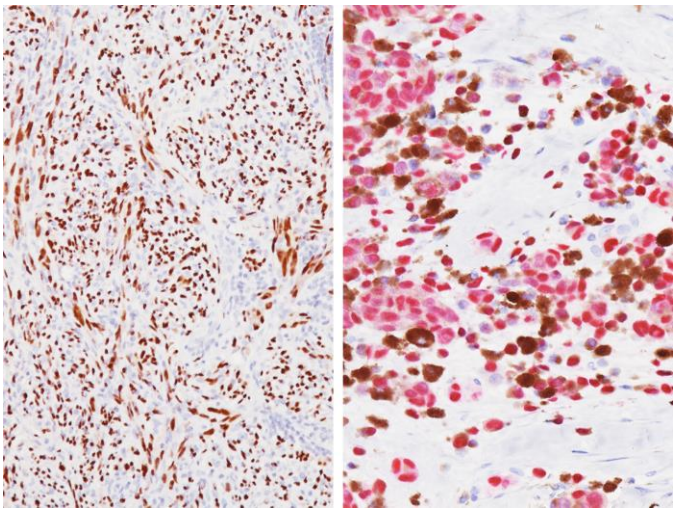
Положителен тъканен контрол:
Положителната тъканна контрола, оцветена с посоченото антитяло, трябва първо да се изследва, за да се установи, че всички реагенти функционират правилно. Подходящото оцветяване на прицелните клетки (както е посочено по-горе) е показателно за положителна реактивност. Ако положителните тъканни контроли не успеят да покажат положително оцветяване, всички резултати с тестовите проби трябва да се считат за невалидни.

Цветът на реакционния продукт може да варира в зависимост от използваните субстратни хромогени. Вижте листовките на опаковката на субстрата за очакваните цветни реакции. Освен това метахромазията може да се наблюдава при вариации на метода на оцветяване.[11]
Когато се използва противооцветяване, в зависимост от продължителността на инкубацията и ефикасността на използваното противооцветяване, противооцветяването ще доведе до оцветяване на клетъчните ядра. Прекомерното или непълно контрастно оцветяване може да компрометира правилното тълкуване на резултатите. Обърнете се към протокола(ите) за препоръчаното контраоцветяване.

Отрицателен тъканен контрол:
Отрицателната тъканна контрола трябва да се изследва след положителната тъканна контрола, за да се провери специфичността на маркирането на целевия антиген от първичното антитяло. Липсата на специфично оцветяване в отрицателната тъканна контрола потвърждава липсата на кръстосана реактивност на антитела към клетки/клетъчни компоненти. Ако се появи специфично оцветяване (фалшиво положително оцветяване) в отрицателната външна тъканна контрола, резултатите от пробата от пациента трябва да се считат за невалидни.

Неспецифичното оцветяване, ако е налице, обикновено има дифузен вид. Спорадично оцветяване на съединителната тъкан може да се наблюдава и в срезове от прекомерно фиксирани с формалин тъкани. Използвайте непокътнати клетки за тълкуване на резултатите от оцветяването. Некротичните или дегенерирали клетки често се оцветяват неспецифично.

Тъкан на пациента:
Изследвайте проби от пациенти, оцветени с посоченото антитяло последно. Положителният интензитет на оцветяване трябва да се оценява в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на отрицателната контрола с реагент. Както при всеки имунохистохимичен тест, отрицателен резултат означава, че антигенът не е бил открит, а не че антигенът е отсъствал в анализираните клетки/тъкан. Ако е необходимо, използвайте панел от антитела за идентифициране на фалшиво-отрицателни реакции.



(Вляво) Меланом на вретеновидни клетки (DAB); (Вдясно) Пигментиран меланом (Бързо червено).

Обърнете се към Резюме и обяснение, ограничения и характеристики на ефективността за конкретна информация относно посочената имунореактивност на антитела.

Ограничения:

Общи ограничения:
1. За *инвитро* диагностична употреба
2. Този продукт е само за професионална употреба: Имунохистохимията е многоетапен диагностичен процес, който се състои от специализирано обучение за избор на подходящи

реагенти; подбор, фиксиране и обработка на тъкани; подготовка на IHC слайда; и интерпретация на резултатите от оцветяването.

3. Оцветяването на тъканта зависи от обработката и обработката на тъканта преди оцветяването. Неправилното фиксиране, замразяване, размразяване, измиване, сушене, нагряване, нарязване или замърсяване с други тъкани или течности може да доведе до артефакти, улавяне на антитела или фалшиво отрицателни резултати. Непоследователните резултати може да се дължат на вариации в методите за фиксиране и вграждане или на присъщи нередности в тъканта.[12]
4. Прекомерното или непълно контрастно оцветяване може да компрометира правилното тълкуване на резултатите.
5. Клиничната интерпретация на всяко положително или отрицателно оцветяване трябва да се оценява в контекста на клиничното представяне, морфологията и други хистопатологични критерии. Клиничната интерпретация на всяко положително или отрицателно оцветяване трябва да бъде допълнена от морфологични изследвания, като се използват подходящи положителни и отрицателни вътрешни и външни контроли, както и други диагностични тестове. Отговорност на квалифициран патолог, който е запознат с правилното използване на IHC антитела, реагенти и методи, е да интерпретира всички стъпки, използвани за подготовка и тълкуване на крайния IHC препарат.
6. Оптималното разреждане на антитялото и протоколите за конкретно приложение могат да варират. Те включват, но не се ограничават до фиксиране, метод за извличане на топлина, времена на инкубация, дебелина на тъканния участък и използван комплект за откриване. Поради превъзходната чувствителност на тези уникални реагенти, посочените препоръчителни времена на инкубация и титри не са приложими за други системи за откриване, тъй като резултатите може да варират. Препоръките и протоколите в информационния лист се основават на изключителното използване на продуктите Biocare. В крайна сметка отговорност на изследователя е да определи оптималните условия.
7. Този продукт не е предназначен за използване в поточна цитометрия. Характеристиките на ефективността не са определени за поточна цитометрия.
8. Тъкани от хора, заразени с вируса на хепатит B и съдържащи повърхностен антиген на хепатит B (HBsAg), могат да проявят неспецифично оцветяване с пероксидаза от хрян.[13]
9. Реагентите могат да покажат неочаквани реакции в нетествани преди това тъкани. Възможността за неочаквани реакции дори в тествани тъканни групи не може да бъде напълно елиминирана поради биологичната вариабилност на експресията на антиген в неоплазми или други патологични тъкани.[14] Свържете се с техническата поддръжка на Biocare на 1-800-542-2002 или чрез информацията за техническа поддръжка, предоставена на biocare.net, с документирани неочаквани реакции.
10. Нормалните/неимунни серуми от същия животински източник като вторичните антисеруми, използвани в етапите на блокиране, могат да причинят фалшиво отрицателни или фалшиво положителни резултати поради автоантитела или естествени антитела.
11. Могат да се наблюдават фалшиви положителни резултати поради неимунологично свързване на протеини или продукти на субстратна реакция. Те могат също да бъдат причинени от псевдопероксидазна активност (еритроцити), ендогенна пероксидазна активност (цитохром C) или ендогенен биотин (напр. черен дроб, гърди, мозък, бъбрек) в зависимост от вида на използваното имуноцветяване.[12]

Специфични за продукта ограничения:
Не са отбелязани специфични за продукта ограничения.

Характеристики на изпълнение:
Чувствителността, специфичността и кръстосаната реактивност са обобщени съответно в таблици 1 и 2.

Имунореактивност:
Следните положителни и отрицателни имунореактивности са демонстрирани в таблици 1 и 2 по-долу.

Предоставеният по-долу списък не е изчерпателен, но характеризира видовете имунореактивност, наблюдавани с посоченото антитяло.

Аналитична производителност:
Бяха проведени тестове за оцветяване за чувствителност и специфичност и резултатите са изброени по-долу.

Чувствителност и специфичност:

Маса 1: Чувствителността и специфичността се определят чрез тестване на фиксирани във формалин, вградени в парафин болни тъкани.

Тъкан	Положителни случаи	Общо случаи
Меланом (кожен)	73	87 (83,9%)
Метастатичен меланом	19	19 (100%)
Вретеноклетъчен меланом	28	29 (96,6%)
Десмопластичен меланом	3	3 (100%)
Дезмопластични/вретеноклетъчни смесени характеристики	2	2 (100%)
Епителиоиден меланом	2	2 (100%)
Саркоматоиден меланом	2	2 (100%)
Плазмоцитоиден меланом	2	2 (100%)
Балонноклетъчен меланом	1	1 (100%)
Рабдоиден меланом	20	20 (100%)
Доброкачествен невус (различни)	28	28 (100%)
Шваном (неврилемома)	73	87 (83,9%)

Таблица 2: Тъканната кръстосана реактивност се определя чрез тестване на фиксирани във формалин, вградени в парафин нормални тъкани.

Тъкан	Положителни случаи	Общо случаи
Мозъчен мозък	4	6*
Малък мозък	2	3*
Надбъбречна	0	3
Яйчник	0	3
Панкреас	0	3
Щитовидна жлеза	0	3
паращитовидна	0	3
тестис	0	3
Костен	0	3
далак	0	3
сливица	0	3
Тимус	0	3
Костен мозък	0	3
Бял дроб	0	3
сърце	0	3
хранопровод	0	3
хипофиза	0	3
Гърди	2	3*
Стомах	0	3
Тънко черво	0	3
Дебело черво	0	3
Черен дроб	0	3
Слюнчена жлеза	2	3*
Бъбрек	0	3
Простата	0	3
Матка	0	3
Маточна шийка	0	3
Скелетни мускули	0	3
кожа	3	3*
Периферен нерв	2	3*
Бял дроб	0	3
Ларинкса	0	3
Пикочен мехур	0	3
плацента	0	3
Мезотел	0	3

*Мозък и малък мозък: олигодендроцити и някои астроцити; гърди: миоепителни клетки; слюнчени жлези: миоепителни клетки; кожа: меланоцити; периферен нерв: Шванови клетки.

Отстраняване на неизправности:

1. Няма оцветяване на предметни стъкла – Проверете, за да определите, че са използвани подходящи тъкани за положителна контрола, антитела и продукти за откриване.
2. Слабо оцветяване на всички предметни стъкла – Проверете, за да определите, че са използвани подходящи тъкани за положителна контрола, антитела и продукти за откриване.
3. Прекомерен фон на всички предметни стъкла – Възможно е да има високи нива на ендогенен биотин (ако се използват продукти за откриване на базата на биотин), ендогенна HRP активност, превръщаща хромогена в оцветен краен продукт (използвайте пероксидазен блок) или прекомерно неспецифично протеиново взаимодействие (използвайте протеин блок, като блокиращ разтвор на базата на серум или казеин).
4. Тъканните срезове се измиват от предметните стъкла по време на инкубацията – Проверете предметните стъкла, за да се уверите, че са положително заредени.
5. Специфично оцветяване е твърде тъмно – Проверете протокола, за да определите дали към предметното стъкло е приложен правилен титър на антитела, както и правилните времена на инкубация за всички реагенти. Освен това се уверете, че протоколът има достатъчно стъпки на промиване, за да се отстранят излишните реагенти след приключване на стъпките на инкубация.

Препратки:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline антителата са разработени единствено от Biocare Medical LLC и не означават одобрение или одобрение на Biocare антитела от Ventana Medical Systems, Inc или Roche. Biocare, Ventana и Roche не са свързани, свързани или свързани по никакъв начин. Ventana®, BenchMark®, ultraView и OptiView са търговски марки на Roche.

Антителата от серията Q са разработени единствено от Biocare Medical LLC и не предполагат одобрение или одобрение на антителата Biocare от Leica Biosystems. Biocare и Leica Biosystems не са свързани, свързани или свързани по никакъв начин. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX и BOND-III са търговски марки на Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Chinese (Simplified)

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

有可能的使用：

为了 *体外* 诊断用途

SOX10 (M) [BC34] 是一种小鼠单克隆抗体，在使用非免疫组织化学染色剂通过常规组织病理学对肿瘤进行初步诊断后，供专业实验室使用，用于 SOX10 的定性鉴定 通过免疫组织化学 (IHC) 检测福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 人体组织中的蛋白质。对任何染色或染色缺失的临床解释应通过使用适当对照的形态学研究来补充，并应在患者的临床病史和由合格病理学家进行的其他诊断测试的背景下进行评估，以帮助做出任何其他临床决定。

总结与说明：

转录因子 SRY 相关的 HMG-Box 基因 10 (SOX10) 在神经嵴、周围神经系统和黑素细胞发育中发挥重要作用。[15-17] SOX10 广泛表达于正常人体组织中，包括黑素细胞和乳腺组织。 SOX10 也是黑色素瘤、乳腺癌、神经胶质瘤等恶性肿瘤和神经鞘瘤等良性肿瘤的重要标志物。[17-20] 更重要的是，SOX10 已被证明在 97-100%的促纤维增生性和梭形细胞黑色素瘤中表达，并且还被证明在 100%的痣中表达。[15] 梭形细胞和促结缔组织增生性黑色素瘤是侵袭性皮肤黑色素瘤的罕见变体，年发病率约为每 100,000 人中 2 人。[21] 大多数少突胶质细胞瘤、大部分星形细胞瘤和低分化胶质母细胞瘤也被证明表达 SOX10。[17,19]

美国专利 9,816,997 和正在申请的专利。

程序原则：

该抗体产品可用作福尔马林固定、石蜡包埋的组织切片的免疫组织化学检测中的一抗。一般来说，免疫组织化学 (IHC) 染色技术允许通过连续应用抗原来可视化抗原 抗原的特异性抗体（一抗）、一抗的二抗（可选连接抗体/探针）、酶复合物和显色底物以及插入的洗涤步骤。 色原的酶促激活导致在抗原位点产生可见的反应产物。然后可以对样本进行复染，并盖上盖玻片。使用光解释结果 显微镜并有助于病理生理过程的鉴别诊断，这可能或 可能与特定抗原无关。

材料和方法：

提供的试剂：

主机来源： 小鼠单克隆
物种反应性： 人类;其他物种未测试。
克隆： BC34
同种型： 免疫球蛋白 G1
蛋白质浓度： 请联系 Biocare 的技术支持了解具体的 Ig 浓度。
特异性： 硫氧化物 10
蜂窝定位： 核
方法： 亲和纯化的小鼠单克隆抗体。

重构、混合、稀释、滴定：

预稀释的抗体试剂经过最佳稀释，可与以下染色平台一起使用。进一步稀释可能会导致抗原染色丧失。用户必须验证任何此类更改。用户实验室的组织处理和技术程序的差异可能会产生显着的结果差异，需要定期进行内部控制（参见质量控制部分）。
浓缩试剂需要按照上表所示进行稀释。

已知应用：

免疫组织化学（福尔马林固定石蜡包埋组织）

提供方式：

缓冲盐水溶液，pH 6.1 – 7.4，含有蛋白质载体和少于 0.1% 叠氮化钠防腐剂。有关更多详细信息，请参阅安全数据表。

需要但未提供的材料和试剂：

显微镜载玻片带正电。
阳性和阴性组织对照
沙漠室（或类似的干燥箱）
二甲苯或二甲苯替代品
乙醇或试剂醇
解密室（高压锅）
去离子水或蒸馏水
洗涤缓冲液
预处理试剂
过氧化物酶阻断
蛋白质块（可选）
检测探针和聚合物
阴性对照试剂
显色剂
苏木精（复染）
上蓝试剂
封固剂
盖玻片
光学显微镜（40-400X 放大倍率）
自动化玻片染色平台

抗体产品的配置可用于上表所示的仪器。

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

储存和稳定性：
储存于 2°C 至 8°C。在这些条件下储存时，该产品在小瓶标签上印刷的有效期内是稳定的。请勿在有效期后使用。必须验证在指定条件以外的任何条件下的储存。稀释后的试剂应及时使用；将所有剩余试剂储存在 2°C 至 8°C 下。Biocare 尚未确定用户稀释试剂的稳定性。

阳性和阴性对照应与所有患者标本同时进行。如果观察到意外染色，且无法通过实验室程序的变化来解释，并且怀疑抗体存在问题，请致电 1-800-542-2002 或通过 biocare.net 上提供的技术支持信息联系 Biocare 的技术支持。

样品制备：
用福尔马林固定的组织适合在石蜡包埋之前使用。在组织处理之前应将骨组织脱钙，以利于组织切割并防止损坏切片机刀片。[1,2]

正确固定和包埋表达特定抗原靶标的组织应保存在阴凉处。 1988 年临床实验室改进法案 (CLIA) 要求 42 CFR §493.1259(b) 规定"实验室必须保留染色载玻片自染色之日起至少十年"检查并保留样本块自检查之日起至少两年。"[3]

染色前组织的处理：
根据下面推荐的方案执行热诱导表位修复 (HIER)。在 IHC 之前常规使用 HIER 已被证明可以最大限度地减少不一致并使染色标准化。[4,5]

警告和注意事项:
1. 该抗体含有低于 0.1% 的叠氮化钠。根据 U.S. 29 CFR 1910.1200、OSHA 危险通报和 EC 指令 91/155/EC，浓度低于 0.1% 不属于应报告危险物质。叠氮化钠（NaN_3）用作防腐剂，如果摄入会有毒。叠氮化钠可能与铅和铜管道发生反应，形成高度爆炸性的金属叠氮化物。处置后，用大量水冲洗，以防止叠氮化物在管道中积聚。 （疾病控制中心，1976 年，国家职业安全与健康研究所，1976 年）[6]
2. 固定前后的标本以及所有暴露于其中的材料均应按照能够传播感染的方式进行处理，并采取适当的预防措施进行处置。切勿用嘴吸取试剂，并避免试剂和标本接触皮肤和粘膜。如果试剂或标本接触到敏感区域，请用大量水清洗。[7]
3. 试剂的微生物污染可能导致非特异性染色增加。
4. 未指定的孵育时间或温度可能会产生错误的结果。用户必须验证任何此类更改。
5. 试剂瓶上印有有效期后请勿使用。
6. 预稀释抗体试剂最佳稀释后使用。进一步稀释可能会导致抗原染色丧失。
7. 浓缩抗体试剂的稀释在使用前必须经过验证。任何未特别推荐使用的稀释剂也必须经过兼容性和稳定性验证。
8. 按照传染性或潜在传染性废物的程序处置所有用过的试剂和任何其他受污染的一次性材料。每个实验室都有责任根据固体和液体废物的性质和危险程度处理固体和液体废物，并根据任何适用的法规对其进行处理和处置（或委托他人处理和处置）。
9. 请遵循您所在位置的当地处置法规以及安全数据表中的建议，以确定本产品的安全处置
10. SDS 可根据要求提供，位于 http://biocare.net。
11. 要报告与本设备相关的可疑严重事件，请联系当地 Biocare 代表以及用户所在成员国或国家的主管当局。

使用说明：
SOX10 [BC34] 的推荐染色方案：

IntelliPATH FLX 和手动使用：

用于 intelliPATH FLX 和手动使用的 API3099 和 IPI3099，已通过 MACH 4 进行标准化 检测系统。使用 TBS 进行洗涤步骤。	
过氧化物块：	阻止 过氧化 1 5 分钟
预处理：	使用 Diva Decloaker 执行热检索。有关具体说明，请参阅 Diva Decloaker 数据表。
蛋白质块（可选）：	使用背景惩罚器在室温下孵育 5-10 分钟。
一抗：	室温孵育 30 分钟。
检测：	探针：使用辅助探针在室温下孵育 10 分钟。
	聚合物：在室温下与三级聚合物一起孵育 10-20 分钟。
显色剂：	使用 Biocare 的 DAB 在室温下孵育 5 分钟 - 或 - 使用 Warp Red 在室温下孵育 5-7 分钟。
复染：	用苏木精复染。用去离子水冲洗。使用 Tacha 的蓝化溶液 1 分钟。用去离子水冲洗。
IPI3099 旨在与 intelliPATH FLX 一起使用。具体使用说明请参阅用户手册。使用 intelliPATH FLX 时，可在热回收后使用 intelliPATH FLX 过氧化物酶封闭试剂 (IPB5000) 进行过氧化物封闭。	

ONCORE Pro 自动玻片染色系统：

OPAI3099 适用于 ONCORE Pro。具体使用说明请参阅用户手册。协议编辑器中的协议参数应按如下方式编程：		
显色剂染色选项	**轻拍**	**红色的**
协议名称：	硫氧化物 10	SOX10 应用程序
协议模板（描述）：	特殊模板（需要 ONCORE Pro-Tect 检测）	女士 AP 模板 1
脱蜡（DS 缓冲液选项）：	DS2-50	DS2-50
抗原修复（AR 选项）：	AR1，高 pH 值； 103℃	AR1，高 pH 值；103℃
块选项：	缓冲	缓冲
试剂名称、时间、温度：	SOX10，59 分钟，37°C	SOX10，59 分钟，37°C

Ventana 基准测试 ULTRA：

AVI3099 旨在与 BenchMark ULTRA 一起使用。具体使用说明请参阅用户手册。推荐协议参数如下：	
模板/检测：	ultraView DAB
预处理方案：	CC1 标准
过氧化物酶：	不适用
一抗：	32 分钟，37°C
模板/检测：	OptiView DAB IHC
预处理方案：	CC1 32 分钟
过氧化物酶：	预初级过氧化物酶抑制剂
一抗：	16 分钟，36°C

Q 系列 – 适用于徕卡 BOND-III：

ALI3099 旨在与 Leica BOND-III 配合使用。具体使用说明请参阅用户手册。推荐协议参数如下：		
显色剂染色选项	**轻拍**	**红色的**
协议名称：	IHC 方案 F	IHC 方案 J
检测：	粘合聚合物精炼	粘合聚合物精炼红
这里：	ER2 20 分钟	ER2 20 分钟
过氧化物块：	5 分钟	
标记物（一抗）：	15 分钟	15 分钟
小学后：	8 分钟	
聚合物：	8 分钟	
小学 AP 后：		20 分钟
聚合物 AP：		30 分钟
混合色原精炼：	10 分钟	10 分钟+5 分钟
苏木精：	5 分钟	5 分钟

质量控制：
请参阅 CLSI 免疫组织化学检测设计和实施的质量标准；批准指南 - 第二版 (I/LA28-A2) CLSI Wayne，美国宾夕法尼亚州 (www.clsi.org)。 2011 年[8]

阳性组织对照： 黑色素瘤
外部阳性对照材料应为新鲜标本，尽快以与患者样本相同的方式固定、处理和包埋。阳性组织对照表明正确制备的组织和正确的染色技术。每次染色运行中应包括每组测试条件的一个阳性外部组织对照。

用于外部阳性对照材料的组织应选自具有良好特征的低水平阳性靶标活性的患者标本，该活性呈弱阳性染色。外部阳性对照的低阳性水平旨在确保检测由于 IHC 方法不稳定或问题而导致的一抗敏感性的细微变化。市售的组织对照载玻片或与患者样本不同处理的样本仅验证试剂性能，并不验证组织制备。

已知的阳性组织对照只能用于监测处理过的组织和测试试剂的正确性能，而不是帮助制定患者样本的具体诊断。如果阳性组织对照未能表现出阳性染色，则测试样本的结果应被视为无效。

阴性组织对照：
使用阴性组织对照（已知 *成为 SOX10* 每次染色均以与患者样本相同的方式进行固定、处理和嵌入，以验证 IHC 一抗的特异性 展示目标抗原，并提供特定背景染色的指示 （假阳性染色）。此外，大多数组织切片中存在多种不同的细胞类型，可以 被实验室人员用作内部阴性对照位点以验证 IHC 的性能 规格。可用于阴性组织的标本类型和来源 控制措施列于"性能特征"部分。

如果阴性组织对照中出现特异性染色（假阳性染色），则患者标本的结果应被视为无效。

非特异性阴性试剂对照：
使用非特异性阴性试剂对照代替一抗，并使用每个患者标本的切片来评估非特异性染色和
可以更好地解释抗原位点的特异性染色。理想情况下，阴性试剂对照包含以与一抗相同的方式从组织培养上清液中产生的 SOX10 IgG1 抗体，但在与一抗相同的基质/溶液中与人体组织不表现出特异性反应性。 生物护理抗体。将阴性对照抗体稀释至与稀释的一抗相同的免疫球蛋白或蛋白质浓度 抗体使用相同的稀释剂。如果处理后的纯抗体中保留胎牛血清，则胎牛血清的蛋白质浓度相当于稀释后的抗体浓度。 同一稀释液中的一抗也适合使用。 （参见提供的试剂）。单独的稀释剂可以用作先前描述的阴性试剂对照的不太理想的替代品。阴性试剂对照的孵育时间应与一抗的孵育时间相对应。

当在连续切片上使用多个抗体组时，一张载玻片的阴性染色区域可以用作其他抗体的阴性/非特异性结合背景对照。为了区分内源性酶活性或酶的非特异性结合与特异性免疫反应性，可以分别用底物-色原或酶复合物（PAP、亲和素-生物素、链霉亲和素）和底物-色原专门对其他患者组织进行染色。

测定验证：
在诊断程序中首次使用抗体或染色系统之前，用户应通过在一系列具有代表已知阳性和阴性组织的已知免疫组织化学性能特征的内部组织上进行测试来验证抗体的特异性。请参阅产品说明书本节中先前概述的质量控制程序以及 CAP 认证计划的质量控制建议[9] 用于免疫组织化学和/或 NCCLS IHC 指南[10]）。对于每个新抗体批次，或每当测定参数发生变化时，都应重复这些质量控制程序。性能特征部分列出的组织适合用于测定验证。

故障排除：
根据提供的数据表，遵循抗体特定方案建议。如果出现非典型结果，请致电 1-800-542-2002 联系 Biocare 的技术支持。

染色解读:

阳性组织对照:

应首先检查用指定抗体染色的阳性组织对照，以确定所有试剂均正常工作。靶细胞的适当染色（如上所述）表明呈阳性反应。 如果阳性组织对照未能表现出阳性染色，则测试样本的任何结果均应被视为无效。

反应产物的颜色可能会根据所使用的底物发色团而变化。有关预期的颜色反应，请参阅基材包装插页。此外，在染色方法的变化中可以观察到异染。[11] 当使用复染剂时，根据孵育长度和所用复染剂的效力，复染将导致细胞核着色。过度或不完整的复染可能会影响结果的正确解释。请参阅建议的复染方案。

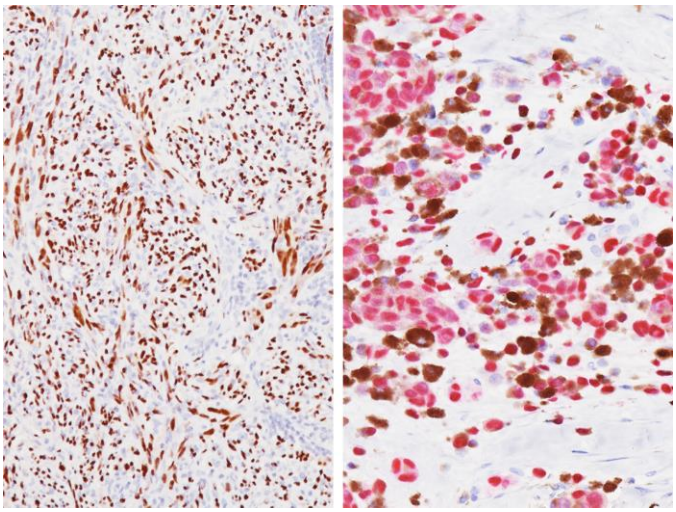
阴性组织对照:

应在阳性组织对照后检查阴性组织对照，以验证一抗标记靶抗原的特异性。阴性组织对照中缺乏特异性染色证实了抗体与细胞/细胞成分不存在交叉反应性。 如果在阴性外部组织对照中出现特异性染色（假阳性染色），则患者标本的结果应被视为无效。

非特异性染色（如果存在）通常呈弥漫性外观。在过度福尔马林固定的组织切片中也可以观察到结缔组织的零星染色。使用完整的细胞来解释染色结果。坏死或退化的细胞通常会出现非特异性染色。

患者组织:

检查用指定抗体染色的患者标本 最后的。阳性染色强度应在阴性试剂对照的任何非特异性背景染色的背景下进行评估。与任何免疫组织化学测试一样，阴性结果意味着未检测到抗原，而不是所检测的细胞/组织中不存在抗原。如有必要，使用一组抗体来识别假阴性反应。



（左）梭形细胞黑色素瘤（DAB）； （右）色素性黑色素瘤（固红）。

有关指定抗体免疫反应性的具体信息，请参阅摘要和解释、限制和性能特征。

限制:

一般限制:

1. 为了 *体外* 诊断用途
2. 该产品仅供专业用途：免疫组织化学是一个多步骤的诊断过程，包括选择适当试剂的专门培训；组织选择、固定和处理； IHC 载玻片的制备；以及染色结果的解释。
3. 组织染色取决于染色前组织的处理和处理。不正确的固定、冷冻、解冻、清洗、干燥、加热、切片或被其他组织或液体污染可能会产生伪影、抗体捕获或假阴性结果。结果不一致可能是由于固定和嵌入方法的变化，或组织内固有的不规则性。[12]
4. 过度或不完整的复染可能会影响结果的正确解释。
5. 任何阳性或阴性染色的临床解释应在临床表现、形态学和其他组织病理学标准的背景下进行评估。任何阳性或阴性染色的临床解释均应通过使用适当的阳性和阴性内部和外部对照以及其他诊断测试的形态学研究来补充。熟悉 IHC 抗体、试剂和方法的合格病理学家有责任解释用于准备和解释最终 IHC 制剂的所有步骤。
6. 针对特定应用的最佳抗体稀释度和方案可能会有所不同。这些包括但不限于固定、热回收方法、孵育时间、组织切片厚度和使用的检测试剂盒。由于这些独特试剂具有卓越的灵敏度，所列推荐的孵育时间和滴度不适用于其他检测系统，因为结果可能会有所不同。数据表建议和协议基于 Biocare 产品的独家使用。最终，研究者有责任确定最佳条件。
7. 本产品不适用于流式细胞术。流式细胞术的性能特征尚未确定。
8. 感染乙型肝炎病毒并含有乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 的人的组织可能会出现辣根过氧化物酶的非特异性染色。[13]
9. 试剂可能会在先前未测试的组织中表现出意想不到的反应。由于肿瘤或其他病理组织中抗原表达的生物变异性，即使在测试的组织组中也不能完全消除意外反应的可能性。[14] 请致电 1-800-542-2002 联系 Biocare 的技术支持，或通过 biocare.net 上提供的技术支持信息联系，并记录意外反应。
10. 由于自身抗体或天然抗体，与封闭步骤中使用的二抗血清来自相同动物来源的正常/非免疫血清可能会导致假阴性或假阳性结果。
11. 由于蛋白质或底物反应产物的非免疫结合，可能会出现假阳性结果。它们也可能由假过氧化物酶活性（红细胞）、内源性过氧化物酶活性（细胞色素 C）或内源性生物素（例如肝脏、乳腺、脑、肾）引起，具体取决于所用免疫染色的类型。[12]

产品特定限制:

没有注明产品特定限制。

性能特点:

灵敏度、特异性和交叉反应性分别总结于表 1 和表 2 中。

免疫反应性:

以下阳性和阴性免疫反应性已在下表 1 和 2 中得到证实。

下面提供的列表并不详尽，但描述了用指定抗体观察到的免疫反应类型的特征。

分析性能:

进行了敏感性和特异性的染色测试，结果列出如下。

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE
TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

敏感性和特异性：

表格 1： 通过测试福尔马林固定、石蜡包埋的患病组织来确定敏感性和特异性。

组织	正面案例	病例总数
黑色素瘤（皮肤）	73	87 (83.9%)
转移性黑色素瘤	19 号	19 (100%)
梭形细胞黑色素瘤	28	29 (96.6%)
促纤维增生性黑色素瘤	3	3 (100%)
促纤维细胞/梭形细胞混合特征	2	2 (100%)
上皮样黑色素瘤	2	2 (100%)
肉瘤样黑色素瘤	2	2 (100%)
浆细胞样黑色素瘤	2	2 (100%)
球囊细胞黑色素瘤	1	1 (100%)
横纹肌样黑色素瘤	20	20 (100%)
良性痣（各种）	28	28 (100%)
神经鞘瘤（神经鞘瘤）	73	87 (83.9%)

表 2： 通过测试福尔马林固定、石蜡包埋的正常组织来确定组织交叉反应性。

组织	正面案例	病例总数
大脑	4	6*
小脑	2	3*
肾上腺	0	3
子房	0	3
胰腺	0	3
甲状腺	0	3
甲状旁腺	0	3
睾丸	0	3
骨	0	3
脾	0	3
扁桃体	0	3
胸腺	0	3
骨髓	0	3
肺	0	3
心	0	3
食管	0	3
垂体	0	3
胸部	2	3*
胃	0	3
小肠	0	3
冒号	0	3
肝	0	3
唾液腺	2	3*
肾	0	3
前列腺	0	3
子宫	0	3
子宫颈	0	3
骨骼肌	0	3
皮肤	3	3*
周围神经	2	3*
肺	0	3
喉	0	3
膀胱	0	3
胎盘	0	3
间皮	0	3

*大脑和小脑：少突胶质细胞和一些星形胶质细胞；乳房：肌上皮细胞；唾液腺：肌上皮细胞；皮肤：黑色素细胞；周围神经：雪旺细胞。

故障排除:

1. 任何载玻片均未染色 - 检查以确定是否使用了适当的阳性对照组织、抗体和检测产品。
2. 所有载玻片的弱染色 – 检查以确定是否使用了适当的阳性对照组织、抗体和检测产品。
3. 所有载玻片的背景过多 – 可能存在高水平的内源性生物素（如果使用基于生物素的检测产品）、将色原转化为有色最终产物的内源性 HRP 活性（使用过氧化物酶块）或过量的非特异性蛋白质相互作用（使用蛋白质封闭液，例如基于血清或酪蛋白的封闭液）。
4. 孵化过程中组织切片会从载玻片上洗掉——检查载玻片以确保它们带正电。
5. 特异性染色太深 – 检查实验方案以确定是否对载玻片应用了正确的抗体滴度以及所有试剂的正确孵育时间。此外，确保方案有足够的洗涤步骤，以在孵育步骤完成后去除多余的试剂。

参考:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline 抗体由 Biocare Medical LLC 单独开发，并不意味着 Ventana Medical Systems, Inc 或罗氏批准或认可 Biocare 抗体。 Biocare、Ventana 和罗氏不存在任何附属、关联或关联。 Ventana®、BenchMark®、ultraView 和 OptiView 是罗氏的商标。

Q 系列抗体由 Biocare Medical LLC 单独开发，并不意味着 Leica Biosystems 对 Biocare 抗体的批准或认可。 Biocare 和 Leica Biosystems 不存在任何附属、关联或关联。 Leica、Leica Biosystems、BOND-MAX 和 BOND-III 是 Leica Biosystems 的商标。

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Chinese (Traditional)

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

有可能的使用:

為了 *體外* 診斷用途

SOX10 (M) [BC34] 是一種小鼠單株抗體，在使用非免疫組織化學染色劑透過常規組織病理學對腫瘤進行初步診斷後，供專業實驗室使用，用於 SOX10 的定性鑑定 透過免疫組織化學 (IHC) 檢測福馬林固定石蠟包埋 (FFPE) 人體組織中的蛋白質。對任何染色或染色缺失的臨床解釋應透過使用適當對照的形態學研究來補充，並應在患者的臨床病史和由合格病理學家進行的其他診斷測試的背景下進行評估，以幫助做出任何其他臨床決定。

總結與說明:

轉錄因子 SRY 相關的 HMG-Box 基因 10 (SOX10) 在神經嵴、週邊神經系統和黑色素細胞發育中發揮重要作用。[15-17] SOX10 廣泛表達於正常人體組織中，包括黑色素細胞和乳腺組織。 SOX10 也是黑色素瘤、乳癌、神經膠質瘤等惡性腫瘤和神經鞘瘤等良性腫瘤的重要標記。[17-20] 更重要的是，SOX10 已被證明在 97-100%的促纖維增生性和梭形細胞黑色素瘤中表達，並且也被證明在 100%的痣中表達。[15] 梭形細胞和促結締組織增生性黑色素瘤是侵襲性皮膚黑色素瘤的罕見變異體，年發生率約為每 10 萬人中 2 人。[21] 大多數少突膠質細胞瘤、大部分星狀細胞瘤和低分化膠質母細胞瘤也被證明表達 SOX10。[17,19]

美國專利 9,816,997 和正在申請的專利。

程序原則:

此抗體產品可用作福馬林固定、石蠟包埋的組織切片的免疫組織化學檢測中的一抗。一般來說，免疫組織化學 (IHC) 染色技術允許透過連續應用抗原來可視化抗原 抗原的特異性抗體（一抗）、一抗的二抗（可選連接抗體/探針）、酵素複合物和顯色底物以及插入的洗滌步驟。 色原的酵素活化導致在抗原位點產生可見的反應產物。然後可以將樣本複染，並蓋上蓋玻片。使用光解釋結果 顯微鏡並有助於病理生理過程的鑑別診斷，這可能或 可能與特定抗原無關。

材料與方法:

提供的試劑:

主機來源: 小鼠單株
物種反應性: 人類;其他物種未測試。
複製: BC34
同種型: 免疫球蛋白 G1
蛋白質濃度: 請聯絡 Biocare 的技術支援以了解特定的 Ig 濃度。
特異性: 硫氧化物 10
蜂窩定位: 核
方法: 親和純化的小鼠單株抗體。

重構、混合、稀釋、滴定:

預先稀釋的抗體試劑經過最佳稀釋，可與以下染色平台一起使用。進一步稀釋可能會導致抗原染色喪失。用戶必須驗證任何此類更改。使用者實驗室的組織處理和技術程序的差異可能會產生顯著的結果差異，需要定期進行內部控制（請參閱品質控制部分）。
濃縮試劑需要依照上表所示進行稀釋。

已知應用:

免疫組織化學（福馬林固定石蠟包埋組織）

提供方式:

緩衝鹽水溶液，pH 6.1 – 7.4，含蛋白質載體和少於 0.1% 疊氮化鈉防腐劑。
有關更多詳細信息，請參閱安全資料表。

需要但未提供的材料和試劑:

顯微鏡載玻片帶正電。
陽性和陰性組織對照
沙漠室（或類似的乾燥箱）
二甲苯或二甲苯替代品
乙醇或試劑醇
解密室（高壓鍋）
去離子水或蒸餾水
洗滌緩衝液
預處理試劑
過氧化物酶阻斷
蛋白質塊（可選）
檢測探針和聚合物
陰性對照試劑
顯色劑
蘇木精（複染）
上藍試劑
封固劑
蓋玻片
光學顯微鏡（40-400X 放大倍率）
自動化玻片染色平台

抗體產品的配置可用於上表所示的儀器。

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE
TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

儲存和穩定性:
儲存於 2°C 至 8°C。在這些條件下儲存時，該產品在小瓶標籤上印刷的有效期內是穩定的。請勿在有效期限後使用。必須驗證在指定條件以外的任何條件下的儲存。稀釋後的試劑應及時使用；將所有剩餘試劑儲存在 2°C 至 8°C 下。 Biocare 尚未確定使用者稀釋試劑的穩定性。

陽性和陰性對照應與所有患者檢體同時進行。如果觀察到意外染色，且無法透過實驗室程序的變化來解釋，並且懷疑抗體存在問題，請致電 1-800-542-2002 或透過 biocare.net 上提供的技術支援資訊聯絡 Biocare 的技術支援。

樣品製備:
用福馬林固定的組織適合在石蠟包埋前使用。在組織處理之前應將骨組織脫鈣，以利於組織切割並防止損壞切片機刀片。[1,2]

正確固定和包埋表達特定抗原標靶的組織應保存在陰涼處。 1988 年臨床實驗室改進法案 (CLIA) 要求 42 CFR §493.1259(b) 規定"實驗室必須保留染色玻片自染色之日起至少十年" 檢查並保留樣本塊自檢查之日起至少兩年。[3]

染色前組織的處理:
根據下面建議的方案執行熱誘導表位修復 (HIER)。在 IHC 之前常規使用 HIER 已被證明可以最大限度地減少不一致並使染色標準化。[4,5]

警告和注意事項:
1. 此抗體含有低於 0.1% 的疊氮化鈉。根據 U.S. 29 CFR 1910.1200、OSHA 危險通報和 EC 指令 91/155/EC，濃度低於 0.1% 不屬於應報告危險物質。疊氮化鈉（NaN_3）用作防腐劑，如果攝入會有毒。疊氮化鈉可能與鉛和銅管道反應，形成高度爆炸性的金屬疊氮化物。處置後，用大量水沖洗，以防止疊氮化物在管道中積聚。 （疾病管制中心，1976 年，國家職業安全與健康研究所，1976 年）[6]
2. 固定前後的標本以及所有暴露於其中的材料應按照能夠傳播感染的方式進行處理，並採取適當的預防措施進行處置。切勿用嘴巴吸取試劑，並避免試劑和檢體接觸皮膚和黏膜。如果試劑或檢體接觸到敏感區域，請用大量水清洗。[7]
3. 試劑的微生物污染可能導致非特異性染色增加。
4. 未指定的孵育時間或溫度可能會產生錯誤的結果。用戶必須驗證任何此類更改。
5. 試劑瓶上印有有效期限後請勿使用。
6. 預稀釋抗體試劑最佳稀釋後使用。進一步稀釋可能會導致抗原染色喪失。
7. 濃縮抗體試劑的稀釋在使用前必須經過驗證。任何未特別建議使用的稀釋劑也必須經過相容性和穩定性驗證。
8. 依照傳染性或潛在傳染性廢棄物的程序處置所有用過的試劑和任何其他受污染的一次性材料。每個實驗室都有責任根據固體和液體廢物的性質和危險程度處理固體和液體廢物，並根據任何適用的法規對其進行處理和處置（或委託他人處理和處置）。
9. 請遵循您所在位置的當地處置法規以及安全資料表中的建議，以確定本產品的安全處置
10. SDS 可依要求提供，位於 http://biocare.net。
11. 若要通報與本設備相關的可疑嚴重事件，請聯絡當地 Biocare 代表以及使用者所在會員國或國家的主管機關。

使用說明:
SOX10 [BC34] 的建議染色方案:

IntelliPATH FLX 與手動使用:

用於 intelliPATH FLX 和手動使用的 API3099 和 IPI3099，已透過 MACH 4 進行標準化 檢測系統。使用 TBS 進行洗滌步驟。	
過氧化物塊:	阻止 過氧化 1 5 分鐘
預處理:	使用 Diva Decloaker 執行熱檢索。有關具體說明，請參閱 Diva Decloaker 資料表。
蛋白質塊（可選）:	使用背景懲罰器在室溫下孵育 5-10 分鐘。
一抗:	室溫孵育 30 分鐘。
檢測:	探針：使用輔助探針在室溫下孵育 10 分鐘。
	聚合物：在室溫下與三級聚合物一起孵育 10-20 分鐘。
顯色劑:	使用 Biocare 的 DAB 在室溫下孵育 5 分鐘 - 或 - 使用 Warp Red 在室溫下孵育 5-7 分鐘。
複染:	用蘇木精複染。用去離子水沖洗。使用 Tacha 的藍化溶液 1 分鐘。用去離子水沖洗。
IPI3099 設計用於與 intelliPATH FLX 一起使用。具體使用說明請參閱使用手冊。使用 intelliPATH FLX 時，可在熱回收後使用 intelliPATH FLX 過氧化物酶封閉試劑 (IPB5000) 進行過氧化物封閉。	

ONCORE Pro 自動玻片染色系統:

OPAI3099 適用於 ONCORE Pro。具體使用說明請參閱使用手冊。協議編輯器中的協定參數應如下編程:		
顯色劑染色選項	**輕拍**	**紅色的**
協定名稱:	硫氧化物 10	SOX10 應用程式
協議模板（描述）:	特殊模板（需要 ONCORE Pro-Tect 檢測）	女士 AP 模板 1
脫蠟（DS 緩衝液選項）:	DS2-50	DS2-50
抗原修復（AR 選項）:	AR1，高 pH 值； 103℃	AR1，高 pH 值；103℃
區塊選項:	緩衝	緩衝
試劑名稱、時間、溫度:	SOX10，59 分鐘，37°C	SOX10，59 分鐘，37°C

Ventana 基準測試 ULTRA:

AVI3099 旨在與 BenchMark ULTRA 一起使用。具體使用說明請參閱使用手冊。推薦協議參數如下:	
模板/檢測:	ultraView DAB
預處理方案:	CC1 標準
過氧化物酶:	不適用
一抗:	32 分鐘，37°C
模板/檢測:	OptiView DAB IHC
預處理方案:	CC1 32 分鐘
過氧化物酶:	預初級過氧化物酶抑制劑
一抗:	16 分鐘，36°C

Q 系列 – 適用於徠卡 BOND-III:

ALI3099 旨在與 Leica BOND-III 配合使用。具體使用說明請參閱使用手冊。推薦協議參數如下:		
顯色劑染色選項	**輕拍**	**紅色的**
協定名稱:	IHC 方案 F	IHC 方案 J
檢測:	黏合聚合物精煉	黏合聚合物精煉紅
這裡:	ER2 20 分鐘	ER2 20 分鐘
過氧化物塊:	5 分鐘	
標記物（一抗）:	15 分鐘	15 分鐘
小學後:	8 分鐘	
聚合物:	8 分鐘	
小學 AP 後:		20 分鐘
聚合物 AP:		30 分鐘
混合色原精煉:	10 分鐘	10 分鐘+5 分鐘
蘇木精:	5 分鐘	5 分鐘

品質控制:
請參閱 CLSI 免疫組織化學檢測設計和實施的品質標準；核准指南 - 第二版 (I/LA28-A2) CLSI Wayne，美國賓州 (www.clsi.org)。 2011 年[8]

陽性組織對照: 黑色素瘤
外部陽性對照材料應為新鮮標本，盡快以與病患樣本相同的方式固定、處理和包埋。陽性組織對照顯示正確製備的組織和正確的染色技術。每次染色運行中應包括每組測試條件的一個陽性外部組織對照。

用於外部陽性對照材料的組織應選自具有良好特徵的低水平陽性標靶活性的患者標本，該活性呈弱陽性染色。外部陽性對照的低陽性水平旨在確保檢測由於 IHC 方法不穩定或問題而導致的一抗敏感性的細微變化。市售的組織對照玻片或與病人樣本不同處理的樣本僅驗證試劑性能，並不驗證組織製備。

已知的陽性組織對照只能用於監測處理過的組織和測試試劑的正確性能，而不是幫助制定患者樣本的特定診斷。如果陽性組織對照未能表現出陽性染色，則測試樣本的結果應被視為無效。

陰性組織對照:
使用陰性組織對照（已知 *成為 SOX10* 每次染色均以與患者樣本相同的方式進行固定、處理和嵌入，以驗證 IHC 一抗的特異性 展示目標抗原，並提供特定背景染色的指示 （假陽性染色）。此外，大多數組織切片中存在多種不同的細胞類型，可以 被實驗室人員用作內部陰性對照位點以驗證 IHC 的性能 規格。可用於陰性組織的標本類型和來源 控制措施列於「性能特徵」部分。

如果陰性組織對照中出現特異性染色（假陽性染色），則病患檢體的結果應視為無效。

非特異性陰性試劑對照:
使用非特異性陰性試劑對照代替一抗，並使用每個患者標本的切片來評估非特異性染色和
可以更好地解釋抗原位點的特異性染色。理想情況下，陰性試劑對照包含以與一抗相同的方式從組織培養上清液中產生的 SOX10 IgG1 抗體，但在與一抗相同的基質/溶液中與人體組織不表現出特異性反應性。 生物護理抗體。將陰性對照抗體稀釋至與稀釋的一抗相同的免疫球蛋白或蛋白質濃度 抗體使用相同的稀釋劑。如果處理後的純抗體中保留胎牛血清，則胎牛血清的蛋白質濃度相當於稀釋後的抗體濃度。 同一稀釋液中的一抗也適合使用。 （參見提供的試劑）。單獨的稀釋劑可以用作先前描述的陰性試劑對照的不太理想的替代品。陰性試劑對照的孵育時間應與一抗的孵育時間相對應。

當在連續切片上使用多個抗體組時，一張玻片的陰性染色區域可以用作其他抗體的陰性/非特異性結合背景對照。為了區分內源性酵素活性或酵素的非特異性結合與特異性免疫反應性，可以分別以底物-色原或酵素複合物（PAP、親和素-生物素、鏈黴親和素）和底物-色原專門對其他患者組織進行染色。

測定驗證:
在診斷程序中首次使用抗體或染色系統之前，使用者應透過在一系列具有代表已知陽性和陰性組織的已知免疫組織化學性能特徵的內部組織上進行測試來驗證抗體的特異性。請參閱產品說明書本節中先前概述的品質控製程序以及 CAP 認證計劃的品質控制建議[9] 用於免疫組織化學和/或 NCCLS IHC 指南[10]）。對於每個新抗體批次，或每當測定參數發生變化時，都應重複這些品質控製程序。性能特徵部分列出的組織適合用於測定驗證。

故障排除:
根據提供的數據表，遵循抗體特定方案建議。如果出現非典型結果，請致電 1-800-542-2002 聯絡 Biocare 的技術支援。

染色解讀:

陽性組織對照:

應先檢查用指定抗體染色的陽性組織對照，以確定所有試劑均正常運作。標靶細胞的適當染色（如上所述）顯示呈陽性反應。 如果陽性組織對照未能表現出陽性染色，則測試樣本的任何結果應被視為無效。

反應產物的顏色可能會根據所使用的底物髮色團而改變。有關預期的顏色反應，請參閱基材包裝插頁。此外，在染色方法的變化中可以觀察到異染。[11] 當使用複染劑時，根據培養長度和所用複染劑的效力，複染將導致細胞核著色。過度或不完整的複染可能會影響結果的正確解釋。請參閱建議的複染方案。

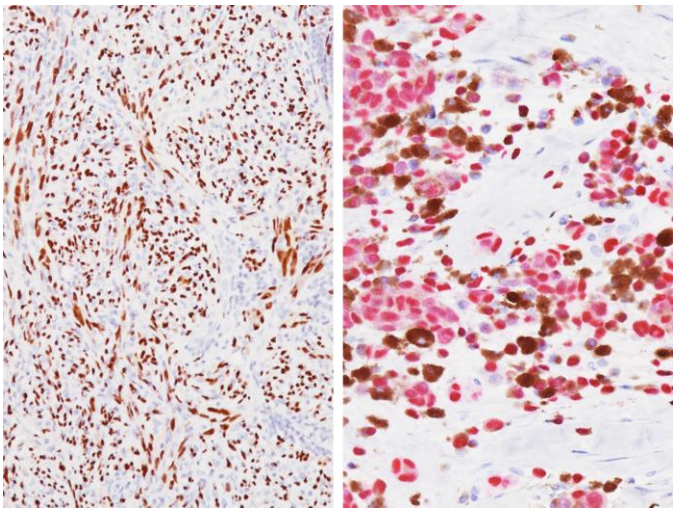
陰性組織對照:

應在陽性組織對照後檢查陰性組織對照，以驗證一抗標記標靶抗原的特異性。陰性組織對照中缺乏特異性染色證實了抗體與細胞/細胞成分不存在交叉反應性。 如果在陰性外部組織對照中出現特異性染色（假陽性染色），則病患檢體的結果應被視為無效。

非特異性染色（如果存在）通常呈現瀰漫性外觀。在過度福馬林固定的組織切片中也可以觀察到結締組織的零星染色。使用完整的細胞來解釋染色結果。壞死或退化的細胞通常會出現非特異性染色。

患者組織:

檢查用指定抗體染色的病人標本 最後的。陽性染色強度應在陰性試劑對照的任何非特異性背景染色的背景下進行評估。與任何免疫組織化學測試一樣，陰性結果意味著未檢測到抗原，而不是所檢測的細胞/組織中不存在抗原。如有必要，請使用一組抗體來識別假陰性反應。



（左）梭形細胞黑色素瘤（DAB）； （右）色素性黑色素瘤（固紅）。

有關指定抗體免疫反應性的具體信息，請參閱摘要和解釋、限制和性能特徵。

限制:

一般限制:

1. 為了 *體外* 診斷用途
2. 本產品僅供專業用途：免疫組織化學是一個多步驟的診斷過程，包括選擇適當試劑的專門培訓；組織選擇、固定和處理； IHC 載玻片的製備；以及染色結果的解釋。
3. 組織染色取決於染色前組織的處理和處理。不正確的固定、冷凍、解凍、清洗、乾燥、加熱、切片或被其他組織或液體污染可能會產生偽影、抗體捕獲或假陰性結果。結果不一致可能是由於固定和嵌入方法的變化，或組織內固有的不規則性。[12]
4. 過度或不完整的複染可能會影響結果的正確解釋。
5. 任何陽性或陰性染色的臨床解釋應在臨床表現、形態學和其他組織病理學標準的背景下進行評估。任何陽性或陰性染色的臨床解釋應透過使用適當的陽性和陰性內部和外部對照以及其他診斷測試的形態學研究來補充。熟悉 IHC 抗體、試劑和方法的合格病理學家有責任解釋用於準備和解釋最終 IHC 製劑的所有步驟。
6. 針對特定應用的最佳抗體稀釋度和方案可能會有所不同。這些包括但不限於固定、熱回收方法、孵育時間、組織切片厚度和使用的檢測試劑盒。由於這些獨特試劑具有卓越的靈敏度，所列建議的孵育時間和滴度不適用於其他檢測系統，因為結果可能會有所不同。數據表建議和協議基於 Biocare 產品的獨家使用。最終，研究者有責任確定最佳條件。
7. 本產品不適用於流式細胞儀。流式細胞儀的性能特徵尚未確定。
8. 感染 B 型肝炎病毒並含有乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 的人的組織可能會出現辣根過氧化物酶的非特異性染色。[13]
9. 試劑可能會在先前未測試的組織中表現出意想不到的反應。由於腫瘤或其他病理組織中抗原表達的生物變異性，即使在測試的組織組中也不能完全消除意外反應的可能性。[14] 請致電 1-800-542-2002 聯繫 Biocare 的技術支持，或透過 biocare.net 上提供的技術支援資訊聯繫，並記錄意外反應。
10. 由於自體抗體或天然抗體，與封閉步驟中使用的二抗血清來自相同動物來源的正常/非免疫血清可能會導致假陰性或假陽性結果。
11. 由於蛋白質或底物反應產物的非免疫結合，可能會出現假陽性結果。它們也可能由假過氧化物酶活性（紅血球）、內源性過氧化物酶活性（細胞色素 C）或內源性生物素（例如肝臟、乳腺、腦、腎）引起，這取決於所用免疫染色的種類。[12]

產品特定限制:

沒有註明產品特定限制。

性能特點:

敏感度、特異性和交叉反應性分別總結於表 1 和表 2 中。

免疫反應性:

以下陽性和陰性免疫反應性已在下表 1 和 2 中得到證實。

下面提供的清單並不詳盡，但描述了用指定抗體觀察到的免疫反應類型的特徵。

分析性能:

進行了敏感性和特異性的染色測試，結果列出如下。

敏感性和特異性:

表格 1: 透過測試福馬林固定、石蠟包埋的患病組織來確定敏感性和特異性。

組織	正面案例	病例總數
黑色素瘤（皮膚）	73	87 (83.9%)
轉移性黑色素瘤	19 號	19 (100%)
梭形細胞黑色素瘤	28	29 (96.6%)
促纖維增生性黑色素瘤	3	3 (100%)
促纖維細胞/梭形細胞混合特徵	2	2 (100%)
上皮樣黑色素瘤	2	2 (100%)
肉瘤樣黑色素瘤	2	2 (100%)
漿細胞樣黑色素瘤	2	2 (100%)
球囊細胞黑色素瘤	1	1 (100%)
橫紋肌樣黑色素瘤	20	20 (100%)
良性痣（各種）	28	28 (100%)
神經鞘瘤（神經鞘瘤）	73	87 (83.9%)

表 2: 透過測試福馬林固定、石蠟包埋的正常組織來確定組織交叉反應性。

組織	正面案例	病例總數
大腦	4	6*
小腦	2	3*
腎上腺	0	3
子房	0	3
胰臟	0	3
甲狀腺	0	3
副甲狀腺	0	3
睾丸	0	3
骨	0	3
脾	0	3
扁桃腺	0	3
胸腺	0	3
骨髓	0	3
肺	0	3
心	0	3
食道	0	3
腦下垂體	0	3
胸部	2	3*
胃	0	3
小腸	0	3
冒號	0	3
肝	0	3
唾液腺	2	3*
腎	0	3
攝護腺	0	3
子宮	0	3
子宮頸	0	3
骨骼肌	0	3
皮膚	3	3*
週邊神經	2	3*
肺	0	3
喉	0	3
膀胱	0	3
胎盤	0	3
間皮	0	3

*大腦和小腦：少突膠質細胞和一些星狀細胞；乳房：肌上皮細胞；唾液腺：肌上皮細胞；皮膚：黑色素細胞；週邊神經：雪旺細胞。

故障排除:

1. 任何玻片均未染色 - 檢查以確定是否使用了適當的陽性對照組織、抗體和檢測產品。
2. 所有玻片的弱染色 – 檢查以確定是否使用了適當的陽性對照組織、抗體和檢測產品。
3. 所有玻片的背景過多– 可能存在高水平的內源性生物素（如果使用基於生物素的檢測產品）、將色原轉化為有色最終產物的內源性 HRP 活性（使用過氧化物酶塊）或過量的非特異性蛋白質相互作用（使用蛋白質封閉液，例如基於血清或酪蛋白的封閉液）。
4. 孵化過程中組織切片會從載玻片上洗掉 - 檢查載玻片以確保它們帶正電。
5. 特異性染色太深 – 檢查實驗方案以確定是否對玻片應用了正確的抗體滴度以及所有試劑的正確孵育時間。此外，確保方案有足夠的洗滌步驟，以便在孵育步驟完成後去除多餘的試劑。

參考:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline 抗體由 Biocare Medical LLC 單獨開發，並不表示 Ventana Medical Systems, Inc 或羅氏批准或認可 Biocare 抗體。 Biocare、Ventana 和羅氏不存在任何附屬、關聯或關聯。 Ventana®、BenchMark®、ultraView 和 OptiView 是羅氏的商標。

Q 系列抗體由 Biocare Medical LLC 單獨開發，並不表示 Leica Biosystems 對 Biocare 抗體的批准或認可。 Biocare 和 Leica Biosystems 不存在任何附屬、關聯或關聯。 Leica、Leica Biosystems、BOND-MAX 和 BOND-III 是 Leica Biosystems 的商標。

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Croatian

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Namjena:
Za *in vitro* Dijagnostička upotreba
SOX10 (M) [BC34] je mišje monoklonsko protutijelo koje je namijenjeno za profesionalnu laboratorijsku uporabu nakon što je početna dijagnoza tumora postavljena konvencionalnom histopatologijom korištenjem neimunoloških histokemijskih boja, u kvalitativnoj identifikaciji SOX10 proteina imunohistokemijom (IHC) u ljudskim tkivima fiksiranim u formalinu i ugrađenim u parafin (FFPE). Kliničko tumačenje bilo kakvog bojenja ili njegove odsutnosti trebalo bi nadopuniti morfološkim studijama uz korištenje odgovarajućih kontrola te bi ga kvalificirani patolog trebao procijeniti u kontekstu kliničke povijesti pacijenta i drugih dijagnostičkih testova kao pomoć u donošenju drugih kliničkih odluka.

Sažetak i objašnjenje:
Transkripcijski faktor SRY-povezan sa HMG-Box genom 10 (SOX10) igra važnu ulogu u neuralnom grebenu, perifernom živčanom sustavu i razvoju melanocitnih stanica.[15-17 (prikaz, ostalo).] SOX10 je široko izražen u normalnim ljudskim tkivima uključujući melanocite i tkivo dojke. SOX10 je također važan marker u malignim tumorima kao što su melanom, karcinom dojke, gliomi i benigni tumori kao što su švanomi.[17-20 (prikaz, ostalo).] Što je još važnije, pokazalo se da je SOX10 izražen u 97-100% dezmoplastičnih melanoma i melanoma vretenastih stanica, a također se pokazalo da je izražen u 100% nevusa.[15] Vretenasti melanomi i dezmoplastični melanomi rijetke su varijante invazivnog melanoma kože, s godišnjom stopom incidencije od približno 2 na 100 000.[21] Također se pokazalo da većina oligodendroglioma i veliki postotak astrocitoma i slabo diferenciranih glioblastoma izražavaju SOX10.[17,19]

Američki patent 9,816,997 i patenti u tijeku.

Princip postupka:
Ovaj proizvod s antitijelima može se koristiti kao primarno antitijelo u imunohistokemijskom testiranju isječaka tkiva fiksiranih formalinom, u parafinu. Općenito, imunohistokemijski (IHC) tehnike bojenja omogućuju vizualizaciju antigena putem sekvencijalne primjene a specifično protutijelo na antigen (primarno protutijelo), sekundarno protutijelo na primarno protutijelo (neobavezna veza protutijelo/sonda), enzimski kompleks i kromogeni supstrat s umetnutim koracima ispiranja. Enzimska aktivacija kromogena rezultira vidljivim produktom reakcije na mjestu antigena. Uzorak se zatim može obojiti i prekriti. Rezultati se tumače pomoću svjetla mikroskop i pomoć u diferencijalnoj dijagnozi patofizioloških procesa, koji mogu ili ne moraju biti povezani s određenim antigenom.

Materijali i metode:

Priloženi reagensi:
Izvor hosta: Miš monoklonski
Reaktivnost vrste: ljudski; ostale vrste nisu ispitane.
Klon: BC34
Izotip: IgG1
Koncentracija proteina: Obratite se Biocare tehničkoj podršci za određenu koncentraciju Ig.
Specifičnost: SOX10
Stanična lokalizacija: Nuklearna
metoda: Afinitetno pročišćen mišji monoklonski.

Rekonstitucija, miješanje, razrjeđivanje, titracija:
Prethodno razrijeđeni reagens za antitijela optimalno je razrijeđen za upotrebu s dolje navedenim platformama za bojenje. Daljnje razrjeđivanje može rezultirati gubitkom antigenske boje. Korisnik mora potvrditi svaku takvu promjenu. Razlike u obradi tkiva i tehničkim postupcima u laboratoriju korisnika mogu proizvesti značajnu varijabilnost u rezultatima zbog čega je potrebno redovito obavljanje internih kontrola (vidi odjeljak Kontrola kvalitete).
Koncentrirani reagens zahtijeva razrjeđivanje kako je navedeno u gornjoj tablici.

Poznate primjene:
Imunohistokemija (tkiva fiksirana formalinom i parafinom)

Isporučuje se kao:
Puferirana fiziološka otopina, pH 6,1 – 7,4, koja sadrži proteinski nosač i manje od 0,1% konzervansa natrijevog azida. Pogledajte Sigurnosno-tehnički list za dodatne pojedinosti.

Potrebni materijali i reagensi koji nisu isporučeni:
Mikroskopska stakalca pozitivno nabijena.
Pozitivne i negativne kontrole tkiva
Pustinjska komora (ili slična pećnica za sušenje)
Ksilen ili zamjena za ksilen
Etanol ili reagens alkohol
Komora za skidanje maske (lonac pod pritiskom)
Deionizirana ili destilirana voda
Pufer za pranje
Reagensi za prethodnu obradu
Blok peroksidaze
Proteinski blok (po izboru)
Sonda za detekciju i polimer
Reagensi za negativnu kontrolu
Kromogeni
Hematoksilin (kontrabojenje)
Reagens za plavljenje
Montažni medij
Pokrivno staklo
Svjetlosni mikroskop (40-400X povećanje)
Automatizirana platforma za bojenje stakalca

Konfiguracije proizvoda s antitijelima dostupne su za upotrebu na instrumentima navedenima u gornjoj tablici.

Skladištenje i stabilnost:
Čuvati na temperaturi od 2ºC do 8ºC. Proizvod je stabilan do isteka roka valjanosti otisnutog na naljepnici bočice, kada se čuva pod ovim uvjetima. Ne koristiti nakon isteka roka valjanosti. Mora se provjeriti skladištenje pod bilo kojim uvjetima osim navedenih. Razrijeđene reagense treba upotrijebiti

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands
IVD CE
TP v6 (11/02/2023)
Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

odmah; pohranite preostali reagens na 2ºC do 8ºC. Biocare nije utvrdio stabilnost reagensa razrijeđenog korisnikom.

Pozitivne i negativne kontrole treba provesti istovremeno sa svim uzorcima pacijenata. Ako se primijeti neočekivano bojenje koje se ne može objasniti varijacijama u laboratorijskim postupcima i ako se sumnja na problem s antitijelima, obratite se Biocareovoj tehničkoj podršci na 1-800-542-2002 ili putem informacija o tehničkoj podršci na biocare.net.

Priprema uzorka:
Maramice fiksirane u formalinu prikladne su za upotrebu prije ugradnje u parafin. Koštana tkiva treba dekalcificirati prije obrade tkiva kako bi se olakšalo rezanje tkiva i spriječilo oštećenje oštrica mikrotoma.[1,2]

Ispravno fiksirana i ugrađena tkiva koja eksprimiraju specificirani ciljni antigen trebaju biti pohranjena na hladnom mjestu. Zakon o poboljšanju kliničkog laboratorija (CLIA) iz 1988. zahtijeva u 42 CFR §493.1259(b) da „laboratorij mora čuvati obojena stakalca najmanje deset godina od datuma ispitivanje i čuvati blokove uzoraka najmanje dvije godine od datuma ispitivanja."[3]

Obrada tkiva prije bojenja:
Provedite toplinski inducirano vraćanje epitopa (HIER) prema dolje preporučenom protokolu. Pokazalo se da rutinska uporaba HIER-a prije IHC-a smanjuje nedosljednost i standardizira bojenje.[4,5]

Upozorenje i mjere opreza:
1. Ovo antitijelo sadrži manje od 0,1% natrijevog azida. Koncentracije manje od 0,1% nisu opasni materijali koji se mogu prijaviti prema U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA obavijesti o opasnostima i EC Direktivi 91/155/EC. Natrijev azid (NaN_3) koji se koristi kao konzervans je otrovan ako se proguta. Natrijev azid može reagirati s olovnim i bakrenim vodovodnim instalacijama stvarajući vrlo eksplozivne metalne azide. Nakon odlaganja, isperite velikom količinom vode kako biste spriječili nakupljanje azida u vodovodu. (Centar za kontrolu bolesti, 1976., Nacionalni institut za sigurnost i zdravlje na radu, 1976.)[6]
2. Uzorcima, prije i nakon fiksacije, i svim materijalima koji su im bili izloženi treba rukovati kao da mogu prenijeti infekciju i treba ih zbrinuti uz odgovarajuće mjere opreza. Nikada nemojte pipetirati reagense ustima i izbjegavajte kontakt kože i sluznice s reagensima i uzorcima. Ako reagensi ili uzorci dođu u dodir s osjetljivim područjima, operite ih velikom količinom vode.[7]
3. Mikrobna kontaminacija reagensa može rezultirati povećanjem nespecifičnog bojenja.
4. Vremena inkubacije ili temperature koje nisu navedene mogu dati pogrešne rezultate. Korisnik mora potvrditi svaku takvu promjenu.
5. Nemojte koristiti reagens nakon isteka roka valjanosti otisnutog na bočici.
6. Prethodno razrijeđeni reagens za antitijela je optimalno razrijeđen za upotrebu. Daljnje razrjeđivanje može rezultirati gubitkom antigenske boje.
7. Razrjeđivanje koncentriranog reagensa protutijela mora se provjeriti prije upotrebe. Svaki korišteni razrjeđivač koji nije izričito preporučen također mora biti validiran za kompatibilnost i stabilnost.
8. Odložite sve korištene reagense i bilo koji drugi kontaminirani materijal za jednokratnu upotrebu prema postupcima za zarazni ili potencijalno zarazni otpad. Odgovornost je svakog laboratorija postupati s krutim i tekućim otpadom u skladu s njihovom prirodom i stupnjem opasnosti te ga tretirati i zbrinjavati (ili dati ih obraditi i zbrinuti) u skladu s primjenjivim propisima.
9. Slijedite lokalne propise o odlaganju za svoju lokaciju zajedno s preporukama u sigurnosno-tehničkom listu kako biste utvrdili sigurno odlaganje ovog proizvoda
10. STL je dostupan na zahtjev i nalazi se na http://biocare.net.
11. Za prijavu sumnje na ozbiljne incidente povezane s ovim uređajem obratite se lokalnom predstavniku tvrtke Biocare i nadležnom tijelu države članice ili države u kojoj korisnik ima poslovni nastan.

Upute za korištenje:
Preporučeni protokoli bojenja za SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX i ručna upotreba:

API3099 i IPI3099 za intelliPATH FLX i ručnu upotrebu, standardiziran je s MACH 4 sustav detekcije. Koristite TBS za korake pranja.	
Peroksidni blok:	Blokiraj za 5 minuta s Peroxidazed 1
Predtretman:	Izvršite vraćanje topline koristeći Diva Decloaker. Konkretne upute potražite u podatkovnoj tablici Diva Decloaker.
Proteinski blok (izborno):	Inkubirajte 5-10 minuta na sobnoj temperaturi uz Background Punisher.
Primarno protutijelo:	Inkubirajte 30 minuta na sobnoj temperaturi.
Otkrivanje:	Sonda: Inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi sa sekundarnom sondom.
	Polimer: Inkubirajte 10-20 minuta na sobnoj temperaturi s tercijarnim polimerom.
Kromogen:	Inkubirajte 5 minuta na sobnoj temperaturi s Biocare DAB -OR- Inkubirajte 5-7 minuta na sobnoj temperaturi s Warp Red.
Counterstain:	Kontrabojanje hematoksilinom. Isprati deioniziranom vodom. Nanesite Tachinu Bluing otopinu na 1 minutu. Isprati deioniziranom vodom.
IPI3099 je namijenjen za korištenje s intelliPATH FLX. Posebne upute za uporabu potražite u korisničkom priručniku. Kada koristite intelliPATH FLX, može se izvesti peroksidni blok intelliPATH FLX reagensom za blokiranje peroksidaze (IPB5000) nakon povrata topline.	

ONCORE Pro automatizirani sustav za bojenje stakalca:

OPAI3099 je namijenjen za korištenje s ONCORE Pro. Posebne upute za uporabu potražite u korisničkom priručniku. Parametri protokola u uređivaču protokola trebaju biti programirani na sljedeći način:		
Mogućnost bojenja kromogenom	**MRLJA**	**Crvena**
Naziv protokola:	SOX10	SOX10 APP
Predložak protokola (opis):	Poseban predložak (Potrebno otkrivanje ONCORE Pro-Tect)	Ms AP Predložak 1
Deparafinacija (opcija DS međuspremnika):	DS2-50	DS2-50
Dohvaćanje antigena (opcija AR):	AR1, visoki pH; 103°C	AR1, visoki pH; 103°C
Opcija blokiranja:	Pufer	Pufer
Naziv reagensa, vrijeme, temperatura:	SOX10, 59 min., 37°C	SOX10, 59 min., 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 je namijenjen za korištenje s BenchMark ULTRA. Posebne upute za uporabu potražite u korisničkom priručniku. Preporučeni parametri protokola su sljedeći:	
Predložak/otkrivanje:	ultraView DAB
Protokol predtretmana:	CC1 standard
Peroksidaza:	N/A
Primarno protutijelo:	32 minute, 37°C
Predložak/otkrivanje:	OptiView DAB IHC
Protokol predtretmana:	CC1 32 minute

Peroksidaza:	Predprimarni inhibitor peroksidaze
Primarno protutijelo:	16 minuta, 36°C

Serija Q – za Leica BOND-III:

ALI3099 je namijenjen za korištenje s Leica BOND-III. Posebne upute za uporabu potražite u korisničkom priručniku. Preporučeni parametri protokola su sljedeći:

Mogućnost bojenja kromogenom	**MRLJA**	**Crvena**
Naziv protokola:	IHC protokol F	IHC protokol J
Otkrivanje:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Red
OVDJE:	20 min s ER2	20 min s ER2
Peroksidni blok:	5 minuta	
Marker (primarno antitijelo):	15 min	15 min
Post primarni:	8 min	
Polimer:	8 min	
Post primarni AP:		20 min
Polimer AP:		30 min
Pročišćavanje miješanog kromogena:	10 min	10 min + 5 min
Hematoksilin:	5 minuta	5 minuta

Kontrola kvalitete:
Pogledajte standarde kvalitete CLSI za dizajn i provedbu imunohistokemijskih testova; Odobrene smjernice-drugo izdanje (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA SAD (www.clsi.org). 2011[8]

Pozitivna kontrola tkiva: Melanoma
Materijali za vanjsku pozitivnu kontrolu trebaju biti svježi uzorci fiksirani, obrađeni i ugrađeni što je prije moguće na isti način kao i uzorci pacijenata. Pozitivne kontrole tkiva indikativne su za pravilno pripremljena tkiva i pravilne tehnike bojenja. Jedna pozitivna vanjska kontrola tkiva za svaki niz uvjeta ispitivanja treba biti uključena u svako bojenje.

Tkiva koja se koriste za materijale za vanjsku pozitivnu kontrolu trebaju se odabrati iz uzoraka pacijenata s dobro karakteriziranim niskim razinama pozitivne ciljne aktivnosti koja daje slabo pozitivno bojenje. Niska razina pozitivnosti za vanjske pozitivne kontrole osmišljena je kako bi se osiguralo otkrivanje suptilnih promjena u primarnoj osjetljivosti antitijela zbog nestabilnosti ili problema s IHC metodologijom. Komercijalno dostupna kontrolna stakalca tkiva ili uzorci obrađeni na drugačiji način od uzorka(a) pacijenta potvrđuju samo učinkovitost reagensa, a ne potvrđuju pripremu tkiva.

Poznate pozitivne kontrole tkiva trebale bi se koristiti samo za praćenje ispravne učinkovitosti obrađenih tkiva i testnih reagensa, a ne kao pomoć u formuliranju specifične dijagnoze uzoraka pacijenata. Ako pozitivne kontrole tkiva ne pokažu pozitivno bojenje, rezultate testnih uzoraka treba smatrati nevažećima.

Negativna kontrola tkiva:
Koristite negativnu kontrolu tkiva (znate da *biti SOX10* negativan) fiksiran, obrađen i ugrađen na način identičan uzorcima pacijenata sa svakim bojenjem kako bi se potvrdila specifičnost IHC primarnog protutijela za demonstracija ciljnog antigena i davanje indikacije specifičnog pozadinskog bojenja (lažno pozitivno bojenje). Također, raznolikost različitih tipova stanica prisutnih u većini dijelova tkiva može koristiti ih laboratorij kao mjesta interne negativne kontrole za provjeru rada IHC-a tehnički podaci. Vrste i izvori uzoraka koji se mogu koristiti za negativno tkivo kontrole su navedene u odjeljku Karakteristike izvedbe.

Ako dođe do specifičnog bojenja (lažno pozitivno bojenje) u negativnoj kontroli tkiva, rezultate s uzorcima pacijenata treba smatrati nevažećima.

Nespecifična negativna kontrola reagensa:
Upotrijebite nespecifičnu negativnu kontrolu reagensa umjesto primarnog protutijela s dijelom svakog pacijentovog uzorka za procjenu nespecifičnog bojenja i
omogućuju bolje tumačenje specifičnog bojenja na mjestu antigena. Idealno, negativna kontrola reagensa sadrži SOX10 IgG1 antitijelo proizvedeno iz supernatanta kulture tkiva na isti način kao primarno antitijelo, ali ne pokazuje specifičnu reaktivnost s ljudskim tkivima u istoj matrici/otopini kao i Biocare antitijela. Razrijedite negativno kontrolno protutijelo na istu koncentraciju imunoglobulina ili proteina kao razrijeđeno primarno antitijela korištenjem identičnog razrjeđivača. Ako se fetalni teleći serum zadrži u čistom antitijelu nakon obrade, fetalni teleći serum u koncentraciji proteina koja je jednaka razrijeđenom primarno protutijelo u istom razrjeđivaču također je prikladno za upotrebu. (Pogledajte isporučeni reagens). Sam razrjeđivač može se koristiti kao manje poželjna alternativa prethodno opisanim negativnim kontrolama reagensa. Razdoblje inkubacije za negativnu kontrolu reagensa treba odgovarati onom primarnog protutijela.

Kada se paneli s nekoliko protutijela koriste na serijskim presjecima, negativno obojena područja jednog stakalca mogu poslužiti kao negativna/nespecifična pozadinska kontrola za druga protutijela. Kako bi se razlikovala endogena aktivnost enzima ili nespecifično vezanje enzima od specifične imunoreaktivnosti, dodatna tkiva bolesnika mogu se obojiti isključivo supstrat-kromogenom ili enzimskim kompleksima (PAP, avidin-biotin, streptavidin) odnosno supstrat-kromogenom.

Provjera testa:
Prije početne upotrebe antitijela ili sustava bojenja u dijagnostičkom postupku, korisnik bi trebao provjeriti specifičnost antitijela testiranjem na nizu internih tkiva s poznatim karakteristikama imunohistokemijske učinkovitosti koja predstavljaju poznata pozitivna i negativna tkiva. Pogledajte postupke kontrole kvalitete prethodno navedene u ovom odjeljku uputa za proizvod i preporuke za kontrolu kvalitete CAP programa certifikacije[9] za imunohistokemiju i/ili NCCLS IHC smjernice[10]). Ove postupke kontrole kvalitete treba ponoviti za svaku novu seriju antitijela ili kad god dođe do promjene parametara testa. Tkiva navedena u Odjeljku o karakteristikama rada prikladna su za provjeru testa.

Rješavanje problema:
Slijedite preporuke protokola specifičnih za antitijela u skladu s dostavljenom podatkovnom tablicom. Ako dođe do netipičnih rezultata, kontaktirajte Biocare tehničku podršku na 1-800-542-2002.

Tumačenje bojenja:

Pozitivna kontrola tkiva:
Prvo treba ispitati pozitivnu kontrolu tkiva obojenu navedenim protutijelima kako bi se utvrdilo da svi reagensi ispravno funkcioniraju. Odgovarajuće bojenje ciljnih stanica (kako je gore navedeno) pokazatelj je pozitivne reaktivnosti. Ako pozitivne kontrole tkiva ne pokažu pozitivno bojenje, sve rezultate s ispitnim uzorcima treba smatrati nevažećima.

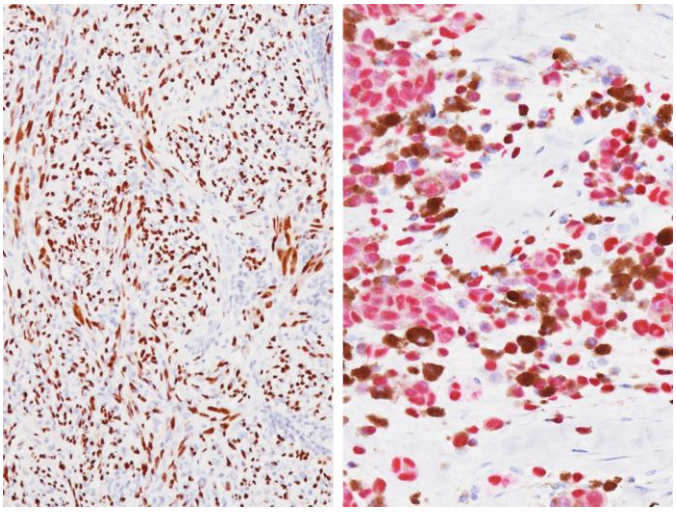
Boja produkta reakcije može varirati ovisno o korištenim kromogenima supstrata. Za očekivane reakcije boja pogledajte upute za pakiranje supstrata. Nadalje, metakromazija se može uočiti u varijacijama metode bojenja.[11]
Kada se koristi protubojenje, ovisno o duljini inkubacije i jačini korištenog protubojanja, suprotno bojenje će rezultirati obojenjem staničnih jezgri.

Pretjerano ili nepotpuno kontrastno bojenje može ugroziti pravilno tumačenje rezultata. Pogledajte protokol(e) za preporučeno kontrastno bojenje.

Negativna kontrola tkiva:
Negativnu kontrolu tkiva treba pregledati nakon pozitivne kontrole tkiva kako bi se potvrdila specifičnost obilježavanja ciljnog antigena primarnim protutijelom. Odsutnost specifičnog bojenja u negativnoj kontroli tkiva potvrđuje nedostatak unakrsne reaktivnosti protutijela na stanice/stanične komponente. Ako dođe do specifičnog bojenja (lažno pozitivno bojenje) u negativnoj vanjskoj kontroli tkiva, rezultate uzorka s pacijenta treba smatrati nevažećima.

Nespecifično bojenje, ako je prisutno, obično ima difuzan izgled. Sporadično bojenje vezivnog tkiva također se može primijetiti u dijelovima tkiva koji su previše fiksirani formalinom. Koristite intaktne stanice za tumačenje rezultata bojenja. Nekrotične ili degenerirane stanice često se boje nespecifično.

Tkivo pacijenta:
Pregledajte uzorke pacijenata obojene navedenim protutijelima posljednji. Intenzitet pozitivnog bojenja treba procijeniti u kontekstu bilo kojeg nespecifičnog pozadinskog bojenja negativne kontrole reagensa. Kao i kod svakog imunohistokemijskog testa, negativan rezultat znači da antigen nije otkriven, a ne da antigen nije bio prisutan u testiranim stanicama/tkivu. Ako je potrebno, upotrijebite panel protutijela za identifikaciju lažno negativnih reakcija.



(lijevo) melanom vretenastih stanica (DAB); (Desno) Pigmentirani melanom (brzo crveno).

Pogledajte Sažetak i objašnjenje, Ograničenja i Radne karakteristike za specifične informacije u vezi s indiciranom imunoreaktivnošću protutijela.

Ograničenja:

Opća ograničenja:
1. Za *in vitro* dijagnostička upotreba
2. Ovaj proizvod je samo za profesionalnu upotrebu: Imunohistokemija je višestupanjski dijagnostički proces koji se sastoji od specijalizirane obuke u odabiru odgovarajućih reagensa; selekcija, fiksacija i obrada tkiva; priprema IHC stakalca; i tumačenje rezultata bojenja.
3. Bojanje tkiva ovisi o rukovanju i obradi tkiva prije bojenja. Nepravilna fiksacija, zamrzavanje, odmrzavanje, pranje, sušenje, zagrijavanje, rezanje ili kontaminacija drugim tkivima ili tekućinama može proizvesti artefakte, hvatanje antitijela ili lažno negativne rezultate. Nedosljedni rezultati mogu biti posljedica varijacija u metodama fiksacije i ugradnje ili inherentnih nepravilnosti unutar tkiva.[12]
4. Pretjerano ili nepotpuno kontrastno bojenje može ugroziti pravilno tumačenje rezultata.
5. Kliničku interpretaciju bilo kojeg pozitivnog ili negativnog bojenja treba procijeniti u kontekstu kliničke slike, morfologije i drugih histopatoloških kriterija. Kliničku interpretaciju bilo kojeg pozitivnog ili negativnog bojenja treba nadopuniti morfološkim studijama uz korištenje odgovarajućih pozitivnih i negativnih unutarnjih i vanjskih kontrola, kao i drugih dijagnostičkih testova. Odgovornost je kvalificiranog patologa koji je upoznat s pravilnom upotrebom IHC protutijela, reagensa i metoda za tumačenje svih koraka korištenih za pripremu i tumačenje konačnog IHC pripravka.
6. Optimalno razrjeđenje protutijela i protokoli za određenu primjenu mogu varirati. To uključuje, ali nije ograničeno na fiksaciju, metodu vraćanja topline, vrijeme inkubacije, debljinu presjeka tkiva i korišteni pribor za otkrivanje. Zbog vrhunske osjetljivosti ovih jedinstvenih reagensa, navedena preporučena vremena inkubacije i titri nisu primjenjivi na druge sustave detekcije jer rezultati mogu varirati. Preporuke i protokoli u podatkovnom listu temelje se na isključivoj uporabi Biocare proizvoda. U konačnici, odgovornost je istraživača da odredi optimalne uvjete.
7. Ovaj proizvod nije namijenjen za upotrebu u protočnoj citometriji. Radne karakteristike nisu utvrđene za protočnu citometriju.
8. Tkiva osoba zaraženih virusom hepatitisa B i koja sadrže površinski antigen hepatitisa B (HBsAg) mogu pokazivati nespecifično bojanje peroksidazom hrena.[13]
9. Reagensi mogu pokazati neočekivane reakcije u prethodno netestiranim tkivima. Mogućnost neočekivanih reakcija čak ni u ispitivanim skupinama tkiva ne može se u potpunosti eliminirati zbog biološke varijabilnosti ekspresije antigena u novotvorinama, odnosno drugim patološkim tkivima.[14] Obratite se Biocare tehničkoj podršci na 1-800-542-2002 ili putem informacija o tehničkoj podršci na biocare.net, uz dokumentirane neočekivane reakcije.
10. Normalni/neimuni serumi iz istog životinjskog izvora kao i sekundarni antiserumi korišteni u koracima blokiranja mogu izazvati lažno negativne ili lažno pozitivne rezultate zbog autoantitijela ili prirodnih antitijela.
11. Lažno pozitivni rezultati mogu se vidjeti zbog neimunološkog vezanja proteina ili proizvoda reakcije supstrata. Također mogu biti uzrokovane aktivnošću pseudo peroksidaze (eritrociti), endogenom aktivnošću peroksidaze (citokrom C) ili endogenim biotinom (npr. jetra, dojka, mozak, bubreg) ovisno o vrsti korištenog imunološkog bojenja.[12]

Specifična ograničenja proizvoda:
Nisu navedena nikakva specifična ograničenja proizvoda.

Karakteristike izvedbe:
Osjetljivost, specifičnost i križna reaktivnost sažeti su u tablicama 1 i 2.

Imunoreaktivnost:
Sljedeće pozitivne i negativne imunoreaktivnosti prikazane su u tablicama 1 i 2 u nastavku.

Dolje navedeni popis nije iscrpan, ali karakterizira vrste imunoreaktivnosti uočene s navedenim protutijelima.

Analitička izvedba:
Provedeni su testovi bojenja za osjetljivost i specifičnost, a rezultati su navedeni u nastavku.

Osjetljivost i specifičnost:

Stol 1: Osjetljivost i specifičnost određene su testiranjem oboljelih tkiva fiksiranih formalinom i parafinom.

Tkivo	Pozitivni slučajevi	Ukupno slučajeva
Melanom (kožni)	73	87 (83,9%)
Metastatski melanom	19	19 (100%)
Melanom vretenastih stanica	28	29 (96,6%)
Desmoplastični melanom	3	3 (100%)
Mješovite značajke desmoplastičnih/vretenastih stanica	2	2 (100%)
Epiteloidni melanom	2	2 (100%)
Sarkomatoidni melanom	2	2 (100%)
Plazmacitoidni melanom	2	2 (100%)
Melanom balon stanica	1	1 (100%)
Rabdoidni melanom	20	20 (100%)
Dobroćudni nevus (razno)	28	28 (100%)
Schwannoma (neurilemoma)	73	87 (83,9%)

Tablica 2: Križna reaktivnost tkiva određena je testiranjem normalnih tkiva fiksiranih u formalinu i u parafinu.

Tkivo	Pozitivni slučajevi	Ukupno slučajeva
Veliki mozak	4	6*
Cerebelum	2	3*
Nadbubrežne žlijezde	0	3
Jajnik	0	3
Gušterača	0	3
Štitnjača	0	3
Paratiroidna	0	3
Testis	0	3
Kost	0	3
Slezena	0	3
Krajnik	0	3
Thymus	0	3
Koštana srž	0	3
Pluća	0	3
Srce	0	3
Jednjak	0	3
Hipofiza	0	3
Grudi	2	3*
Trbuh	0	3
Tanko crijevo	0	3
Debelo crijevo	0	3
Jetra	0	3
Žlijezda slinovnica	2	3*
Bubreg	0	3
Prostata	0	3
Maternica	0	3
Cerviks maternice	0	3
Skeletni mišić	0	3
Koža	3	3*
Periferni živac	2	3*
Pluća	0	3
Grkljan	0	3
Mjehur	0	3
Posteljica	0	3
Mezotel	0	3

*Veliki i mali mozak: oligodendrociti i neki astrociti; dojke: mioepitelne stanice; žlijezda slinovnica: mioepitelne stanice; koža: melanociti; periferni živac: Schwannove stanice.

Rješavanje problema:

1. Nema bojanja niti na jednom predmetnom stakalcu – Provjerite jesu li korištena odgovarajuća pozitivna kontrola tkiva, antitijela i proizvoda za otkrivanje.
2. Slabo bojenje svih stakalca – Provjerite je li korišteno odgovarajuće tkivo pozitivne kontrole, antitijela i proizvodi za otkrivanje.
3. Prevelika pozadina svih stakalca – Mogu postojati visoke razine endogenog biotina (ako se koriste proizvodi za detekciju na bazi biotina), endogena HRP aktivnost koja pretvara kromogen u obojeni krajnji proizvod (koristite blok peroksidaze) ili prekomjerna nespecifična interakcija proteina (koristite protein blok, kao što je otopina za blokiranje na bazi seruma ili kazeina).
4. Dijelovi tkiva ispiru se sa stakalca tijekom inkubacije – Provjerite stakalca kako biste bili sigurni da su pozitivno nabijena.
5. Specifično bojenje pretamno – Provjerite protokol kako biste utvrdili je li na stakalcu primijenjen ispravan titar protutijela, kao i ispravna vremena inkubacije za sve reagense. Osim toga, osigurajte da protokol ima dovoljno koraka ispiranja za uklanjanje viška reagensa nakon završetka koraka inkubacije.

Reference:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Antitijela Ultraline razvila je isključivo tvrtka Biocare Medical LLC i ne impliciraju odobrenje ili podršku Biocare antitijela od strane Ventana Medical Systems, Inc ili Roche. Biocare, Ventana i Roche nisu ni na koji način povezani, povezani ili povezani. Ventana®, BenchMark®, ultraView i OptiView zaštitni su znakovi tvrtke Roche.

Protutijela serije Q razvila je isključivo tvrtka Biocare Medical LLC i ne podrazumijevaju odobrenje ili podršku Biocare protutijela od strane Leica Biosystems. Biocare i Leica Biosystems nisu ni na koji način povezani, povezani ili povezani. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX i BOND-III zaštitni su znakovi tvrtke Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Czech

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Zamýšlené použití:
Pro *in vitro* Diagnostické použití
SOX10 (M) [BC34] je myší monoklonální protilátka, která je určena pro profesionální laboratorní použití po prvotní diagnóze nádoru konvenční histopatologií pomocí neimunologického histochemického barvení, při kvalitativní identifikaci SOX10 proteinu imunohistochemicky (IHC) v lidských tkáních fixovaných v parafinu (FFPE) fixovaných ve formalínu. Klinická interpretace jakéhokoli zbarvení nebo jeho nepřítomnosti by měla být doplněna morfologickými studiemi s použitím vhodných kontrol a měla by být vyhodnocena v kontextu pacientovy klinické anamnézy a dalších diagnostických testů kvalifikovaným patologem jako pomůcka při provádění jakýchkoli dalších klinických stanovení.

Shrnutí a vysvětlení:
Gen 10 HMG-Box související s transkripčním faktorem SRY (SOX10) hraje důležitou roli ve vývoji neurální lišty, periferního nervového systému a melanocytárních buněk.[15-17] SOX10 je široce exprimován v normálních lidských tkáních včetně melanocytů a prsní tkáně. SOX10 je také důležitým markerem u maligních nádorů, jako je melanom, karcinom prsu, gliomů a benigních nádorů, jako jsou schwannomy.[17-20] Ještě důležitější je, že bylo prokázáno, že SOX10 je exprimován u 97-100 % desmoplastických a vřetenobuněčných melanomů a také bylo prokázáno, že je exprimován ve 100 % névů.[15] Vřetenobuněčné a desmoplastické melanomy jsou vzácné varianty invazivního kožního melanomu s roční incidencí přibližně 2 na 100 000.[21] Většina oligodendrogliomů a velké procento astrocytomů a špatně diferencovaných glioblastomů také exprimují SOX10.[17,19]

Patent USA 9,816,997 a patenty čekající na schválení.

Princip postupu:
Tento protilátkový produkt může být použit jako primární protilátka při imunohistochemickém testování formalínem fixovaných, parafínem zalitých tkáňových řezů. Obecně platí, že imunohistochemické (IHC) techniky barvení umožňují vizualizaci antigenů prostřednictvím sekvenční aplikace a specifická protilátka k antigenu (primární protilátka), sekundární protilátka k primární protilátce (volitelná vazba protilátka/sonda), enzymový komplex a chromogenní substrát s vloženými promývacími kroky. Enzymatická aktivace chromogenu vede k viditelnému reakčnímu produktu v místě antigenu. Vzorek pak může být kontrastně obarven a kryt nasunut. Výsledky jsou interpretovány pomocí světla mikroskop a pomůcka při diferenciální diagnostice patofyziologických procesů, které mohou popř nemusí být spojen s konkrétním antigenem.

Materiály a metody:

Dodávaná činidla:
Zdroj hostitele: Myš monoklonální
Druhová reaktivita: Člověk; ostatní druhy nebyly testovány.
Klonovat: BC34
izotyp: IgG1
Koncentrace bílkovin: Pro konkrétní koncentraci Ig kontaktujte technickou podporu Biocare.
Specifičnost: SOX10
Mobilní lokalizace: Nukleární
Metoda: Afinitně purifikovaná myší monoklonální.

Rekonstituce, míchání, ředění, titrace:
Předředěné protilátkové činidlo je optimálně naředěno pro použití s níže uvedenými barvícími platformami. Další ředění může vést ke ztrátě barvení antigenu. Uživatel musí každou takovou změnu potvrdit. Rozdíly ve zpracování tkání a technických postupech v laboratoři uživatele mohou způsobit značnou variabilitu výsledků, což vyžaduje pravidelné provádění interních kontrol (viz část Kontrola kvality).
Koncentrované činidlo vyžaduje ředění, jak je uvedeno v tabulce výše.

Známé aplikace:
Imunohistochemie (tkáně zalité v parafinu fixované formalínem)

Dodáváno jako:
Pufrovaný fyziologický roztok, pH 6,1 – 7,4, obsahující proteinový nosič a méně než 0,1 % konzervační látky azidu sodného. Další podrobnosti viz Bezpečnostní list.

Potřebné materiály a činidla, které nejsou součástí dodávky:
Mikroskopická sklíčka kladně nabitá.
Pozitivní a negativní tkáňové kontroly
Pouštní komora (nebo podobná sušárna)
Xylen nebo náhrada xylenu
Ethanol nebo reagenční alkohol
Odmašťovací komora (tlakový hrnec)
Deionizovaná nebo destilovaná voda
Promývací pufr
Činidla pro předúpravu
Peroxidázový blok
Proteinový blok (volitelné)
Detekční sonda a polymer
Negativní kontrolní činidla
Chromogeny
Hematoxylin (kontrabarva)
Blueingovo činidlo
Montážní médium
Krycí sklo
Světelný mikroskop (40-400x zvětšení)
Automatizovaná platforma pro barvení diapozitivů

Konfigurace protilátkového produktu jsou k dispozici pro použití s nástroji uvedenými v tabulce výše.

Skladování a stabilita:
Skladujte při teplotě 2ºC až 8ºC. Při skladování za těchto podmínek je přípravek stabilní do data exspirace vytištěného na štítku lahvičky. Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti. Skladování za jakýchkoliv jiných než uvedených podmínek musí být ověřeno. Zředěná činidla by měla být použita okamžitě; veškeré zbývající činidlo skladujte při teplotě 2ºC až 8ºC. Stabilita uživatelem naředěného činidla nebyla společností Biocare stanovena.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Pozitivní a negativní kontroly by měly být prováděny současně se všemi vzorky pacientů. Pokud zpozorujete neočekávané zbarvení, které nelze vysvětlit odchylkami v laboratorních postupech, a máte podezření na problém s protilátkou, kontaktujte technickou podporu společnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 nebo prostřednictvím informací o technické podpoře na webu biocare.net.

Příprava vzorku:
Tkáně fixované ve formalínu jsou vhodné pro použití před zalitím parafínem. Kostní tkáně by měly být před zpracováním tkáně odvápněny, aby se usnadnilo řezání tkáně a zabránilo se poškození čepelí mikrotomu.[1,2]

Správně fixované a zapuštěné tkáně exprimující specifikovaný cílový antigen by měly být skladovány na chladném místě. Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) z roku 1988 vyžaduje v 42 CFR §493.1259(b), že „Laboratoř musí uchovávat obarvená sklíčka nejméně deset let od data vyšetření a uchovávat bloky vzorků nejméně dva roky od data vyšetření."[3]

Ošetření tkání před barvením:
Proveďte Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) podle doporučeného protokolu níže. Ukázalo se, že rutinní použití HIER před IHC minimalizuje nekonzistenci a standardizuje barvení.[4,5]

Upozornění a bezpečnostní opatření:
1. Tato protilátka obsahuje méně než 0,1 % azidu sodného. Koncentrace nižší než 0,1 % nejsou podle U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard communication a EC direktivy 91/155/EC nebezpečné materiály, které nelze hlásit. Azid sodný (NaN_3) použitý jako konzervační prostředek je při požití toxický. Azid sodný může reagovat s olověným a měděným potrubím za vzniku vysoce výbušných azidů kovů. Po likvidaci vypláchněte velkým množstvím vody, abyste zabránili usazování azidů v potrubí. (Centrum pro kontrolu nemocí, 1976, Národní institut bezpečnosti a ochrany zdraví při práci, 1976)[6]
2. Se vzorky před a po fixaci a se všemi materiály, které jim byly vystaveny, je třeba zacházet tak, jako by mohly přenášet infekci, a likvidovat je s náležitými opatřeními. Nikdy nepipetujte reagencie ústy a vyhněte se kontaktu kůže a sliznic s reagenciemi a vzorky. Pokud se činidla nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody.[7]
3. Mikrobiální kontaminace činidel může vést ke zvýšení nespecifického zbarvení.
4. Jiné než specifikované doby inkubace nebo teploty mohou vést k chybným výsledkům. Uživatel musí každou takovou změnu potvrdit.
5. Nepoužívejte činidlo po uplynutí doby použitelnosti vytištěné na lahvičce.
6. Předředěné protilátkové činidlo je pro použití optimálně naředěno. Další ředění může vést ke ztrátě barvení antigenu.
7. Ředění koncentrované protilátky musí být před použitím validováno. Jakékoli použité ředidlo, které není výslovně doporučeno, musí být také ověřeno z hlediska kompatibility a stability.
8. Zlikvidujte všechna použitá činidla a jakýkoli jiný kontaminovaný materiál na jedno použití podle postupů pro infekční nebo potenciálně infekční odpad. Je odpovědností každé laboratoře nakládat s pevným a kapalným odpadem podle jejich povahy a stupně nebezpečnosti a zacházet s ním a likvidovat jej (nebo je nechat zpracovat a zlikvidovat) v souladu s platnými předpisy.
9. Pro určení bezpečné likvidace tohoto produktu dodržujte místní předpisy pro likvidaci odpadu ve vaší lokalitě spolu s doporučeními v bezpečnostním listu
10. Bezpečnostní list je k dispozici na vyžádání a je umístěn na http://biocare.net.
11. Chcete-li nahlásit podezření na vážné incidenty související s tímto zařízením, kontaktujte místního zástupce společnosti Biocare a příslušný úřad členského státu nebo země, ve které je uživatel usazen.

Návod k použití:
Doporučené protokoly barvení pro SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX a ruční použití:

API3099 a IPI3099 pro intelliPATH FLX a ruční použití, byl standardizován s MACH 4 detekční systém. Pro promývací kroky použijte TBS.	
Peroxidový blok:	Blokovat pro 5 minut s peroxidázou 1
Předúprava:	Proveďte zpětné získávání tepla pomocí Diva Decloaker. Konkrétní pokyny naleznete v datovém listu Diva Decloaker.
Proteinový blok (volitelné):	Inkubujte 5-10 minut při teplotě místnosti pomocí Background Punisher.
Primární protilátka:	Inkubujte 30 minut při teplotě místnosti.
Detekce:	Sonda: Inkubujte 10 minut při teplotě místnosti se sekundární sondou.
	Polymer: Inkubujte 10-20 minut při teplotě místnosti s terciárním polymerem.
Chromogen:	Inkubujte 5 minut při RT s Biocare's DAB -OR- Inkubujte 5-7 minut při RT s Warp Red.
Protibarva:	Kontrabarva hematoxylinem. Opláchněte deionizovanou vodou. Aplikujte Tacha's Blueing Solution na 1 minutu. Opláchněte deionizovanou vodou.
IPI3099 je určen pro použití s intelliPATH FLX. Konkrétní pokyny k použití naleznete v uživatelské příručce. Při použití intelliPATH FLX lze provést peroxidový blok s reagentem blokujícím peroxidázu intelliPATH FLX (IPB5000) po získání tepla.	

Automatizovaný systém barvení sklíček ONCORE Pro:

OPAI3099 je určen pro použití s ONCORE Pro. Konkrétní pokyny k použití naleznete v uživatelské příručce. Parametry protokolu v Editoru protokolu by měly být naprogramovány následovně:		
Možnost barvení chromogenem	**DAB**	**Červené**
Název protokolu:	SOX10	APP SOX10
Šablona protokolu (popis):	Speciální šablona (vyžadována detekce ONCORE Pro-Tect)	Šablona paní AP 1
Odvoskování (volba DS Buffer):	DS2-50	DS2-50
Získávání antigenu (možnost AR):	AR1, vysoké pH; 103 °C	AR1, vysoké pH; 103 °C
Možnost blokování:	Buffer	Buffer
Název činidla, čas, teplota:	SOX10, 59 min., 37 °C	SOX10, 59 min., 37 °C

BenchMark Ventana ULTRA:

AVI3099 je určen pro použití s BenchMark ULTRA. Konkrétní pokyny k použití naleznete v uživatelské příručce. Doporučené parametry protokolu jsou následující:	
Šablona/detekce:	ultraView DAB
Protokol předběžného ošetření:	Standard CC1
peroxidáza:	N/A
Primární protilátka:	32 minut, 37 °C
Šablona/detekce:	OptiView DAB IHC
Protokol předběžného ošetření:	CC1 32 minut

peroxidáza:	Preprimární inhibitor peroxidázy
Primární protilátka:	16 minut, 36 °C

Řada Q – pro Leica BOND-III:

ALI3099 je určen pro použití s Leica BOND-III. Konkrétní pokyny k použití naleznete v uživatelské příručce. Doporučené parametry protokolu jsou následující:

Možnost barvení chromogenem	**DAB**	**Červené**
Název protokolu:	Protokol IHC F	Protokol IHC J
Detekce:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Red
TADY:	20 minut s ER2	20 minut s ER2
Peroxidový blok:	5 minut	
Marker (primární protilátka):	15 min	15 min
Primární příspěvek:	8 min	
Polymer:	8 min	
Post Primary AP:		20 min
Polymer AP:		30 min
Upřesnění smíšeného chromogenu:	10 min	10 min + 5 min
Hematoxylin:	5 minut	5 minut

Kontrola kvality:
Viz standardy kvality CLSI pro návrh a implementaci imunohistochemických testů; Schválená směrnice – druhé vydání (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011[8]

Pozitivní tkáňová kontrola: melanom
Materiály pro externí pozitivní kontrolu by měly být čerstvé vzorky fixované, zpracované a zalité co nejdříve stejným způsobem jako vzorky pacienta. Pozitivní tkáňové kontroly ukazují na správně připravené tkáně a správné techniky barvení. V každém cyklu barvení by měla být zahrnuta jedna pozitivní externí tkáňová kontrola pro každou sadu testovacích podmínek.

Tkáně použité pro externí materiály pro pozitivní kontrolu by měly být vybrány ze vzorků pacientů s dobře charakterizovanou nízkou úrovní pozitivní cílové aktivity, která poskytuje slabé pozitivní barvení. Nízká úroveň pozitivity externích pozitivních kontrol je navržena tak, aby zajistila detekci jemných změn citlivosti primární protilátky z nestability nebo problémů s metodikou IHC. Komerčně dostupná tkáňová kontrolní sklíčka nebo vzorky zpracované odlišně od vzorku (vzorků) pacienta pouze ověřují účinnost reagencií a neověřují přípravu tkáně.

Známé pozitivní tkáňové kontroly by se měly používat pouze pro monitorování správného výkonu zpracovaných tkání a testovacích činidel, spíše než jako pomůcka při formulování specifické diagnózy vzorků pacientů. Pokud pozitivní tkáňové kontroly nevykazují pozitivní zabarvení, výsledky s testovacími vzorky by měly být považovány za neplatné.

Negativní tkáňová kontrola:
Použijte negativní tkáňovou kontrolu (známá *být SOX10* negativní) fixované, zpracované a zasazené způsobem identickým se vzorkem (vzorky) pacienta při každém cyklu barvení, aby se ověřila specificita primární protilátky IHC pro prokázání cílového antigenu a poskytnutí indikace specifického barvení pozadí (falešně pozitivní barvení). Také může být rozmanitost různých typů buněk přítomných ve většině tkáňových řezů být používány laboratoří jako interní negativní kontrolní místa k ověření výkonu IHC Specifikace. Typy a zdroje vzorků, které lze použít pro negativní tkáň ovládací prvky jsou uvedeny v části Výkonové charakteristiky.

Pokud se u negativní tkáňové kontroly objeví specifické zbarvení (falešně pozitivní barvení), výsledky se vzorky pacienta by měly být považovány za neplatné.

Nespecifická kontrola negativních činidel:
Použijte nespecifickou negativní reagenční kontrolu místo primární protilátky s řezem každého vzorku pacienta k vyhodnocení nespecifického zbarvení a umožňují lepší interpretaci specifického zbarvení v místě antigenu. V ideálním případě obsahuje negativní reagenční kontrola protilátku SOX10 IgG1 produkovanou ze supernatantu tkáňové kultury stejným způsobem jako primární protilátka, ale nevykazuje žádnou specifickou reaktivitu s lidskými tkáněmi ve stejné matrici/roztoku jako Biocare protilátka. Nařeďte negativní kontrolní protilátku na stejnou koncentraci imunoglobulinu nebo proteinu jako naředěná primární protilátka protilátka za použití identického ředidla. Pokud fetální telecí sérum zůstane po zpracování v čisté protilátce, použijte fetální telecí sérum v koncentraci proteinu ekvivalentní zředěné primární protilátka ve stejném ředidle je také vhodná pro použití. (Viz dodané činidlo). Samotné ředidlo může být použito jako méně žádoucí alternativa k dříve popsaným negativním reagenčním kontrolám. Inkubační doba pro negativní reagenční kontrolu by měla odpovídat inkubační době primární protilátky.

Když se na sériových řezech použijí panely několika protilátek, negativně barvené oblasti jednoho sklíčka mohou sloužit jako negativní/nespecifická vazebná kontrola pozadí pro jiné protilátky. Pro odlišení endogenní enzymové aktivity nebo nespecifické vazby enzymů od specifické imunoreaktivity mohou být další tkáně pacienta obarveny výhradně substrát-chromogen nebo komplexy enzymů (PAP, avidin-biotin, streptavidin) a substrát-chromogen, v daném pořadí.

Ověření testu:
Před prvním použitím protilátky nebo barvícího systému v diagnostickém postupu by měl uživatel ověřit specifitu protilátky testováním na řadě vlastních tkání se známými imunohistochemickými charakteristikami, které představují známé pozitivní a negativní tkáně. Viz postupy kontroly kvality dříve uvedené v této části příbalové informace k produktu a doporučení kontroly kvality certifikačního programu CAP[9] pro imunohistochemii a/nebo doporučení NCCLS IHC[10]). Tyto postupy kontroly kvality by se měly opakovat pro každou novou šarži protilátek nebo kdykoli dojde ke změně parametrů testu. Tkáně uvedené v části Výkonnostní charakteristiky jsou vhodné pro ověření testu.

Odstraňování problémů:
Dodržujte doporučení specifického protokolu protilátek podle dodaného datového listu. Pokud se objeví atypické výsledky, kontaktujte technickou podporu Biocare na čísle 1-800-542-2002.

Interpretace barvení:

Pozitivní tkáňová kontrola:
Pozitivní tkáňová kontrola obarvená indikovanou protilátkou by měla být nejprve vyšetřena, aby se zjistilo, že všechna činidla fungují správně. Vhodné barvení cílových buněk (jak je uvedeno výše) svědčí o pozitivní reaktivitě. Pokud pozitivní tkáňové kontroly nevykazují pozitivní zabarvení, jakékoli výsledky s testovacími vzorky by měly být považovány za neplatné.

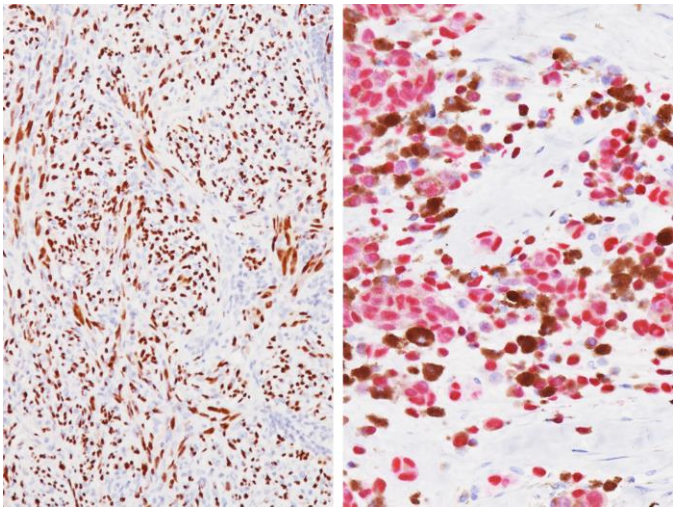
Barva reakčního produktu se může lišit v závislosti na použitých substrátových chromogenech. Očekávané barevné reakce naleznete v příbalových informacích substrátu. Dále může být ve variantách způsobu barvení pozorována metachromázie.[11]

Když se použije kontrastní barvivo, v závislosti na délce inkubace a síle použitého kontrastního barviva, povede kontrastní barvivo ke zbarvení buněčných jader. Nadměrné nebo neúplné kontrastní barvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků. Doporučené kontrastní barvivo viz protokol(y).

Negativní tkáňová kontrola:
Negativní tkáňová kontrola by měla být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole, aby se ověřila specificita značení cílového antigenu primární protilátkou. Absence specifického barvení v negativní tkáňové kontrole potvrzuje nedostatek zkřížené reaktivity protilátek s buňkami/buněčnými složkami. Pokud se u negativní externí tkáňové kontroly objeví specifické zbarvení (falešně pozitivní barvení), výsledky se vzorkem pacienta by měly být považovány za neplatné.

Nespecifické zbarvení, pokud je přítomno, má obvykle difúzní vzhled. Sporadické barvení pojivové tkáně lze také pozorovat v řezech z tkání nadměrně fixovaných formalínem. Pro interpretaci výsledků barvení použijte neporušené buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky se často barví nespecificky.

Pacientská tkáň:
Prohlédněte si vzorky pacientů obarvené indikovanou protilátkou poslední. Intenzita pozitivního zbarvení by měla být posouzena v kontextu jakéhokoli nespecifického zbarvení pozadí negativní kontroly reagencií. Jako u každého imunohistochemického testu negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován, nikoli že antigen v testovaných buňkách/tkáni chyběl. V případě potřeby použijte panel protilátek k identifikaci falešně negativních reakcí.



(vlevo) vřetenobuněčný melanom (DAB); (Vpravo) Pigmentovaný melanom (Rychle červený).

Specifické informace týkající se indikované imunoreaktivity protilátek naleznete v části Souhrn a vysvětlení, omezení a výkonnostní charakteristiky.

Omezení:

Obecná omezení:
1. Pro *in vitro* diagnostické použití
2. Tento produkt je určen pouze pro profesionální použití: Imunohistochemie je vícestupňový diagnostický proces, který se skládá ze specializovaného školení ve výběru vhodných činidel; výběr tkáně, fixace a zpracování; příprava sklíčka IHC; a interpretaci výsledků barvení.
3. Barvení tkáně závisí na manipulaci a zpracování tkáně před barvením. Nesprávná fixace, zmrazování, rozmrazování, mytí, sušení, zahřívání, krájení nebo kontaminace jinými tkáněmi nebo tekutinami může způsobit artefakty, zachycení protilátek nebo falešně negativní výsledky. Nekonzistentní výsledky mohou být způsobeny odchylkami v metodách fixace a zalévání nebo přirozenými nepravidelnostmi v tkáni.[12]
4. Nadměrné nebo neúplné kontrastní barvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků.
5. Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního nebo negativního zbarvení by měla být vyhodnocena v kontextu klinické prezentace, morfologie a dalších histopatologických kritérií. Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního nebo negativního zbarvení by měla být doplněna morfologickými studiemi s použitím správných pozitivních a negativních interních a externích kontrol, jakož i dalších diagnostických testů. Je odpovědností kvalifikovaného patologa, který je obeznámen se správným použitím IHC protilátek, činidel a metod, aby interpretoval všechny kroky použité k přípravě a interpretaci konečného IHC přípravku.
6. Optimální ředění protilátky a protokoly pro konkrétní aplikaci se mohou lišit. Mezi ně patří mimo jiné fixace, metoda získávání tepla, inkubační doby, tloušťka řezu tkáně a použitá detekční souprava. Vzhledem k vynikající citlivosti těchto jedinečných činidel nelze uvedené doporučené inkubační doby a titry použít pro jiné detekční systémy, protože výsledky se mohou lišit. Doporučení a protokoly datových listů jsou založeny na výhradním použití produktů Biocare. V konečném důsledku je odpovědností vyšetřovatele určit optimální podmínky.
7. Tento produkt není určen pro použití v průtokové cytometrii. Výkonnostní charakteristiky nebyly pro průtokovou cytometrii stanoveny.
8. Tkáně osob infikovaných virem hepatitidy B a obsahující povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg) mohou vykazovat nespecifické barvení křenovou peroxidázou.[13]
9. Reagencie mohou vykazovat neočekávané reakce v dříve netestovaných tkáních. Možnost neočekávaných reakcí i u testovaných skupin tkání nelze zcela eliminovat z důvodu biologické variability exprese antigenu v novotvarech nebo jiných patologických tkáních.[14] Kontaktujte technickou podporu společnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 nebo prostřednictvím informací o technické podpoře uvedených na biocare.net se zdokumentovanými neočekávanými reakcemi.
10. Normální/neimunitní séra ze stejného zvířecího zdroje jako sekundární antiséra použitá v blokovacích krocích mohou způsobit falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledky v důsledku autoprotilátek nebo přirozených protilátek.
11. Falešně pozitivní výsledky mohou být pozorovány v důsledku neimunologické vazby proteinů nebo produktů reakce substrátu. Mohou být také způsobeny pseudoperoxidázovou aktivitou (erytrocyty), endogenní peroxidázovou aktivitou (cytochrom C) nebo endogenním biotinem (např. játra, prsa, mozek, ledviny) v závislosti na typu použitého imunobarvení.[12]

Specifická omezení produktu:
Nejsou uvedena žádná specifická omezení produktu.

Výkonnostní charakteristiky:
Senzitivita, specificita a zkřížená reaktivita jsou shrnuty v tabulkách 1 a 2, v daném pořadí.

Imunoreaktivita:
V tabulkách 1 a 2 níže byly prokázány následující pozitivní a negativní imunoreaktivity.

Níže uvedený seznam není vyčerpávající, ale charakterizuje typy imunoreaktivity pozorované u uvedené protilátky.

Analytický výkon:
Byly provedeny barvicí testy na citlivost a specificitu a výsledky jsou uvedeny níže.

Citlivost a specifičnost:

Stůl 1: Senzitivita a specificita byly stanoveny testováním nemocných tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu.

Tkáň	Pozitivní případy	Celkem případů
Melanom (kožní)	73	87 (83,9 %)
Metastatický melanom	19	19 (100 %)
Vřetenobuněčný melanom	28	29 (96,6 %)
Desmoplastický melanom	3	3 (100 %)
Desmoplastické/vřetenobuněčné smíšené rysy	2	2 (100 %)
Epiteloidní melanom	2	2 (100 %)
Sarkomatoidní melanom	2	2 (100 %)
Plazmocytoidní melanom	2	2 (100 %)
Balónkový buněčný melanom	1	1 (100 %)
Rabdoidní melanom	20	20 (100 %)
Benigní nevus (různé)	28	28 (100 %)
Schwannom (neurilemom)	73	87 (83,9 %)

Tabulka 2: Křížová reaktivita tkání byla stanovena testováním normálních tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafinu.

Tkáň	Pozitivní případy	Celkem případů
Mozek	4	6*
Mozeček	2	3*
Nadledvinky	0	3
Vaječník	0	3
Slinivka břišní	0	3
Štítná žláza	0	3
Příštitná tělíska	0	3
Testis	0	3
Kost	0	3
Slezina	0	3
Mandle	0	3
Brzlík	0	3
Kostní dřeň	0	3
Plíce	0	3
Srdce	0	3
Jícen	0	3
Hypofýza	0	3
Prsa	2	3*
Žaludek	0	3
Tenké střevo	0	3
Dvojtečka	0	3
Játra	0	3
Slinná žláza	2	3*
ledviny	0	3
Prostata	0	3
Děloha	0	3
Děložní čípek	0	3
Kosterní sval	0	3
Kůže	3	3*
Periferní nerv	2	3*
Plíce	0	3
Hrtan	0	3
Měchýř	0	3
Placenta	0	3
Mesothelium	0	3

Velký mozek a cerebellum: oligodendrocyty a některé astrocyty; prsa: myoepiteliální buňky; slinná žláza: myoepiteliální buňky; kůže: melanocyty; periferní nerv: Schwannovy buňky.

Odstraňování problémů:

1. Žádné barvení sklíček – Zkontrolujte, zda byly použity vhodné pozitivní kontrolní tkáně, protilátky a detekční produkty.
2. Slabé zabarvení všech sklíček – Zkontrolujte, zda byly použity vhodné pozitivní kontrolní tkáně, protilátky a detekční produkty.
3. Nadměrné pozadí všech preparátů – Mohou existovat vysoké hladiny endogenního biotinu (pokud používáte detekční produkty na bázi biotinu), endogenní aktivita HRP přeměňující chromogen na barevný konečný produkt (použijte peroxidázový blok) nebo nadměrná nespecifická proteinová interakce (použijte protein blok, jako je blokovací roztok na bázi séra nebo kaseinu).
4. Tkáňové řezy smyjte sklíčka během inkubace – Zkontrolujte sklíčka, abyste se ujistili, že jsou kladně nabitá.
5. Specifické barvení je příliš tmavé – Zkontrolujte protokol, abyste zjistili, zda byl na sklíčko aplikován správný titr protilátek, a také správné inkubační doby pro všechna činidla. Dále zajistěte, aby protokol obsahoval dostatek promývacích kroků k odstranění přebytečných činidel po dokončení inkubačních kroků.

Reference:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Protilátky Ultraline jsou vyvinuty výhradně společností Biocare Medical LLC a neznamenají schválení nebo schválení protilátek Biocare společností Ventana Medical Systems, Inc nebo Roche. Biocare, Ventana a Roche nejsou žádným způsobem přidruženy, spojeny ani propojeny. Ventana®, BenchMark®, ultraView a OptiView jsou ochranné známky společnosti Roche.

Protilátky řady Q jsou vyvinuty výhradně společností Biocare Medical LLC a neznamenají schválení nebo schválení protilátek Biocare společností Leica Biosystems. Biocare a Leica Biosystems nejsou žádným způsobem přidruženy, přidruženy ani propojeny. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX a BOND-III jsou ochranné známky společnosti Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Danish

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Anvendelsesformål:
Til *in vitro* Diagnostisk brug
SOX10 (M) [BC34] er et muse monoklonalt antistof, der er beregnet til professionel laboratoriebrug, efter at den indledende diagnose af tumor er blevet stillet ved konventionel histopatologi ved anvendelse af ikke-immunologiske histokemiske farvninger, i den kvalitative identifikation af SOX10 protein ved immunhistokemi (IHC) i formalinfikseret paraffin-indlejret (FFPE) humant væv. Den kliniske fortolkning af enhver farvning eller dens fravær bør suppleres med morfologiske undersøgelser med brug af passende kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog som en hjælp til at foretage andre kliniske bestemmelser.

Sammenfatning og forklaring:
Den transkriptionsfaktor SRY-relaterede HMG-Box-gen 10 (SOX10) spiller en vigtig rolle i neural crest, perifert nervesystem og melanocytisk celleudvikling.[15-17] SOX10 er bredt udtrykt i normalt humant væv, herunder melanocytter og brystvæv. SOX10 er også en vigtig markør i maligne tumorer såsom melanom, brystcarcinom, gliomer og godartede tumorer såsom schwannomer.[17-20] Endnu vigtigere, SOX10 har vist sig at blive udtrykt i 97-100% af desmoplastiske og spindelcelle melanomer og har også vist sig at blive udtrykt i 100% af nevi.[15] Spindelcelle- og desmoplastiske melanomer er sjældne varianter af invasiv kutan melanom, med en årlig forekomst på cirka 2 pr. 100.000.[21] Størstedelen af oligodendrogliomer og en stor procentdel af astrocytomer og dårligt differentierede glioblastomer har også vist sig at udtrykke SOX10.[17,19]

U.S. Patent 9.816.997 og anmeldte patenter.

Procedureprincip:
Dette antistofprodukt kan anvendes som det primære antistof i immunhistokemisk testning af formalinfikserede, paraffinindlejrede vævssnit. Generelt immunhistokemisk (IHC) farvningsteknikker muliggør visualisering af antigener via sekventiel påføring af en specifikt antistof til antigenet (primært antistof), et sekundært antistof til det primære antistof (valgfrit link-antistof/probe), et enzymkompleks og et kromogent substrat med indskudte vasketrin. Den enzymatiske aktivering af kromogenet resulterer i et synligt reaktionsprodukt på antigenstedet. Prøven kan derefter modfarves og dækslet glides. Resultater fortolkes ved hjælp af et lys mikroskop og hjælp til differentialdiagnose af patofysiologiske processer, som evt er muligvis ikke forbundet med et bestemt antigen.

Materialer og metoder:

Medfølgende reagenser:
Værtskilde: Mus monoklonal
Artsreaktivitet: Human; andre arter ikke testet.
Klon: BC34
Isotype: IgG1
Proteinkoncentration: Kontakt Biocares tekniske support for specifik Ig-koncentration.
Specificitet: SOX10
Cellulær lokalisering: Atomisk
Metode: Affinitetsoprenset mus monoklonal.

Rekonstitution, blanding, fortynding, titrering:
Forfortyndet antistofreagens er optimalt fortyndet til brug med nedenstående farvningsplatforme. Yderligere fortynding kan resultere i tab af antigenfarvning. Brugeren skal validere enhver sådan ændring. Forskelle i vævsbehandling og tekniske procedurer i brugerens laboratorium kan give betydelige variationer i resultater, hvilket nødvendiggør regelmæssig udførelse af interne kontroller (se afsnittet Kvalitetskontrol).
Koncentreret reagens kræver fortynding som angivet i tabellen ovenfor.

Kendte applikationer:
Immunhistokemi (formalinfikseret paraffinindlejret væv)

Leveres som:
Bufret saltvandsopløsning, pH 6,1 – 7,4, indeholdende en proteinbærer og mindre end 0,1 % natriumazidkonserveringsmiddel. Se sikkerhedsdatabladet for yderligere detaljer.

Nødvendige, men ikke medfølgende materialer og reagenser:
Objektglas til mikroskop positivt ladet.
Positive og negative vævskontroller
Ørkenkammer (eller lignende tørreovn)
Xylen eller xylenerstatning
Ethanol eller reagens alkohol
Afdækningskammer (trykkoger)
Deioniseret eller destilleret vand
Vaskebuffer
Forbehandlingsreagenser
Peroxidase blokering
Proteinblok (valgfrit)
Detektionssonde og polymer
Negative kontrolreagenser
Chromogener
Hæmatoxylin (modfarvning)
Blåreagens
Monteringsmedium
Dækglas
Lysmikroskop (40-400X forstørrelse)
Automatiseret glidefarvningsplatform

Konfigurationer af antistofproduktet er tilgængelige til brug på de instrumenter, der er angivet i tabellen ovenfor.

Opbevaring og stabilitet:
Opbevares ved 2ºC til 8ºC. Produktet er stabilt til den udløbsdato, der er trykt på hætteglasetiketten, når det opbevares under disse forhold. Må ikke bruges efter udløbsdatoen. Opbevaring under alle andre forhold end de specificerede skal verificeres. Fortyndede reagenser bør anvendes omgående; Opbevar eventuelt resterende reagens ved 2ºC til 8ºC. Stabiliteten af brugerfortyndet reagens er ikke blevet fastslået af Biocare.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Positive og negative kontroller skal køres samtidigt med alle patientprøver. Hvis der observeres uventet farvning, som ikke kan forklares med variationer i laboratorieprocedurer, og der er mistanke om et problem med antistoffet, skal du kontakte Biocares tekniske support på 1-800-542-2002 eller via den tekniske supportinformation, der findes på biocare.net.

Prøveforberedelse:
Væv fikseret i formalin er velegnede til brug før paraffinindstøbning. Ossøst væv bør afkalkes før vævsbehandling for at lette vævsskæring og forhindre beskadigelse af mikrotomblade.[1,2]

Korrekt fikserede og indlejrede væv, der udtrykker det specificerede antigenmål, skal opbevares på et køligt sted. Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) fra 1988 kræver i 42 CFR §493.1259(b), at "Laboratoriet skal opbevare farvede objektglas mindst ti år fra datoen for undersøgelse og behold prøveblokke mindst to år fra eksamensdatoen."[3]

Behandling af væv før farvning:
Udfør Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) i henhold til den anbefalede protokol nedenfor. Den rutinemæssige brug af HIER før IHC har vist sig at minimere inkonsistens og standardisere farvning.[4,5]

Advarsel og forholdsregler:
1. Dette antistof indeholder mindre end 0,1 % natriumazid. Koncentrationer mindre end 0,1 % er ikke rapporterbare farlige materialer i henhold til U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication og EC-direktiv 91/155/EC. Natriumazid (NaN_3) brugt som konserveringsmiddel er giftigt, hvis det indtages. Natriumazid kan reagere med bly- og kobberrør og danne højeksplosive metalazider. Efter bortskaffelse skylles med store mængder vand for at forhindre ophobning af azid i rørledninger. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)[6]
2. Prøver før og efter fiksering og alle materialer, der udsættes for dem, skal håndteres, som om de er i stand til at overføre infektion og bortskaffes med passende forholdsregler. Pipettér aldrig reagenser gennem munden, og undgå at komme i kontakt med hud og slimhinder med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal du vaske med rigelige mængder vand.[7]
3. Mikrobiel kontaminering af reagenser kan resultere i en stigning i uspecifik farvning.
4. Andre inkubationstider eller temperaturer end de angivne kan give fejlagtige resultater. Brugeren skal validere enhver sådan ændring.
5. Brug ikke reagens efter den udløbsdato, der er trykt på hætteglasset.
6. Forfortyndet antistofreagens er optimalt fortyndet til brug. Yderligere fortynding kan resultere i tab af antigenfarvning.
7. Fortynding af koncentreret antistofreagens skal valideres før brug. Ethvert anvendt fortyndingsmiddel, der ikke specifikt anbefales, skal også valideres for kompatibilitet og stabilitet.
8. Bortskaf alle brugte reagenser og alle andre forurenede engangsmaterialer ved at følge procedurer for infektiøst eller potentielt infektiøst affald. Det er hvert laboratoriums ansvar at håndtere fast og flydende affald i henhold til deres art og grad af farlighed og at behandle og bortskaffe det (eller få dem behandlet og bortskaffet) i overensstemmelse med gældende regler.
9. Følg lokale bortskaffelsesregler for din placering sammen med anbefalingerne i sikkerhedsdatabladet for at bestemme sikker bortskaffelse af dette produkt
10. SDS er tilgængeligt efter anmodning og findes på http://biocare.net.
11. For at rapportere formodede alvorlige hændelser relateret til denne enhed, skal du kontakte den lokale Biocare-repræsentant og den kompetente myndighed i den medlemsstat eller det land, hvor brugeren er etableret.

Brugsanvisning:

Anbefalede farvningsprotokoller til SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX og manuel brug:

API3099 og IPI3099 til intelliPATH FLX og manuel brug, er blevet standardiseret med MACH 4 detektionssystem. Brug TBS til vasketrin.	
Peroxidblok:	Bloker for 5 minutter med Peroxidazed 1
Forbehandling:	Udfør varmegenvinding ved hjælp af Diva Decloaker. Se Diva Decloaker-databladet for specifikke instruktioner.
Proteinblok (valgfrit):	Inkuber i 5-10 minutter ved stuetemperatur med Background Punisher.
Primært antistof:	Inkuber i 30 minutter ved stuetemperatur.
Opdagelse:	Probe: Inkuber i 10 minutter ved stuetemperatur med en sekundær probe.
	Polymer: Inkuber i 10-20 minutter ved stuetemperatur med en tertiær polymer.
kromogen:	Inkuber i 5 minutter ved RT med Biocares DAB -ELLER- Inkuber i 5-7 minutter ved RT med Warp Red.
Modfarve:	Modfarv med hæmatoxylin. Skyl med deioniseret vand. Påfør Tacha's Blueing Solution i 1 minut. Skyl med deioniseret vand.
IPI3099 er beregnet til brug med intelliPATH FLX. Se brugervejledningen for specifikke brugsanvisninger. Når du bruger intelliPATH FLX, kan peroxidblokering med intelliPATH FLX Peroxidase Blocking Reagent (IPB5000) udføres efter varmehentning.	

ONCORE Pro Automated Slide Staining System:

OPAI3099 er beregnet til brug med ONCORE Pro. Se brugervejledningen for specifikke brugsanvisninger. Protokolparametre i protokoleditoren skal programmeres som følger:		
Mulighed for kromogenfarvning	**DAB**	**Rød**
Protokolnavn:	SOX10	SOX10 APP
Protokolskabelon (beskrivelse):	Speciel skabelon (ONCORE Pro-Tect-detektion påkrævet)	Ms AP skabelon 1
Afvoksning (DS buffer Option):	DS2-50	DS2-50
Antigenhentning (AR-mulighed):	AR1, høj pH; 103°C	AR1, høj pH; 103°C
Blokeringsmulighed:	Buffer	Buffer
Reagensnavn, tid, temperatur:	SOX10, 59 min., 37°C	SOX10, 59 min., 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 er beregnet til brug med BenchMark ULTRA. Se brugervejledningen for specifikke brugsanvisninger. De anbefalede protokolparametre er som følger:	
Skabelon/detektion:	ultraView DAB
Forbehandlingsprotokol:	CC1 Standard
Peroxidase:	N/A
Primært antistof:	32 minutter, 37°C
Skabelon/detektion:	OptiView DAB IHC
Forbehandlingsprotokol:	CC1 32 minutter

Peroxidase:	Præprimær peroxidasehæmmer
Primært antistof:	16 minutter, 36°C

Q-serien – til Leica BOND-III:

ALI3099 er beregnet til brug med Leica BOND-III. Se brugervejledningen for specifikke brugsanvisninger. De anbefalede protokolparametre er som følger:

Mulighed for kromogenfarvning	**DAB**	**Rød**
Protokolnavn:	IHC-protokol F	IHC-protokol J
Opdagelse:	Bond Polymer Forfin	Bond Polymer Refine Red
HER:	20 min med ER2	20 min med ER2
Peroxidblok:	5 min	
Markør (primært antistof):	15 min	15 min
Post Primær:	8 min	
Polymer:	8 min	
Post Primær AP:		20 min
Polymer AP:		30 min
Forfinet blandet kromogen:	10 min	10 min + 5 min
Hæmatoxylin:	5 min	5 min

Kvalitetskontrol:
Se CLSI kvalitetsstandarder for design og implementering af immunhistokemiske analyser; Godkendt guideline-anden udgave (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011[8]

Positiv vævskontrol: Melanom
Eksternt positivt kontrolmateriale skal være friske prøver, fikseret, behandlet og indlejret så hurtigt som muligt på samme måde som patientprøven/-erne. Positive vævskontroller er tegn på korrekt forberedt væv og korrekte farvningsteknikker. En positiv ekstern vævskontrol for hvert sæt testbetingelser bør inkluderes i hver farvningskørsel.

De væv, der anvendes til de eksterne positive kontrolmaterialer, bør vælges fra patientprøver med velkarakteriserede lave niveauer af den positive målaktivitet, der giver svag positiv farvning. Det lave niveau af positivitet for eksterne positive kontroller er designet til at sikre påvisning af subtile ændringer i det primære antistoffølsomhed fra ustabilitet eller problemer med IHC-metoden. Kommercielt tilgængelige vævskontrolobjektglas eller -prøver, der er behandlet anderledes end patientprøven(-erne), validerer kun reagensydelse og verificerer ikke vævsforberedelse.

Kendte positive vævskontroller bør kun bruges til at overvåge den korrekte ydeevne af behandlet væv og testreagenser, snarere end som en hjælp til at formulere en specifik diagnose af patientprøver. Hvis de positive vævskontroller ikke viser positiv farvning, bør resultaterne med testprøverne betragtes som ugyldige.

Negativ vævskontrol:
Brug en negativ vævskontrol (kendt til *være SOX10* negativ) fikseret, behandlet og indlejret på en måde, der er identisk med patientprøven/-erne med hver farvningskørsel for at verificere specificiteten af det primære IHC-antistof for demonstration af målantigenet og for at give en indikation af specifik baggrundsfarvning (falsk positiv farvning). Det kan også de mange forskellige celletyper, der findes i de fleste vævssnit bruges af laboratoriet som interne negative kontrolsteder for at verificere IHC's ydeevne specifikationer. Typer og kilder til prøver, der kan bruges til negativt væv kontroller er angivet i afsnittet Ydelsesegenskaber.

Hvis der forekommer specifik farvning (falsk positiv farvning) i den negative vævskontrol, bør resultaterne med patientprøverne betragtes som ugyldige.

Uspecifik negativ reagenskontrol:
Brug en uspecifik negativ reagenskontrol i stedet for det primære antistof med et udsnit af hver patientprøve til at evaluere uspecifik farvning og tillade bedre fortolkning af specifik farvning på antigenstedet. Ideelt set indeholder en negativ reagenskontrol et SOX10 IgG1-antistof produceret fra vævskultursupernatant på samme måde som det primære antistof, men udviser ingen specifik reaktivitet med humant væv i samme matrix/opløsning som Biocare antistof. Fortynd et negativt kontrolantistof til samme immunglobulin- eller proteinkoncentration som det fortyndede primære antistof under anvendelse af det identiske fortyndingsmiddel. Hvis føtalt kalveserum tilbageholdes i det rene antistof efter forarbejdning, skal føtalt kalveserum i en proteinkoncentration svarende til det fortyndede primært antistof i samme fortyndingsmiddel er også egnet til anvendelse. (Se det medfølgende reagens). Fortyndingsmiddel alene kan anvendes som et mindre ønskeligt alternativ til de tidligere beskrevne negative reagenskontroller. Inkubationsperioden for den negative reagenskontrol skal svare til den for det primære antistof.

Når paneler af flere antistoffer anvendes på serielle snit, kan de negativt farvningsområder på et objektglas tjene som en negativ/uspecifik bindingsbaggrundskontrol for andre antistoffer. For at differentiere endogen enzymaktivitet eller uspecifik binding af enzymer fra specifik immunreaktivitet, kan yderligere patientvæv udelukkende farves med henholdsvis substrat-chromogen eller enzymkomplekser (PAP, avidin-biotin, streptavidin) og substrat-chromogen.

Assaybekræftelse:
Før den første brug af et antistof eller farvningssystem i en diagnostisk procedure, skal brugeren verificere antistoffets specificitet ved at teste det på en række interne væv med kendte immunhistokemiske præstationskarakteristika, der repræsenterer kendte positive og negative væv. Se de kvalitetskontrolprocedurer, der tidligere er beskrevet i dette afsnit af produktindlægget og til kvalitetskontrolanbefalingerne fra CAP-certificeringsprogrammet[9] til immunhistokemi og/eller NCCLS IHC guideline[10]). Disse kvalitetskontrolprocedurer bør gentages for hvert nyt antistoflot, eller når der er en ændring i assayparametrene. Væv, der er anført i afsnittet om ydeevnekarakteristika, er egnede til assayverifikation.

Fejlfinding:
Følg de antistofspecifikke protokolanbefalinger i henhold til det medfølgende datablad. Hvis der opstår atypiske resultater, skal du kontakte Biocares tekniske support på 1-800-542-2002.

Fortolkning af farvning:

Positiv vævskontrol:
Den positive vævskontrol farvet med det angivne antistof bør undersøges først for at sikre, at alle reagenser fungerer korrekt. Den passende farvning af målceller (som angivet ovenfor) er tegn på positiv reaktivitet. Hvis de positive vævskontroller ikke viser positiv farvning, bør alle resultater med testprøverne betragtes som ugyldige.

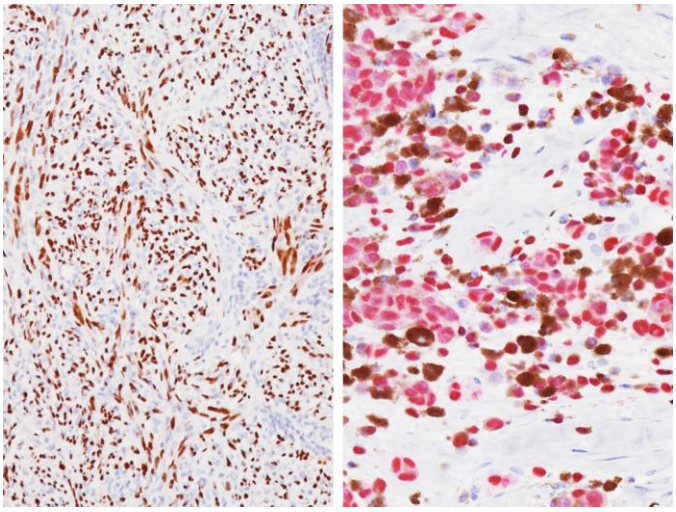
Farven på reaktionsproduktet kan variere afhængigt af de anvendte substratkromogener. Se substratets indlægssedler for forventede farvereaktioner. Yderligere kan metakromasi observeres i variationer af farvningsmetoden.[11]

Når der anvendes en modfarvning, vil modfarvning, afhængigt af inkubationslængden og styrken af den anvendte modfarvning, resultere i en farvning af cellekernerne. Overdreven eller ufuldstændig modfarvning kan kompromittere korrekt fortolkning af resultater. Se protokollen(er) for anbefalet modfarvning.

Negativ vævskontrol:
Den negative vævskontrol bør undersøges efter den positive vævskontrol for at verificere specificiteten af mærkningen af målantigenet med det primære antistof. Fraværet af specifik farvning i den negative vævskontrol bekræfter manglen på antistofkrydsreaktivitet over for celler/cellulære komponenter. Hvis specifik farvning (falsk positiv farvning) forekommer i den negative eksterne vævskontrol, bør resultaterne med patientprøven betragtes som ugyldige.

Uspecifik farvning, hvis den er til stede, har normalt et diffust udseende. Sporadisk farvning af bindevæv kan også observeres i snit fra formalinfikseret væv. Brug intakte celler til fortolkning af farvningsresultater. Nekrotiske eller degenererede celler farves ofte uspecifikt.

Patientvæv:
Undersøg patientprøver farvet med angivet antistof sidst. Positiv farvningsintensitet bør vurderes i sammenhæng med enhver uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. Som med enhver immunhistokemisk test betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev påvist, ikke at antigenet var fraværende i de analyserede celler/væv. Brug om nødvendigt et panel af antistoffer til at identificere falsk-negative reaktioner.



(Venstre) Spindelcelle melanom (DAB); (Højre) Pigmenteret melanom (hurtig rød).

Se Resumé og forklaring, begrænsninger og ydeevnekarakteristika for specifik information vedrørende indiceret antistof-immunreaktivitet.

Begrænsninger:

Generelle begrænsninger:
1. Til *in vitro* diagnostisk brug
2. Dette produkt er kun til professionel brug: Immunhistokemi er en flertrins diagnostisk proces, der består af specialiseret træning i udvælgelsen af de passende reagenser; vævsudvælgelse, fiksering og behandling; forberedelse af IHC-glasset; og fortolkning af farvningsresultaterne.
3. Vævsfarvning er afhængig af håndtering og behandling af vævet før farvning. Forkert fiksering, frysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, sektionering eller kontaminering med andre væv eller væsker kan producere artefakter, antistoffangning eller falsk negative resultater. Inkonsekvente resultater kan skyldes variationer i fikserings- og indlejringsmetoder eller iboende uregelmæssigheder i vævet.[12]
4. Overdreven eller ufuldstændig modfarvning kan kompromittere korrekt fortolkning af resultater.
5. Den kliniske fortolkning af enhver positiv eller negativ farvning bør evalueres i sammenhæng med klinisk præsentation, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Den kliniske fortolkning af enhver positiv eller negativ farvning bør suppleres med morfologiske undersøgelser med korrekte positive og negative interne og eksterne kontroller samt andre diagnostiske tests. Det er en kvalificeret patologs ansvar, som er fortrolig med den korrekte brug af IHC-antistoffer, reagenser og metoder, at fortolke alle de trin, der bruges til at forberede og fortolke det endelige IHC-præparat.
6. Den optimale antistoffortynding og protokoller til en specifik anvendelse kan variere. Disse omfatter, men er ikke begrænset til fiksering, varmehentningsmetode, inkubationstider, vævssnittykkelse og det anvendte detektionskit. På grund af den overlegne følsomhed af disse unikke reagenser er de anbefalede inkubationstider og titere, der er anført, ikke anvendelige for andre detektionssystemer, da resultaterne kan variere. Databladets anbefalinger og protokoller er baseret på eksklusiv brug af Biocare-produkter. I sidste ende er det efterforskerens ansvar at bestemme optimale forhold.
7. Dette produkt er ikke beregnet til brug i flowcytometri. Ydeevnekarakteristika er ikke blevet bestemt for flowcytometri.
8. Væv fra personer inficeret med hepatitis B-virus og indeholdende hepatitis B-overfladeantigen (HBsAg) kan udvise uspecifik farvning med peberrodsperoxidase.[13]
9. Reagenser kan udvise uventede reaktioner i tidligere utestede væv. Muligheden for uventede reaktioner selv i testede vævsgrupper kan ikke fuldstændigt elimineres på grund af biologisk variabilitet af antigenekspression i neoplasmer eller andre patologiske væv.[14] Kontakt Biocares tekniske support på 1-800-542-2002 eller via de tekniske supportoplysninger, der er angivet på biocare.net, med dokumenterede uventede reaktioner.
10. Normale/ikke-immune sera fra samme dyrekilde som sekundære antisera, der anvendes i blokeringstrin, kan forårsage falsk-negative eller falsk-positive resultater på grund af autoantistoffer eller naturlige antistoffer.
11. Falsk-positive resultater kan ses på grund af ikke-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan også være forårsaget af pseudoperoxidaseaktivitet (erythrocytter), endogen peroxidaseaktivitet (cytochrom C) eller endogen biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) afhængigt af den anvendte type immunfarvning.[12]

Produktspecifikke begrænsninger:
Ingen produktspecifikke begrænsninger noteret.

Ydelseskarakteristika:
Sensitivitet, specificitet og krydsreaktivitet er opsummeret i henholdsvis tabel 1 og 2.

Immunreaktivitet:
Følgende positive og negative immunreaktiviteter er blevet påvist i tabel 1 og 2 nedenfor.

Listen nedenfor er ikke udtømmende, men karakteriserer de typer af immunreaktiviteter, der observeres med det angivne antistof.

Analytisk ydeevne:
Farvningstests for sensitivitet og specificitet blev udført, og resultaterne er anført nedenfor.

Følsomhed og specificitet:

Tabel 1: Sensitivitet og specificitet blev bestemt ved at teste formalinfikserede, paraffinindlejrede syge væv.

Væv	Positive tilfælde	Sager i alt
Melanom (kutan)	73	87 (83,9 %)
Metastatisk melanom	19	19 (100 %)
Spindelcelle melanom	28	29 (96,6 %)
Desmoplastisk melanom	3	3 (100 %)
Desmoplastic/Spindelcelle blandede funktioner	2	2 (100 %)
Epithelioid melanom	2	2 (100 %)
Sarcomatoid melanom	2	2 (100 %)
Plasmacytoid melanom	2	2 (100 %)
Balloncelle melanom	1	1 (100 %)
Rhabdoid melanom	20	20 (100 %)
Godartet Nevus (Various)	28	28 (100 %)
Schwannom (neurilemmom)	73	87 (83,9 %)

Tabel 2: Vævskrydsreaktivitet blev bestemt ved at teste formalinfikserede, paraffinindlejrede normale væv.

Væv	Positive tilfælde	Sager i alt
Cerebrum	4	6*
Lillehjernen	2	3*
Binyre	0	3
Ovarie	0	3
Bugspytkirtel	0	3
Skjoldbruskkirtel	0	3
Parathyroid	0	3
Testis	0	3
Knogle	0	3
Milt	0	3
Mandel	0	3
Thymus	0	3
Knoglemarv	0	3
Lunge	0	3
Hjerte	0	3
Spiserøret	0	3
Hypofyse	0	3
Bryst	2	3*
Mave	0	3
Tyndtarm	0	3
Kolon	0	3
Lever	0	3
Spytkirtlen	2	3*
Nyre	0	3
Prostata	0	3
Livmoder	0	3
Livmoderhalsen	0	3
Skelet muskel	0	3
Hud	3	3*
Perifer nerve	2	3*
Lunge	0	3
Strubehoved	0	3
Blære	0	3
Moderkage	0	3
Mesothelium	0	3

*Cerebrum og cerebellum: oligodendrocytter og nogle astrocytter; bryst: myoepitelceller; spytkirtel: myoepitelceller; hud: melanocytter; perifer nerve: Schwann-celler.

Fejlfinding:

1. Ingen farvning af nogen objektglas – Tjek for at fastslå, om der er brugt passende positivt kontrolvæv, antistof og detektionsprodukter.
2. Svag farvning af alle objektglas – Tjek for at fastslå, om der er anvendt passende positivt kontrolvæv, antistof og detektionsprodukter.
3. Overdreven baggrund af alle objektglas - Der kan være høje niveauer af endogent biotin (hvis der bruges biotinbaserede detektionsprodukter), endogen HRP-aktivitet, der omdanner kromogen til farvet slutprodukt (brug peroxidaseblok) eller overskydende uspecifik proteininteraktion (brug et protein blokering, såsom serum- eller kaseinbaseret blokeringsopløsning).
4. Vævssektioner vasker objektglas af under inkubation – Tjek objektglas for at sikre, at de er positivt ladede.
5. Specifik farvning for mørk – Tjek protokollen for at bestemme, om korrekt antistoftiter blev anvendt på objektglasset, samt korrekte inkubationstider for alle reagenser. Sørg desuden for, at protokollen har nok vasketrin til at fjerne overskydende reagenser, efter at inkubationstrinene er afsluttet.

Referencer:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.

Ultraline-antistoffer udvikles udelukkende af Biocare Medical LLC og indebærer ikke godkendelse eller godkendelse af Biocare-antistoffer fra Ventana Medical Systems, Inc. eller Roche. Biocare, Ventana og Roche er ikke tilknyttet, associeret eller relateret på nogen måde. Ventana®, BenchMark®, ultraView og OptiView er varemærker tilhørende Roche.

Q-seriens antistoffer udvikles udelukkende af Biocare Medical LLC og indebærer ikke godkendelse eller godkendelse af Biocare-antistoffer fra Leica Biosystems. Biocare og Leica Biosystems er ikke tilknyttet, associeret eller relateret på nogen måde. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX og BOND-III er varemærker tilhørende Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Dutch

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Beoogd gebruik:
Voor *in vitro* Diagnostisch gebruik
SOX10 (M) [BC34] is een monoklonaal muizenantilichaam dat bedoeld is voor professioneel laboratoriumgebruik nadat de initiële diagnose van de tumor is gesteld door middel van conventionele histopathologie met behulp van niet-immunologische histochemische kleuringen, bij de kwalitatieve identificatie van SOX10 eiwit door immunohistochemie (IHC) in in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde (FFPE) menselijke weefsels. De klinische interpretatie van eventuele kleuringen of de afwezigheid ervan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek met behulp van de juiste controles en moet worden geëvalueerd binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests door een gekwalificeerde patholoog als hulpmiddel bij het maken van andere klinische bepalingen.

Samenvatting en uitleg:
De transcriptiefactor SRY-gerelateerde HMG-Box-gen 10 (SOX10) speelt een belangrijke rol bij de ontwikkeling van de neurale lijst, het perifere zenuwstelsel en de melanocytische cel.[15-17] SOX10 wordt op grote schaal tot expressie gebracht in normale menselijke weefsels, waaronder melanocyten en borstweefsel. SOX10 is ook een belangrijke marker bij kwaadaardige tumoren zoals melanoom, borstcarcinoom, gliomen en goedaardige tumoren zoals schwannomen.[17-20] Belangrijker nog is dat is aangetoond dat SOX10 tot expressie komt in 97-100% van de desmoplastische melanomen en spindelcelmelanomen en dat het ook in 100% van de naevi tot expressie komt.[15] Spindelcel- en desmoplastische melanomen zijn zeldzame varianten van invasief huidmelanoom, met een jaarlijkse incidentie van ongeveer 2 per 100.000.[21] Er is ook aangetoond dat de meerderheid van de oligodendrogliomen en een groot percentage astrocytoom en slecht gedifferentieerde glioblastomen SOX10 tot expressie brengen.[17,19]

Amerikaans octrooi 9.816.997 en patenten aangevraagd.

Procedureprincipe:
Dit antilichaamproduct kan worden gebruikt als het primaire antilichaam bij immunohistochemische tests van in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde weefselcoupes. In het algemeen immunohistochemisch (IHC) kleuringstechnieken maken de visualisatie van antigenen mogelijk via de opeenvolgende toepassing van a specifiek antilichaam tegen het antigeen (primair antilichaam), een secundair antilichaam tegen het primaire antilichaam (optioneel verbindingsantilichaam/probe), een enzymcomplex en een chromogeen substraat met tussenliggende wasstappen. De enzymatische activering van het chromogeen resulteert in een zichtbaar reactieproduct op de antigeenplaats. Het monster kan vervolgens worden tegengekleurd en afgedekt. De resultaten worden geïnterpreteerd met behulp van een lamp microscoop en hulp bij de differentiële diagnose van pathofysiologische processen, die mogelijk is mogelijk niet geassocieerd met een bepaald antigeen.

Materialen en methodes:

Meegeleverde reagentia:
Hostbron: Monoklonaal muis
Soortreactiviteit: Menselijk; andere soorten niet getest.
Kloon: BC34
Isotype: IgG1
Eiwitconcentratie: Neem contact op met de technische ondersteuning van Biocare voor specifieke Ig-concentraties.
Specificiteit: SOX10
Mobiele lokalisatie: Nucleair
Methode: Affiniteitsgezuiverde monoklonale muis.

Reconstitutie, mengen, verdunnen, titratie:
Voorverdund antilichaamreagens wordt optimaal verdund voor gebruik met de onderstaande kleurplatforms. Verdere verdunning kan leiden tot verlies van antigeenkleuring. De gebruiker moet een dergelijke wijziging valideren. Verschillen in weefselverwerking en technische procedures in het laboratorium van de gebruiker kunnen aanzienlijke variabiliteit in de resultaten veroorzaken, waardoor regelmatige uitvoering van interne controles noodzakelijk is (zie het hoofdstuk Kwaliteitscontrole).
Geconcentreerd reagens vereist verdunning zoals aangegeven in de bovenstaande tabel.

Bekende toepassingen:
Immunohistochemie (formaline-gefixeerde, in paraffine ingebedde weefsels)

Geleverd als:
Gebufferde zoutoplossing, pH 6,1 – 7,4, met een eiwitdrager en minder dan 0,1% natriumazideconserveermiddel. Zie het veiligheidsinformatieblad voor aanvullende details.

Benodigde maar niet meegeleverde materialen en reagentia:
Microscoopglaasjes positief geladen.
Positieve en negatieve weefselcontroles
Woestijnkamer (of soortgelijke droogoven)
Xyleen of xyleenvervanger
Ethanol of reagensalcohol
Onthulkamer (snelkookpan)
Gedeïoniseerd of gedestilleerd water
Wasbuffer
Reagentia voor voorbehandeling
Peroxidase-blok
Eiwitblok (optioneel)
Detectiesonde en polymeer
Negatieve controlereagentia
Chromogenen
Hematoxyline (tegenkleuring)
Blauwingsreagens
Montage medium
Dekglaasje
Lichtmicroscoop (40-400x vergroting)
Geautomatiseerd platform voor kleuring van objectglaasjes

Configuraties van het antilichaamproduct zijn beschikbaar voor gebruik op de instrumenten aangegeven in de bovenstaande tabel.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Dutch

Opslag en stabiliteit:
Bewaren bij 2ºC tot 8ºC. Het product is stabiel tot de vervaldatum die op het etiket van de injectieflacon staat, indien bewaard onder deze omstandigheden. Niet gebruiken na de vervaldatum. Opslag onder alle andere omstandigheden dan gespecificeerd moet worden geverifieerd. Verdunde reagentia moeten onmiddellijk worden gebruikt; bewaar het resterende reagens bij 2ºC tot 8ºC. De stabiliteit van door de gebruiker verdund reagens is niet vastgesteld door Biocare.

Positieve en negatieve controles moeten gelijktijdig met alle patiëntmonsters worden uitgevoerd. Als er onverwachte kleuring wordt waargenomen die niet kan worden verklaard door variaties in laboratoriumprocedures en er wordt vermoed dat er een probleem is met het antilichaam, neem dan contact op met de technische ondersteuning van Biocare op 1-800-542-2002 of via de technische ondersteuningsinformatie op biocare.net.

Monstervoorbereiding:
In formaline gefixeerde weefsels zijn geschikt voor gebruik vóór het inbedden in paraffine. Botweefsel moet vóór de weefselverwerking worden ontkalkt om het snijden van het weefsel te vergemakkelijken en schade aan de microtoombladen te voorkomen.[1,2]

Goed gefixeerde en ingebedde weefsels die het gespecificeerde antigeendoel tot expressie brengen, moeten op een koele plaats worden bewaard. De Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) van 1988 vereist 42 CFR §493.1259(b) dat "Het laboratorium gekleurde objectglaasjes ten minste tien jaar vanaf de datum van onderzoeken en monsterblokken ten minste twee jaar na de datum van onderzoek bewaren."[3]

Behandeling van weefsels voorafgaand aan kleuring:
Voer Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) uit volgens het aanbevolen protocol hieronder. Er is aangetoond dat het routinematige gebruik van HIER voorafgaand aan IHC de inconsistentie minimaliseert en de kleuring standaardiseert.[4,5]

Waarschuwing en voorzorgsmaatregelen:
1. Dit antilichaam bevat minder dan 0,1% natriumazide. Concentraties van minder dan 0,1% zijn geen gevaarlijke materialen die moeten worden gerapporteerd volgens U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication en EC-richtlijn 91/155/EC. Natriumazide (NaN_3) gebruikt als conserveermiddel is giftig bij inslikken. Natriumazide kan reageren met loden en koperen leidingen en zeer explosieve metaalaziden vormen. Wanneer u het afvoert, moet u het met grote hoeveelheden water spoelen om ophoping van azide in de leidingen te voorkomen. (Centrum voor Ziektebestrijding, 1976, Nationaal Instituut voor Veiligheid en Gezondheid op het werk, 1976)[6]
2. Monsters, voor en na fixatie, en alle materialen die eraan worden blootgesteld, moeten worden behandeld alsof ze infecties kunnen overdragen, en moeten met de juiste voorzorgsmaatregelen worden verwijderd. Pipetteer reagentia nooit via de mond en vermijd contact van de huid en slijmvliezen met reagentia en monsters. Als reagentia of monsters in contact komen met gevoelige gebieden, spoel ze dan met grote hoeveelheden water.[7]
3. Microbiële contaminatie van reagentia kan resulteren in een toename van niet-specifieke kleuring.
4. Andere incubatietijden of temperaturen dan gespecificeerd kunnen foutieve resultaten opleveren. De gebruiker moet een dergelijke wijziging valideren.
5. Gebruik geen reagens na de vervaldatum die op de injectieflacon staat vermeld.
6. Voorverdund antilichaamreagens wordt optimaal verdund voor gebruik. Verdere verdunning kan leiden tot verlies van antigeenkleuring.
7. De verdunning van geconcentreerd antilichaamreagens moet vóór gebruik worden gevalideerd. Elk gebruikt verdunningsmiddel dat niet specifiek wordt aanbevolen, moet ook worden gevalideerd op compatibiliteit en stabiliteit.
8. Gooi alle gebruikte reagentia en alle andere verontreinigde wegwerpmaterialen weg volgens de procedures voor besmettelijk of potentieel besmettelijk afval. Het is de verantwoordelijkheid van elk laboratorium om vast en vloeibaar afval te behandelen, afhankelijk van hun aard en mate van gevaar, en om dit te behandelen en te verwijderen (of te laten behandelen en verwijderen) in overeenstemming met de toepasselijke regelgeving.
9. Volg de plaatselijke verwijderingsvoorschriften voor uw locatie, samen met de aanbevelingen in het veiligheidsinformatieblad, om de veilige verwijdering van dit product te bepalen
10. Het veiligheidsinformatieblad is op aanvraag verkrijgbaar en bevindt zich op http://biocare.net.
11. Om vermoedelijke ernstige incidenten met betrekking tot dit apparaat te melden, dient u contact op te nemen met de plaatselijke Biocare-vertegenwoordiger en de bevoegde autoriteit van de lidstaat of het land waar de gebruiker gevestigd is.

Gebruiksaanwijzing:
Aanbevolen kleurprotocollen voor SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX en handmatig gebruik:

API3099 en IPI3099 voor intelliPATH FLX en handmatig gebruik, is gestandaardiseerd met MACH 4 detectie systeem. Gebruik TBS voor wasstappen.	
Peroxideblok:	Blok voor 5 minuten met Peroxidazed 1
Voorbehandeling:	Voer warmteterugwinning uit met Diva Decloaker. Raadpleeg het gegevensblad van Diva Decloaker voor specifieke instructies.
Eiwitblok (optioneel):	Incubeer gedurende 5-10 minuten bij kamertemperatuur met Background Punisher.
Primair antilichaam:	Incubeer gedurende 30 minuten bij kamertemperatuur.
detectie:	Sonde: Incubeer gedurende 10 minuten bij kamertemperatuur met een secundaire sonde.
	Polymeer: Incubeer gedurende 10-20 minuten bij kamertemperatuur met een tertiair polymeer.
chromogeen:	Incubeer gedurende 5 minuten bij kamertemperatuur met Biocare's DAB -OF- Incubeer gedurende 5-7 minuten bij kamertemperatuur met Warp Red.
Tegenkleuring:	Tegenkleuring met hematoxyline. Spoelen met gedeïoniseerd water. Breng Tacha's Blueing Solution aan gedurende 1 minuut. Spoelen met gedeïoniseerd water.
IPI3099 is bedoeld voor gebruik met de intelliPATH FLX. Raadpleeg de gebruikershandleiding voor specifieke gebruiksinstructies. Bij gebruik van de intelliPATH FLX kan een peroxideblok met intelliPATH FLX peroxidaseblokkeringsreagens (IPB5000) worden uitgevoerd na het ophalen van de warmte.	

ONCORE Pro geautomatiseerd kleuringssysteem voor objectglaasjes:

OPAI3099 is bedoeld voor gebruik met de ONCORE Pro. Raadpleeg de gebruikershandleiding voor specifieke gebruiksinstructies. Protocolparameters in de Protocol-editor moeten als volgt worden geprogrammeerd:		
Chromogene kleuroptie	**SCHAR**	**Rood**
Protocolnaam:	SOX10	SOX10-APP
Protocolsjabloon (beschrijving):	Speciaal sjabloon (ONCORE Pro-Tect-detectie vereist)	Mevrouw AP-sjabloon 1

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Ontwassen (DS-bufferoptie):	DS2-50	DS2-50
Antigeen ophalen (AR-optie):	AR1, hoge pH; 103°C	AR1, hoge pH; 103°C
Blokkeer optie:	Buffer	Buffer
Reagensnaam, tijd, temperatuur:	SOX10, 59 min., 37°C	SOX10, 59 min., 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 is bedoeld voor gebruik met de BenchMark ULTRA. Raadpleeg de gebruikershandleiding voor specifieke gebruiksinstructies. Aanbevolen protocolparameters zijn als volgt:	
Sjabloon/detectie:	ultraView DAB
Voorbehandelingsprotocol:	CC1 Standaard
Peroxidase:	N.v.t
Primair antilichaam:	32 minuten, 37°C
Sjabloon/detectie:	OptiView DAB IHC
Voorbehandelingsprotocol:	CC1 32 minuten
Peroxidase:	Pre-primaire peroxidaseremmer
Primair antilichaam:	16 minuten, 36°C

Q-serie – voor Leica BOND-III:

ALI3099 is bedoeld voor gebruik met de Leica BOND-III. Raadpleeg de gebruikershandleiding voor specifieke gebruiksinstructies. Aanbevolen protocolparameters zijn als volgt:		
Chromogene kleuroptie	**SCHAR**	**Rood**
Protocolnaam:	IHC-protocol F	IHC-protocol J
detectie:	Bond Polymeer Verfijnen	Bond Polymeer Verfijn Rood
HIER:	20 minuten met ER2	20 minuten met ER2
Peroxideblok:	5 minuten	
Marker (primair antilichaam):	15 minuten	15 minuten
Post-primair:	8 minuten	
Polymeer:	8 minuten	
Post-primair toegangspunt:		20 minuten
Polymeer AP:		30 minuten
Gemengd chromogeen verfijnen:	10 minuten	10 minuten + 5 minuten
Hematoxyline:	5 minuten	5 minuten

Kwaliteitscontrole:
Raadpleeg de CLSI-kwaliteitsnormen voor ontwerp en implementatie van immunohistochemische tests; Goedgekeurde richtlijn-tweede editie (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011[8]

Positieve weefselcontrole: Melanoma
Externe positieve controlematerialen moeten verse monsters zijn die zo snel mogelijk op dezelfde manier zijn gefixeerd, verwerkt en ingebed als de patiëntmonsters. Positieve weefselcontroles duiden op correct geprepareerde weefsels en juiste kleuringstechnieken. Bij elke kleuringsrun moet voor elke reeks testomstandigheden één positieve externe weefselcontrole worden meegenomen.

De weefsels die voor de externe positieve controlematerialen worden gebruikt, moeten worden geselecteerd uit patiëntspecimens met goed gekarakteriseerde lage niveaus van de positieve doelactiviteit die een zwakke positieve kleuring veroorzaken. Het lage niveau van positiviteit voor externe positieve controles is bedoeld om detectie van subtiele veranderingen in de primaire antilichaamgevoeligheid als gevolg van instabiliteit of problemen met de IHC-methodologie te garanderen. In de handel verkrijgbare objectglaasjes of monsters voor weefselcontrole die op een andere manier zijn verwerkt dan het/de patiëntmonster(s), valideren alleen de prestaties van het reagens en verifiëren de weefselpreparatie niet.

Bekende positieve weefselcontroles mogen alleen worden gebruikt voor het monitoren van de juiste prestatie van verwerkte weefsels en testreagentia, en niet als hulpmiddel bij het formuleren van een specifieke diagnose van patiëntmonsters. Als de positieve weefselcontroles geen positieve kleuring vertonen, moeten de resultaten met de testmonsters als ongeldig worden beschouwd.

Negatieve weefselcontrole:
Gebruik een negatieve weefselcontrole (bekend bij *SOX10 zijn* negatief) gefixeerd, verwerkt en ingebed op een manier die identiek is aan het/de patiëntmonster(s) bij elke kleuringsrun om de specificiteit van het primaire IHC-antilichaam voor demonstratie van het doelantigeen, en om een indicatie te geven van specifieke achtergrondkleuring (vals-positieve kleuring). Ook de verscheidenheid aan verschillende celtypen die in de meeste weefselcoupes aanwezig zijn, kan dat doen door het laboratorium worden gebruikt als interne negatieve controlelocaties om de prestaties van de IHC te verifiëren specificaties. De soorten en bronnen van specimens die voor negatief weefsel kunnen worden gebruikt bedieningselementen vindt u in het gedeelte Prestatiekenmerken.

Als er specifieke kleuring (vals-positieve kleuring) optreedt in de negatieve weefselcontrole, moeten de resultaten met de patiëntspecimens als ongeldig worden beschouwd.

Niet-specifieke negatieve reagenscontrole:
Gebruik een niet-specifieke negatieve reagenscontrole in plaats van het primaire antilichaam met een deel van elk patiëntmonster om niet-specifieke kleuring en
maken een betere interpretatie van specifieke kleuring op de antigeenplaats mogelijk. Idealiter bevat een negatieve reagenscontrole een SOX10 IgG1-antilichaam dat op dezelfde manier uit weefselkweeksupernatant wordt geproduceerd als het primaire antilichaam, maar vertoont geen specifieke reactiviteit met menselijke weefsels in dezelfde matrix/oplossing als het Biocare-antilichaam. Verdun een negatief controle-antilichaam tot dezelfde immunoglobuline- of eiwitconcentratie als het verdunde primaire antilichaam antilichaam met behulp van hetzelfde verdunningsmiddel. Als foetaal kalfsserum na verwerking in het zuivere antilichaam achterblijft, moet foetaal kalfsserum met een eiwitconcentratie equivalent aan de verdunde primair antilichaam in hetzelfde verdunningsmiddel is ook geschikt voor gebruik. (Zie het meegeleverde reagens). Alleen verdunningsmiddel kan worden gebruikt als een minder wenselijk alternatief voor de eerder beschreven negatieve reagenscontroles. De incubatietijd voor de negatieve reagenscontrole moet overeenkomen met die van het primaire antilichaam.

Wanneer op seriële secties panels van verschillende antilichamen worden gebruikt, kunnen de negatief kleurende gebieden van één objectglaasje dienen als een negatieve/niet-specifieke bindende achtergrondcontrole voor andere antilichamen. Om endogene enzymactiviteit of niet-specifieke binding van enzymen te onderscheiden van specifieke immuunreactiviteit, kunnen extra patiëntweefsels uitsluitend worden gekleurd met respectievelijk substraat-chromogeen of enzymcomplexen (PAP, avidine-biotine, streptavidine) en substraat-chromogeen.

Assayverificatie:
Voorafgaand aan het eerste gebruik van een antilichaam of kleursysteem in een diagnostische procedure moet de gebruiker de specificiteit van het antilichaam verifiëren door het te testen op een reeks interne weefsels met bekende immunohistochemische prestatiekenmerken die bekende positieve en negatieve weefsels vertegenwoordigen. Raadpleeg de kwaliteitscontroleprocedures die eerder in dit gedeelte van de productbijsluiter zijn beschreven en de aanbevelingen voor kwaliteitscontrole van het CAP-certificeringsprogramma[9] voor immunohistochemie en/of de NCCLS IHC-richtlijn[10]). Deze kwaliteitscontroleprocedures moeten worden herhaald voor elke nieuwe partij antilichamen, of telkens wanneer er een verandering in de testparameters optreedt. Weefsels vermeld in de sectie Prestatiekenmerken zijn geschikt voor assayverificatie.

Probleemoplossen:
Volg de antilichaamspecifieke protocolaanbevelingen volgens het meegeleverde gegevensblad. Als er atypische resultaten optreden, neem dan contact op met de technische ondersteuning van Biocare op 1-800-542-2002.

Interpretatie van kleuring:

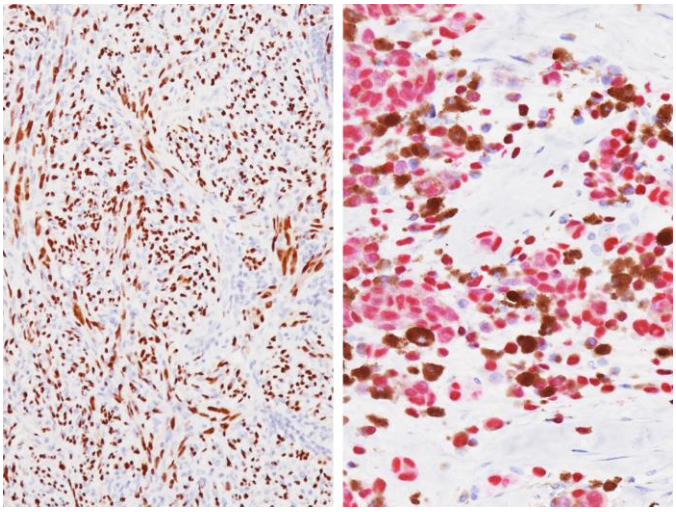
Positieve weefselcontrole:
De positieve weefselcontrole, gekleurd met het aangegeven antilichaam, moet eerst worden onderzocht om er zeker van te zijn dat alle reagentia goed functioneren. De juiste kleuring van doelcellen (zoals hierboven aangegeven) is indicatief voor positieve reactiviteit. Als de positieve weefselcontroles geen positieve kleuring vertonen, moeten alle resultaten met de testmonsters als ongeldig worden beschouwd.

De kleur van het reactieproduct kan variëren afhankelijk van de gebruikte substraatchromogenen. Raadpleeg de bijsluiters van het substraat voor de verwachte kleurreacties. Verder kan metachromasie worden waargenomen bij variaties op de kleuringsmethode.[11]
Wanneer een tegenkleuring wordt gebruikt, zal de tegenkleuring, afhankelijk van de incubatieduur en de sterkte van de gebruikte tegenkleuring, resulteren in een verkleuring van de celkernen. Overmatige of onvolledige tegenkleuring kan de juiste interpretatie van de resultaten in gevaar brengen. Raadpleeg protocol(len) voor aanbevolen tegenkleuring.

Negatieve weefselcontrole:
De negatieve weefselcontrole moet na de positieve weefselcontrole worden onderzocht om de specificiteit van de labeling van het doelantigeen door het primaire antilichaam te verifiëren. De afwezigheid van specifieke kleuring in de negatieve weefselcontrole bevestigt het ontbreken van kruisreactiviteit van antilichamen met cellen/cellulaire componenten. Als er specifieke kleuring (vals-positieve kleuring) optreedt in de negatieve externe weefselcontrole, moeten de resultaten met het patiëntmonster als ongeldig worden beschouwd.

Niet-specifieke kleuring, indien aanwezig, heeft gewoonlijk een diffuus uiterlijk. Sporadische kleuring van bindweefsel kan ook worden waargenomen in coupes van overmatig formalinegefixeerd weefsel. Gebruik intacte cellen voor de interpretatie van kleuringsresultaten. Necrotische of gedegenereerde cellen kleuren vaak niet-specifiek.

Patiëntenweefsel:
Onderzoek patiëntenspecimens die zijn gekleurd met het aangegeven antilichaam laatst. De positieve kleurintensiteit moet worden beoordeeld binnen de context van eventuele niet-specifieke achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Zoals bij elke immunohistochemische test betekent een negatief resultaat dat het antigeen niet is gedetecteerd, en niet dat het antigeen afwezig was in de geteste cellen/weefsels. Gebruik indien nodig een panel antilichamen om vals-negatieve reacties te identificeren.



(Links) Spindelcelmelanoom (DAB); (Rechts) Gepigmenteerd melanoom (snel rood).

Raadpleeg de Samenvatting en uitleg, beperkingen en prestatiekenmerken voor specifieke informatie over de aangegeven immunoreactiviteit van antilichamen.

Beperkingen:

Algemene beperkingen:
1. Voor *in vitro* diagnostisch gebruik
2. Dit product is uitsluitend bedoeld voor professioneel gebruik: Immunohistochemie is een uit meerdere stappen bestaand diagnostisch proces dat bestaat uit gespecialiseerde training in de selectie van de juiste reagentia; weefselselectie, fixatie en verwerking; voorbereiding van het IHC-glaasje; en interpretatie van de kleuringsresultaten.
3. Weefselkleuring is afhankelijk van de behandeling en verwerking van het weefsel voorafgaand aan de kleuring. Onjuiste fixatie, invriezen, ontdooien, wassen, drogen, verwarmen, snijden of contaminatie met andere weefsels of vloeistoffen kan artefacten, het opsluiten van antilichamen of vals-negatieve resultaten veroorzaken. Inconsistente resultaten kunnen te wijten zijn aan variaties in de fixatie- en inbeddingsmethoden, of aan inherente onregelmatigheden in het weefsel.[12]
4. Overmatige of onvolledige tegenkleuring kan de juiste interpretatie van de resultaten in gevaar brengen.
5. De klinische interpretatie van elke positieve of negatieve kleuring moet worden beoordeeld binnen de context van de klinische presentatie, morfologie en andere histopathologische criteria. De klinische interpretatie van elke positieve of negatieve kleuring moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek waarbij gebruik wordt gemaakt van de juiste positieve en negatieve interne en externe controles, evenals andere diagnostische tests. Het is de verantwoordelijkheid van een gekwalificeerde patholoog die bekend is met het juiste gebruik van IHC-antilichamen, reagentia en methoden om alle stappen te interpreteren die worden gebruikt om het uiteindelijke IHC-preparaat voor te bereiden en te interpreteren.
6. De optimale antilichaamverdunning en protocollen voor een specifieke toepassing kunnen variëren. Deze omvatten, maar zijn niet beperkt tot, de fixatie, de warmtewinningsmethode, de incubatietijden, de dikte van de weefselsectie en de gebruikte detectiekit. Vanwege de superieure gevoeligheid van deze unieke reagentia zijn de vermelde aanbevolen incubatietijden en titers niet van toepassing op andere

detectiesystemen, omdat de resultaten kunnen variëren. De aanbevelingen en protocollen in het gegevensblad zijn gebaseerd op exclusief gebruik van Biocare-producten. Uiteindelijk is het de verantwoordelijkheid van de onderzoeker om optimale omstandigheden te bepalen.

7. Dit product is niet bedoeld voor gebruik bij flowcytometrie. Prestatiekenmerken zijn niet bepaald voor flowcytometrie.
8. Weefsels van personen die zijn geïnfecteerd met het hepatitis B-virus en die hepatitis B-oppervlakteantigeen (HBsAg) bevatten, kunnen niet-specifieke kleuring vertonen met mierikswortelperoxidase.[13]
9. Reagentia kunnen onverwachte reacties vertonen in niet eerder geteste weefsels. De mogelijkheid van onverwachte reacties, zelfs in geteste weefselgroepen, kan niet volledig worden uitgesloten vanwege de biologische variabiliteit van antigeenexpressie in neoplasmata of andere pathologische weefsels.[14] Neem contact op met de technische ondersteuning van Biocare op 1-800-542-2002, of via de technische ondersteuningsinformatie op biocare.net, met gedocumenteerde onverwachte reactie(s).
10. Normale/niet-immune sera uit dezelfde dierlijke bron als secundaire antisera die bij blokkeringsstappen worden gebruikt, kunnen vals-negatieve of vals-positieve resultaten veroorzaken als gevolg van auto-antilichamen of natuurlijke antilichamen.
11. Er kunnen vals-positieve resultaten optreden als gevolg van niet-immunologische binding van eiwitten of substraatreactieproducten. Ze kunnen ook worden veroorzaakt door pseudo-peroxidase-activiteit (erytrocyten), endogene peroxidase-activiteit (cytochroom C) of endogene biotine (bijv. Lever, borst, hersenen, nier), afhankelijk van het gebruikte type immunokleuring.[12]

Productspecifieke beperkingen:
Er zijn geen productspecifieke beperkingen vermeld.

Prestatiekenmerken:
Gevoeligheid, specificiteit en kruisreactiviteit zijn respectievelijk samengevat in Tabellen 1 en 2.

Immunoreactiviteit:
De volgende positieve en negatieve immuunreactiviteiten zijn aangetoond in de onderstaande tabellen 1 en 2.

De onderstaande lijst is niet uitputtend, maar karakteriseert de soorten immuunreactiviteiten die worden waargenomen met het aangegeven antilichaam.

Analytische prestaties:
Er zijn kleurtests voor gevoeligheid en specificiteit uitgevoerd en de resultaten worden hieronder vermeld.

Gevoeligheid en specificiteit:

Tafel 1: Gevoeligheid en specificiteit werden bepaald door het testen van in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde zieke weefsels.

Zakdoek	Positieve gevallen	Totaal aantal gevallen
Melanoom (cutaan)	73	87 (83,9%)
Metastatisch melanoom	19	19 (100%)
Spindelcelmelanoom	28	29 (96,6%)
Desmoplastisch melanoom	3	3 (100%)
Desmoplastische/Spindelcel gemengde kenmerken	2	2 (100%)
Epithelioïde melanoom	2	2 (100%)
Sarcomatoïde melanoom	2	2 (100%)
Plasmacytoïde melanoom	2	2 (100%)
Balloncelmelanoom	1	1 (100%)
Rhabdoïde melanoom	20	20 (100%)
Goedaardige naevus (diversen)	28	28 (100%)
Schwannoom (neurilemmoom)	73	87 (83,9%)

Tafel 2: De kruisreactiviteit van het weefsel werd bepaald door het testen van in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde normale weefsels.

Zakdoek	Positieve gevallen	Totaal aantal gevallen
Hersenen	4	6*
Cerebellum	2	3*
Bijnier	0	3
Eierstok	0	3
Alvleesklier	0	3
Schildklier	0	3
Bijschildklier	0	3
Testis	0	3
Bot	0	3
Milt	0	3
Tonsil	0	3
Thymus	0	3
Beenmerg	0	3
Long	0	3
Hart	0	3
Slokdarm	0	3
Hypofyse	0	3
Borst	2	3*
Maag	0	3
Dunne darm	0	3
Dubbele punt	0	3
Lever	0	3
Speekselklier	2	3*
Nier	0	3
Prostaat	0	3
Baarmoeder	0	3
Baarmoederhals	0	3
Skeletachtige spier	0	3
Huid	3	3*
Perifere zenuw	2	3*
Long	0	3
Strottenhoofd	0	3
Blaas	0	3
Placenta	0	3
Mesotheel	0	3

*Cerebrum en cerebellum: oligodendrocyten en sommige astrocyten; borst: myoepitheelcellen; speekselklier: myoepitheelcellen; huid: melanocyten; perifere zenuw: Schwann-cellen.

Probleemoplossen:

1. Geen kleuring van objectglaasjes – Controleer of er geschikt positief controleweefsel, antilichaam en detectieproducten zijn gebruikt.
2. Zwakke kleuring van alle objectglaasjes – Controleer of er geschikt positief controleweefsel, antilichaam en detectieproducten zijn gebruikt.
3. Overmatige achtergrond van alle objectglaasjes – Er kunnen hoge niveaus van endogeen biotine zijn (bij gebruik van op biotine gebaseerde detectieproducten), endogene HRP-activiteit die chromogeen omzet in gekleurd eindproduct (gebruik peroxidaseblok) of overmatige niet-specifieke eiwitinteractie (gebruik een eiwit blok, zoals een blokkeeroplossing op basis van serum of caseïne).
4. Weefselcoupes worden tijdens de incubatie van de objectglaasjes gewassen – Controleer de objectglaasjes om er zeker van te zijn dat ze positief geladen zijn.
5. Specifieke kleuring te donker – Controleer het protocol om te bepalen of de juiste antilichaamtiter op het objectglaasje is aangebracht, evenals de juiste incubatietijden voor alle reagentia. Zorg er bovendien voor dat het protocol voldoende wasstappen heeft om overtollige reagentia te verwijderen nadat de incubatiestappen zijn voltooid.

Referenties:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline-antilichamen zijn uitsluitend ontwikkeld door Biocare Medical LLC en impliceren geen goedkeuring of goedkeuring van Biocare-antilichamen door Ventana Medical Systems, Inc of Roche. Biocare, Ventana en Roche zijn op geen enkele manier verbonden, geassocieerd of gerelateerd. Ventana®, BenchMark®, ultraView en OptiView zijn handelsmerken van Roche.

Antilichamen uit de Q-serie zijn uitsluitend ontwikkeld door Biocare Medical LLC en impliceren geen goedkeuring of goedkeuring van Biocare-antilichamen door Leica Biosystems. Biocare en Leica Biosystems zijn op geen enkele manier geaffilieerd, geassocieerd of gerelateerd. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX en BOND-III zijn handelsmerken van Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Estonian

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Mõeldud kasutamiseks:
Sest *in vitro* Diagnostiline kasutamine
SOX10 (M) [BC34] on hiire monoklonaalne antikeha, mis on mõeldud professionaalseks laboratoorseks kasutamiseks pärast seda, kui kasvaja esialgne diagnoos on tehtud tavapärase histopatoloogia abil, kasutades SOX10 kvalitatiivseks tuvastamiseks mitteimmunoloogilisi histokeemilisi plekke. valk immunohistokeemia (IHC) abil formaliiniga fikseeritud parafiiniga manustatud (FFPE) inimese kudedes. Mistahes värvumise või selle puudumise kliinilist tõlgendamist peaksid täiendama morfoloogilised uuringud, milles kasutatakse nõuetekohast kontrolli, ning kvalifitseeritud patoloog peaks seda hindama patsiendi kliinilise ajaloo ja muude diagnostiliste testide kontekstis, et aidata teha muid kliinilisi määramisi.

Kokkuvõte ja selgitus:
Transkriptsioonifaktoriga SRY-ga seotud HMG-Box geen 10 (SOX10) mängib olulist rolli närviharja, perifeerse närvisüsteemi ja melanotsüütide rakkude arengus.[15-17] SOX10 ekspresseeritakse laialdaselt normaalsetes inimese kudedes, sealhulgas melanotsüütides ja rinnakoes. SOX10 on ka oluline marker pahaloomuliste kasvajate puhul, nagu melanoom, rinnakartsinoom, glioomid ja healoomulised kasvajad, nagu schwannoomid.[17-20] Veelgi olulisem on see, et on näidatud, et SOX10 ekspresseerub 97–100% desmoplastilistes ja spindlirakkude melanoomides ning on näidatud ka 100% nevides.[15] Spindlirakud ja desmoplastilised melanoomid on invasiivse nahamelanoomi haruldased variandid, mille aastane esinemissagedus on ligikaudu 2 juhtu 100 000 kohta.[21] Samuti on näidatud, et enamik oligodendroglioome ja suur protsent astrotsütoomidest ja halvasti diferentseerunud glioblastoomidest ekspresseerivad SOX10.[17,19]

USA patent 9 816 997 ja patendid ootel.

Menetluse põhimõte:
Seda antikehaprodukti võib kasutada primaarse antikehana formaliiniga fikseeritud, parafiiniga manustatud koelõikude immunohistokeemia testimisel. Üldiselt immunohistokeemiline (IHC) värvimistehnikad võimaldavad visualiseerida antigeene, kasutades järjestikku a antigeeni vastane spetsiifiline antikeha (primaarne antikeha), primaarse antikeha sekundaarne antikeha (valikuline linkantikeha/sond), ensüümikompleks ja kromogeenne substraat, millesse on paigutatud pesemisetapid. Kromogeeni ensümaatiline aktiveerimine annab antigeeni kohas nähtava reaktsiooniprodukti. Seejärel võib proovi värvida ja kaane libistada. Tulemusi tõlgendatakse valguse abil mikroskoop ja abi patofüsioloogiliste protsesside diferentsiaaldiagnostikas, mis võivad või ei pruugi olla seotud konkreetse antigeeniga.

Materjalid ja meetodid:

Kaasasolevad reaktiivid:
Hosti allikas: Hiir monoklonaalne
Liigi reaktsioonivõime: Inimene; muud liigid, mida ei ole testitud.
Kloonimine: eKr34
Isotüüp: IgG1
Valgu kontsentratsioon: Konkreetse Ig kontsentratsiooni saamiseks võtke ühendust Biocare'i tehnilise toega.
Spetsiifilisus: SOX10
Mobiilne lokaliseerimine: Tuuma
Meetod: Afiinsuspuhastatud hiire monoklonaalne.

Lahustamine, segamine, lahjendamine, tiitrimine:
Eellahjendatud antikehareaktiiv on optimaalselt lahjendatud allolevate värvimisplatvormidega kasutamiseks. Edasine lahjendamine võib põhjustada antigeeni värvumise kadumise. Kasutaja peab kõik sellised muudatused kinnitama. Erinevused koetöötluses ja tehnilistes protseduurides kasutaja laboris võivad põhjustada tulemuste märkimisväärset varieeruvust, mistõttu on vaja regulaarselt läbi viia ettevõttesiseseid kontrolle (vt jaotist Kvaliteedikontroll).
Kontsentreeritud reaktiiv vajab lahjendamist, nagu on näidatud ülaltoodud tabelis.

Tuntud rakendused:
Immunohistokeemia (formaliiniga fikseeritud parafiiniga kaetud koed)

Tarnitakse järgmiselt:
Puhverdatud soolalahus, pH 6,1–7,4, mis sisaldab valgukandjat ja vähem kui 0,1% naatriumasiidi säilitusainet. Lisateabe saamiseks vaadake ohutuskaarti.

Vajalikud materjalid ja reaktiivid, mida pole kaasas:
Mikroskoobi slaidid on positiivselt laetud.
Positiivsed ja negatiivsed koekontrollid
Desert Chamber (või sarnane kuivatusahi)
Ksüleen või ksüleeni asendaja
Etanool või reaktiivalkohol
Deklaratsioonikamber (survepliit)
Deioniseeritud või destilleeritud vesi
Pesupuhver
Eeltöötlusreaktiivid
Peroksidaasi blokaad
Valguplokk (valikuline)
Tuvastussond ja polümeer
Negatiivsed kontrollreaktiivid
Kromogeenid
Hematoksüliin (vastuvärv)
Sinistamise reaktiiv
Paigaldusvahend
Katteklaas
Valgusmikroskoop (40-400X suurendus)
Automatiseeritud slaidivärvimise platvorm

Antikehatoote konfiguratsioonid on saadaval kasutamiseks ülaltoodud tabelis näidatud instrumentidel.

Säilitamine ja stabiilsus:
Hoida temperatuuril 2°C kuni 8°C. Toode on sellistes tingimustes säilitamisel stabiilne kuni viaali etiketile trükitud aegumiskuupäevani. Ärge kasutage pärast kõlblikkusaja lõppu. Säilitamist muudes tingimustes kui ette nähtud

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE
TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

tuleb kontrollida. Lahjendatud reaktiivid tuleb kohe ära kasutada; Hoidke järelejäänud reaktiivi temperatuuril 2 °C kuni 8 °C. Biocare ei ole kindlaks teinud kasutaja lahjendatud reaktiivi stabiilsust.

Positiivsed ja negatiivsed kontrollid tuleb läbi viia samaaegselt kõigi patsiendi proovidega. Kui täheldatakse ootamatut värvimist, mida ei saa seletada erinevustega laboratoorsetes protseduurides, ja kahtlustate probleemi antikehaga, võtke ühendust Biocare'i tehnilise toega numbril 1-800-542-2002 või veebisaidil biocare.net pakutava tehnilise toe teabe kaudu.

Proovi ettevalmistamine:
Formaliinis fikseeritud koed sobivad kasutamiseks enne parafiini manustamist. Luukuded tuleb enne kudede töötlemist katlakivi eemaldada, et hõlbustada kudede lõikamist ja vältida mikrotoomi labade kahjustamist.[1,2]

Korralikult fikseeritud ja sisestatud kudesid, mis ekspresseerivad määratud sihtmärkantigeeni, tuleb hoida jahedas. 1988. aasta Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) nõuab 42 CFR-i §493.1259(b), et „Labor peab säilitama värvitud objektiklaase vähemalt kümme aastat alates uurige ja säilitage prooviplokid vähemalt kaks aastat alates uurimise kuupäevast."[3]

Kudede töötlemine enne värvimist:
Tehke kuumuse põhjustatud epitoopide otsimine (HIER) vastavalt allolevale soovitatud protokollile. On näidatud, et HIER-i rutiinne kasutamine enne IHC-d vähendab ebakõlasid ja standardiseerib värvimist.[4,5]

Hoiatus ja ettevaatusabinõud:
1. See antikeha sisaldab vähem kui 0,1% naatriumasiidi. Alla 0,1% kontsentratsioonid ei ole USA standardi 29 CFR 1910.1200, OSHA ohuteate ja EÜ direktiivi 91/155/EÜ kohaselt ohtlikud materjalid. Naatriumasiid (NaN_3) säilitusainena kasutatav on allaneelamisel mürgine. Naatriumasiid võib reageerida plii ja vase torustikuga, moodustades väga plahvatusohtlikke metalliasiide. Utiliseerimisel loputage suure koguse veega, et vältida asiidi kogunemist torustikusse. (Haiguste tõrje keskus, 1976, riiklik tööohutuse ja töötervishoiu instituut, 1976)[6]
2. Proove enne ja pärast fikseerimist ning kõiki nendega kokkupuutuvaid materjale tuleb käsitseda nii, nagu need oleksid võimelised nakkust edasi kandma, ja kõrvaldada asjakohaste ettevaatusabinõudega. Ärge kunagi pipeteerige reaktiive suu kaudu ning vältige reaktiivide ja proovidega kokkupuudet naha ja limaskestadega. Kui reaktiivid või proovid puutuvad kokku tundlike piirkondadega, peske neid rohke veega.[7]
3. Reaktiivide mikroobne saastumine võib põhjustada mittespetsiifilise värvumise suurenemist.
4. Määratletust erinevad inkubatsiooniajad või temperatuurid võivad anda ekslikke tulemusi. Kasutaja peab kõik sellised muudatused kinnitama.
5. Ärge kasutage reaktiivi pärast viaalile trükitud kõlblikkusaega.
6. Eellahjendatud antikehareaktiiv on kasutamiseks optimaalselt lahjendatud. Edasine lahjendamine võib põhjustada antigeeni värvumise kadumise.
7. Kontsentreeritud antikehareagendi lahjendamine tuleb enne kasutamist valideerida. Kõik kasutatavad lahjendid, mida ei ole spetsiaalselt soovitatavad, tuleb samuti ühilduvuse ja stabiilsuse osas valideerida.
8. Kõrvaldage kõik kasutatud reaktiivid ja kõik muud saastunud ühekordselt kasutatavad materjalid, järgides nakkusohtlike või potentsiaalselt nakkusohtlike jäätmete protseduure. Iga labor vastutab tahkete ja vedelate jäätmete käitlemise eest vastavalt nende laadile ja ohtlikkuse astmele ning nende käitlemise ja kõrvaldamise (või töötlemise ja kõrvaldamise laskmise) eest vastavalt kehtivatele eeskirjadele.
9. Järgige oma asukohas kehtivaid kohalikke jäätmekäitluseeskirju ja ohutuskaardil olevaid soovitusi, et määrata kindlaks selle toote ohutu kõrvaldamine.
10. Ohutuskaart on saadaval nõudmisel ja asub aadressil http://biocare.net.
11. Selle seadmega seotud arvatavatest tõsistest intsidentidest teatamiseks võtke ühendust kohaliku Biocare'i esindaja ja selle liikmesriigi või riigi pädeva asutusega, kus kasutaja asub.

Kasutusjuhend:
Soovitatavad värvimisprotokollid SOX10 [BC34] jaoks:

IntelliPATH FLX ja käsitsi kasutamine:

API3099 ja IPI3099 intelliPATH FLX ja käsitsi kasutamiseks on standarditud MACH 4-ga tuvastussüsteem. Kasutage pesemisetappideks TBS-i.	
Peroksiidi plokk:	Blokeeri 5 minutit peroksüdeeritud 1-ga
Eeltöötlus:	Tehke kuumuse otsimine Diva Decloakeri abil. Täpsemate juhiste saamiseks vaadake Diva Decloakeri andmelehte.
Valguplokk (valikuline):	Inkubeerige 5-10 minutit toatemperatuuril Background Punisheriga.
Primaarne antikeha:	Inkubeerige 30 minutit toatemperatuuril.
Märkamine:	Sond: inkubeerida 10 minutit toatemperatuuril sekundaarse sondiga.
	Polümeer: inkubeerida 10-20 minutit toatemperatuuril tertsiaarse polümeeriga.
Kromogeen:	Inkubeerige 5 minutit toatemperatuuril Biocare'i DAB-VÕI- Inkubeerige 5-7 minutit toatemperatuuril Warp Rediga.
Vastuvärv:	Vastuvärvimine hematoksüliiniga. Loputage deioniseeritud veega. Kandke 1 minutiks Tacha sinistamislahust. Loputage deioniseeritud veega.
IPI3099 on mõeldud kasutamiseks koos intelliPATH FLX-iga. Täpsemaid kasutusjuhiseid leiate kasutusjuhendist. IntelliPATH FLX-i kasutamisel võib pärast kuumuse taastamist teostada peroksiidi blokeerimise intelliPATH FLX peroksidaasi blokeeriva reaktiiviga (IPB5000).	

ONCORE Pro automaatne slaidivärvimissüsteem:

OPAI3099 on mõeldud kasutamiseks koos ONCORE Proga. Täpsemaid kasutusjuhiseid leiate kasutusjuhendist. Protokolli parameetrid protokolliredaktoris tuleks programmeerida järgmiselt.		
Kromogeense värvimise võimalus	**DAB**	**Punane**
Protokolli nimi:	SOX10	RAKENDUS SOX10
Protokolli mall (kirjeldus):	Spetsiaalne mall (nõutav on ONCORE Pro-Tecti tuvastamine)	Pr AP mall 1
Vahaeemaldus (DS-puhvri valik):	DS2-50	DS2-50
Antigeeni otsimine (AR-valik):	AR1, kõrge pH; 103 °C	AR1, kõrge pH; 103 °C
Blokeerimisvalik:	Puhver	Puhver
Reaktiivi nimi, aeg, temperatuur:	SOX10, 59 min, 37 °C	SOX10, 59 min, 37 °C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 on mõeldud kasutamiseks koos BenchMark ULTRAga. Täpsemaid kasutusjuhiseid leiate kasutusjuhendist. Soovitatavad protokolli parameetrid on järgmised:	
Mall/tuvastus:	ultraView DAB
Eeltöötluse protokoll:	CC1 standard
Peroksidaas:	Ei kehti
Primaarne antikeha:	32 minutit, 37 °C
Mall/tuvastus:	OptiView DAB IHC

Eeltöötluse protokoll:	CC1 32 minutit
Peroksidaas:	Pre-primaarne peroksidaasi inhibiitor
Primaarne antikeha:	16 minutit, 36 °C

Q-seeria – Leica BOND-III jaoks:

ALI3099 on ette nähtud kasutamiseks koos Leica BOND-III-ga. Täpsemaid kasutusjuhiseid leiate kasutusjuhendist. Soovitatavad protokolli parameetrid on järgmised:

Kromogeense värvimise võimalus	**DAB**	**Punane**
Protokolli nimi:	IHC protokoll F	IHC protokoll J
Märkamine:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Red
SIIN:	20 min ER2-ga	20 min ER2-ga
Peroksiidi plokk:	5 min	
Marker (primaarne antikeha):	15 min	15 min
Postitus esmane:	8 min	
Polümeer:	8 min	
Postitage esmane AP:		20 min
Polümeer AP:		30 min
Segatud kromogeeni puhastamine:	10 min	10 min + 5 min
Hematoksüliin:	5 min	5 min

Kvaliteedi kontroll:
Vaadake CLSI kvaliteedistandardeid immunohistokeemiliste analüüside kavandamiseks ja rakendamiseks; Heakskiidetud juhiste teine väljaanne (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011. aastal[8]

Positiivne koekontroll: Melanoom
Välised positiivsed kontrollmaterjalid peaksid olema värsked proovid, mis on fikseeritud, töödeldud ja sisestatud võimalikult kiiresti samamoodi nagu patsiendi proov(id). Positiivsed koekontrollid näitavad õigesti ettevalmistatud kudesid ja õigeid värvimistehnikaid. Igasse värvimistsüklisse tuleks lisada üks positiivne väline koekontroll iga katsetingimuste komplekti kohta.

Väliste positiivsete kontrollmaterjalide jaoks kasutatavad koed tuleks valida patsiendi proovidest, millel on hästi iseloomustatud madal positiivse sihtaktiivsuse tase, mis annab nõrga positiivse värvumise. Väliste positiivsete kontrollide madal positiivsuse tase on loodud selleks, et tagada ebastabiilsusest või IHC metoodikaga seotud probleemidest tingitud väikeste muutuste tuvastamine primaarse antikeha tundlikkuses. Kaubanduslikult saadavad koekontrolli objektiklaasid või patsiendi proovidest erinevalt töödeldud proovid kinnitavad ainult reaktiivi toimivust ega kontrolli koe ettevalmistamist.

Teadaolevaid positiivseid koekontrolle tuleks kasutada ainult töödeldud kudede ja testreaktiivide õige toimimise jälgimiseks, mitte abivahendina patsiendi proovide spetsiifilise diagnoosi koostamisel. Kui positiivsed koekontrollid ei näita positiivset värvumist, tuleks analüüsitavate proovide tulemused lugeda kehtetuks.

Negatiivsete kudede kontroll:
Kasutage negatiivset koekontrolli (teadaolevalt *olema SOX10* negatiivne) fikseeritud, töödeldud ja sisestatud viisil, mis on identne patsiendi proovi(de)ga iga värvimistsükliga, et kontrollida IHC primaarse antikeha spetsiifilisust sihtantigeeni demonstreerimine ja spetsiifilise taustavärvimise indikaator (valepositiivne värvimine). Samuti võivad enamikus koeosades esinevad erinevad rakutüübid labori poolt kasutada sisemiste negatiivsete kontrollikohtadena, et kontrollida IHC toimivust spetsifikatsioonid. Negatiivse koe jaoks kasutatavate proovide tüübid ja allikad juhtnupud on loetletud jaotises Toimivusnäitajad.

Kui negatiivse koekontrolli puhul ilmneb spetsiifiline värvumine (valepositiivne värvumine), tuleb patsiendi proovide tulemusi lugeda kehtetuks.

Mittespetsiifiline negatiivse reaktiivi kontroll:
Kasutage primaarse antikeha asemel mittespetsiifilist negatiivset reagendi kontrolli koos iga patsiendi proovi osaga, et hinnata mittespetsiifilist värvimist ja
võimaldavad paremini tõlgendada spetsiifilist värvumist antigeeni saidil. Ideaalis sisaldab negatiivne reaktiivi kontroll SOX10 IgG1 antikeha, mis on toodetud koekultuuri supernatandist samamoodi nagu primaarne antikeha, kuid millel puudub spetsiifiline reaktiivsus inimese kudedega samas maatriksis/lahuses Biocare antikehad. Lahjendage negatiivne kontrollantikeha sama immunoglobuliini või valgu kontsentratsioonini kui lahjendatud primaarne antikeha, kasutades identset lahjendit. Kui vasika loote seerum jääb pärast töötlemist puhtas antikehas alles, siis vasika loote seerumit valgukontsentratsiooniga, mis on samaväärne lahjendatud kontsentratsiooniga. kasutamiseks sobib ka primaarne antikeha samas lahjendis. (Vt kaasasolevat reaktiivi). Ainuüksi lahjendit võib kasutada vähem soovitava alternatiivina eelnevalt kirjeldatud negatiivsete reaktiivide kontrollidele. Negatiivse reaktiivi kontrolli inkubatsiooniperiood peaks vastama primaarse antikeha inkubatsiooniperioodile.

Kui seerialõikudel kasutatakse mitmest antikehast koosnevaid paneele, võivad ühe slaidi negatiivselt värvunud alad toimida negatiivse/mittespetsiifilise seondumise taustakontrollina teistele antikehadele. Endogeense ensüümi aktiivsuse või ensüümide mittespetsiifilise seondumise eristamiseks spetsiifilisest immunoreaktiivsusest võib täiendavaid patsiendi kudesid värvida ainult substraadi-kromogeeni või ensüümi kompleksidega (PAP, avidiin-biotiin, streptavidiin) ja substraadi-kromogeeniga.

Testi kinnitamine:
Enne antikeha või värvimissüsteemi esmakordset kasutamist diagnostilises protseduuris peaks kasutaja kontrollima antikeha spetsiifilisust, testides seda mitmel ettevõttesisesel kudedel, millel on teadaolevad immunohistokeemilised omadused, mis esindavad teadaolevaid positiivseid ja negatiivseid kudesid. Vaadake eelnevalt selles tootelehe jaotises kirjeldatud kvaliteedikontrolli protseduure ja CAP sertifitseerimisprogrammi kvaliteedikontrolli soovitusi.[9] immunohistokeemia ja/või NCCLS IHC juhiste jaoks[10]). Neid kvaliteedikontrolli protseduure tuleks korrata iga uue antikehapartii puhul või alati, kui analüüsiparameetrid muutuvad. Katse kontrollimiseks sobivad toimivusnäitajate jaotises loetletud koed.

Veaotsing:
Järgige antikehaspetsiifilise protokolli soovitusi vastavalt kaasasolevale andmelehele. Ebatüüpiliste tulemuste ilmnemisel võtke ühendust Biocare'i tehnilise toega numbril 1-800-542-2002.

Värvimise tõlgendamine:

Positiivne koekontroll:
Näidatud antikehaga värvitud positiivset koekontrolli tuleks esmalt uurida, et teha kindlaks, kas kõik reaktiivid töötavad korralikult. Sihtrakkude sobiv värvimine (nagu ülalpool näidatud) näitab positiivset reaktsioonivõimet. Kui positiivsed koekontrollid ei näita positiivset värvumist, tuleks katseproovide tulemused lugeda kehtetuks.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Estonian

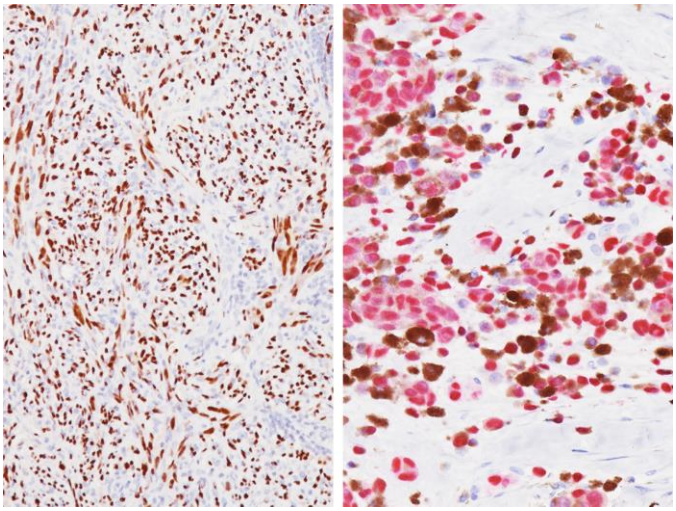
BIOCARE MEDICAL

Reaktsiooniprodukti värvus võib varieeruda sõltuvalt kasutatud substraadi kromogeenidest. Oodatavate värvireaktsioonide kohta vaadake aluspinna pakendi infolehti. Lisaks võib metakromaasiat täheldada värvimismeetodi variatsioonides.[11]
Kui kasutatakse vastuvärvi, olenevalt kasutatud vastuvärvi inkubatsiooni pikkusest ja tõhususest, põhjustab vastuvärvimine raku tuumade värvuse. Liigne või mittetäielik vastuvärvimine võib kahjustada tulemuste õiget tõlgendamist. Soovitatud vastuvärvimise kohta vaadake protokolli/protokollis.

Negatiivsete kudede kontroll:
Negatiivset koekontrolli tuleks uurida pärast positiivset koekontrolli, et kontrollida sihtantigeeni märgistamise spetsiifilisust primaarse antikehaga. Spetsiifilise värvumise puudumine negatiivses koekontrollis kinnitab antikehade ristreaktiivsuse puudumist rakkude/rakukomponentide suhtes. Kui negatiivse väliskoe kontrolli korral ilmneb spetsiifiline värvumine (valepositiivne värvumine), tuleb patsiendi proovi tulemusi lugeda kehtetuks.

Mittespetsiifiline värvumine, kui see on olemas, on tavaliselt hajusa välimusega. Sidekoe juhuslikku värvimist võib täheldada ka liigselt formaliiniga fikseeritud kudede lõikudes. Värvimistulemuste tõlgendamiseks kasutage terveid rakke. Nekrootilised või degenereerunud rakud värvuvad sageli mittespetsiifiliselt.

Patsiendi kude:
Uurige näidatud antikehaga värvitud patsiendi proove viimane. Positiivset värvimise intensiivsust tuleks hinnata negatiivse reaktiivi kontrolli mis tahes mittespetsiifilise taustavärvimise kontekstis. Nagu iga immunohistokeemilise testi puhul, tähendab negatiivne tulemus seda, et antigeeni ei tuvastatud, mitte seda, et antigeen ei olnud analüüsitud rakkudes/koes. Vajadusel kasutage valenegatiivsete reaktsioonide tuvastamiseks antikehade paneeli.



(vasakul) Spindlirakuline melanoom (DAB); (Paremal) Pigmenteeritud melanoom (kiire punane).

Täpsemat teavet näidatud antikehade immunoreaktiivsuse kohta leiate jaotisest Kokkuvõte ja selgitus, Piirangud ja Toimivusomadused.

Piirangud:

Üldised piirangud:
1. Sest *in vitro* diagnostika kasutamine
2. See toode on mõeldud ainult professionaalseks kasutamiseks: Immunohistokeemia on mitmeastmeline diagnostiline protsess, mis koosneb sobivate reaktiivide valimise erikoolitusest; kudede valik, fikseerimine ja töötlemine; IHC slaidi ettevalmistamine; ja värvimistulemuste tõlgendamine.
3. Kudede värvimine sõltub koe käsitsemisest ja töötlemisest enne värvimist. Ebaõige fikseerimine, külmutamine, sulatamine, pesemine, kuivatamine, kuumutamine, lõikamine või saastumine teiste kudede või vedelikega võib põhjustada artefakte, antikehade kinnijäämist või valenegatiivseid tulemusi. Ebajärjekindlad tulemused võivad olla tingitud fikseerimis- ja kinnistamismeetodite erinevustest või koe omastest ebakorrapärasustest.[12]
4. Liigne või mittetäielik vastuvärvimine võib kahjustada tulemuste õiget tõlgendamist.
5. Iga positiivse või negatiivse värvumise kliinilist tõlgendust tuleks hinnata kliinilise pildi, morfoloogia ja muude histopatoloogiliste kriteeriumide kontekstis. Positiivse või negatiivse värvumise kliinilist tõlgendamist tuleks täiendada morfoloogiliste uuringutega, milles kasutatakse nõuetekohast positiivset ja negatiivset sise- ja väliskontrolli ning muid diagnostilisi teste. Kvalifitseeritud patoloog, kes tunneb IHC antikehade, reaktiivide ja meetodite õiget kasutamist, vastutab kõigi IHC lõpliku preparaadi ettevalmistamiseks ja tõlgendamiseks kasutatud etappide tõlgendamise eest.
6. Antikehade optimaalne lahjendus ja konkreetse rakenduse protokollid võivad erineda. Nende hulka kuuluvad (kuid mitte ainult) fikseerimine, kuumuse taastamise meetod, inkubatsiooniajad, koelõike paksus ja kasutatud tuvastamiskomplekt. Nende ainulaadsete reaktiivide ülima tundlikkuse tõttu ei ole loetletud soovitatavad inkubatsiooniajad ja tiitrid muude tuvastamissüsteemide puhul kohaldatavad, kuna tulemused võivad erineda. Andmelehe soovitused ja protokollid põhinevad ainult Biocare toodete kasutamisel. Lõppkokkuvõttes vastutab uurija optimaalsete tingimuste kindlaksmääramise eest.
7. See toode ei ole ette nähtud kasutamiseks voolutsütomeetrias. Voolutsütomeetria jõudlusnäitajaid ei ole määratud.
8. B-hepatiidi viirusega nakatunud ja B-hepatiidi pinnaantigeeni (HBsAg) sisaldavate inimeste kudedel võib ilmneda mädarõika peroksüdaasiga mittespetsiifiline värvumine.[13]
9. Reaktiivid võivad avaldada ootamatuid reaktsioone varem testimata kudedes. Ootamatute reaktsioonide võimalust isegi testitud koerühmades ei saa täielikult välistada antigeeni ekspressiooni bioloogilise varieeruvuse tõttu kasvajates või muudes patoloogilistes kudedes.[14] Dokumenteeritud ootamatu(te) reaktsiooni(de)ga võtke ühendust Biocare'i tehnilise toega numbril 1-800-542-2002 või veebisaidil biocare.net pakutava tehnilise toe teabe kaudu.
10. Normaalsed/mitteimmuunsed seerumid, mis pärinevad samast loomsest allikast kui blokeerimisetappides kasutatavad sekundaarsed antiseerumid, võivad autoantikehade või looduslike antikehade tõttu põhjustada valenegatiivseid või valepositiivseid tulemusi.
11. Valepositiivseid tulemusi võib näha valkude või substraadi reaktsiooniproduktide mitteimmunoloogilise seondumise tõttu. Need võivad olla põhjustatud ka pseudoperoksidaasi aktiivsusest (erütrotsüüdid), endogeense peroksidaasi aktiivsusest (tsütokroom C) või endogeensest biotiinist (nt maks, rind, aju, neer), olenevalt kasutatavast immunovärvi tüübist.[12]

Tootepõhised piirangud:
Tootespetsiifilisi piiranguid pole märgitud.

Jõudlusnäitajad:
Tundlikkus, spetsiifilisus ja ristreaktiivsus on kokku võetud vastavalt tabelites 1 ja 2.

Immunoreaktiivsus:
Tabelites 1 ja 2 on näidatud järgmised positiivsed ja negatiivsed immunoreaktiivsused.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Allpool esitatud loetelu ei ole ammendav, vaid iseloomustab näidatud antikehaga täheldatud immunoreaktiivsuse tüüpe.

Analüütiline jõudlus:
Viidi läbi tundlikkuse ja spetsiifilisuse värvimistestid ning tulemused on loetletud allpool.

Tundlikkus ja spetsiifilisus:

Tabel 1: Tundlikkus ja spetsiifilisus määrati formaliiniga fikseeritud, parafiiniga manustatud haigete kudede testimise teel.

Pabertaskurätik	Positiivsed juhtumid	Juhtumeid kokku
Melanoom (nahk)	73	87 (83,9%)
Metastaatiline melanoom	19	19 (100%)
Spindlirakuline melanoom	28	29 (96,6%)
Desmoplastiline melanoom	3	3 (100%)
Desmoplastiliste/spindlirakkude segatud omadused	2	2 (100%)
Epitelioidne melanoom	2	2 (100%)
Sarkomatoidne melanoom	2	2 (100%)
Plasmatsütoidne melanoom	2	2 (100%)
Balloonrakuline melanoom	1	1 (100%)
Rhabdoid melanoom	20	20 (100%)
Healoomuline nevus (erinevad)	28	28 (100%)
Schwannoma (neurilemmoom)	73	87 (83,9%)

Tabel 2: Kudede ristreaktiivsus määrati formaliiniga fikseeritud, parafiiniga manustatud normaalsete kudede testimise teel.

Pabertaskurätik	Positiivsed juhtumid	Juhtumeid kokku
Suuraju	4	6*
Väikeaju	2	3*
Neerupealised	0	3
Munasarja	0	3
Pankreas	0	3
Kilpnääre	0	3
Kõrvalkilpnääre	0	3
Munand	0	3
Luu	0	3
Põrn	0	3
Tonsil	0	3
Harknääre	0	3
Luuüdi	0	3
Kops	0	3
Süda	0	3
Söögitoru	0	3
Hüpofüüsi	0	3
Rind	2	3*
Kõht	0	3
Peensoolde	0	3
Käärsool	0	3
Maks	0	3
Süljenääre	2	3*
Neer	0	3
Eesnääre	0	3
Emakas	0	3
Emaka emakakael	0	3
Skeletilihas	0	3
Nahk	3	3*
Perifeerne närv	2	3*
Kops	0	3
Kõri	0	3
Põis	0	3
Platsenta	0	3
Mesoteel	0	3

*Aju ja väikeaju: oligodendrotsüüdid ja mõned astrotsüüdid; rinnad: müoepiteelirakud; süljenääre: müoepiteelirakud; nahk: melanotsüüdid; perifeerne närv: Schwanni rakud.

Veaotsing:

1. Objektiklaasid ei värvunud – Kontrollige, kas on kasutatud sobivat positiivset kontrollkudet, antikeha ja tuvastamisprodukte.
2. Kõigi objektiklaaside nõrk värvumine – Kontrollige, kas on kasutatud sobivat positiivset kontrollkudet, antikeha ja tuvastamistooteid.
3. Kõigi slaidide liigne taust – võib esineda kõrge endogeense biotiini tase (kui kasutate biotiinipõhiseid tuvastamistooteid), endogeenset HRP aktiivsust, mis muudab kromogeeni värviliseks lõpptooteks (kasutage peroksidaasi plokki), või võib esineda liigne mittespetsiifiline valgu interaktsioon (kasutage valku). blokk, nagu seerumi- või kaseiinipõhine blokeeriv lahus).
4. Koeosad pesevad slaididelt inkubeerimise ajal maha – Kontrollige slaide, et veenduda, et need on positiivselt laetud.
5. Spetsiifiline värvumine on liiga tume – kontrollige protokolli, et teha kindlaks, kas objektiklaasile on rakendatud õige antikehade tiiter, samuti kõigi reaktiivide õiged inkubatsiooniajad. Lisaks veenduge, et protokollis on piisavalt pesemisetappe, et eemaldada pärast inkubatsioonietappide lõppu liigsed reaktiivid.

Viited:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline antikehad on välja töötanud ainult Biocare Medical LLC ja see ei tähenda, et Ventana Medical Systems, Inc või Roche on Biocare'i antikehadele heaks kiitnud või kinnitanud. Biocare, Ventana ja Roche ei ole mingil viisil seotud, seotud ega seotud. Ventana®, BenchMark®, ultraView ja OptiView on Roche kaubamärgid.

Q-seeria antikehad on välja töötanud ainult Biocare Medical LLC ja need ei tähenda, et Leica Biosystems on Biocare'i antikehadele heaks kiitnud või heaks kiitnud. Biocare ja Leica Biosystems ei ole mingil viisil seotud, seotud ega seotud. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX ja BOND-III on Leica Biosystemsi kaubamärgid.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Finnish

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Käyttötarkoitus:
varten *in vitro* Diagnostinen käyttö
SOX10 (M) [BC34] on hiiren monoklonaalinen vasta-aine, joka on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön sen jälkeen, kun tuumorin alkuperäinen diagnoosi on tehty tavanomaisella histopatologialla käyttämällä ei-immunologisia histokemiallisia värjäyksiä SOX10:n kvalitatiivisessa tunnistamisessa. proteiini immunohistokemialla (IHC) formaliinilla kiinnitetyissä parafiiniin upotetuissa (FFPE) ihmiskudoksissa. Kaikkien värjäytymien tai sen puuttumisen kliinistä tulkintaa tulisi täydentää morfologisilla tutkimuksilla, joissa käytetään asianmukaisia kontrolleja, ja pätevän patologin tulee arvioida potilaan kliinisen historian ja muiden diagnostisten testien yhteydessä muiden kliinisten määritelmien avuksi.

Yhteenveto ja selitys:
Transkriptiotekijällä SRY:hen liittyvä HMG-Box-geeni 10 (SOX10) on tärkeä rooli hermoharjan, ääreishermoston ja melanosyyttisolujen kehityksessä.[15-17] SOX10 ekspressoituu laajalti normaaleissa ihmisen kudoksissa, mukaan lukien melanosyytit ja rintakudos. SOX10 on myös tärkeä merkkiaine pahanlaatuisissa kasvaimissa, kuten melanoomassa, rintasyövässä, glioomissa ja hyvänlaatuisissa kasvaimissa, kuten schwannoomas.[17-20] Vielä tärkeämpää on, että SOX10:n on osoitettu ilmentyvän 97-100 %:ssa desmoplastisista ja karasolumelanoomista, ja sen on myös osoitettu ilmentyvän 100 %:ssa nevusista.[15] Karasolut ja desmoplastiset melanoomat ovat harvinaisia muunnelmia invasiivisesta ihomelanoomasta, joiden vuotuinen ilmaantuvuus on noin 2 tapausta 100 000:ta kohden.[21] Suurin osa oligodendroglioomista ja suuri prosenttiosuus astrosytoomista ja huonosti erilaistuneista glioblastoomista on myös osoitettu ilmentävän SOX10:tä.[17,19]

US-patentti 9 816 997 ja patentit vireillä.

Menettelyn periaate:
Tätä vasta-ainetuotetta voidaan käyttää ensisijaisena vasta-aineena formaliinilla kiinnitettyjen, parafiiniin upotettujen kudosleikkeiden immunohistokemian testauksessa. Yleensä immunohistokemiallinen (IHC) värjäystekniikat mahdollistavat antigeenien visualisoinnin soveltamalla peräkkäin a spesifinen vasta-aine antigeenille (primaarinen vasta-aine), sekundaarinen vasta-aine primaariselle vasta-aineelle (valinnainen linkkivasta-aine/koetin), entsyymikompleksi ja kromogeeninen substraatti, jossa on pesuvaiheet. Kromogeenin entsymaattinen aktivaatio johtaa näkyvään reaktiotuotteeseen antigeenikohdassa. Näyte voidaan sitten vastavärjätä ja kansi liu'uttaa. Tulokset tulkitaan valon avulla mikroskooppi ja apu patofysiologisten prosessien erotusdiagnoosissa, jotka voivat tai olla ei välttämättä liity tiettyyn antigeeniin.

Materiaalit ja menetelmät:

Mukana toimitetut reagenssit:
Isäntälähde: Hiiri monoklonaalinen
Lajien reaktiivisuus: Ihmisen; muita lajeja, joita ei ole testattu.
Klooni: BC34
Isotyyppi: IgG1
Proteiinipitoisuus: Ota yhteyttä Biocaren tekniseen tukeen tietystä Ig-pitoisuudesta.
Spesifisyys: SOX10
Mobiililokalisointi: Ydin
Menetelmä: Affiniteettipuhdistettu hiiren monoklonaalinen.

Liuottaminen, sekoitus, laimennus, titraus:
Esilaimennettu vasta-ainereagenssi on optimaalisesti laimennettu käytettäväksi alla olevien värjäysalustojen kanssa. Lisälaimennus voi johtaa antigeenin värjäytymisen menetykseen. Käyttäjän on vahvistettava kaikki tällaiset muutokset. Erot kudosten käsittelyssä ja teknisissä menetelmissä käyttäjän laboratoriossa voivat aiheuttaa merkittäviä vaihteluita tuloksissa, mikä edellyttää säännöllistä sisäistä valvontaa (katso Laadunvalvonta-osio). Väkevä reagenssi vaatii laimentamisen yllä olevan taulukon mukaisesti.

Tunnetut sovellukset:
Immunohistokemia (formaliinilla kiinnitetyt parafiiniin upotetut kudokset)

Toimitettu nimellä:
Puskuroitu suolaliuos, pH 6,1–7,4, sisältää proteiinikantaja-ainetta ja alle 0,1 % natriumatsidia. Katso lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta.

Tarvittavat materiaalit ja reagenssit, joita ei toimiteta:
Mikroskoopin objektilasit ovat positiivisesti varattuja.
Positiiviset ja negatiiviset kudoskontrollit
Desert Chamber (tai vastaava kuivausuuni)
Ksyleeni tai ksyleenin korvike
Etanoli tai reagenssialkoholi
Peittokammio (painekeitin)
Deionisoitu tai tislattu vesi
Pesupuskuri
Esikäsittelyreagenssit
Peroksidaasin esto
Proteiiniblokki (valinnainen)
Tunnistin ja polymeeri
Negatiiviset kontrollireagenssit
Kromogeenit
Hematoksyliini (vastavärjäys)
Sinitysreagenssi
Asennusväline
Suojalasi
Valomikroskooppi (40-400X suurennus)
Automaattinen diavärjäysalusta

Vasta-ainetuotteen konfiguraatiot ovat käytettävissä yllä olevassa taulukossa osoitetuissa instrumenteissa.

Varastointi ja vakaus:
Säilytä 2ºC - 8ºC. Tuote on stabiili injektiopullon etikettiin painettuun viimeiseen käyttöpäivään asti, kun sitä säilytetään näissä olosuhteissa. Älä käytä viimeisen käyttöpäivän jälkeen. Varastointi muissa kuin määritellyissä olosuhteissa on tarkistettava. Laimennetut reagenssit tulee käyttää

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

viipymättä; Säilytä jäljellä oleva reagenssi 2–8 ºC:ssa. Biocare ei ole vahvistanut käyttäjän laimennetun reagenssin stabiilisuutta.

Positiiviset ja negatiiviset kontrollit tulee suorittaa samanaikaisesti kaikkien potilasnäytteiden kanssa. Jos havaitaan odottamatonta värjäytymistä, jota ei voida selittää laboratoriomenetelmien vaihteluilla, ja epäillään vasta-aineongelmaa, ota yhteyttä Biocaren tekniseen tukeen numerossa 1-800-542-2002 tai biocare.net-sivustolla olevien teknisen tuen tietojen kautta.

Näytteen valmistus:
Formaliiniin kiinnitetyt kudokset soveltuvat käytettäväksi ennen parafiiniin upottamista. Luukudokset tulee poistaa kalkki ennen kudosten käsittelyä kudoksen leikkaamisen helpottamiseksi ja mikrotomin terien vaurioitumisen estämiseksi.[1,2]

Asianmukaisesti kiinnitetyt ja upotetut kudokset, jotka ilmentävät määritettyä antigeenikohdetta, tulee säilyttää viileässä paikassa. Vuoden 1988 Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) -laki edellyttää 42 CFR:ssä §493.1259(b), jonka mukaan "Laboratorion on säilytettävä värjätyt objektilasit vähintään kymmenen vuotta tutkia ja säilyttää näytekappaleet vähintään kaksi vuotta tutkimuspäivästä."[3]

Kudosten hoito ennen värjäystä:
Suorita Heat Induced Epitoope Retrieval (HIER) alla suositellun protokollan mukaisesti. HIER:n rutiininomaisen käytön ennen IHC:tä on osoitettu minimoivan epäjohdonmukaisuudet ja standardoivan värjäytymistä.[4,5]

Varoitukset ja varotoimet:
1. Tämä vasta-aine sisältää alle 0,1 % natriumatsidia. Alle 0,1 %:n pitoisuudet eivät ole raportoitavia vaarallisia aineita U.S. 29 CFR 1910.1200:n, OSHA Hazard communicationin ja EY:n direktiivin 91/155/EY mukaisesti. Natriumatsidi (NaN_3) säilöntäaineena käytettynä on myrkyllistä nieltynä. Natriumatsidi voi reagoida lyijy- ja kupariputkiston kanssa muodostaen erittäin räjähtäviä metalliatsideja. Hävittämisen yhteydessä huuhtele runsaalla vedellä, jotta putkistoihin ei kerry atsidija. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)[6]
2. Näytteitä ennen kiinnitystä ja sen jälkeen sekä kaikkia niille altistettuja materiaaleja tulee käsitellä ikään kuin ne voisivat välittää infektiota, ja ne on hävitettävä asianmukaisin varotoimin. Älä koskaan pipetoi reagensseja suun kautta ja vältä koskettamasta ihoa ja limakalvoja reagenssien ja näytteiden kanssa. Jos reagenssit tai näytteet joutuvat kosketuksiin herkkien alueiden kanssa, pese runsaalla vedellä.[7]
3. Reagenssien mikrobikontaminaatio voi johtaa epäspesifisen värjäytymisen lisääntymiseen.
4. Muut kuin ilmoitetut inkubointiajat tai lämpötilat voivat antaa virheellisiä tuloksia. Käyttäjän on vahvistettava kaikki tällaiset muutokset.
5. Älä käytä reagenssia pulloon painetun viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
6. Esilaimennettu vasta-ainereagenssi on optimaalisesti laimennettu käyttöä varten. Lisälaimennus voi johtaa antigeenin värjäytymisen menetykseen.
7. Väkevän vasta-ainereagenssin laimennus on validoitava ennen käyttöä. Kaikki käytetyt laimennusaineet, joita ei erityisesti suositella, on myös validoitava yhteensopivuuden ja stabiilisuuden suhteen.
8. Hävitä kaikki käytetyt reagenssit ja muut saastuneet kertakäyttöiset materiaalit tarttuvan tai mahdollisesti tarttuvan jätteen käsittelyä koskevien menettelyjen mukaisesti. Jokaisen laboratorion vastuulla on käsitellä kiinteää ja nestemäistä jätettä niiden luonteen ja vaarallisuusasteen mukaisesti sekä käsitellä ja hävittää (tai käsitellä ja hävittää) soveltuvien määräysten mukaisesti.
9. Noudata sijaintisi paikallisia hävitysmääräyksiä sekä käyttöturvallisuustiedotteen suosituksia määrittääksesi tämän tuotteen turvallisen hävittämisen.
10. Käyttöturvallisuustiedote on saatavilla pyynnöstä, ja se sijaitsee osoitteessa http://biocare.net.
11. Jos haluat ilmoittaa tähän laitteeseen liittyvistä epäillyistä vakavista tapahtumista, ota yhteyttä paikalliseen Biocaren edustajaan ja sen jäsenvaltion tai maan toimivaltaiseen viranomaiseen, johon käyttäjä on sijoittautunut.

Käyttöohjeet:
Suositellut värjäysprotokollat SOX10:lle [BC34]:

IntelliPATH FLX ja manuaalinen käyttö:

API3099 ja IPI3099 intelliPATH FLX:ää ja manuaalista käyttöä varten on standardoitu MACH 4:n kanssa tunnistusjärjestelmä. Käytä TBS:ää pesuvaiheisiin.	
Peroksidilohko:	Estä varten 5 minuuttia peroksidilla 1
Esikäsittely:	Suorita lämmön talteenotto Diva Decloakeria käyttämällä. Katso tarkemmat ohjeet Diva Decloaker -tietolomakkeesta.
Proteiinilohko (valinnainen):	Inkuboi 5-10 minuuttia huoneenlämpötilassa Background Punisherin kanssa.
Primaarinen vasta-aine:	Inkuboi 30 minuuttia huoneenlämpötilassa.
Tunnistus:	Koetin: Inkuboi 10 minuuttia huoneenlämpötilassa toissijaisen koettimen kanssa.
	Polymeeri: Inkuboi 10-20 minuuttia huoneenlämpötilassa tertiäärisen polymeerin kanssa.
Kromogeeni:	Inkuboi 5 minuuttia huoneenlämpötilassa Biocaren DAB-TAI- Inkuboi 5-7 minuuttia huoneenlämpötilassa Warp Redin kanssa.
Vastaväri:	Vastavärjäys hematoksyliinillä. Huuhtele deionisoidulla vedellä. Levitä Tacha's Bluing -liuosta 1 minuutin ajan. Huuhtele deionisoidulla vedellä.
IPI3099 on tarkoitettu käytettäväksi intelliPATH FLX:n kanssa. Katso käyttöoppaasta tarkat käyttöohjeet. Käytettäessä intelliPATH FLX:ää peroksidisuojaus voidaan suorittaa intelliPATH FLX -peroksidaasin estoreagenssilla (IPB5000) lämmön talteenoton jälkeen.	

ONCORE Pro automaattinen liukuvärjäysjärjestelmä:

OPAI3099 on tarkoitettu käytettäväksi ONCORE Pron kanssa. Katso käyttöoppaasta tarkat käyttöohjeet. Protokollaparametrit Protocol Editorissa tulee ohjelmoida seuraavasti:		
Kromogeenivärjäysvaihtoehto	**HIETAKAMPELA**	**Punainen**
Protokollan nimi:	SOX10	SOX10 APP
Protokollamalli (kuvaus):	Erikoismalli (ONCORE Pro-Tect -tunnistus vaaditaan)	Ms AP malli 1
Vahanpoisto (DS-puskurivaihtoehto):	DS2-50	DS2-50
Antigeenin haku (AR-vaihtoehto):	AR1, korkea pH; 103 °C	AR1, korkea pH; 103 °C
Estä vaihtoehto:	Puskuri	Puskuri
Reagenssin nimi, aika, lämpötila:	SOX10, 59 min, 37 °C	SOX10, 59 min, 37 °C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 on tarkoitettu käytettäväksi BenchMark ULTRA:n kanssa. Katso käyttöoppaasta tarkat käyttöohjeet. Suositellut protokollaparametrit ovat seuraavat:	
Malli/tunnistus:	ultraView DAB
Esikäsittelyprotokolla:	CC1 standardi
Peroksidaasi:	Ei käytössä
Primaarinen vasta-aine:	32 minuuttia, 37 °C
Malli/tunnistus:	OptiView DAB IHC
Esikäsittelyprotokolla:	CC1 32 minuuttia
Peroksidaasi:	Preprimaarinen peroksidaasin estäjä
Primaarinen vasta-aine:	16 minuuttia, 36 °C

Q-sarja – Leica BOND-III:lle:

ALI3099 on tarkoitettu käytettäväksi Leica BOND-III:n kanssa. Katso käyttöoppaasta tarkat käyttöohjeet. Suositellut protokollaparametrit ovat seuraavat:

Kromogeenivärjäysvaihtoehto	**HIETAKAMPELA**	**Punainen**
Protokollan nimi:	IHC-protokolla F	IHC-protokolla J
Tunnistus:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Red
TÄSSÄ:	20 min ER2:lla	20 min ER2:lla
Peroksidilohko:	5 min	
Markkeri (primaarinen vasta-aine):	15 min	15 min
Ensisijainen viesti:	8 min	
Polymeeri:	8 min	
Post Primary AP:		20 min
Polymeeri AP:		30 min
Sekakromogeenipuhdistus:	10 min	10 min + 5 min
Hematoksyliini:	5 min	5 min

Laadunvalvonta:
Katso CLSI-laatustandardit immunohistokemiallisten määritysten suunnittelua ja toteutusta varten; Hyväksytty Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011[8]

Positiivinen kudoskontrolli: Melanooma
Ulkoiset positiiviset kontrollimateriaalit tulee olla tuoreita näytteitä, jotka on kiinnitetty, käsitelty ja upotettava mahdollisimman pian samalla tavalla kuin potilasnäytteet. Positiiviset kudoskontrollit osoittavat oikein valmistettuja kudoksia ja asianmukaisia värjäystekniikoita. Yksi positiivinen ulkoinen kudoskontrolli jokaista testiolosuhteita kohden tulisi sisällyttää jokaiseen värjäysajoon.

Ulkoisiin positiivisiin kontrollimateriaaleihin käytetyt kudokset tulee valita potilasnäytteistä, joissa on hyvin karakterisoitu alhainen positiivinen kohdeaktiivisuus, joka antaa heikon positiivisen värjäytymisen. Ulkoisten positiivisten kontrollien alhainen positiivisuustaso on suunniteltu varmistamaan pienten muutosten havaitseminen primaarisen vasta-aineen herkkyydessä epästabiilisuudesta tai IHC-metodologian ongelmista. Kaupallisesti saatavilla olevat kudoskontrollilevyt tai näytteet, jotka on käsitelty eri tavalla kuin potilasnäyte(t), validoivat vain reagenssin suorituskyvyn, eivätkä ne varmista kudosten valmistelua.

Tunnettuja positiivisia kudoskontrolleja tulisi käyttää vain prosessoitujen kudosten ja testireagenssien oikean suorituskyvyn seurantaan, eikä apuvälineenä potilasnäytteiden erityisen diagnoosin laatimisessa. Jos positiiviset kudoskontrollit eivät osoita positiivista värjäytymistä, testinäytteiden tuloksia on pidettävä virheellisinä.

Negatiivisten kudosten kontrolli:
Käytä negatiivista kudoskontrollia (tunnetaan *olla SOX10* negatiivinen) kiinnitetty, käsitelty ja upotettu identtisellä tavalla kuin potilasnäyte (-näytteet) jokaisessa värjäysajossa IHC:n primaarisen vasta-aineen spesifisyyden varmistamiseksi. kohdeantigeenin osoittamiseen ja spesifisen taustavärjäytymisen osoittamiseen (väärä positiivinen värjäys). Myös useimmat eri solutyypit, joita esiintyy useimmissa kudosleikkeissä, voivat laboratorio käyttää niitä sisäisinä negatiivisina kontrollipaikkoina IHC:n suorituskyvyn tarkistamiseen tekniset tiedot. Näytetyypit ja -lähteet, joita voidaan käyttää negatiiviseen kudokseen säätimet on lueteltu Suorituskykyominaisuudet-osiossa.

Jos negatiivisessa kudoskontrollissa esiintyy spesifistä värjäytymistä (väärä positiivinen värjäytyminen), potilasnäytteillä saatuja tuloksia on pidettävä virheellisinä.

Epäspesifinen negatiivinen reagenssikontrolli:
Käytä epäspesifistä negatiivista reagenssikontrollia primaarisen vasta-aineen sijasta kunkin potilasnäytteen leikkeen kanssa arvioidaksesi epäspesifistä värjäytymistä ja
mahdollistaa spesifisen värjäytymisen paremman tulkinnan antigeenikohdassa. Ihannetapauksessa negatiivinen reagenssikontrolli sisältää SOX10 IgG1-vasta-aineen, joka on tuotettu kudosviljelmän supernatantista samalla tavalla kuin primaarinen vasta-aine, mutta sillä ei ole spesifistä reaktiivisuutta ihmisen kudosten kanssa samassa matriisissa/liuoksessa kuin Biocare vasta-aine. Laimenna negatiivinen kontrollivasta-aine samaan immunoglobuliini- tai proteiinipitoisuuteen kuin laimennettu primäärinen vasta-aine vasta-aine käyttäen samaa laimennusainetta. Jos vasikan sikiön seerumi jää puhtaaseen vasta-aineeseen käsittelyn jälkeen, vasikan sikiön seerumi proteiinipitoisuudessa, joka vastaa laimennettua Primaarinen vasta-aine samassa laimentimessa soveltuu myös käytettäväksi. (Katso toimitettua reagenssia). Pelkkää laimennusainetta voidaan käyttää vähemmän toivottavana vaihtoehtona aiemmin kuvatuille negatiivisille reagenssikontrolleille. Negatiivisen reagenssikontrollin inkubaatioajan tulee vastata primaarisen vasta-aineen inkubaatioaikaa.

Kun sarjaleikkeissä käytetään useiden vasta-aineiden paneeleja, yhden objektilasin negatiivisesti värjäytyneet alueet voivat toimia negatiivisena/epäspesifisenä sitoutumisen taustakontrollina muille vasta-aineille. Endogeenisen entsyymiaktiivisuuden tai entsyymien epäspesifisen sitoutumisen erottamiseksi spesifisestä immunoreaktiivisuudesta voidaan potilaan lisäkudoksia värjätä yksinomaan substraatti-kromogeeni- tai entsyymikomplekseilla (PAP, avidiini-biotiini, streptavidiini) ja substraatti-kromogeenilla, vastaavasti.

Määrityksen vahvistus:
Ennen vasta-aineen tai värjäysjärjestelmän ensimmäistä käyttöä diagnostisessa toimenpiteessä käyttäjän tulee varmistaa vasta-aineen spesifisyys testaamalla se sarjalla yrityksen sisäisiä kudoksia, joiden immunohistokemialliset suorituskykyominaisuudet tunnetaan ja jotka edustavat tunnettuja positiivisia ja negatiivisia kudoksia. Tutustu laadunvalvontamenettelyihin, jotka on kuvattu aiemmin tässä tuoteselosteen osassa ja CAP-sertifiointiohjelman laadunvalvontasuosituksissa.[9] Immunohistokemiaa ja/tai NCCLS IHC -ohjetta varten[10]). Nämä laadunvalvontatoimenpiteet on toistettava jokaiselle uudelle vasta-aineerälle tai aina, kun määritysparametreissa tapahtuu muutoksia. Suorituskykyominaisuudet-osiossa luetellut kudokset soveltuvat määrityksen todentamiseen.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Finnish

Ongelmien karttoittaminen:
Noudata vasta-ainekohtaisia protokollasuosituksia toimitetun tietolomakkeen mukaisesti. Jos epätyypillisiä tuloksia ilmenee, ota yhteyttä Biocaren tekniseen tukeen numerossa 1-800-542-2002.

Värjäyksen tulkinta:

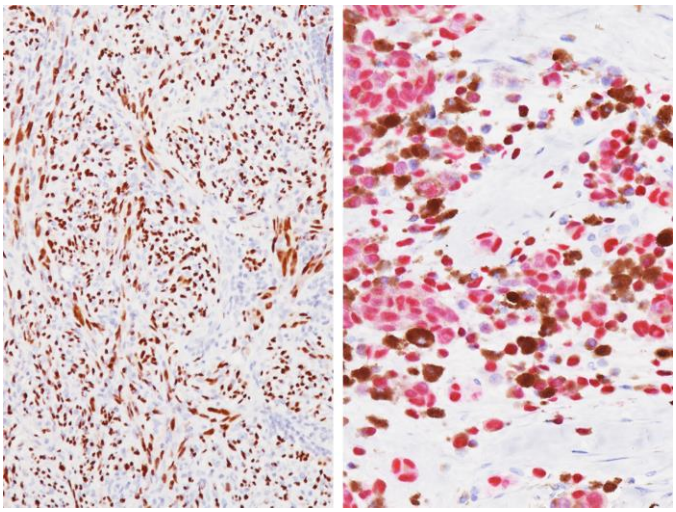
Positiivinen kudoskontrolli:
Osoitetuilla vasta-aineilla värjätty positiivinen kudoskontrolli tulee ensin tutkia sen varmistamiseksi, että kaikki reagenssit toimivat oikein. Kohdesolujen asianmukainen värjäys (kuten edellä on osoitettu) osoittaa positiivista reaktiivisuutta. Jos positiiviset kudoskontrollit eivät osoita positiivista värjäytymistä, testinäytteillä saatuja tuloksia on pidettävä virheellisinä.

Reaktiotuotteen väri voi vaihdella riippuen käytetyistä substraattikromogeeneista. Katso odotetut värireaktiot alustan pakkausselosteista. Lisäksi metakromiaa voidaan havaita värjäysmenetelmän muunnelmissa.[11]
Kun käytetään vastavärjäystä, riippuen käytetyn vastavärjäyksen inkubaation pituudesta ja tehokkuudesta, vastavärjäys johtaa soluytimien värjäämiseen. Liiallinen tai epätäydellinen vastavärjäys voi vaarantaa tulosten oikean tulkinnan. Katso suositellut vastavärjäyskäytännöt.

Negatiivinen kudoskontrolli:
Negatiivinen kudoskontrolli tulee tutkia positiivisen kudoskontrollin jälkeen primaarisen vasta-aineen kohdeantigeenin leiman spesifisyyden varmistamiseksi. Spesifisen värjäytymisen puuttuminen negatiivisessa kudoskontrollissa vahvistaa vasta-aineen ristireaktiivisuuden puuttumisen soluja/solukomponentteja kohtaan. Jos negatiivisessa ulkoisessa kudoskontrollissa esiintyy erityistä värjäytymistä (väärä positiivinen värjäytyminen), potilasnäytteen tuloksia on pidettävä virheellisinä.

Epäspesifinen värjäys, jos sitä esiintyy, on yleensä hajanainen. Sidekudoksen satunnaista värjäytymistä voidaan havaita myös leikkeissä, jotka ovat peräisin liikaa formaliinista kiinnitetyistä kudoksista. Käytä ehjiä soluja värjäystulosten tulkitsemiseen. Nekroottiset tai rappeutuneet solut värjäytyvät usein epäspesifisesti.

Potilaan kudos:
Tutki potilasnäytteet, jotka on värjätty osoitetulla vasta-aineella kestää. Positiivinen värjäytymisintensiteetti tulee arvioida negatiivisen reagenssikontrollin epäspesifisen taustavärjäyksen yhteydessä. Kuten missä tahansa immunohistokemiallisessa testissä, negatiivinen tulos tarkoittaa, että antigeeniä ei havaittu, ei sitä, että antigeeni puuttui määritetyistä soluista/kudoksesta. Käytä tarvittaessa vasta-ainepaneelia tunnistaaksesi väärät negatiiviset reaktiot.



(vasemmalla) Karasolumelanooma (DAB); (Oikealla) Pigmentoitunut melanooma (nopea punainen).

Katso Yhteenveto ja selitys, Rajoitukset ja Suorituskykyominaisuudet saadaksesi erityisiä tietoja osoitetusta vasta-aineen immunoreaktiivisuudesta.

Rajoitukset:

Yleiset rajoitukset:
1. varten *in vitro* diagnostinen käyttö
2. Tämä tuote on tarkoitettu vain ammattikäyttöön: Immunohistokemia on monivaiheinen diagnostinen prosessi, joka koostuu erityiskoulutuksesta sopivien reagenssien valinnassa; kudosten valinta, kiinnitys ja käsittely; IHC-levyn valmistus; ja värjäystulosten tulkinta.
3. Kudosvärjäys riippuu kudoksen käsittelystä ja prosessoinnista ennen värjäystä. Väärä kiinnitys, jäädyttäminen, sulattaminen, pesu, kuivaus, kuumennus, leikkaus tai kontaminaatio muilla kudoksilla tai nesteillä voi aiheuttaa artefakteja, vasta-aineiden vangitsemista tai vääriä negatiivisia tuloksia. Epäjohdonmukaiset tulokset voivat johtua vaihteluista kiinnitys- ja upotusmenetelmissä tai kudoksen sisäisistä epäsäännöllisyyksistä.[12]
4. Liiallinen tai epätäydellinen vastavärjäys voi vaarantaa tulosten oikean tulkinnan.
5. Kaikkien positiivisten tai negatiivisten värjäytymien kliininen tulkinta on arvioitava kliinisen esityksen, morfologian ja muiden histopatologisten kriteerien yhteydessä. Positiivisen tai negatiivisen värjäytymisen kliinistä tulkintaa tulisi täydentää morfologisilla tutkimuksilla, joissa käytetään asianmukaisia positiivisia ja negatiivisia sisäisiä ja ulkoisia kontrolleja sekä muita diagnostisia testejä. Pätevän patologin, joka tuntee IHC-vasta-aineiden, reagenssien ja menetelmien oikean käytön, vastuulla on tulkita kaikki vaiheet, joita käytetään lopullisen IHC-valmisteen valmistelussa ja tulkinnassa.
6. Optimaalinen vasta-aineen laimennus ja protokollat tietylle sovellukselle voivat vaihdella. Näitä ovat muun muassa kiinnitys, lämmön talteenottomenetelmä, inkubaatioajat, kudosleikkeen paksuus ja käytetty havaitsemispakkaus. Näiden ainutlaatuisten reagenssien ylivoimaisen herkkyyden vuoksi lueteltuja suositeltuja inkubointiaikoja ja tiittereitä ei voida soveltaa muihin tunnistusjärjestelmiin, koska tulokset voivat vaihdella. Käyttöturvallisuustiedotteen suositukset ja protokollat perustuvat Biocare-tuotteiden yksinomaiseen käyttöön. Viime kädessä on tutkijan vastuulla määrittää optimaaliset olosuhteet.
7. Tätä tuotetta ei ole tarkoitettu käytettäväksi virtaussytometriassa. Virtaussytometrian suorituskykyominaisuuksia ei ole määritetty.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE
TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

8. Hepatiitti B -viruksella infektoituneiden henkilöiden kudoksissa, jotka sisältävät hepatiitti B -pinta-antigeeniä (HBsAg), voi esiintyä epäspesifistä piparjuuriperoksidaasin värjäytymistä.[13]
9. Reagenssit voivat osoittaa odottamattomia reaktioita aiemmin testaamattomissa kudoksissa. Odottamattomien reaktioiden mahdollisuutta ei edes testatuissa kudosryhmissä voida täysin eliminoida antigeenin ilmentymisen biologisen vaihtelun vuoksi kasvaimissa tai muissa patologisissa kudoksissa.[14] Ota yhteyttä Biocaren tekniseen tukeen numerossa 1-800-542-2002 tai biocare.net-sivustossa olevien teknisen tuen tietojen kautta ja kerro dokumentoiduista odottamattomista reaktioista.
10. Normaalit/ei-immuuniseerumit samasta eläinlähteestä kuin estovaiheissa käytetyt sekundaariset antiseerumit voivat aiheuttaa vääriä negatiivisia tai vääriä positiivisia tuloksia autovasta-aineista tai luonnollisista vasta-aineista johtuen.
11. Vääriä positiivisia tuloksia voidaan nähdä johtuen proteiinien tai substraattireaktiotuotteiden ei-immunologisesta sitoutumisesta. Ne voivat johtua myös pseudoperoksidaasiaktiivisuudesta (erytrosyytit), endogeenisesta peroksidaasiaktiivisuudesta (sytokromi C) tai endogeenisesta biotiinista (esim. maksa, rinta, aivot, munuaiset) riippuen käytetyn immunovärjäyksen tyypistä.[12]

Tuotekohtaiset rajoitukset:
Tuotekohtaisia rajoituksia ei ole ilmoitettu.

Suorituskykyominaisuudet:
Herkkyys, spesifisyys ja ristireaktiivisuus on yhteenveto taulukoissa 1 ja 2, vastaavasti.

Immunoreaktiivisuus:
Seuraavat positiiviset ja negatiiviset immunoreaktiivisuudet on osoitettu alla olevissa taulukoissa 1 ja 2.

Alla oleva luettelo ei ole tyhjentävä, mutta se kuvaa ilmoitetun vasta-aineen yhteydessä havaittuja immunoreaktiivisuustyyppejä.

Analyyttinen suorituskyky:
Herkkyyden ja spesifisyyden värjäystestit suoritettiin, ja tulokset on lueteltu alla.

Herkkyys ja spesifisyys:

Pöytä 1: Herkkyys ja spesifisyys määritettiin testaamalla formaliinilla kiinnitettyjä, parafiiniin upotettuja sairaita kudoksia.

Kudos	Positiivisiet tapaukset	Tapauksia yhteensä
Melanooma (kutaaninen)	73	87 (83,9 %)
Metastaattinen melanooma	19	19 (100 %)
Karasolumelanooma	28	29 (96,6 %)
Desmoplastinen melanooma	3	3 (100 %)
Desmoplastiset/karasolujen sekaominaisuudet	2	2 (100 %)
Epitelioidinen melanooma	2	2 (100 %)
Sarkomatoidinen melanooma	2	2 (100 %)
Plasmasytoidinen melanooma	2	2 (100 %)
Ilmapallosolumelanooma	1	1 (100 %)
Rhabdoid melanooma	20	20 (100 %)
Hyvänlaatuinen nevus (erilaiset)	28	28 (100 %)
Schwannoma (neurilemmooma)	73	87 (83,9 %)

Taulukko 2: Kudosten ristireaktiivisuus määritettiin testaamalla formaliinilla kiinnitettyjä, parafiiniin upotettuja normaaleja kudoksia.

Kudos	Positiiviset tapaukset	Tapauksia yhteensä
Cerebrum	4	6*
Pikkuaivot	2	3*
Lisämunuainen	0	3
Munasarja	0	3
Haima	0	3
Kilpirauhanen	0	3
Lisäkilpirauhanen	0	3
Kives	0	3
Luu	0	3
Spleen	0	3
Tonsilla	0	3
Kateenkorva	0	3
Luuydin	0	3
Lung	0	3
Sydän	0	3
Ruokatorvi	0	3
Aivolisäke	0	3
Rinta	2	3*
Vatsa	0	3
Ohutsuoli	0	3
Kaksoispiste	0	3
Maksa	0	3
Sylkirauhanen	2	3*
Munuainen	0	3
Eturauhanen	0	3
Kohtu	0	3
Kohdunkaula	0	3
Luurankolihas	0	3
Iho	3	3*
Ääreishermo	2	3*
Lung	0	3
Kurkunpää	0	3
Virtsarakko	0	3
Istukka	0	3
Mesothelium	0	3

*Aivot ja pikkuaivot: oligodendrosyytit ja jotkut astrosyytit; rinta: myoepiteelisolut; sylkirauhanen: myoepiteelisolut; iho: melanosyytit; ääreishermo: Schwann-solut.

Ongelmien karttoittaminen:

1. Objektilasit ei värjäytyneet – Tarkista, että on käytetty asianmukaista positiivista kontrollikudosta, vasta-ainetta ja havaitsemistuotteita.
2. Kaikkien objektilasien heikko värjäys – Tarkista, että on käytetty asianmukaista positiivista kontrollikudosta, vasta-ainetta ja havaitsemistuotteita.
3. Kaikkien objektilasien liiallinen tausta – Endogeenistä biotiinia (jos käytät biotiinipohjaisia tunnistustuotteita), endogeenistä HRP-aktiivisuutta, joka muuttaa kromogeenin värilliseksi lopputuotteeksi (käytä peroksidaasisalpaa), tai ylimääräistä epäspesifistä proteiinivuorovaikutusta (käytä proteiinia) esto, kuten seerumi- tai kaseiinipohjainen estoliuos).
4. Kudososat pesevät objektilasit pois inkubaation aikana – Tarkista objektilasit varmistaaksesi, että ne ovat positiivisesti varautuneita.
5. Spesifinen värjäys liian tumma – Tarkista protokolla määrittääksesi, onko objektilasiin käytetty oikea vasta-ainetiitteri, sekä oikeat inkubaatioajat kaikille reagensseille. Varmista lisäksi, että protokollassa on riittävästi pesuvaiheita ylimääräisten reagenssien poistamiseksi inkubointivaiheiden jälkeen.

Viitteet:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline-vasta-aineet on kehittänyt yksinomaan Biocare Medical LLC, eivätkä ne tarkoita, että Ventana Medical Systems, Inc. tai Roche olisi hyväksynyt tai hyväksyneet Biocare-vasta-aineet. Biocare, Ventana ja Roche eivät ole sidoksissa, sidoksissa tai millään tavalla toisiinsa. Ventana®, BenchMark®, ultraView ja OptiView ovat Rochen tavaramerkkejä.

Q-sarjan vasta-aineet on kehittänyt yksinomaan Biocare Medical LLC, eivätkä ne tarkoita, että Leica Biosystems olisi hyväksynyt tai hyväksynyt Biocare-vasta-aineet. Biocare ja Leica Biosystems eivät ole millään tavalla sidoksissa, sidoksissa tai toisiinsa. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX ja BOND-III ovat Leica Biosystemsin tavaramerkkejä.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
French

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Utilisation prévue :
Pour *in vitro* Utilisation diagnostique
SOX10 (M) [BC34] est un anticorps monoclonal de souris destiné à une utilisation en laboratoire professionnel après que le diagnostic initial de la tumeur ait été posé par histopathologie conventionnelle à l'aide de colorants histochimiques non immunologiques, pour l'identification qualitative de SOX10. protéine par immunohistochimie (IHC) dans des tissus humains fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE). 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 pour faciliter toute autre détermination clinique.

Résumé et explication :
Le gène HMG-Box 10 (SOX10) lié au facteur de transcription SRY joue un rôle important dans le développement de la crête neurale, du système nerveux périphérique et des cellules mélanocytaires.[15-17] SOX10 est largement exprimé dans les tissus humains normaux, notamment les mélanocytes et le tissu mammaire. SOX10 est également un marqueur important dans les tumeurs malignes telles que le mélanome, le carcinome du sein, les gliomes et les tumeurs bénignes telles que les schwannomes.[17-20] Plus important encore, il a été démontré que SOX10 est exprimé dans 97 à 100 % des mélanomes desmoplasiques et à cellules fusiformes et qu'il est également exprimé dans 100 % des naevus.[15] Les mélanomes à cellules fusiformes et desmoplasiques sont des variantes rares du mélanome cutané invasif, avec un taux d'incidence annuel d'environ 2 pour 100 000.[21] Il a également été démontré que la majorité des oligodendrogliomes et un pourcentage élevé d'astrocytomes et de glioblastomes peu différenciés expriment SOX10.[17,19]

Brevet américain 9 816 997 et brevets en attente.

Principe de procédure :
Ce produit anticorps peut être utilisé comme anticorps primaire dans les tests immunohistochimiques de coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine. En général, immunohistochimique (IHC) Les techniques de coloration permettent la visualisation des antigènes via l'application séquentielle d'un un anticorps spécifique de l'antigène (anticorps primaire), un anticorps secondaire de l'anticorps primaire (lien optionnel anticorps/sonde), un complexe enzymatique et un substrat chromogénique avec étapes de lavage interposées. L'activation enzymatique du chromogène entraîne un produit de réaction visible au site de l'antigène. L'échantillon peut ensuite être contre-coloré et recouvert. Les résultats sont interprétés à l'aide d'une lumière microscope et aide au diagnostic différentiel des processus physiopathologiques, qui peuvent ou peut ne pas être associé à un antigène particulier.

Matériels et méthodes:

Réactifs fournis :
Source de l'hôte : Souris monoclonale
Réactivité des espèces : Humain; autres espèces non testées.
Cloner: BC34
Isotype : IgG1
Concentration en protéines : Contactez le support technique de Biocare pour connaître la concentration spécifique d'Ig.
Spécificité: SOX10
Localisation cellulaire : Nucléaire
Méthode: Monoclonal de souris purifié par affinité.

Reconstitution, Mélange, Dilution, Titrage :
Le réactif anticorps prédilué est dilué de manière optimale pour être utilisé avec les plateformes de coloration ci-dessous. Une dilution supplémentaire peut entraîner une perte de la coloration antigénique. L'utilisateur doit valider une telle modification. Les différences dans le traitement des tissus et les procédures techniques dans le laboratoire de l'utilisateur peuvent produire une variabilité significative des résultats nécessitant la réalisation régulière de contrôles internes (voir la section Contrôle qualité).
Le réactif concentré nécessite une dilution comme indiqué dans le tableau ci-dessus.

Applications connues :
Immunohistochimie (tissus inclus en paraffine fixés au formol)

Fourni comme :
Solution saline tamponnée, pH 6,1 à 7,4, contenant un support protéique et moins de 0,1 % de conservateur d'azoture de sodium. Voir la fiche de données de sécurité pour plus de détails.

Matériels et réactifs nécessaires mais non fournis :
Lames de microscope chargées positivement.
Contrôles tissulaires positifs et négatifs
Chambre du désert (ou four de séchage similaire)
Xylène ou substitut de xylène
Éthanol ou alcool réactif
Chambre de décoffrage (autocuiseur)
Eau désionisée ou distillée
Tampon de lavage
Réactifs de prétraitement
Blocage de la peroxydase
Bloc de protéines (facultatif)
Sonde de détection et polymère
Réactifs de contrôle négatif
Chromogènes
Hématoxyline (contre-colorant)
Réactif de bleuissement
Support de montage
Lamelle de verre
Microscope optique (grossissement 40-400X)
Plateforme automatisée de coloration de lames

Des configurations du produit anticorps sont disponibles pour une utilisation sur les instruments indiqués dans le tableau ci-dessus.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
French

Stockage et stabilité :
Conserver entre 2 °C et 8 °C. Le produit est stable jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette du flacon, lorsqu'il est conservé dans ces conditions. Ne pas utiliser après la date de péremption. Le stockage dans des conditions autres que celles spécifiées doit être vérifié. Les réactifs dilués doivent être utilisés rapidement ; conserver tout réactif restant entre 2 °C et 8 °C. La stabilité du réactif dilué par l'utilisateur n'a pas été établie par Biocare.

Les contrôles positifs et négatifs doivent être effectués simultanément avec tous les échantillons de patients. Si une coloration inattendue est observée qui ne peut pas être expliquée par des variations dans les procédures de laboratoire et qu'un problème avec l'anticorps est suspecté, contactez le support technique de Biocare au 1-800-542-2002 ou via les informations d'assistance technique fournies sur biocare.net.

Préparation des échantillons :
Les tissus fixés dans du 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.[1,2]

Les tissus correctement fixés et intégrés exprimant l'antigène cible spécifié doivent être conservés dans un endroit frais. La loi sur l'amélioration des laboratoires cliniques (CLIA) de 1988 exige dans 42 CFR §493.1259(b) que « Le laboratoire doit conserver les lames colorées au moins dix ans à compter de la date de examen et conserver les blocs d'échantillons au moins deux ans à compter de la date de l'examen.[3]

Traitement des tissus avant coloration :
Effectuer la récupération d'épitopes induite par la chaleur (HIER) selon le protocole recommandé ci-dessous. Il a été démontré que l'utilisation systématique de HIER avant l'IHC minimise les incohérences et standardise la coloration.[4,5]

Avertissement et précautions:
1. Cet anticorps contient moins de 0,1 % d'azoture de sodium. Les concentrations inférieures à 0,1 % ne sont pas des matières dangereuses à déclaration obligatoire selon la norme américaine 29 CFR 1910.1200, la communication des dangers de l'OSHA et la directive européenne 91/155/CE. Azoture de sodium (NaN_3) utilisé comme conservateur est toxique en cas d'ingestion. L'azoture de sodium peut réagir avec la plomberie en plomb et en cuivre pour former des azotures métalliques hautement explosifs. Lors de son élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter l'accumulation d'azoture dans la plomberie. (Center for Disease Control, 1976, Institut national de sécurité et de santé au travail, 1976)[6]
2. Les échantillons, avant et après fixation, ainsi que tous les matériaux qui y sont exposés doivent être manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et éliminés avec les précautions appropriées. Ne jamais pipeter les réactifs par la bouche et éviter tout contact avec la peau et les muqueuses avec les réactifs et les échantillons. Si les réactifs ou les échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau.[7]
3. La contamination microbienne des réactifs peut entraîner une augmentation des colorations non spécifiques.
4. Des durées d'incubation ou des températures autres que celles spécifiées peuvent donner des résultats erronés. L'utilisateur doit valider une telle modification.
5. Ne pas utiliser de réactif après la date de péremption imprimée sur le flacon.
6. Le réactif anticorps prédilué est dilué de manière optimale pour être utilisé. Une dilution supplémentaire peut entraîner une perte de la coloration antigénique.
7. La dilution du réactif anticorps concentré doit être validée avant utilisation. Tout diluant utilisé qui n'est pas spécifiquement recommandé doit également être validé pour sa compatibilité et sa stabilité.
8. Jetez tous les réactifs utilisés et tout autre matériel jetable contaminé en suivant les procédures relatives aux déchets infectieux ou potentiellement infectieux. Il appartient à chaque laboratoire de traiter les déchets solides et liquides selon leur nature et leur degré de dangerosité et de les traiter et de les éliminer (ou de les faire traiter et éliminer) conformément à toute réglementation applicable.
9. Suivez les réglementations locales d'élimination de votre emplacement ainsi que les recommandations de la fiche de données de sécurité pour déterminer l'élimination en toute sécurité de ce produit.
10. La FDS est disponible sur demande et se trouve sur http://biocare.net.
11. Pour signaler des incidents graves suspectés liés à cet appareil, contactez le représentant Biocare local et l'autorité compétente de l'État membre ou du pays dans lequel l'utilisateur est établi.

Mode d'emploi:
Protocoles de coloration recommandés pour SOX10 [BC34] :

IntelliPATH FLX et utilisation manuelle :

API3099 et IPI3099 pour intelliPATH FLX et utilisation manuelle, ont été standardisés avec MACH 4 système de détection. Utilisez TBS pour les étapes de lavage.	
Bloc de peroxyde :	Bloquer pour 5 minutes avec Peroxydazed 1
Prétraitement :	Effectuez la récupération de chaleur à l'aide de Diva Decloaker. Reportez-vous à la fiche technique de Diva Decloaker pour des instructions spécifiques.
Bloc de protéines (facultatif) :	Incuber pendant 5 à 10 minutes à température ambiante avec Background Punisher.
Anticorps primaire :	Incuber 30 minutes à température ambiante.
Détection:	Sonde : Incuber 10 minutes à température ambiante avec une sonde secondaire.
	Polymère : Incuber pendant 10 à 20 minutes à température ambiante avec un polymère tertiaire.
Chromogène :	Incuber pendant 5 minutes à température ambiante avec le DAB -OR- de Biocare. Incuber pendant 5 à 7 minutes à température ambiante avec Warp Red.
Contre-coloration :	Contre-colorer à l'hématoxyline. Rincer à l'eau déminéralisée. Appliquez la solution bleuissante de Tacha pendant 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée.
IPI3099 est destiné à être utilisé avec l'intelliPATH FLX. Reportez-vous au manuel d'utilisation pour obtenir des instructions d'utilisation spécifiques. Lors de l'utilisation de l'intelliPATH FLX, le blocage du peroxyde avec le réactif de blocage de la peroxydase intelliPATH FLX (IPB5000) peut être effectué après la récupération de la chaleur.	

Système de coloration de lames automatisé ONCORE Pro :

OPAI3099 est destiné à être utilisé avec ONCORE Pro. Reportez-vous au manuel d'utilisation pour obtenir des instructions d'utilisation spécifiques. Les paramètres de protocole dans l'éditeur de protocole doivent être programmés comme suit :		
Option de coloration chromogène	**touche**	**Rouge**
Nom du protocole :	SOX10	APPLICATION SOX10
Modèle de protocole (description) :	Modèle spécial (détection ONCORE Pro-Tect requise)	Modèle Mme AP 1
Déparaffinage (option tampon DS) :	DS2-50	DS2-50

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Récupération d'antigène (option AR) :	AR1, pH élevé ; 103°C	AR1, pH élevé ; 103°C
Option de blocage :	Tampon	Tampon
Nom du réactif, heure, température :	SOX10, 59 minutes, 37°C	SOX10, 59 minutes, 37°C

Ventana Benchmark ULTRA :

AVI3099 est destiné à être utilisé avec le BenchMark ULTRA. Reportez-vous au manuel d'utilisation pour obtenir des instructions d'utilisation spécifiques. Les paramètres de protocole recommandés sont les suivants :	
Modèle/Détection :	ultraViewDAB
Protocole de prétraitement :	Norme CC1
Peroxydase :	N / A
Anticorps primaire :	32 minutes, 37°C
Modèle/Détection :	OptiView DAB IHC
Protocole de prétraitement :	CC1 32 minutes
Peroxydase :	Inhibiteur préprimaire de la peroxydase
Anticorps primaire :	16 minutes, 36°C

Série Q – Pour Leica BOND-III :

ALI3099 est destiné à être utilisé avec le Leica BOND-III. Reportez-vous au manuel d'utilisation pour obtenir des instructions d'utilisation spécifiques. Les paramètres de protocole recommandés sont les suivants :		
Option de coloration chromogène	**touche**	**Rouge**
Nom du protocole :	Protocole IHC F	Protocole IHC J
Détection:	Affiner le polymère de liaison	Liant Polymère Affiner Rouge
ICI:	20 minutes avec ER2	20 minutes avec ER2
Bloc de peroxyde :	5 minutes	
Marqueur (anticorps primaire) :	15 min	15 min
Post-primaire :	8 minutes	
Polymère:	8 minutes	
AP post-primaire :		20 min
Polymère AP :		30 minutes
Affinage de chromogène mixte :	10 minutes	10 minutes + 5 minutes
Hématoxyline :	5 minutes	5 minutes

Contrôle de qualité:
Reportez-vous aux normes de qualité du CLSI pour la conception et la mise en œuvre de tests d'immunohistochimie ; Directives approuvées-Deuxième édition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011[8]

Contrôle tissulaire positif : Mélanome
Les matériaux de contrôle positif externe doivent être des échantillons frais fixés, traités et incorporés dès que possible de la même manière que les échantillons du patient. Les contrôles tissulaires positifs indiquent des tissus correctement préparés et des techniques de coloration appropriées. Un contrôle tissulaire externe positif pour chaque ensemble de conditions de test doit être inclus dans chaque série de coloration.

Les tissus utilisés pour les matériaux de contrôle positif externe doivent être sélectionnés à partir d'échantillons de patients présentant de faibles niveaux bien caractérisés d'activité cible positive qui donnent une faible coloration positive. Le faible niveau de positivité des contrôles positifs externes est conçu pour garantir la détection de changements subtils dans la sensibilité des anticorps primaires dus à une instabilité ou à des problèmes avec la méthodologie IHC. Les lames de contrôle tissulaire disponibles dans le commerce ou les échantillons traités différemment des échantillons du patient 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 les performances correctes des tissus traités et des réactifs de test, plutôt que pour aider à formuler un diagnostic spécifique à partir d'échantillons de patients. Si les contrôles tissulaires positifs ne parviennent pas à démontrer une coloration positive, les résultats des échantillons de test doivent être considérés comme invalides.

Contrôle tissulaire négatif :
Utiliser un contrôle tissulaire négatif (connu pour *être SOX10* négatif) fixé, traité et incorporé d'une manière identique au(x) échantillon(s) du patient à chaque cycle de coloration pour vérifier la spécificité de l'anticorps primaire IHC pour démonstration de l'antigène cible et fournir une indication de la coloration de fond spécifique (coloration faussement positive). En outre, la variété des différents types de cellules présents dans la plupart des coupes de tissus peut être utilisé par le laboratoire comme sites de contrôle négatif interne pour vérifier les performances de l'IHC Caractéristiques. Les types et sources d'échantillons pouvant être utilisés pour les tissus négatifs les contrôles sont répertoriés dans la section Caractéristiques de performance.

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

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 pour évaluer la coloration non spécifique et
permettre une meilleure interprétation de la coloration spécifique au site de l'antigène. Idéalement, un contrôle réactif négatif contient un anticorps SOX10 IgG1 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 le réactif. Anticorps Biocare. Diluer un anticorps témoin négatif à la même concentration d'immunoglobuline ou de protéine que l'anticorps primaire dilué. anticorps en utilisant le même diluant. Si le sérum de veau fœtal est retenu dans l'anticorps pur après le traitement, le sérum de veau fœtal à une concentration en protéines équivalente à celle diluée. l'anticorps primaire dans le même diluant peut également être utilisé. (Se référer au réactif fourni). Le diluant seul peut être utilisé comme alternative moins souhaitable aux contrôles réactifs négatifs décrits précédemment. La période d'incubation du contrôle réactif 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 des complexes substrat-chromogène ou enzymatiques (PAP, avidine-biotine, streptavidine) et substrat-chromogène, respectivement.

Vérification des analyses :
Avant la première utilisation d'un anticorps ou d'un système de coloration dans une procédure de diagnostic, l'utilisateur doit vérifier la spécificité de l'anticorps en le testant sur une série de tissus internes présentant des caractéristiques de performance immunohistochimiques connues

représentant des tissus positifs et négatifs connus. Référez-vous aux procédures de contrôle qualité précédemment décrites dans cette section de la notice du produit et aux recommandations de contrôle qualité du programme de certification CAP.[9] pour l'immunohistochimie et/ou la directive NCCLS IHC[6]). Ces procédures de contrôle qualité doivent être répétées pour chaque nouveau lot d'anticorps ou chaque fois qu'il y a un changement dans les paramètres du test. Les tissus répertoriés dans la section Caractéristiques de performance conviennent à la vérification du test.

Dépannage:
Suivez les recommandations du protocole spécifique aux anticorps selon la fiche technique fournie. Si des résultats atypiques apparaissent, contactez le support technique de Biocare au 1-800-542-2002.

Interprétation de la coloration :

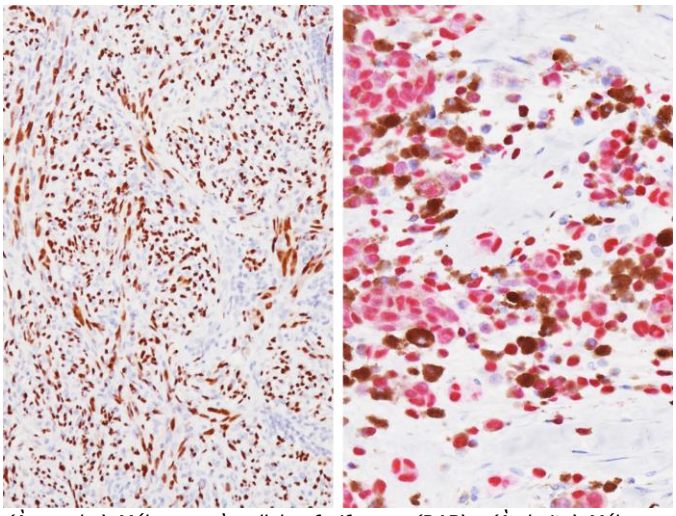
Contrôle tissulaire positif :
Le contrôle tissulaire positif coloré avec l'anticorps indiqué doit être examiné en premier pour s'assurer que tous les réactifs fonctionnent correctement. La coloration appropriée des cellules cibles (comme indiqué ci-dessus) indique une réactivité positive. Si les contrôles tissulaires positifs ne parviennent pas à démontrer une coloration positive, tous les résultats obtenus avec les échantillons de test doivent être considérés comme invalides.

La couleur du produit de réaction peut varier en fonction des chromogènes du substrat utilisé. Reportez-vous aux notices du substrat pour connaître les réactions de couleur attendues. De plus, une métachromasie peut être observée dans les variations de la méthode de coloration.[11]
Lorsqu'une contre-coloration est utilisée, en fonction de la durée d'incubation et de la puissance de la contre-coloration utilisée, la contre-coloration entraînera une coloration des noyaux cellulaires. Une contre-coloration excessive ou incomplète peut compromettre la bonne interprétation des résultats. Reportez-vous au(x) protocole(s) pour connaître la contre-coloration recommandée.

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 (fausse coloration positive) se produit dans le contrôle tissulaire externe négatif, les résultats obtenus avec l'échantillon du patient doivent être considérés comme invalides.

La coloration non spécifique, si elle est présente, a généralement un aspect diffus. Des colorations sporadiques du tissu conjonctif peuvent également être observées dans des coupes de tissus excessivement fixés au formol. Utilisez des cellules intactes pour l'interprétation des résultats de coloration. Les cellules nécrotiques ou dégénérées se colorent souvent de manière non spécifique.

Tissu du patient :
Examiner les échantillons de patients colorés avec l'anticorps indiqué dernier. L'intensité de la coloration positive doit être évaluée dans le contexte de toute coloration de fond non spécifique du contrôle réactif négatif. Comme pour tout test immunohistochimique, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté, et non que l'antigène était absent dans les cellules/tissus analysés. Si nécessaire, utilisez un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.



(À gauche) Mélanome à cellules fusiformes (DAB) ; (À droite) Mélanome pigmenté (rouge rapide).

Reportez-vous au résumé et à l'explication, aux limites et aux caractéristiques de performance pour obtenir des informations spécifiques concernant l'immunoréactivité des anticorps indiquée.

Limites:

Limites générales :
1. Pour *in vitro* Utilisation diagnostique
2. Ce produit est destiné à un usage professionnel uniquement : L'immunohistochimie est un processus de diagnostic en plusieurs étapes qui consiste en une formation spécialisée dans la sélection des réactifs appropriés ; sélection, fixation et traitement des tissus ; préparation de la lame IHC ; et interprétation des résultats de coloration.
3. La coloration des tissus dépend de la manipulation et du traitement du tissu avant la coloration. Une mauvaise fixation, congélation, décongélation, lavage, séchage, chauffage, sectionnement ou contamination par d'autres tissus ou fluides peut produire des artefacts, 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'intégration, ou à des irrégularités inhérentes au tissu.[12]
4. Une contre-coloration excessive ou incomplète peut compromettre la bonne interprétation des résultats.
5. 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. L'interprétation clinique de toute coloration positive ou négative doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles internes et externes positifs et négatifs appropriés ainsi que d'autres tests de diagnostic. Il est de la responsabilité d'un pathologiste qualifié qui connaît l'utilisation appropriée des anticorps, des réactifs et des méthodes IHC d'interpréter toutes les étapes utilisées pour préparer et interpréter la préparation IHC finale.
6. La dilution optimale des anticorps et les protocoles pour une application spécifique peuvent varier. Ceux-ci incluent, sans s'y limiter, la fixation, la méthode de récupération de chaleur, les temps d'incubation, l'épaisseur des coupes de tissus et le kit de détection utilisé. En raison de la sensibilité supérieure de ces réactifs uniques, les durées d'incubation recommandées et les titres indiqués ne s'appliquent pas à d'autres systèmes de détection, car les résultats peuvent varier. Les recommandations et protocoles de la fiche technique sont basés sur

l'utilisation exclusive des produits Biocare. En fin de compte, il incombe à l'enquêteur de déterminer les conditions optimales.

7. Ce produit n'est pas destiné à être utilisé en cytométrie en flux. Les caractéristiques de performance n'ont pas été déterminées pour la cytométrie en flux.
8. Les tissus provenant de personnes infectées par le virus de l'hépatite B et contenant l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs) peuvent présenter une coloration non spécifique à la peroxydase de raifort.[13]
9. Les réactifs peuvent présenter des réactions inattendues dans des tissus non testés auparavant. La possibilité de réactions inattendues, même dans les groupes de tissus testés, ne peut être complètement éliminée en raison de la variabilité biologique de l'expression de l'antigène dans les néoplasmes ou dans d'autres tissus pathologiques.[14] Contactez le support technique de Biocare au 1-800-542-2002, ou via les informations de support technique fournies sur biocare.net, avec une ou plusieurs réactions inattendues documentées.
10. Les sérums normaux/non immuns provenant de la même source animale que les antisérums secondaires utilisés dans les étapes de blocage peuvent provoquer des résultats faussement négatifs ou faussement positifs en raison d'auto-anticorps ou d'anticorps naturels.
11. Des résultats faussement positifs peuvent être observés en raison d'une liaison non immunologique des protéines ou des produits de réaction du substrat. Ils peuvent également être causés par une activité pseudo-peroxydase (érythrocytes), une activité peroxydase endogène (cytochrome C) ou une biotine endogène (par exemple, foie, sein, cerveau, rein), selon le type d'immunocoloration utilisé.[12]

Limites spécifiques au produit :
Aucune limitation spécifique au produit n'a été notée.

Caractéristiques de performance:
La sensibilité, la spécificité et la réactivité croisée sont résumées respectivement dans les tableaux 1 et 2.

Immunoréactivité :
Les immunoréactivités positives et négatives suivantes ont été démontrées dans les tableaux 1 et 2 ci-dessous.

La liste fournie ci-dessous n'est pas exhaustive mais caractérise les types d'immunoréactivités observées avec l'anticorps indiqué.

Performances analytiques :
Des tests de coloration pour la sensibilité et la spécificité ont été effectués et les résultats sont répertoriés ci-dessous.

Sensibilité et spécificité :

Tableau 1: La sensibilité et la spécificité ont été déterminées en testant des tissus malades fixés au formol et inclus en paraffine.

Tissu	Cas positifs	Total des cas
Mélanome (cutané)	73	87 (83,9%)
Mélanome métastatique	19	19 (100%)
Mélanome à cellules fusiformes	28	29 (96,6%)
Mélanome desmoplasique	3	3 (100%)
Caractéristiques mixtes desmoplastiques/cellules fusiformes	2	2 (100%)
Mélanome épithélioïde	2	2 (100%)
Mélanome sarcomatoïde	2	2 (100%)
Mélanome plasmacytoïde	2	2 (100%)
Mélanome à cellules ballonnées	1	1100%)
Mélanome rhabdoïde	20	20 (100%)
Naevus bénin (Divers)	28	28 (100%)
Schwannome (neurilemmome)	73	87 (83,9%)

Tableau 2: La réactivité croisée des tissus a été déterminée en testant des tissus normaux fixés au formol et inclus en paraffine.

Tissu	Cas positifs	Total des cas
Cerveau	4	6*
Cervelet	2	3*
Surrénal	0	3
Ovaire	0	3
Pancréas	0	3
Thyroïde	0	3
Parathyroïde	0	3
Testicule	0	3
Os	0	3
Rate	0	3
Amygdale	0	3
Thymus	0	3
Moelle	0	3
Poumon	0	3
Cœur	0	3
Œsophage	0	3
Pituitaire	0	3
Sein	2	3*
Estomac	0	3
Intestin grêle	0	3
Côlon	0	3
Foie	0	3
Glande salivaire	2	3*
Rein	0	3
Prostate	0	3
Utérus	0	3
Col de l'utérus	0	3
Muscle squelettique	0	3
Peau	3	3*
Nerf périphérique	2	3*
Poumon	0	3
Larynx	0	3
Vessie	0	3
Placenta	0	3
Mésothélium	0	3

*Cérébral et cervelet : oligodendrocytes et quelques astrocytes ; sein : cellules myoépithéliales ; glande salivaire : cellules myoépithéliales ; peau : mélanocytes ; nerf périphérique : cellules de Schwann.

Dépannage:

1. Aucune coloration des lames – Vérifiez que le tissu de contrôle positif, les anticorps et les produits de détection appropriés ont été utilisés.
2. Faible coloration de toutes les lames – Vérifiez que le tissu de contrôle positif, les anticorps et les produits de détection appropriés ont été utilisés.
3. Fond excessif de toutes les lames – Il peut y avoir des niveaux élevés de biotine endogène (si vous utilisez des produits de détection à base de biotine), une activité HRP endogène convertissant le chromogène en produit final coloré (utiliser un bloc de peroxydase) ou une interaction protéique non spécifique excessive (utiliser un bloc, comme une solution de blocage à base de sérum ou de caséine).
4. Les coupes de tissus sont lavées sur les lames pendant l'incubation. Vérifiez les lames pour vous assurer qu'elles sont chargées positivement.
5. Coloration spécifique trop foncée – Vérifiez le protocole pour déterminer si le titre d'anticorps approprié a été appliqué à la lame, ainsi que les temps d'incubation appropriés pour tous les réactifs. De plus, assurez-vous que le protocole comporte suffisamment d'étapes de lavage pour éliminer les réactifs en excès une fois les étapes d'incubation terminées.

Les références:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Les anticorps Ultraline sont développés uniquement par Biocare Medical LLC et n'impliquent pas l'approbation ou l'approbation des anticorps Biocare par Ventana Medical Systems, Inc ou Roche. Biocare, Ventana et Roche ne sont en aucun cas affiliés, associés ou liés. Ventana®, BenchMark®, ultraView et OptiView sont des marques déposées de Roche.

Les anticorps Q Series sont développés uniquement par Biocare Medical LLC et n'impliquent pas l'approbation ou l'approbation des anticorps Biocare par Leica Biosystems. Biocare et Leica Biosystems ne sont en aucun cas affiliés, associés ou liés. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX et BOND-III sont des marques commerciales de Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
German

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Verwendungszweck:
Für *in vitro* Diagnostische Verwendung
SOX10 (M) [BC34] ist ein monoklonaler Maus-Antikörper, der für den professionellen Laborgebrauch bestimmt ist, nachdem die Erstdiagnose eines Tumors durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung nichtimmunologischer histochemischer Färbungen zur qualitativen Identifizierung von SOX10 gestellt wurde Protein durch Immunhistochemie (IHC) in formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten (FFPE) menschlichen Geweben. Die klinische Interpretation etwaiger Verfärbungen oder ihres Fehlens sollte durch morphologische Studien unter Verwendung geeigneter Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests durch einen qualifizierten Pathologen als Hilfe für andere klinische Feststellungen bewertet werden.

Zusammenfassung und Erklärung:
Das mit dem Transkriptionsfaktor SRY verbundene HMG-Box-Gen 10 (SOX10) spielt eine wichtige Rolle bei der Neuralleiste, dem peripheren Nervensystem und der Entwicklung melanozytischer Zellen.[15-17] SOX10 wird in großem Umfang in normalen menschlichen Geweben exprimiert, einschließlich Melanozyten und Brustgewebe. SOX10 ist auch ein wichtiger Marker bei bösartigen Tumoren wie Melanomen, Brustkrebs, Gliomen und gutartigen Tumoren wie Schwannomen.[17-20] Noch wichtiger ist, dass SOX10 nachweislich in 97–100 % der desmoplastischen und spindelzelligen Melanome und auch in 100 % der Nävi exprimiert wird.[15] Spindelzell- und desmoplastische Melanome sind seltene Varianten des invasiven Hautmelanoms mit einer jährlichen Inzidenzrate von etwa 2 pro 100.000.[21] Es wurde auch gezeigt, dass die Mehrzahl der Oligodendrogliome und ein großer Prozentsatz der Astrozytome und schlecht differenzierten Glioblastome SOX10 exprimieren.[17,19]

US-Patent 9.816.997 und angemeldete Patente.

Verfahrensgrundsatz:
Dieses Antikörperprodukt kann als primärer Antikörper bei immunhistochemischen Tests von formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Im Allgemeinen immunhistochemische (IHC) Färbetechniken ermöglichen die Visualisierung von Antigenen durch die sequentielle Anwendung von a spezifischer Antikörper gegen das Antigen (primärer Antikörper), ein sekundärer Antikörper gegen den primären Antikörper (optionaler Link-Antikörper/Sonde), ein Enzymkomplex und ein chromogenes Substrat mit zwischengeschalteten Waschschritten. Die enzymatische Aktivierung des Chromogens führt zu einem sichtbaren Reaktionsprodukt an der Antigenstelle. Anschließend kann die Probe gegengefärbt und abgedeckt werden. Die Ergebnisse werden mithilfe eines Lichts interpretiert Mikroskop und Hilfe bei der Differentialdiagnose pathophysiologischer Prozesse, die oder ist möglicherweise nicht mit einem bestimmten Antigen verbunden.

Materialen und Methoden:

Mitgelieferte Reagenzien:
Host-Quelle: Monoklonale Maus
Speziesreaktivität: Menschlich; andere Arten nicht getestet.
Klon: BC34
Isotyp: IgG1
Proteinkonzentration: Wenden Sie sich bezüglich der spezifischen Ig-Konzentration an den technischen Support von Biocare.
Besonderheit: SOX10
Zelluläre Lokalisierung: Nuklear
Methode: Affinitätsgereinigtes monoklonales Mausprodukt.

Rekonstitution, Mischen, Verdünnung, Titration:
Vorverdünntes Antikörperreagenz ist optimal für die Verwendung mit den unten aufgeführten Färbeplattformen verdünnt. Eine weitere Verdünnung kann zum Verlust der Antigenfärbung führen. Der Benutzer muss jede solche Änderung validieren. Unterschiede in der Gewebeverarbeitung und den technischen Verfahren im Labor des Benutzers können zu erheblichen Schwankungen der Ergebnisse führen, die die regelmäßige Durchführung interner Kontrollen erforderlich machen (siehe Abschnitt „Qualitätskontrolle"). Konzentriertes Reagenz muss wie in der Tabelle oben angegeben verdünnt werden.

Bekannte Anwendungen:
Immunhistochemie (formalinfixierte, in Paraffin eingebettete Gewebe)

Geliefert als:
Gepufferte Kochsalzlösung, pH 6,1–7,4, mit einem Proteinträger und weniger als 0,1 % Natriumazid-Konservierungsmittel. Weitere Einzelheiten finden Sie im Sicherheitsdatenblatt.

Benötigte, aber nicht bereitgestellte Materialien und Reagenzien:
Objektträger positiv geladen.
Positive und negative Gewebekontrollen
Wüstenkammer (oder ähnlicher Trockenofen)
Xylol oder Xylolersatz
Ethanol oder Reagenzalkohol
Enttarnungskammer (Schnellkochtopf)
Entionisiertes oder destilliertes Wasser
Waschpuffer
Reagenzien zur Vorbehandlung
Peroxidase-Block
Proteinblock (optional)
Nachweissonde und Polymer
Negativkontrollreagenzien
Chromogene
Hämatoxylin (Gegenfärbung)
Bläuungsreagenz
Eindeckmedium
Schutzglas
Lichtmikroskop (40-400-fache Vergrößerung)
Automatisierte Plattform zum Färben von Objektträgern

Konfigurationen des Antikörperprodukts sind für die Verwendung auf den in der Tabelle oben angegebenen Geräten verfügbar.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Lagerung und Stabilität:
Bei 2 °C bis 8 °C lagern. Bei Lagerung unter diesen Bedingungen ist das Produkt bis zum auf dem Fläschchenetikett aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden. Die Lagerung unter anderen als den angegebenen Bedingungen muss überprüft werden. Verdünnte Reagenzien sollten umgehend verwendet werden; Lagern Sie das verbleibende Reagenz bei 2 °C bis 8 °C. Die Stabilität des vom Benutzer verdünnten Reagenzes wurde von Biocare nicht nachgewiesen.

Positiv- und Negativkontrollen sollten gleichzeitig mit allen Patientenproben durchgeführt werden. Wenn eine unerwartete Färbung beobachtet wird, die nicht durch Abweichungen in den Laborverfahren erklärt werden kann, und ein Problem mit dem Antikörper vermutet wird, wenden Sie sich an den technischen Support von Biocare unter 1-800-542-2002 oder über die technischen Supportinformationen auf biocare.net.

Probenvorbereitung:
Zur Verwendung vor der Paraffineinbettung eignen sich in Formalin fixierte Gewebe. Knochengewebe sollte vor der Gewebebearbeitung entkalkt werden, um das Gewebeschneiden zu erleichtern und Schäden an den Mikrotomklingen zu verhindern.[1,2]

Ordnungsgemäß fixierte und eingebettete Gewebe, die das angegebene Antigen-Ziel exprimieren, sollten an einem kühlen Ort gelagert werden. Der Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) von 1988 schreibt 42 CFR vor §493.1259(b) besagt: „Das Labor muss gefärbte Objektträger mindestens zehn Jahre ab dem Datum aufbewahren Prüfung durchführen und Probenblöcke mindestens zwei Jahre ab dem Datum der Prüfung aufbewahren."[3]

Behandlung von Geweben vor der Färbung:
Führen Sie die hitzeinduzierte Epitopgewinnung (HIER) gemäß dem unten empfohlenen Protokoll durch. Es hat sich gezeigt, dass die routinemäßige Verwendung von HIER vor der IHC Inkonsistenzen minimiert und die Färbung standardisiert.[4,5]

Warnung und Vorsichtsmaßnahmen:
1. Dieser Antikörper enthält weniger als 0,1 % Natriumazid. Konzentrationen unter 0,1 % sind gemäß U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication und EG-Richtlinie 91/155/EG keine meldepflichtigen Gefahrstoffe. Natriumazid (NaN_3), das als Konservierungsmittel verwendet wird, ist bei Einnahme giftig. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung mit großen Mengen Wasser spülen, um eine Azidbildung in den Leitungen zu verhindern. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)[6]
2. Proben vor und nach der Fixierung sowie alle ihnen ausgesetzten Materialien sollten so behandelt werden, als ob sie Infektionen übertragen könnten, und mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen entsorgt werden. Pipettieren Sie Reagenzien niemals mit dem Mund und vermeiden Sie den Kontakt der Reagenzien und Proben mit der Haut und den Schleimhäuten. Wenn Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt kommen, waschen Sie diese mit reichlich Wasser ab.[7]
3. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien kann zu einer Zunahme unspezifischer Färbungen führen.
4. Andere als die angegebenen Inkubationszeiten oder Temperaturen können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Der Benutzer muss jede solche Änderung validieren.
5. Verwenden Sie das Reagenz nach dem auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatum nicht mehr.
6. Das vorverdünnte Antikörperreagenz ist für den Gebrauch optimal verdünnt. Eine weitere Verdünnung kann zum Verlust der Antigenfärbung führen.
7. Die Verdünnung des konzentrierten Antikörperreagenzes muss vor der Verwendung validiert werden. Jedes verwendete Verdünnungsmittel, das nicht ausdrücklich empfohlen wird, muss ebenfalls auf Kompatibilität und Stabilität validiert werden.
8. Entsorgen Sie alle gebrauchten Reagenzien und alle anderen kontaminierten Einwegmaterialien gemäß den Verfahren für infektiösen oder potenziell infektiösen Abfall. Es liegt in der Verantwortung jedes Labors, mit festen und flüssigen Abfällen entsprechend ihrer Art und Gefährlichkeit umzugehen und sie gemäß den geltenden Vorschriften zu behandeln und zu entsorgen (oder sie behandeln und entsorgen zu lassen).
9. Befolgen Sie die örtlichen Entsorgungsvorschriften für Ihren Standort sowie die Empfehlungen im Sicherheitsdatenblatt, um die sichere Entsorgung dieses Produkts zu gewährleisten
10. Das Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage erhältlich und befindet sich unter http://biocare.net.
11. Um vermutete schwerwiegende Vorfälle im Zusammenhang mit diesem Gerät zu melden, wenden Sie sich an den örtlichen Biocare-Vertreter und die zuständige Behörde des Mitgliedstaats oder Landes, in dem der Benutzer ansässig ist.

Gebrauchsanweisung:
Empfohlene Färbeprotokolle für SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX und manuelle Verwendung:

API3099 und IPI3099 für intelliPATH FLX und manuelle Verwendung wurden mit MACH 4 standardisiert Erkennungssystem. Verwenden Sie TBS für die Waschschritte.	
Peroxidblock:	Blockieren für 5 Minuten mit Peroxidazed 1
Vorbehandlung:	Führen Sie die Wärmerückgewinnung mit Diva Decloaker durch. Spezifische Anweisungen finden Sie im Datenblatt von Diva Decloaker.
Proteinblock (optional):	5–10 Minuten bei RT mit Background Punisher inkubieren.
Primärer Antikörper:	30 Minuten bei RT inkubieren.
Erkennung:	Sonde: 10 Minuten bei RT mit einer sekundären Sonde inkubieren.
	Polymer: 10–20 Minuten bei RT mit einem Tertiärpolymer inkubieren.
Chromogen:	5 Minuten bei RT mit Biocare DAB inkubieren - ODER- 5-7 Minuten bei RT mit Warp Red inkubieren.
Gegenbeize:	Gegenfärbung mit Hämatoxylin. Mit entionisiertem Wasser spülen. Tragen Sie Tacha's Blueing Solution 1 Minute lang auf. Mit entionisiertem Wasser spülen.
IPI3099 ist für die Verwendung mit dem intelliPATH FLX vorgesehen. Spezifische Anweisungen zur Verwendung finden Sie im Benutzerhandbuch. Bei Verwendung des intelliPATH FLX kann nach der Wärmerückgewinnung eine Peroxidblockierung mit dem intelliPATH FLX Peroxidase-Blockierungsreagenz (IPB5000) durchgeführt werden.	

ONCORE Pro Automatisiertes Objektträgerfärbesystem:

OPAI3099 ist für die Verwendung mit dem ONCORE Pro vorgesehen. Spezifische Anweisungen zur Verwendung finden Sie im Benutzerhandbuch. Protokollparameter im Protokolleditor sollten wie folgt programmiert werden:		
Option zur Chromogenfärbung	**TUPFEN**	**Rot**
Protokollname:	SOX10	SOX10-APP
Protokollvorlage (Beschreibung):	Spezielle Vorlage (ONCORE Pro-Tect-Erkennung erforderlich)	Frau AP-Vorlage 1

Entparaffinierung (DS-Puffer-Option):	DS2-50	DS2-50
Antigen-Abruf (AR-Option):	AR1, hoher pH-Wert; 103°C	AR1, hoher pH-Wert; 103°C
Blockoption:	Puffer	Puffer
Reagenzname, Zeit, Temperatur:	SOX10, 59 Min., 37°C	SOX10, 59 Min., 37°C

Ventana Benchmark ULTRA:

AVI3099 ist für die Verwendung mit dem BenchMark ULTRA vorgesehen. Spezifische Anweisungen zur Verwendung finden Sie im Benutzerhandbuch. Die empfohlenen Protokollparameter sind wie folgt:	
Vorlage/Erkennung:	ultraView DAB
Vorbehandlungsprotokoll:	CC1-Standard
Peroxidase:	N / A
Primärer Antikörper:	32 Minuten, 37°C
Vorlage/Erkennung:	OptiView DAB IHC
Vorbehandlungsprotokoll:	CC1 32 Minuten
Peroxidase:	Präprimärer Peroxidase-Inhibitor
Primärer Antikörper:	16 Minuten, 36°C

Q-Serie – Für Leica BOND-III:

ALI3099 ist für die Verwendung mit dem Leica BOND-III vorgesehen. Spezifische Anweisungen zur Verwendung finden Sie im Benutzerhandbuch. Die empfohlenen Protokollparameter sind wie folgt:		
Option zur Chromogenfärbung	**TUPFEN**	**Rot**
Protokollname:	IHC-Protokoll F	IHC-Protokoll J
Erkennung:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Rot
HIER:	20 Minuten mit ER2	20 Minuten mit ER2
Peroxidblock:	5 Minuten	
Marker (Primärantikörper):	15 Minuten	15 Minuten
Nach der Grundschule:	8 Min	
Polymer:	8 Min	
Post-Primär-AP:		20 Minuten
Polymer-AP:		30 Minuten
Gemischtes Chromogen verfeinern:	10 Minuten	10 Min. + 5 Min
Hämatoxylin:	5 Minuten	5 Minuten

Qualitätskontrolle:
Siehe CLSI-Qualitätsstandards für Design und Implementierung von Immunhistochemie-Assays; Genehmigte Richtlinie – Zweite Auflage (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011[8]

Positive Gewebekontrolle: Melanom
Externe positive Kontrollmaterialien sollten frische Proben sein, die so schnell wie möglich auf die gleiche Weise wie die Patientenprobe(n) fixiert, verarbeitet und eingebettet werden. Positive Gewebekontrollen weisen auf korrekt vorbereitetes Gewebe und geeignete Färbetechniken hin. In jedem Färbedurchlauf sollte eine positive externe Gewebekontrolle für jeden Satz Testbedingungen enthalten sein.

Die für die externen positiven Kontrollmaterialien verwendeten Gewebe sollten aus Patientenproben mit gut charakterisierten niedrigen Konzentrationen der positiven Zielaktivität ausgewählt werden, die eine schwach positive Färbung ergeben. Der niedrige Positivitätsgrad für externe Positivkontrollen soll die Erkennung geringfügiger Veränderungen der primären Antikörperempfindlichkeit aufgrund von Instabilität oder Problemen mit der IHC-Methodik gewährleisten. Im Handel erhältliche Gewebekontrollobjektträger oder Proben, die anders als die Patientenprobe(n) verarbeitet wurden, validieren nur die Reagenzleistung und nicht die Gewebevorbereitung.

Bekannte positive Gewebekontrollen sollten nur zur Überwachung der korrekten Leistung verarbeiteter Gewebe und Testreagenzien verwendet werden und nicht als Hilfe bei der Formulierung einer spezifischen Diagnose von Patientenproben. Wenn die positiven Gewebekontrollen keine positive Färbung zeigen, sollten die Ergebnisse mit den Testproben als ungültig betrachtet werden.

Negative Gewebekontrolle:
Verwenden Sie eine negative Gewebekontrolle (bekanntermaßen). *sei SOX10* negativ) fixiert, verarbeitet und in einer Weise eingebettet, die mit der/den Patientenprobe(n) bei jedem Färbedurchgang identisch ist, um die Spezifität des IHC-Primärantikörpers für zu überprüfen Nachweis des Zielantigens und um einen Hinweis auf eine spezifische Hintergrundfärbung zu liefern (falsch positive Färbung). Auch die Vielfalt der verschiedenen Zelltypen, die in den meisten Gewebeschnitten vorhanden sind, kann dazu beitragen können vom Laboratorium als interne Negativkontrollstellen zur Überprüfung der Leistung des IHC verwendet werden Spezifikationen. Die Arten und Quellen der Proben, die für negatives Gewebe verwendet werden können Die Steuerelemente sind im Abschnitt „Leistungsmerkmale" aufgeführt.

Wenn in der negativen Gewebekontrolle eine spezifische Färbung (falsch positive Färbung) auftritt, sollten die Ergebnisse mit den Patientenproben als ungültig betrachtet werden.

Unspezifische Negativreagenzkontrolle:
Verwenden Sie anstelle des Primärantikörpers eine unspezifische Negativreagenzkontrolle mit einem Abschnitt jeder Patientenprobe, um die unspezifische Färbung zu bewerten und
ermöglichen eine bessere Interpretation der spezifischen Färbung an der Antigenstelle. Idealerweise enthält eine negative Reagenzkontrolle einen SOX10-IgG1-Antikörper, der auf die gleiche Weise wie der Primärantikörper aus dem Gewebekulturüberstand hergestellt wird, zeigt jedoch keine spezifische Reaktivität mit menschlichen Geweben in derselben Matrix/Lösung wie der Biocare-Antikörper. Verdünnen Sie einen negativen Kontrollantikörper auf die gleiche Immunglobulin- oder Proteinkonzentration wie der verdünnte Primärantikörper Antikörper unter Verwendung des identischen Verdünnungsmittels. Wenn fötales Kälberserum nach der Verarbeitung im unverdünnten Antikörper zurückbleibt, fötales Kälberserum in einer Proteinkonzentration, die der verdünnten entspricht Primärantikörper im gleichen Verdünnungsmittel sind ebenfalls zur Verwendung geeignet. (Siehe mitgeliefertes Reagenz). Die Verwendung von Verdünnungsmittel allein kann eine weniger wünschenswerte Alternative zu den zuvor beschriebenen negativen Reagenzienkontrollen sein. Die Inkubationszeit der Negativreagenzkontrolle sollte der des Primärantikörpers entsprechen.

Wenn Panels mit mehreren Antikörpern auf Serienschnitten verwendet werden, können die negativ gefärbten Bereiche eines Objektträgers als negative/unspezifische Bindungshintergrundkontrolle für andere Antikörper dienen. Um endogene Enzymaktivität oder unspezifische Bindung von Enzymen von spezifischer Immunreaktivität zu unterscheiden, können zusätzliche Patientengewebe ausschließlich mit Substrat-Chromogen oder Enzymkomplexen (PAP, Avidin-Biotin, Streptavidin) bzw. Substrat-Chromogen gefärbt werden.

Assay-Verifizierung:
Vor der erstmaligen Verwendung eines Antikörpers oder Färbesystems in einem diagnostischen Verfahren sollte der Benutzer die Spezifität des Antikörpers überprüfen, indem er ihn an einer Reihe interner Gewebe mit bekannten immunhistochemischen Leistungsmerkmalen testet, die bekanntermaßen positive und negative Gewebe darstellen. Beachten Sie die zuvor in diesem Abschnitt der Produktbeilage beschriebenen Qualitätskontrollverfahren und die Qualitätskontrollempfehlungen des CAP-Zertifizierungsprogramms[9] für Immunhistochemie und/oder die NCCLS IHC-Leitlinie[10]). Diese Qualitätskontrollverfahren sollten für jede neue Antikörpercharge oder bei jeder Änderung der Testparameter wiederholt werden. Die im Abschnitt „Leistungsmerkmale" aufgeführten Gewebe sind für die Testverifizierung geeignet.

Fehlerbehebung:
Befolgen Sie die Antikörper-spezifischen Protokollempfehlungen gemäß dem bereitgestellten Datenblatt. Wenn atypische Ergebnisse auftreten, wenden Sie sich unter 1-800-542-2002 an den technischen Support von Biocare.

Interpretation der Färbung:

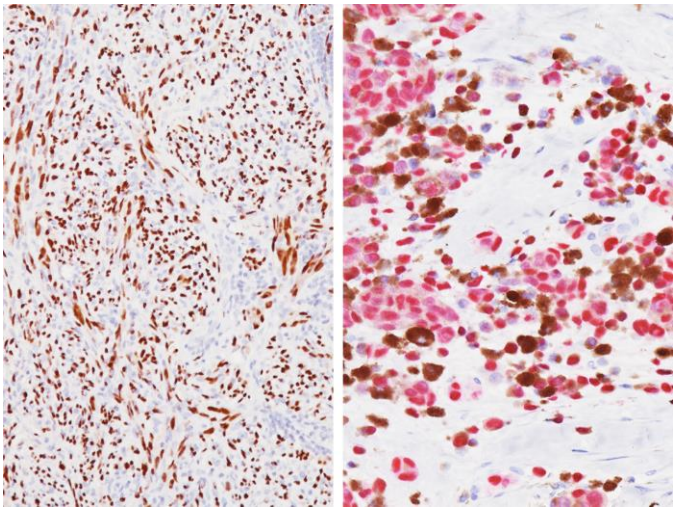
Positive Gewebekontrolle:
Die mit dem angegebenen Antikörper gefärbte positive Gewebekontrolle sollte zunächst untersucht werden, um sicherzustellen, dass alle Reagenzien ordnungsgemäß funktionieren. Die entsprechende Färbung der Zielzellen (wie oben angegeben) weist auf eine positive Reaktivität hin. Wenn die positiven Gewebekontrollen keine positive Färbung zeigen, sollten alle Ergebnisse mit den Testproben als ungültig betrachtet werden.

Die Farbe des Reaktionsprodukts kann abhängig von den verwendeten Substratchromogenen variieren. Informationen zu den erwarteten Farbreaktionen finden Sie in den Packungsbeilagen des Substrats. Darüber hinaus kann bei Variationen der Färbemethode Metachromasie beobachtet werden.[11]
Wenn eine Gegenfärbung verwendet wird, führt die Gegenfärbung je nach Inkubationsdauer und Wirksamkeit der verwendeten Gegenfärbung zu einer Färbung der Zellkerne. Übermäßiges oder unvollständiges Gegenfärben kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen. Die empfohlene Gegenfärbung finden Sie im/in den Protokollen.

Negative Gewebekontrolle:
Die negative Gewebekontrolle sollte nach der positiven Gewebekontrolle untersucht werden, um die Spezifität der Markierung des Zielantigens durch den Primärantikörper zu überprüfen. Das Fehlen einer spezifischen Färbung in der negativen Gewebekontrolle bestätigt das Fehlen einer Antikörper-Kreuzreaktivität mit Zellen/Zellkomponenten. Wenn bei der negativen externen Gewebekontrolle eine spezifische Färbung (falsch positive Färbung) auftritt, sollten die Ergebnisse mit der Patientenprobe als ungültig betrachtet werden.

Wenn eine unspezifische Färbung vorliegt, wirkt sie normalerweise diffus. In Schnitten aus übermäßig formalinfixiertem Gewebe kann es auch zu sporadischen Verfärbungen des Bindegewebes kommen. Verwenden Sie intakte Zellen zur Interpretation der Färbeergebnisse. Nekrotische oder degenerierte Zellen verfärben sich häufig unspezifisch.

Patientengewebe:
Untersuchen Sie Patientenproben, die mit dem angegebenen Antikörper gefärbt sind zuletzt. Die Intensität der positiven Färbung sollte im Zusammenhang mit einer unspezifischen Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle beurteilt werden. Wie bei jedem immunhistochemischen Test bedeutet ein negatives Ergebnis, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde und nicht, dass das Antigen in den untersuchten Zellen/Geweben fehlte. Verwenden Sie bei Bedarf ein Antikörper-Panel, um falsch-negative Reaktionen zu identifizieren.



(Links) Spindelzellmelanom (DAB); (Rechts) Pigmentiertes Melanom (Fast Red).

Spezifische Informationen zur angegebenen Antikörper-Immunreaktivität finden Sie unter „Zusammenfassung und Erläuterung, Einschränkungen und Leistungsmerkmale".

Einschränkungen:

Allgemeine Einschränkungen:
1. Für *in vitro* diagnostische Verwendung
2. Dieses Produkt ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt: Die Immunhistochemie ist ein mehrstufiger diagnostischer Prozess, der aus einer speziellen Schulung zur Auswahl der geeigneten Reagenzien besteht; Gewebeauswahl, -fixierung und -verarbeitung; Vorbereitung der IHC-Folie; und Interpretation der Färbeergebnisse.
3. Die Gewebefärbung hängt von der Handhabung und Verarbeitung des Gewebes vor der Färbung ab. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erhitzen, Schneiden oder Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Antikörpereinschlüssen oder falsch negativen Ergebnissen führen. Inkonsistente Ergebnisse können auf unterschiedliche Fixierungs- und Einbettungsmethoden oder auf inhärente Unregelmäßigkeiten im Gewebe zurückzuführen sein.[12]
4. Übermäßiges oder unvollständiges Gegenfärben kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen.
5. Die klinische Interpretation jeder positiven oder negativen Färbung sollte im Kontext des klinischen Erscheinungsbilds, der Morphologie und anderer histopathologischer Kriterien bewertet werden. Die klinische Interpretation jeder positiven oder negativen Färbung sollte durch morphologische Studien unter Verwendung geeigneter positiver und negativer interner und externer Kontrollen sowie anderer diagnostischer Tests ergänzt werden. Es liegt in der Verantwortung eines qualifizierten Pathologen, der mit der ordnungsgemäßen Verwendung von IHC-Antikörpern, Reagenzien und Methoden vertraut ist, alle Schritte zur Vorbereitung und Interpretation der endgültigen IHC-Präparation zu interpretieren.
6. Die optimale Antikörperverdünnung und die Protokolle für eine bestimmte Anwendung können variieren. Dazu gehören unter anderem die Fixierung, die Wärmerückgewinnungsmethode, die Inkubationszeiten, die Dicke des Gewebeschnitts und das verwendete

Nachweiskit. Aufgrund der überlegenen Empfindlichkeit dieser einzigartigen Reagenzien gelten die aufgeführten empfohlenen Inkubationszeiten und Titer nicht für andere Nachweissysteme, da die Ergebnisse variieren können. Die Empfehlungen und Protokolle im Datenblatt basieren auf der ausschließlichen Verwendung von Biocare-Produkten. Letztendlich liegt es in der Verantwortung des Untersuchers, optimale Bedingungen zu ermitteln.

7. Dieses Produkt ist nicht für die Verwendung in der Durchflusszytometrie bestimmt. Für die Durchflusszytometrie wurden keine Leistungsmerkmale ermittelt.
8. Gewebe von Personen, die mit dem Hepatitis-B-Virus infiziert sind und Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAg) enthalten, können eine unspezifische Färbung mit Meerrettichperoxidase aufweisen.[13]
9. Reagenzien können in zuvor nicht getesteten Geweben unerwartete Reaktionen hervorrufen. Die Möglichkeit unerwarteter Reaktionen selbst in getesteten Gewebegruppen kann aufgrund der biologischen Variabilität der Antigenexpression in Neoplasmen oder anderen pathologischen Geweben nicht vollständig ausgeschlossen werden.[14] Kontaktieren Sie den technischen Support von Biocare unter 1-800-542-2002 oder über die technischen Supportinformationen auf biocare.net mit dokumentierten unerwarteten Reaktionen.
10. Normale/nichtimmune Seren aus derselben tierischen Quelle wie sekundäre Antiseren, die in Blockierungsschritten verwendet werden, können aufgrund von Autoantikörpern oder natürlichen Antikörpern zu falsch negativen oder falsch positiven Ergebnissen führen.
11. Falsch positive Ergebnisse können aufgrund einer nicht immunologischen Bindung von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten auftreten. Abhängig von der Art der verwendeten Immunfärbung können sie auch durch Pseudoperoxidaseaktivität (Erythrozyten), endogene Peroxidaseaktivität (Cytochrom C) oder endogenes Biotin (z. B. Leber, Brust, Gehirn, Niere) verursacht werden.[12]

Produktspezifische Einschränkungen:
Keine produktspezifischen Einschränkungen angegeben.

Leistungsmerkmale:
Sensitivität, Spezifität und Kreuzreaktivität sind in den Tabellen 1 bzw. 2 zusammengefasst.

Immunreaktivität:
Die folgenden positiven und negativen Immunreaktivitäten wurden in den Tabellen 1 und 2 unten gezeigt.

Die nachstehende Liste erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit, sondern charakterisiert die Arten von Immunreaktivitäten, die mit dem angegebenen Antikörper beobachtet werden.

Analytische Leistung:
Es wurden Färbetests auf Sensitivität und Spezifität durchgeführt. Die Ergebnisse sind unten aufgeführt.

Sensitivität und Spezifität:

Tabelle 1: Sensitivität und Spezifität wurden durch Testen von formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem erkranktem Gewebe bestimmt.

Gewebe	Positive Fälle	Gesamtzahl der Fälle
Melanom (kutan)	73	87 (83,9 %)
Metastasiertes Melanom	19	19 (100 %)
Spindelzellmelanom	28	29 (96,6 %)
Desmoplastisches Melanom	3	3 (100 %)
Desmoplastische/Spindelzell-Mischmerkmale	2	2 (100 %)
Epitheloides Melanom	2	2 (100 %)
Sarkomatoides Melanom	2	2 (100 %)
Plasmazytoides Melanom	2	2 (100 %)
Ballonzellmelanom	1	1 (100 %)
Rhabdoides Melanom	20	20 (100 %)
Gutartiger Nävus (verschiedene)	28	28 (100 %)
Schwannom (Neurilemom)	73	87 (83,9 %)

Tabelle 2: Die Kreuzreaktivität des Gewebes wurde durch Testen formalinfixierter, in Paraffin eingebetteter normaler Gewebe bestimmt.

Gewebe	Positive Fälle	Gesamtzahl der Fälle
Großhirn	4	6*
Kleinhirn	2	3*
Adrenalin	0	3
Eierstock	0	3
Pankreas	0	3
Schilddrüse	0	3
Nebenschilddrüse	0	3
Hoden	0	3
Knochen	0	3
Milz	0	3
Mandel	0	3
Thymusdrüse	0	3
Knochenmark	0	3
Lunge	0	3
Herz	0	3
Speiseröhre	0	3
Hypophyse	0	3
Brust	2	3*
Magen	0	3
Dünndarm	0	3
Doppelpunkt	0	3
Leber	0	3
Speicheldrüse	2	3*
Niere	0	3
Prostata	0	3
Gebärmutter	0	3
Gebärmutterhals	0	3
Skelettmuskulatur	0	3
Haut	3	3*
Peripherer Nerv	2	3*
Lunge	0	3
Larynx	0	3
Blase	0	3
Plazenta	0	3
Mesothel	0	3

*Großhirn und Kleinhirn: Oligodendrozyten und einige Astrozyten; Brust: Myoepithelzellen; Speicheldrüse: Myoepithelzellen; Haut: Melanozyten; peripherer Nerv: Schwann-Zellen.

Fehlerbehebung:

1. Keine Färbung der Objektträger – Überprüfen Sie, ob geeignetes positives Kontrollgewebe, Antikörper und Nachweisprodukte verwendet wurden.
2. Schwache Färbung aller Objektträger – Überprüfen Sie, ob geeignetes positives Kontrollgewebe, Antikörper und Nachweisprodukte verwendet wurden.
3. Übermäßiger Hintergrund auf allen Objektträgern – Möglicherweise liegen hohe Mengen an endogenem Biotin vor (bei Verwendung biotinbasierter Nachweisprodukte), endogene HRP-Aktivität, die Chromogen in ein farbiges Endprodukt umwandelt (Peroxidase-Block verwenden), oder übermäßige unspezifische Proteininteraktion (Verwenden eines Proteins). (z. B. eine Serum- oder Casein-basierte Blockierungslösung).
4. Gewebeschnitte werden während der Inkubation von den Objektträgern abgewaschen – Überprüfen Sie die Objektträger, um sicherzustellen, dass sie positiv geladen sind.
5. Spezifische Färbung zu dunkel – Überprüfen Sie das Protokoll, um festzustellen, ob der richtige Antikörpertiter auf den Objektträger aufgetragen wurde und ob die Inkubationszeiten für alle Reagenzien korrekt sind. Stellen Sie außerdem sicher, dass das Protokoll genügend Waschschritte enthält, um überschüssige Reagenzien nach Abschluss der Inkubationsschritte zu entfernen.

Verweise:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline-Antikörper werden ausschließlich von Biocare Medical LLC entwickelt und bedeuten nicht die Genehmigung oder Empfehlung von Biocare-Antikörpern durch Ventana Medical Systems, Inc oder Roche. Biocare, Ventana und Roche sind in keiner Weise verbunden, verbunden oder verbunden. Ventana®, BenchMark®, ultraView und OptiView sind Marken von Roche.

Antikörper der Q-Serie werden ausschließlich von Biocare Medical LLC entwickelt und bedeuten keine Genehmigung oder Empfehlung von Biocare-Antikörpern durch Leica Biosystems. Biocare und Leica Biosystems sind in keiner Weise verbunden, verbunden oder verbunden. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX und BOND-III sind Marken von Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Greek

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Προβλεπόμενη χρήση:
Για *in vitro* Διαγνωστική χρήση
Το SOX10 (M) [BC34] είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού που προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση αφού η αρχική διάγνωση του όγκου έχει γίνει με συμβατική ιστοπαθολογία χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές κηλίδες, για την ποιοτική αναγνώριση του SOX10 πρωτεΐνης με ανοσοϊστοχημεία (IHC) σε ανθρώπινους ιστούς με φορμαλίνη ενσωματωμένους σε παραφίνη (FFPE). Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες με χρήση κατάλληλων ελέγχων και θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολόγο ως βοήθημα στη λήψη τυχόν άλλων κλινικών προσδιορισμών.

Περίληψη και Επεξήγηση:
Το γονίδιο HMG-Box 10 που σχετίζεται με τον παράγοντα μεταγραφής SRY (SOX10) παίζει σημαντικό ρόλο στη νευρική ακρολοφία, στο περιφερικό νευρικό σύστημα και στην ανάπτυξη των μελανοκυττάρων.[15-17] Το SOX10 εκφράζεται ευρέως σε φυσιολογικούς ανθρώπινους ιστούς συμπεριλαμβανομένων των μελανοκυττάρων και του ιστού του μαστού. Το SOX10 είναι επίσης ένας σημαντικός δείκτης σε κακοήθεις όγκους όπως το μελάνωμα, το καρκίνωμα του μαστού, τα γλοιώματα και οι καλοήθεις όγκοι όπως τα σβαννώματα.[17-20] Το πιο σημαντικό, έχει αποδειχθεί ότι το SOX10 εκφράζεται στο 97-100% των μελανωμάτων με δεσμοπλαστικά και ατρακτοκυτταρικά κύτταρα και έχει επίσης αποδειχθεί ότι εκφράζεται στο 100% των σπίλων.[15] Τα ατρακτοκυτταρικά και τα δεσμοπλαστικά μελανώματα είναι σπάνιες παραλλαγές του διηθητικού δερματικού μελανώματος, με ετήσιο ποσοστό επίπτωσης περίπου 2 ανά 100.000.[21] Η πλειονότητα των ολιγοδενδρογλιωμάτων και ένα μεγάλο ποσοστό αστροκυτώματος και κακώς διαφοροποιημένων γλοιοβλαστωμάτων έχει επίσης αποδειχθεί ότι εκφράζει το SOX10.[17,19]

Ευρεσιτεχνία ΗΠΑ 9,816,997 και ευρεσιτεχνίες σε εκκρεμότητα.

Αρχή Διαδικασίας:
Αυτό το προϊόν αντισώματος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως το πρωτεύον αντίσωμα σε δοκιμές ανοσοϊστοχημείας τμημάτων ιστού μονιμοποιημένων με φορμαλίνη, ενσωματωμένων σε παραφίνη. Γενικά, η ανοσοϊστοχημική (IHC) οι τεχνικές χρώσης επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής του α ειδικό αντίσωμα στο αντιγόνο (πρωτεύον αντίσωμα), ένα δευτερεύον αντίσωμα στο πρωτεύον αντίσωμα (προαιρετικό αντίσωμα σύνδεσης/ανιχνευτής), ένα σύμπλεγμα ενζύμων και ένα χρωμογόνο υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα στάδια έκπλυσης. Η ενζυματική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα ένα ορατό προϊόν αντίδρασης στη θέση του αντιγόνου. Στη συνέχεια, το δείγμα μπορεί να αντιχρωματιστεί και να γλιστρήσει το κάλυμμα. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται χρησιμοποιώντας ένα φως μικροσκόπιο και βοήθεια στη διαφορική διάγνωση παθοφυσιολογικών διεργασιών, που μπορεί ή μπορεί να μην σχετίζεται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

Υλικά και μέθοδοι:

Παρεχόμενα αντιδραστήρια:

Πηγή οικοδεσπότη: Ποντίκι μονοκλωνικό
Αντιδραστικότητα είδους: Ο άνθρωπος; άλλα είδη που δεν έχουν δοκιμαστεί.
Κλωνοποίηση: π.Χ.34
Ισότυπος: IgG1
Συγκέντρωση πρωτεΐνης: Επικοινωνήστε με την Τεχνική Υποστήριξη της Biocare για συγκεκριμένη συγκέντρωση Ig.
Ειδικότητα: SOX10
Εντοπισμός κινητής τηλεφωνίας: Πυρηνικός
Μέθοδος: Μονόκλωνο ποντικού καθαρισμένο με συγγένεια.

Ανασύσταση, ανάμειξη, αραίωση, τιτλοδότηση:
Το προαραιωμένο αντιδραστήριο αντισώματος αραιώνεται βέλτιστα για χρήση με τις παρακάτω πλατφόρμες χρώσης. Περαιτέρω αραίωση μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια χρώσης αντιγόνου. Ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή. Οι διαφορές στην επεξεργασία των ιστών και στις τεχνικές διαδικασίες στο εργαστήριο του χρήστη μπορεί να προκαλέσουν σημαντική διακύμανση στα αποτελέσματα που απαιτούν την τακτική εκτέλεση εσωτερικών ελέγχων (βλ. ενότητα Ποιοτικός έλεγχος).
Το συμπυκνωμένο αντιδραστήριο απαιτεί αραίωση όπως υποδεικνύεται στον παραπάνω πίνακα.

Γνωστές εφαρμογές:
Ανοσοϊστοχημεία (ιστοί ενσωματωμένοι σε παραφίνη σταθεροποιημένοι με φορμαλίνη)

Παρέχεται ως:
Ρυθμισμένο αλατούχο διάλυμα, pH 6,1 – 7,4, που περιέχει φορέα πρωτεΐνης και λιγότερο από 0,1% συντηρητικό αζίδιο νατρίου. Δείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας για πρόσθετες λεπτομέρειες.

Υλικά και αντιδραστήρια που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται:
Το μικροσκόπιο ολισθαίνει θετικά φορτισμένο.
Θετικοί και αρνητικοί έλεγχοι ιστών
Desert Chamber (ή παρόμοιος φούρνος στεγνώματος)
Ξυλόλιο ή υποκατάστατο ξυλολίου
Αιθανόλη ή αλκοόλη αντιδραστηρίου
Θάλαμος αποκάλυψης (χύτρα ταχύτητας)
Απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό
Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
Αντιδραστήρια προεπεξεργασίας
Μπλοκ υπεροξειδάσης
Μπλοκ πρωτεΐνης (προαιρετικό)
Ανιχνευτής ανίχνευσης και πολυμερές
Αντιδραστήρια αρνητικού ελέγχου
Χρωμογόνα
Αιματοξυλίνη (αντίχρηση)
Μπλε αντιδραστήριο
Μέσο τοποθέτησης
Κάλυμμα
Μικροσκόπιο φωτός (μεγέθυνση 40-400X)
Πλατφόρμα αυτοματοποιημένης χρώσης πλακών

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands
IVD CE
TP v6 (11/02/2023)
Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Οι διαμορφώσεις του προϊόντος αντισώματος είναι διαθέσιμες για χρήση στα όργανα που υποδεικνύονται στον παραπάνω πίνακα.

Αποθήκευση και σταθερότητα:
Φυλάσσεται στους 2ºC έως 8ºC. Το προϊόν είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, όταν φυλάσσεται υπό αυτές τις συνθήκες. Να μη χρησιμοποιείται μετά την ημερομηνία λήξης. Η αποθήκευση υπό οποιεσδήποτε συνθήκες εκτός από αυτές που καθορίζονται πρέπει να επαληθεύεται. Τα αραιωμένα αντιδραστήρια θα πρέπει να χρησιμοποιούνται αμέσως. φυλάξτε τυχόν υπολειπόμενο αντιδραστήριο στους 2ºC έως 8ºC. Η σταθερότητα του αντιδραστηρίου αραιωμένου χρήστη δεν έχει τεκμηριωθεί από τη Biocare.

Οι θετικοί και οι αρνητικοί μάρτυρες θα πρέπει να εκτελούνται ταυτόχρονα με όλα τα δείγματα ασθενών. Εάν παρατηρηθεί απροσδόκητη χρώση που δεν μπορεί να εξηγηθεί από διαφορές στις εργαστηριακές διαδικασίες και υπάρχει υποψία για πρόβλημα με το αντίσωμα, επικοινωνήστε με την Τεχνική Υποστήριξη της Biocare στο 1-800-542-2002 ή μέσω των πληροφοριών τεχνικής υποστήριξης που παρέχονται στο biocare.net.

Προετοιμασία δείγματος:
Οι ιστοί στερεωμένοι σε φορμαλίνη είναι κατάλληλοι για χρήση πριν από την ενσωμάτωση παραφίνης. Οι οστικοί ιστοί θα πρέπει να απασβεστώνονται πριν από την επεξεργασία του ιστού για να διευκολυνθεί η κοπή του ιστού και να αποφευχθεί η ζημιά στις λεπίδες του μικροτόμου.[1,2]

Οι σωστά στερεωμένοι και ενσωματωμένοι ιστοί που εκφράζουν τον καθορισμένο στόχο αντιγόνου θα πρέπει να φυλάσσονται σε δροσερό μέρος. Ο νόμος για τη βελτίωση του κλινικού εργαστηρίου (CLIA) του 1988 απαιτεί στο 42 CFR §493.1259(β) ότι «Το εργαστήριο πρέπει να διατηρεί λεκιασμένες αντικειμενοφόρους πλάκες τουλάχιστον δέκα χρόνια από την ημερομηνία εξέταση και διατήρηση των τμημάτων δειγμάτων τουλάχιστον δύο χρόνια από την ημερομηνία εξέτασης.»[3]

Θεραπεία ιστών πριν από τη χρώση:
Εκτελέστε Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) σύμφωνα με το προτεινόμενο πρωτόκολλο παρακάτω. Η τακτική χρήση του HIER πριν από την IHC έχει αποδειχθεί ότι ελαχιστοποιεί την ασυνέπεια και τυποποιεί τη χρώση.[4,5]

Προειδοποίηση και προφυλάξεις:
1. Αυτό το αντίσωμα περιέχει λιγότερο από 0,1% αζίδιο του νατρίου. Οι συγκεντρώσεις μικρότερες από 0,1% δεν είναι επικίνδυνα υλικά που μπορούν να αναφερθούν σύμφωνα με το 29 CFR 1910.1200 των ΗΠΑ, την ανακοίνωση κινδύνου OSHA και την Οδηγία 91/155/ΕΚ της ΕΚ. Αζίδιο του νατρίου (NaN_3) χρησιμοποιείται ως συντηρητικό είναι τοξικό εάν καταποθεί. Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με τις υδραυλικές εγκαταστάσεις μολύβδου και χαλκού για να σχηματίσει εξαιρετικά εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Μετά την απόρριψη, ξεπλύνετε με μεγάλες ποσότητες νερού για να αποτρέψετε τη συσσώρευση αζιδίων στις υδραυλικές εγκαταστάσεις. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)[6]
2. Τα δείγματα, πριν και μετά τη στερέωση, και όλα τα υλικά που εκτίθενται σε αυτά θα πρέπει να αντιμετωπίζονται σαν να είναι ικανά να μεταδώσουν μόλυνση και να απορρίπτονται με τις κατάλληλες προφυλάξεις. Ποτέ μην μεταφέρετε τα αντιδραστήρια με πιπέτα από το στόμα και αποφύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια και δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έρθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονη ποσότητα νερού.[7]
3. Η μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της μη ειδικής χρώσης.
4. Χρόνοι επώασης ή θερμοκρασίες διαφορετικές από αυτές που καθορίζονται μπορεί να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή.
5. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο.
6. Το προαραιωμένο αντιδραστήριο αντισώματος αραιώνεται βέλτιστα για χρήση. Περαιτέρω αραίωση μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια χρώσης αντιγόνου.
7. Η αραίωση του συμπυκνωμένου αντιδραστηρίου αντισώματος πρέπει να επικυρωθεί πριν από τη χρήση. Κάθε χρησιμοποιούμενο αραιωτικό που δεν συνιστάται ειδικά πρέπει επίσης να επικυρώνεται για συμβατότητα και σταθερότητα.
8. Απορρίψτε όλα τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια και οποιαδήποτε άλλα μολυσμένα αναλώσιμα υλικά ακολουθώντας διαδικασίες για μολυσματικά ή δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Είναι ευθύνη κάθε εργαστηρίου να χειρίζεται στερεά και υγρά απόβλητα σύμφωνα με τη φύση και τον βαθμό επικινδυνότητάς τους και να τα χειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να τα αναθέτει σε επεξεργασία και απόρριψη) σύμφωνα με οποιουσδήποτε ισχύοντες κανονισμούς.
9. Ακολουθήστε τους τοπικούς κανονισμούς απόρριψης για την τοποθεσία σας μαζί με συστάσεις στο Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας για να καθορίσετε την ασφαλή απόρριψη αυτού του προϊόντος
10. Το SDS είναι διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος και βρίσκεται στη διεύθυνση http://biocare.net.
11. Για να αναφέρετε ύποπτα σοβαρά περιστατικά που σχετίζονται με αυτήν τη συσκευή, επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Biocare και την αρμόδια αρχή του κράτους μέλους ή της χώρας στην οποία είναι εγκατεστημένος ο χρήστης.

Οδηγίες χρήσης:
Συνιστώμενα πρωτόκολλα χρώσης για SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX και χειροκίνητη χρήση:

Τα API3099 και IPI3099 για intelliPATH FLX και χειροκίνητη χρήση, έχουν τυποποιηθεί με MACH 4 σύστημα ανίχνευσης. Χρησιμοποιήστε TBS για τα βήματα πλυσίματος.	
Μπλοκ υπεροξειδίου:	Αποκλεισμός για 5 λεπτά με Peroxidazed 1
Προεπεξεργασία:	Εκτελέστε ανάκτηση θερμότητας χρησιμοποιώντας το Diva Decloaker. Ανατρέξτε στο φύλλο δεδομένων Diva Decloaker για συγκεκριμένες οδηγίες.
Μπλοκ πρωτεΐνης (προαιρετικό):	Επωάστε για 5-10 λεπτά σε RT με Background Punisher.
Πρωτογενές αντίσωμα:	Επωάστε για 30 λεπτά σε ΘΔ.
Ανίχνευση:	Ανιχνευτής: Επωάστε για 10 λεπτά σε RT με έναν δευτερεύοντα καθετήρα.
	Πολυμερές: Επωάστε για 10-20 λεπτά σε ΘΔ με τριτοταγές πολυμερές.
Χρωμογόνο:	Επωάστε για 5 λεπτά σε RT με Biocare's DAB -OR- Επωάστε για 5-7 λεπτά σε RT με Warp Red.
Αντίχρηση:	Αντίχρηση με αιματοξυλίνη. Ξεπλύνετε με απιονισμένο νερό. Εφαρμόστε Tacha's Blueing Solution για 1 λεπτό. Ξεπλύνετε με απιονισμένο νερό.

BIOCARE MEDICAL

Το IPI3099 προορίζεται για χρήση με το intelliPATH FLX. Ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήστη για συγκεκριμένες οδηγίες χρήσης. Όταν χρησιμοποιείτε το intelliPATH FLX, ο αποκλεισμός υπεροξειδίου με το αντιδραστήριο αποκλεισμού υπεροξειδάσης intelliPATH FLX (IPB5000) μπορεί να πραγματοποιηθεί μετά από ανάκτηση θερμότητας.

Αυτοματοποιημένο σύστημα χρώσης διαφανειών ONCORE Pro:

Το OPAI3099 προορίζεται για χρήση με το ONCORE Pro. Ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήστη για συγκεκριμένες οδηγίες χρήσης. Οι παράμετροι πρωτοκόλλου στον Επεξεργαστή Πρωτοκόλλου θα πρέπει να προγραμματιστούν ως εξής:		
Επιλογή χρώσης χρωμογόνου	**ΕΠΑΛΕΙΨΗ**	**το κόκκινο**
Όνομα πρωτοκόλλου:	SOX10	ΕΦΑΡΜΟΓΗ SOX10
Πρότυπο πρωτοκόλλου (Περιγραφή):	Ειδικό πρότυπο (Απαιτείται ανίχνευση ONCORE Pro-Tect)	Πρότυπο Ms AP 1
Αποκήρωση (Επιλογή Buffer DS):	DS2-50	DS2-50
Ανάκτηση αντιγόνου (Επιλογή AR):	AR1, υψηλό pH; 103°C	AR1, υψηλό pH; 103°C
Επιλογή αποκλεισμού:	Ρυθμιστής	Ρυθμιστής
Όνομα αντιδραστηρίου, χρόνος, θερμοκρασία:	SOX10, 59 λεπτά, 37°C	SOX10, 59 λεπτά, 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

Το AVI3099 προορίζεται για χρήση με το BenchMark ULTRA. Ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήστη για συγκεκριμένες οδηγίες χρήσης. Οι συνιστώμενες παράμετροι πρωτοκόλλου είναι οι εξής:	
Πρότυπο/Ανίχνευση:	ultraView DAB
Πρωτόκολλο προεπεξεργασίας:	Πρότυπο CC1
Υπεροξειδάση:	N/A
Πρωτογενές αντίσωμα:	32 λεπτά, 37°C
Πρότυπο/Ανίχνευση:	OptiView DAB IHC
Πρωτόκολλο προεπεξεργασίας:	CC1 32 λεπτά
Υπεροξειδάση:	Προπρωτογενής αναστολέας υπεροξειδάσης
Πρωτογενές αντίσωμα:	16 λεπτά, 36°C

Σειρά Q – Για Leica BOND-III:

Το ALI3099 προορίζεται για χρήση με το Leica BOND-III. Ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήστη για συγκεκριμένες οδηγίες χρήσης. Οι συνιστώμενες παράμετροι πρωτοκόλλου είναι οι εξής:		
Επιλογή χρώσης χρωμογόνου	**ΕΠΑΛΕΙΨΗ**	**το κόκκινο**
Όνομα πρωτοκόλλου:	Πρωτόκολλο IHC F	Πρωτόκολλο IHC J
Ανίχνευση:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Red
ΕΔΩ:	20 λεπτά με ER2	20 λεπτά με ER2
Μπλοκ υπεροξειδίου:	5 λεπτά	
Δείκτης (πρωτογενές αντίσωμα):	15 λεπτά	15 λεπτά
Post Primary:	8 λεπτά	
Πολυμερές:	8 λεπτά	
Post Primary AP:		20 λεπτά
Polymer AP:		30 λεπτά
Μικτό χρωμογόνο Refine:	10 λεπτά	10 λεπτά + 5 λεπτά
Αιματοξυλίνη:	5 λεπτά	5 λεπτά

Ελεγχος ποιότητας:
Ανατρέξτε στα πρότυπα ποιότητας του CLSI για τον σχεδιασμό και την εφαρμογή αναλύσεων ανοσοϊστοχημείας. Εγκεκριμένη Οδηγία-Δεύτερη έκδοση (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ΗΠΑ (www.clsi.org). 2011[8]

Θετικός έλεγχος ιστού: Μελάνωμα
Τα υλικά εξωτερικού θετικού ελέγχου θα πρέπει να είναι φρέσκα δείγματα που στερεώνονται, υποβάλλονται σε επεξεργασία και ενσωματώνονται το συντομότερο δυνατό με τον ίδιο τρόπο όπως το(α) δείγμα(α) ασθενούς. Οι θετικοί έλεγχοι ιστών είναι ενδεικτικοί των σωστά προετοιμασμένων ιστών και των κατάλληλων τεχνικών χρώσης. Ένας θετικός εξωτερικός μάρτυρας ιστού για κάθε σύνολο συνθηκών δοκιμής θα πρέπει να περιλαμβάνεται σε κάθε δοκιμή χρώσης.

Οι ιστοί που χρησιμοποιούνται για τα υλικά εξωτερικού θετικού ελέγχου θα πρέπει να επιλέγονται από δείγματα ασθενών με καλά χαρακτηρισμένα χαμηλά επίπεδα θετικής δραστηριότητας στόχου που δίνει ασθενή θετική χρώση. Το χαμηλό επίπεδο θετικότητας για εξωτερικούς θετικούς μάρτυρες έχει σχεδιαστεί για να διασφαλίζει την ανίχνευση ανεπαίσθητων αλλαγών στην ευαισθησία του πρωτογενούς αντισώματος από αστάθεια ή προβλήματα με τη μεθοδολογία IHC. Οι πλάκες ελέγχου ιστού που διατίθενται στο εμπόριο ή τα δείγματα που έχουν υποστεί διαφορετική επεξεργασία από τα δείγματα ασθενούς επικυρώνουν μόνο την απόδοση του αντιδραστηρίου και δεν επαληθεύουν την προετοιμασία ιστού.

Οι γνωστοί θετικοί μάρτυρες ιστών θα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο για την παρακολούθηση της σωστής απόδοσης των επεξεργασμένων ιστών και των δοκιμαστικών αντιδραστηρίων, παρά ως βοήθημα στη διαμόρφωση μιας συγκεκριμένης διάγνωσης δειγμάτων ασθενών. Εάν οι θετικοί μάρτυρες ιστού αποτύχουν να επιδείξουν θετική χρώση, τα αποτελέσματα με τα δείγματα δοκιμής θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Αρνητικός έλεγχος ιστού:
Χρησιμοποιήστε ένα αρνητικό μάρτυρα ιστών (γνωστό σε *να είναι SOX10* αρνητικό) σταθεροποιήθηκε, υποβλήθηκε σε επεξεργασία και ενσωματώθηκε με τρόπο πανομοιότυπο με το(τα) δείγμα(α) ασθενούς με κάθε διαδικασία χρώσης για να επαληθευτεί η ειδικότητα του πρωτογενούς αντισώματος IHC για επίδειξη του αντιγόνου στόχου και για παροχή ένδειξης ειδικής χρώσης υποβάθρου (ψευδώς θετική χρώση). Επίσης, η ποικιλία διαφορετικών τύπων κυττάρων που υπάρχουν στα περισσότερα τμήματα ιστού μπορεί να χρησιμοποιηθούν από τον εργαστήριο ως εσωτερικές θέσεις αρνητικού ελέγχου για την επαλήθευση της απόδοσης του IHC Προδιαγραφές. Οι τύποι και οι πηγές των δειγμάτων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για αρνητικό ιστό Τα στοιχεία ελέγχου παρατίθενται στην ενότητα Χαρακτηριστικά απόδοσης.

Εάν εμφανιστεί ειδική χρώση (ψευδώς θετική χρώση) στον αρνητικό μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα με τα δείγματα ασθενών θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Μη ειδικός αρνητικός έλεγχος αντιδραστηρίου:
Χρησιμοποιήστε έναν μη ειδικό μάρτυρα αρνητικού αντιδραστηρίου στη θέση του πρωτογενούς αντισώματος με μια τομή από κάθε δείγμα ασθενούς για να αξιολογήσετε τη μη ειδική χρώση και
επιτρέπουν την καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στη θέση του αντιγόνου. Στην ιδανική περίπτωση, ένας αρνητικός μάρτυρας αντιδραστηρίου περιέχει ένα αντίσωμα SOX10 IgG1 που παράγεται από υπερκείμενο υγρό καλλιέργειας ιστών με τον ίδιο τρόπο όπως το πρωτεύον αντίσωμα, αλλά δεν παρουσιάζει ειδική αντιδραστικότητα με ανθρώπινους ιστούς στην ίδια μήτρα/διάλυμα με το Biocare αντίσωμα. Αραιώστε ένα αντίσωμα αρνητικού μάρτυρα στην ίδια συγκέντρωση ανοσοσφαιρίνης ή πρωτεΐνης με το αραιωμένο πρωτογενές αντίσωμα χρησιμοποιώντας το ίδιο αραιωτικό. Εάν ο εμβρυϊκός ορός μόσχου διατηρείται στο καθαρό αντίσωμα μετά την επεξεργασία, ο ορός εμβρύου μόσχου σε συγκέντρωση πρωτεΐνης

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

ισοδύναμη με την αραιωμένη Το πρωτογενές αντίσωμα στο ίδιο αραιωτικό είναι επίσης κατάλληλο για χρήση. (Ανατρέξτε στο παρεχόμενο αντιδραστήριο). Το αραιωτικό μόνο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως λιγότερο επιθυμητή εναλλακτική λύση στα προηγούμενα περιγραφέντα αρνητικά αντιδραστήρια ελέγχου. Η περίοδος επώασης για τον αρνητικό μάρτυρα αντιδραστηρίου πρέπει να αντιστοιχεί σε αυτή του πρωτογενούς αντισώματος.

Όταν χρησιμοποιούνται πάνελ πολλών αντισωμάτων σε σειριακές τομές, οι αρνητικά χρωματισμένες περιοχές μιας αντικειμενοφόρου πλάκας μπορεί να χρησιμεύσουν ως έλεγχος υποβάθρου αρνητικής/μη ειδικής δέσμευσης για άλλα αντισώματα. Για να διαφοροποιηθεί η ενδογενής ενζυμική δραστηριότητα ή η μη ειδική δέσμευση ενζύμων από την ειδική ανοσοαντιδραστικότητα, επιπλέον ιστοί ασθενών μπορούν να χρωματιστούν αποκλειστικά με σύμπλοκα υποστρώματος-χρωμογόνου ή ενζύμου (PAP, αβιδίνη-βιοτίνη, στρεπταβιδίνη) και υπόστρωμα-χρωμογόνο, αντίστοιχα.

Επαλήθευση δοκιμασίας:
Πριν από την αρχική χρήση ενός αντισώματος ή συστήματος χρώσης σε μια διαγνωστική διαδικασία, ο χρήστης θα πρέπει να επαληθεύσει την ειδικότητα του αντισώματος δοκιμάζοντας το σε μια σειρά εσωτερικών ιστών με γνωστά ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά απόδοσης που αντιπροσωπεύουν γνωστούς θετικούς και αρνητικούς ιστούς. Ανατρέξτε στις διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου που περιγράφηκαν προηγουμένως σε αυτήν την ενότητα του ένθετου προϊόντος και στις συστάσεις ποιοτικού ελέγχου του προγράμματος πιστοποίησης CAP[9] για την ανοσοϊστοχημεία και/ή την κατευθυντήρια γραμμή NCCLS IHC[10]). Αυτές οι διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου θα πρέπει να επαναλαμβάνονται για κάθε νέα παρτίδα αντισωμάτων ή όποτε υπάρχει αλλαγή στις παραμέτρους της ανάλυσης. Οι ιστοί που αναφέρονται στην Ενότητα Χαρακτηριστικά Απόδοσης είναι κατάλληλοι για επαλήθευση της ανάλυσης.

Αντιμετώπιση προβλημάτων:
Ακολουθήστε τις συστάσεις του ειδικού πρωτοκόλλου για τα αντισώματα σύμφωνα με το παρεχόμενο φύλλο δεδομένων. Εάν προκύψουν άτυπα αποτελέσματα, επικοινωνήστε με την Τεχνική Υποστήριξη της Biocare στο 1-800-542-2002.

Ερμηνεία της χρώσης:

Θετικός έλεγχος ιστού:
Ο θετικός μάρτυρας ιστού που έχει χρωματιστεί με ενδεικνυόμενο αντίσωμα θα πρέπει να εξεταστεί πρώτα για να διαπιστωθεί ότι όλα τα αντιδραστήρια λειτουργούν σωστά. Η κατάλληλη χρώση των κυττάρων-στόχων (όπως υποδεικνύεται παραπάνω) είναι ενδεικτική της θετικής αντιδραστικότητας. Εάν οι θετικοί μάρτυρες ιστού αποτύχουν να επιδείξουν θετική χρώση, τυχόν αποτελέσματα με τα δείγματα δοκιμής θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

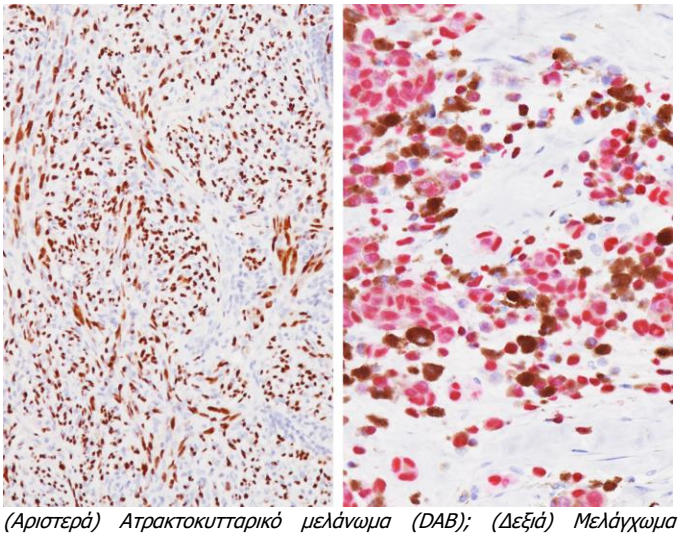
Το χρώμα του προϊόντος αντίδρασης μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τα χρωμογόνα του υποστρώματος που χρησιμοποιούνται. Ανατρέξτε στα ένθετα συσκευασίας του υποστρώματος για τις αναμενόμενες χρωματικές αντιδράσεις. Περαιτέρω, μεταχρωμασία μπορεί να παρατηρηθεί σε παραλλαγές της μεθόδου χρώσης.[11]
Όταν χρησιμοποιείται αντιχρώση, ανάλογα με το μήκος επώασης και την ισχύ της αντιχρώσης που χρησιμοποιείται, η αντιχρώση θα οδηγήσει σε χρωματισμό των κυτταρικών πυρήνων. Η υπερβολική ή ατελής αντιχρώση μπορεί να θέσει σε κίνδυνο τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Ανατρέξτε στο(α) πρωτόκολλο(α) για προτεινόμενη αντιχρώση.

Αρνητικός έλεγχος ιστού:

Ο αρνητικός μάρτυρας ιστού θα πρέπει να εξετάζεται μετά τον θετικό μάρτυρα ιστού για να επαληθευτεί η ειδικότητα της επισήμανσης του αντιγόνου στόχου από το πρωτεύον αντίσωμα. Η απουσία ειδικής χρώσης στον αρνητικό έλεγχο ιστού επιβεβαιώνει την έλλειψη διασταυρούμενης αντιδραστικότητας αντισώματος σε κύτταρα/κυτταρικά συστατικά. Εάν εμφανιστεί ειδική χρώση (ψευδώς θετική χρώση) στον αρνητικό εξωτερικό μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα με το δείγμα ασθενούς θα πρέπει να θεωρηθούν άκυρα.

Η μη ειδική χρώση, εάν υπάρχει, έχει συνήθως διάχυτη εμφάνιση. Σποραδική χρώση του συνδετικού ιστού μπορεί επίσης να παρατηρηθεί σε τομές από υπερβολικά στερεωμένους με φορμαλίνη ιστούς. Χρησιμοποιήστε άθικτα κύτταρα για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρώσης. Τα νεκρωτικά ή εκφυλισμένα κύτταρα συχνά χρωματίζονται μη ειδικά.

Ιστός ασθενούς:
Εξετάστε δείγματα ασθενών που έχουν χρωματιστεί με ενδεικνυόμενο αντίσωμα τελευταίος. Η θετική ένταση χρώσης θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο οποιασδήποτε μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού αντιδραστηρίου ελέγχου. Όπως με κάθε ανοσοϊστοχημική δοκιμή, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύθηκε, όχι ότι το αντιγόνο απουσίαζε στα κύτταρα/ιστό που προσδιορίστηκαν. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια ομάδα αντισωμάτων για τον εντοπισμό ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.



(Αριστερά) Ατρακτοκυτταρικό μελάνωμα (DAB); (Δεξιά) Μελάγχωμα μελανώματος (Γρήγορο κόκκινο).

Ανατρέξτε στην Περίληψη και Επεξήγηση, στους Περιορισμούς και στα Χαρακτηριστικά Απόδοσης για συγκεκριμένες πληροφορίες σχετικά με την ενδεικνυόμενη ανοσοαντιδραστικότητα αντισωμάτων.

Περιορισμοί:

Γενικοί περιορισμοί:
1. Για *in vitro* διαγνωστική χρήση
2. Αυτό το προϊόν προορίζεται μόνο για επαγγελματική χρήση: Η ανοσοϊστοχημεία είναι μια διαγνωστική διαδικασία πολλαπλών σταδίων που αποτελείται από εξειδικευμένη εκπαίδευση στην επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων. επιλογή, στερέωση και επεξεργασία ιστού.

προετοιμασία της διαφάνειας IHC. και ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρώσης.

3. Η χρώση του ιστού εξαρτάται από τον χειρισμό και την επεξεργασία του ιστού πριν από τη χρώση. Η ακατάλληλη στερέωση, κατάψυξη, απόψυξη, πλύσιμο, στέγνωμα, θέρμανση, κοπή ή μόλυνση με άλλους ιστούς ή υγρά μπορεί να προκαλέσει τεχνουργήματα, παγίδευση αντισωμάτων ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Τα ασυνεπή αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε παραλλαγές στις μεθόδους στερέωσης και ενσωμάτωσης ή σε εγγενείς ανωμαλίες εντός του ιστού.[12]
4. Η υπερβολική ή ατελής αντιχρώση μπορεί να θέσει σε κίνδυνο τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
5. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής ή αρνητικής χρώσης θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο της κλινικής εικόνας, της μορφολογίας και άλλων ιστοπαθολογικών κριτηρίων. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής ή αρνητικής χρώσης θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες με χρήση κατάλληλων θετικών και αρνητικών εσωτερικών και εξωτερικών μαρτύρων καθώς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων. Η ερμηνεία όλων των βημάτων που χρησιμοποιούνται για την προετοιμασία και την ερμηνεία του τελικού παρασκευάσματος IHC είναι ευθύνη ενός ειδικευμένου παθολόγου που είναι εξοικειωμένος με τη σωστή χρήση των αντισωμάτων, των αντιδραστηρίων και των μεθόδων IHC.
6. Η βέλτιστη αραίωση αντισωμάτων και τα πρωτόκολλα για μια συγκεκριμένη εφαρμογή μπορεί να διαφέρουν. Αυτά περιλαμβάνουν, ενδεικτικά τη στερέωση, τη μέθοδο ανάκτησης θερμότητας, τους χρόνους επώασης, το πάχος του τμήματος ιστού και το κιτ ανίχνευσης που χρησιμοποιείται. Λόγω της ανώτερης ευαισθησίας αυτών των μοναδικών αντιδραστηρίων, οι συνιστώμενοι χρόνοι επώασης και οι τίτλοι που αναφέρονται δεν ισχύουν για άλλα συστήματα ανίχνευσης, καθώς τα αποτελέσματα ενδέχεται να διαφέρουν. Οι συστάσεις και τα πρωτόκολλα του δελτίου δεδομένων βασίζονται στην αποκλειστική χρήση των προϊόντων Biocare. Τελικά, είναι ευθύνη του ερευνητή να καθορίσει τις βέλτιστες συνθήκες.
7. Αυτό το προϊόν δεν προορίζεται για χρήση στην κυτταρομετρία ροής. Τα χαρακτηριστικά απόδοσης δεν έχουν προσδιοριστεί για την κυτταρομετρία ροής.
8. Οι ιστοί από άτομα μολυσμένα με τον ιό της ηπατίτιδας Β και που περιέχουν επιφανειακό αντιγόνο ηπατίτιδας Β (HBsAg) μπορεί να εμφανίσουν μη ειδική χρώση με υπεροξειδάση χρένου.[13]
9. Τα αντιδραστήρια μπορεί να παρουσιάσουν απροσδόκητες αντιδράσεις σε ιστούς που δεν είχαν δοκιμαστεί προηγουμένως. Η πιθανότητα απροσδόκητων αντιδράσεων ακόμη και σε δοκιμασμένες ομάδες ιστών δεν μπορεί να εξαλειφθεί πλήρως λόγω της βιολογικής μεταβλητότητας της έκφρασης αντιγόνου σε νεοπλάσματα ή άλλους παθολογικούς ιστούς.[14] Επικοινωνήστε με την τεχνική υποστήριξη της Biocare στο 1-800-542-2002 ή μέσω των πληροφοριών τεχνικής υποστήριξης που παρέχονται στο biocare.net, με τεκμηριωμένες απροσδόκητες αντιδράσεις.
10. Φυσιολογικοί/μη-άνοσοι οροί από την ίδια ζωική πηγή με τους δευτερογενείς αντιορούς που χρησιμοποιούνται στα βήματα αποκλεισμού μπορεί να προκαλέσουν ψευδώς αρνητικά ή ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω αυτοαντισωμάτων ή φυσικών αντισωμάτων.
11. Εσφαλμένα θετικά αποτελέσματα μπορεί να παρατηρηθούν λόγω μη ανοσολογικής δέσμευσης πρωτεϊνών ή προϊόντων αντίδρασης υποστρώματος. Μπορεί επίσης να προκληθούν από δραστηριότητα ψευδο-υπεροξειδάσης (ερυθροκύτταρα), ενδογενή δραστηριότητα υπεροξειδάσης (κυτόχρωμα C) ή ενδογενή βιοτίνη (π.χ. ήπαρ, μαστός, εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο της ανοσοχρήσης που χρησιμοποιείται.[12]

Ειδικοί περιορισμοί προϊόντος:
Δεν σημειώθηκαν περιορισμοί για συγκεκριμένο προϊόν.

Χαρακτηριστικά απόδοσης:
Η ευαισθησία, η ειδικότητα και η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα συνοψίζονται στους Πίνακες 1 και 2, αντίστοιχα.

Ανοσοαντιδραστικότητα:
Οι ακόλουθες θετικές και αρνητικές ανοσοαντιδρασότητες έχουν καταδειχθεί στους Πίνακες 1 και 2 παρακάτω.

Ο κατάλογος που παρέχεται παρακάτω δεν είναι εξαντλητικός αλλά χαρακτηρίζει τους τύπους ανοσοαντιδραστικότητας που παρατηρούνται με το υποδεικνυόμενο αντίσωμα.

Αναλυτική απόδοση:
Πραγματοποιήθηκαν δοκιμές χρώσης για ευαισθησία και ειδικότητα και τα αποτελέσματα παρατίθενται παρακάτω.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands
IVD CE
TP v6 (11/02/2023)
Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Ευαισθησία και ειδικότητα:

Τραπέζι 1: Η ευαισθησία και η εξειδίκευση προσδιορίστηκαν με έλεγχο μονιμοποιημένων με φορμαλίνη, ενσωματωμένων σε παραφίνη ασθενών ιστών.

Ιστός	Θετικές περιπτώσεις	Σύνολο υποθέσεων
Μελάνωμα (δερματικό)	73	87 (83,9%)
Μεταστατικό μελάνωμα	19	19 (100%)
Ατρακτοκυτταρικό μελάνωμα	28	29 (96,6%)
Δεσμοπλαστικό μελάνωμα	3	3 (100%)
Μικτά χαρακτηριστικά δεσμοπλαστικής/κυψελών ατράκτου	2	2 (100%)
Επιθηλιοειδές μελάνωμα	2	2 (100%)
Σαρκωματοειδές μελάνωμα	2	2 (100%)
Πλασμακυτταροειδές μελάνωμα	2	2 (100%)
Μελάνωμα από μπαλονοκύτταρα	1	1 (100%)
Ραβδοειδές μελάνωμα	20	20 (100%)
Καλοήθης σπίλοι (Διάφορα)	28	28 (100%)
Schwannoma (νευριλέμωμα)	73	87 (83,9%)

Πίνακας 2: Η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα του ιστού προσδιορίστηκε με δοκιμή φυσιολογικών ιστών μονιμοποιημένων με φορμαλίνη, ενσωματωμένων σε παραφίνη.

Ιστός	Θετικές περιπτώσεις	Σύνολο υποθέσεων
Εγκέφαλος	4	6*
Παρεγκεφαλίτιδα	2	3*
Επινεφρίδιος	0	3
Ωοθήκη	0	3
Παγκρέας	0	3
Θυροειδής	0	3
Παραθυρεοειδής	0	3
Ορχις	0	3
Οστό	0	3
Σπλήνα	0	3
Παρωτίδα	0	3
Θύμος	0	3
Μυελός των οστών	0	3
Πνεύμονας	0	3
Καρδιά	0	3
Οισοφάγος	0	3
Βλεννογόνος	0	3
Στήθος	2	3*
Στομάχι	0	3
Το λεπτό έντερο	0	3
Ανω κάτω τελεία	0	3
Συκώτι	0	3
Σιελογόνος αδένας	2	3*
Νεφρό	0	3
Προστάτης	0	3
Μήτρα	0	3
Τράχηλος της μήτρας	0	3
Σκελετικός μυς	0	3
Δέρμα	3	3*
Περιφερικό νεύρο	2	3*
Πνεύμονας	0	3
Λάρυγγας	0	3
Κύστη	0	3
Πλακούντας	0	3
Μεσοθήλιο	0	3

*Εγκέφαλος και παρεγκεφαλίδα: ολιγοδενδροκύτταρα και μερικά αστροκύτταρα. Μαστός: μυοεπιθηλιακά κύτταρα; Σιελογόνος αδένας: μυοεπιθηλιακά κύτταρα. δέρμα: μελανοκύτταρα; περιφερικό νεύρο: κύτταρα Schwann.

Αντιμετώπιση προβλημάτων:

1. Χωρίς χρώση οποιωνδήποτε πλακών – Ελέγξτε για να προσδιορίσετε ότι έχουν χρησιμοποιηθεί κατάλληλος ιστός θετικού ελέγχου, αντισώματα και προϊόντα ανίχνευσης.
2. Αδύναμη χρώση όλων των πλακών – Ελέγξτε για να προσδιορίσετε ότι έχουν χρησιμοποιηθεί κατάλληλοι ιστοί θετικού ελέγχου, αντισώματα και προϊόντα ανίχνευσης.
3. Υπερβολικό υπόβαθρο όλων των διαφανειών – Μπορεί να υπάρχουν υψηλά επίπεδα ενδογενούς βιοτίνης (εάν χρησιμοποιούνται προϊόντα ανίχνευσης με βάση τη βιοτίνη), ενδογενής δραστηριότητα HRP που μετατρέπει το χρωμογόνο σε έγχρωμο τελικό προϊόν (χρήση μπλοκ υπεροξειδάσης) ή υπερβολική αλληλεπίδραση μη ειδικής πρωτεΐνης (χρησιμοποιήστε πρωτεΐνη μπλοκ, όπως ανασταλτικό διάλυμα με βάση τον ορό ή την καζεΐνη).
4. Τα τμήματα ιστού ξεπλένουν τις αντικειμενοφόρες πλάκες κατά τη διάρκεια της επώασης – Ελέγξτε τις αντικειμενοφόρες πλάκες για να βεβαιωθείτε ότι είναι θετικά φορτισμένες.
5. Ειδική χρώση πολύ σκούρα – Ελέγξτε το πρωτόκολλο για να προσδιορίσετε εάν εφαρμόστηκε ο κατάλληλος τίτλος αντισωμάτων στην αντικειμενοφόρο πλάκα, καθώς και οι κατάλληλοι χρόνοι επώασης για όλα τα αντιδραστήρια. Επιπλέον, βεβαιωθείτε ότι το πρωτόκολλο έχει αρκετά βήματα πλύσης για την αφαίρεση της περίσσειας αντιδραστηρίων μετά την ολοκλήρωση των βημάτων επώασης.

Βιβλιογραφικές αναφορές:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Τα αντισώματα Ultraline αναπτύσσονται αποκλειστικά από την Biocare Medical LLC και δεν συνεπάγονται έγκριση ή έγκριση των αντισωμάτων Biocare από την Ventana Medical Systems, Inc ή τη Roche. Η Biocare, η Ventana και η Roche δεν συνδέονται, δεν συνδέονται ή σχετίζονται με οποιονδήποτε τρόπο. Τα Ventana®, BenchMark®, ultraView και OptiView είναι εμπορικά σήματα της Roche.

Τα αντισώματα της σειράς Q αναπτύσσονται αποκλειστικά από την Biocare Medical LLC και δεν συνεπάγονται έγκριση ή έγκριση των αντισωμάτων Biocare από τη Leica Biosystems. Η Biocare και η Leica Biosystems δεν συνδέονται, δεν σχετίζονται ή σχετίζονται με κανέναν τρόπο. Τα Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX και BOND-III είναι εμπορικά σήματα της Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Hungarian

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Rendeltetésszerű használat:
Mert *in vitro* Diagnosztikai felhasználás
A SOX10 (M) [BC34] egy egér monoklonális antitest, amelyet professzionális laboratóriumi felhasználásra szánnak, miután a daganat kezdeti diagnózisát hagyományos hisztopatológiai módszerrel, nem immunológiai hisztokémiai festéssel, a SOX10 kvalitatív azonosítása során állapították meg. fehérje immunhisztokémiával (IHC) formalin-fixált paraffinba ágyazott (FFPE) emberi szövetekben. Bármilyen festődés vagy hiánya klinikai értelmezését megfelelő kontrollokat alkalmazó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni, és a beteg klinikai anamnézisének és egyéb diagnosztikai vizsgálatainak összefüggésében kell értékelnie egy szakképzett patológusnak, hogy segítsen bármilyen más klinikai meghatározásban.

Összegzés és magyarázat:
A transzkripciós faktor SRY-vel kapcsolatos HMG-Box gén 10 (SOX10) fontos szerepet játszik az idegi gerinc, a perifériás idegrendszer és a melanocita sejtek fejlődésében.[15-17] A SOX10 széles körben expresszálódik normál emberi szövetekben, beleértve a melanocitákat és a mellszövetet. A SOX10 a rosszindulatú daganatok, például a melanoma, az emlőkarcinóma, a gliómák és a jóindulatú daganatok, például a schwannómák fontos markere is.[17-20] Ennél is fontosabb, hogy a SOX10 a dezmoplasztikus és orsósejtes melanómák 97-100%-ában expresszálódik, és kimutatták, hogy a nevi 100%-ában expresszálódik.[15] Az orsósejtes és a dezmoplasztikus melanómák az invazív bőrmelanóma ritka változatai, éves előfordulási aránya körülbelül 2/100 000.[21] Kimutatták, hogy az oligodendrogliomák többsége, valamint az asztrocitómák és a rosszul differenciált glioblasztómák nagy százaléka SOX10-et expresszál.[17,19]

US 9,816,997 számú szabadalom és függőben lévő szabadalmak.

Eljárás elve:
Ez az antitesttermék elsődleges antitestként használható formalinnal rögzített, paraffinba ágyazott szövetmetszetek immunhisztokémiai vizsgálatában. Általában az immunhisztokémiai (IHC) A festési technikák lehetővé teszik az antigének láthatóvá tételét az a specifikus antitest az antigén ellen (elsődleges antitest), egy másodlagos antitest az elsődleges antitest ellen (opcionális link antitest/próba), egy enzimkomplex és egy kromogén szubsztrát, közbeiktatott mosási lépésekkel. A kromogén enzimatikus aktiválása az antigén helyén látható reakcióterméket eredményez. A minta ezután ellenfesthető, és a fedél elcsúsztatható. Az eredményeket fény segítségével értelmezzük mikroszkóppal és segítséget nyújt a kórélettani folyamatok differenciáldiagnózisában, amely lehet, ill nem kapcsolódhat egy adott antigénhez.

Anyagok és metódusok:

Mellékelt reagensek:
Gazda forrása: Monoklonális egér
A fajok reakciókészsége: Emberi; más fajokat nem vizsgáltak.
Klón: BC34
Izotípus: IgG1

Fehérje koncentráció: Lépjen kapcsolatba a Biocare műszaki ügyfélszolgálatával az adott Ig-koncentrációval kapcsolatban.
Specifikusság: SOX10
Mobil lokalizáció: Nukleáris
Módszer: Affinitástisztított egér monoklonális.

Feloldás, keverés, hígítás, titrálás:
Az előhígított antitest reagens optimálisan hígított az alábbi festőplatformokhoz. A további hígítás az antigénfestés elvesztését eredményezheti. A felhasználónak minden ilyen változtatást érvényesítenie kell. A felhasználó laboratóriumában a szövetfeldolgozás és a technikai eljárások közötti különbségek jelentős eltéréseket eredményezhetnek az eredményekben, ami rendszeres házon belüli ellenőrzéseket tesz szükségessé (lásd a Minőségellenőrzés szakaszt).
A koncentrált reagenst a fenti táblázat szerint hígítani kell.

Ismert alkalmazások:
Immunhisztokémia (formalinnal rögzített paraffinba ágyazott szövetek)

Így szállítva:
Pufferolt sóoldat, pH 6,1–7,4, fehérjehordozót és kevesebb, mint 0,1% nátrium-azid tartósítószert tartalmaz. További részletekért lásd a biztonsági adatlapot.

Szükséges, de nem mellékelt anyagok és reagensek:
A mikroszkóp tárgylemezei pozitív töltésűek.
Pozitív és negatív szövetkontrollok
Desert Chamber (vagy hasonló szárító sütő)
Xilol vagy xilol helyettesítő
Etanol vagy reagens alkohol
Elzáró kamra (nagynyomású tűzhely)
Ionmentesített vagy desztillált víz
Mosó puffer
Előkezelő reagensek
Peroxidáz blokk
Fehérje blokk (opcionális)
Érzékelő szonda és polimer
Negatív kontroll reagensek
Kromogének
Hematoxilin (ellenfestés)
Kékítő reagens
Szerelési közeg
Fedőüveg
Fénymikroszkóp (40-400X nagyítás)
Automatizált tárgylemezfestő platform

Az antitest termék konfigurációi elérhetők a fenti táblázatban feltüntetett eszközökön való használatra.

Tárolás és stabilitás:

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

2°C és 8°C között tárolandó. A termék az injekciós üveg címkéjén feltüntetett lejárati időig stabil, ha ilyen körülmények között tárolják. Ne használja a lejárati idő után. A meghatározottaktól eltérő körülmények közötti tárolást ellenőrizni kell. A hígított reagenseket azonnal fel kell használni; a maradék reagenst 2°C és 8°C között tárolja. A felhasználó által hígított reagens stabilitását a Biocare nem állapította meg.

A pozitív és negatív kontrollokat egyidejűleg kell futtatni az összes betegmintával. Ha váratlan festődést észlel, amely nem magyarázható a laboratóriumi eljárások eltéréseivel, és az antitesttel kapcsolatos probléma gyanúja merül fel, lépjen kapcsolatba a Biocare műszaki támogatásával az 1-800-542-2002 telefonszámon vagy a biocare.net oldalon található műszaki támogatási információkon keresztül.

Minta előkészítés:
A formalinban rögzített szövetek alkalmasak a paraffin beágyazódás előtti használatra. A csontszöveteket a szövetfeldolgozás előtt vízkőteleníteni kell a szövetvágás megkönnyítése és a mikrotom pengéi károsodásának elkerülése érdekében.[1,2]

A megfelelően rögzített és beágyazott, a meghatározott antigén célpontot expresszáló szöveteket hűvös helyen kell tárolni. Az 1988-as Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) 42 CFR-t ír elő §493.1259(b) pont, amely szerint „A laboratóriumnak legalább tíz évig meg kell őriznie a megfestett tárgylemezeket megvizsgálja és megőrzi a mintatömböket a vizsgálat időpontjától számított legalább két évig."[3]

A szövetek kezelése festés előtt:
Hajtsa végre a hőindukált epitóp-visszakeresést (HIER) az alábbi javasolt protokoll szerint. Kimutatták, hogy a HIER rutinszerű használata az IHC előtt minimálisra csökkenti az inkonzisztenciát és szabványosítja a festődést.[4,5]

Figyelmeztetés és óvintézkedések:
1. Ez az antitest kevesebb, mint 0,1% nátrium-azidot tartalmaz. A 0,1%-nál kisebb koncentrációk nem jelentendő veszélyes anyagok az US 29 CFR 1910.1200, az OSHA Hazard communication és az EK 91/155/EC irányelve szerint. Nátrium-azid (NaN_3) tartósítószerként használva lenyelve mérgező. A nátrium-azid reakcióba léphet az ólom- és rézvezetékkel, és erősen robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet. Ártalmatlanításkor öblítse le nagy mennyiségű vízzel, hogy megakadályozza az azidok felhalmozódását a vízvezetékekben. (Betegségvédelmi Központ, 1976, Országos Munkahelyi Biztonsági és Egészségügyi Intézet, 1976)[6]
2. A mintákat a rögzítés előtt és után, valamint az ezeknek kitett anyagokat úgy kell kezelni, mintha képesek lennének fertőzést továbbítani, és megfelelő óvintézkedésekkel kell ártalmatlanítani. Soha ne pipettázzon reagenseket szájon át, és kerülje a bőrrel és a nyálkahártyákkal való érintkezést a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy a minták érzékeny területekkel érintkeznek, mossa le bő vízzel.[7]
3. A reagensek mikrobiális szennyeződése a nem specifikus festődés növekedését eredményezheti.
4. A megadottól eltérő inkubációs idők vagy hőmérsékletek hibás eredményeket adhatnak. A felhasználónak minden ilyen változtatást érvényesítenie kell.
5. Ne használja fel a reagenst az injekciós üvegre nyomtatott lejárati idő után.
6. Az előhígított antitest reagens a felhasználáshoz optimálisan hígított. A további hígítás az antigénfestés elvesztését eredményezheti.
7. A koncentrált antitest-reagens hígítását használat előtt validálni kell. Minden olyan hígítószert, amely nem kifejezetten ajánlott, szintén ellenőrizni kell a kompatibilitás és a stabilitás szempontjából.
8. A fertőző vagy potenciálisan fertőző hulladékra vonatkozó eljárásokat követően semmisítse meg az összes használt reagenst és minden egyéb szennyezett eldobható anyagot. Az egyes laboratóriumok felelőssége, hogy a szilárd és folyékony hulladékokat természetüknek és veszélyességi fokuknak megfelelően kezeljék, és a vonatkozó előírásoknak megfelelően kezeljék és ártalmatlanítsák (vagy kezeltessék és ártalmatlanítsák).
9. A termék biztonságos ártalmatlanításának meghatározásához kövesse az Ön tartózkodási helyére vonatkozó helyi hulladékkezelési előírásokat, valamint a biztonsági adatlap ajánlásait.
10. Az SDS kérésre elérhető, és a http://biocare.net címen található.
11. Az eszközzel kapcsolatos feltételezett súlyos események bejelentéséhez forduljon a Biocare helyi képviselőjéhez és a felhasználó székhelye szerinti tagállam vagy ország illetékes hatóságához.

Használati útmutató:
A SOX10 [BC34] ajánlott festési protokolljai:

IntelliPATH FLX és kézi használat:

Az API3099 és az IPI3099 az intelliPATH FLX és a kézi használathoz szabványosítva lett a MACH 4-gyel észlelő rendszer. Használjon TBS-t a mosási lépésekhez.	
Peroxid blokk:	Blokkolás erre: 5 perc peroxidázzal 1
Előkezelés:	Hajtsa végre a hővisszanyerést a Diva Decloaker segítségével. A konkrét utasításokat a Diva Decloaker adatlapján találja.
Protein blokk (opcionális):	Inkubálja 5-10 percig szobahőmérsékleten a Background Punisher segítségével.
Elsődleges antitest:	Inkubáljuk 30 percig szobahőmérsékleten.
Érzékelés:	Próba: Inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten egy másodlagos szondával.
	Polimer: Inkubáljuk 10-20 percig szobahőmérsékleten egy tercier polimerrel.
Kromogén:	Inkubáljon 5 percig szobahőmérsékleten Biocare DAB-OR-val. Inkubáljon 5-7 percig szobahőmérsékleten Warp Red-el.
Ellenfestés:	Ellenfestés hematoxilinnel. Öblítse le ioncserélt vízzel. Alkalmazza a Tacha's Blueing Solution-t 1 percig. Öblítse le ioncserélt vízzel.
Az IPI3099 az intelliPATH FLX-hez készült. Tekintse meg a Felhasználói kézikönyvet a konkrét használati utasításokért. Az intelliPATH FLX használatakor a hővisszanyerést követően peroxidblokkolás végezhető intelliPATH FLX peroxidáz blokkoló reagenssel (IPB5000).	

ONCORE Pro automatizált tárgylemezfestő rendszer:

Az OPAI3099 az ONCORE Pro-val való használatra készült. Tekintse meg a Felhasználói kézikönyvet a konkrét használati utasításokért. A protokollparamétereket a Protokollszerkesztőben a következőképpen kell programozni:		
Kromogén festési lehetőség	**HANGYÁNYI**	**Piros**
Protokoll neve:	SOX10	SOX10 APP
Protokollsablon (leírás):	Speciális sablon (ONCORE Pro-Tect észlelés szükséges)	Ms AP 1. sablon
Viaszmentesítés (DS puffer opció):	DS2-50	DS2-50
Antigén visszakeresés (AR opció):	AR1, magas pH-érték; 103 °C	AR1, magas pH-érték; 103 °C
Blokkolási lehetőség:	Puffer	Puffer
Reagens neve, idő, hőmérséklet:	SOX10, 59 perc, 37 °C	SOX10, 59 perc, 37 °C

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands
IVD CE
TP v6 (11/02/2023)
Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Ventana BenchMark ULTRA:

Az AVI3099 a BenchMark ULTRA-val való használatra készült. Tekintse meg a Felhasználói kézikönyvet a konkrét használati utasításokért. Az ajánlott protokollparaméterek a következők:	
Sablon/észlelés:	ultraView DAB
Előkezelési protokoll:	CC1 szabvány
Peroxidáz:	N/A
Elsődleges antitest:	32 perc, 37 °C
Sablon/észlelés:	OptiView DAB IHC
Előkezelési protokoll:	CC1 32 perc
Peroxidáz:	Preprimer peroxidáz gátló
Elsődleges antitest:	16 perc, 36 °C

Q sorozat – Leica BOND-III-hoz:

Az ALI3099 a Leica BOND-III-mal való használatra készült. Tekintse meg a Felhasználói kézikönyvet a konkrét használati utasításokért. Az ajánlott protokollparaméterek a következők:		
Kromogén festési lehetőség	**HANGYÁNYI**	**Piros**
Protokoll neve:	IHC F protokoll	IHC J. protokoll
Érzékelés:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Red
ITT:	20 perc ER2-vel	20 perc ER2-vel
Peroxid blokk:	5 perc	
Marker (elsődleges antitest):	15 perc	15 perc
Elsődleges bejegyzés:	8 perc	
Polimer:	8 perc	
Elsődleges AP után:		20 perc
AP polimer:		30 perc
Vegyes kromogén finomítás:	10 perc	10 perc + 5 perc
Hematoxilin:	5 perc	5 perc

Minőség ellenőrzés:
Lásd: CLSI minőségi szabványok az immunhisztokémiai vizsgálatok tervezésére és végrehajtására vonatkozóan; Jóváhagyott útmutató – Második kiadás (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011[8]

Pozitív szövetkontroll: Melanóma
A külső pozitív kontrollanyagoknak friss mintáknak kell lenniük, rögzítve, feldolgozva és a lehető leghamarabb beágyazva, ugyanúgy, mint a betegminta(ka)t. A pozitív szövetkontroll a megfelelően előkészített szöveteket és a megfelelő festési technikákat jelzi. Minden egyes vizsgálati körülményhez egy pozitív külső szövetkontrollt kell bevonni minden festési futtatásba.

A külső pozitív kontrollanyagokhoz használt szöveteket olyan betegmintákból kell kiválasztani, amelyekben a pozitív célaktivitás jól jellemezhető alacsony szintje, ami gyenge pozitív festést eredményez. A külső pozitív kontrollok alacsony pozitivitási szintjét úgy tervezték, hogy biztosítsa az elsődleges antitest-érzékenységben az instabilitásból vagy az IHC-módszerrel kapcsolatos problémákból eredő finom változásokat. A kereskedelemben kapható szövetkontroll tárgylemezek vagy a páciens mintáitól eltérően feldolgozott minták csak a reagens teljesítményét érvényesítik, és nem igazolják a szövet előkészítését.

Az ismert pozitív szövetkontrollokat csak a feldolgozott szövetek és a tesztreagensek megfelelő teljesítményének ellenőrzésére szabad használni, nem pedig a betegminták specifikus diagnózisának felállításához. Ha a pozitív szövetkontroll nem mutat pozitív festődést, a vizsgálati minták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

Negatív szövetek kontrollja:
Használjon negatív szövetkontrollt (ismert *legyen SOX10* negatív) rögzíteni, feldolgozni és beágyazni a páciens mintáival azonos módon minden egyes festési futtatással, hogy ellenőrizzék az IHC elsődleges antitest specifitását a célantigén kimutatása, valamint a specifikus háttérfestődés jelzése (téves pozitív festés). Ezenkívül a legtöbb szövetmetszetben jelenlévő különféle sejttípusok sokfélesége képes a laboratórium belső negatív kontrollhelyként használja az IHC teljesítményének ellenőrzésére specifikációk. A negatív szövetekhez használható minták típusai és forrásai A vezérlőelemek a Teljesítményjellemzők részben találhatók.

Ha specifikus festődés (álpozitív festődés) fordul elő a negatív szövetkontrollban, a betegminták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

Nem specifikus negatív reagens kontroll:
Használjon nem specifikus negatív reagens kontrollt az elsődleges antitest helyett minden egyes betegminta egy metszetével, hogy értékelje a nem specifikus festődést és
lehetővé teszik a specifikus festődés jobb értelmezését az antigén helyén. Ideális esetben a negatív reagens kontroll SOX10 IgG1 antitestet tartalmaz, amelyet a szövettenyészet felülúszójából állítanak elő, ugyanúgy, mint az elsődleges antitest, de nem mutat specifikus reaktivitást az emberi szövetekkel ugyanabban a mátrixban/oldatban, mint a Biocare antitest. Hígítsa a negatív kontroll antitestet ugyanarra az immunglobulin- vagy fehérjekoncentrációra, mint a hígított primer antitest ellenanyagot azonos hígítószerrel. Ha a feldolgozás után a borjúmagzatszérum megmarad a tiszta antitestben, a hígított fehérjekoncentrációval egyenértékű borjúmagzatszérum primer antitest ugyanabban a hígítószerben is használható. (Lásd a mellékelt reagenst). A korábban leírt negatív reagens kontrollok kevésbé kívánatos alternatívájaként a hígító önmagában is használható. A negatív reagens kontroll inkubációs időszakának meg kell egyeznie az elsődleges antitest inkubációs időszakával.

Ha több antitestből álló paneleket használnak a sorozatmetszeteken, egy tárgylemez negatívan festő területei negatív/nem specifikus kötődési háttérkontrollként szolgálhatnak más antitestekhez. Az endogén enzimaktivitás vagy az enzimek nem specifikus kötődésének megkülönböztetésére a specifikus immunreaktivitástól további betegszövetek festhetők kizárólag szubsztrát-kromogén vagy enzimkomplexekkel (PAP, avidin-biotin, streptavidin), illetve szubsztrát-kromogénnel.

A vizsgálat ellenőrzése:
Az antitest vagy festőrendszer diagnosztikai eljárásban történő első használata előtt a felhasználónak ellenőriznie kell az antitest specifitását úgy, hogy egy sor házon belüli szöveten teszteli, amelyek ismert immunhisztokémiai teljesítményjellemzői ismertek, amelyek ismert pozitív és negatív szöveteket képviselnek. Tekintse meg a termékismertető ezen részében korábban ismertetett minőség-ellenőrzési eljárásokat és a CAP tanúsítási program minőség-ellenőrzési ajánlásait.[9] az immunhisztokémiához és/vagy az NCCLS IHC-irányelvéhez[10]). Ezeket a minőség-ellenőrzési eljárásokat meg kell ismételni minden új antitest-tételnél, vagy amikor a vizsgálati paraméterek megváltoznak. A Teljesítményjellemzők részben felsorolt szövetek alkalmasak a teszt ellenőrzésére.

Hibaelhárítás:
Kövesse az antitestspecifikus protokoll ajánlásait a mellékelt adatlap szerint. Ha atipikus eredményeket észlel, forduljon a Biocare műszaki támogatásához az 1-800-542-2002 telefonszámon.

A festés értelmezése:

Pozitív szövetkontroll:
A jelzett antitesttel megfestett pozitív szöveti kontrollt először meg kell vizsgálni, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy minden reagens megfelelően

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA
EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands
IVD CE
TP v6 (11/02/2023)
Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

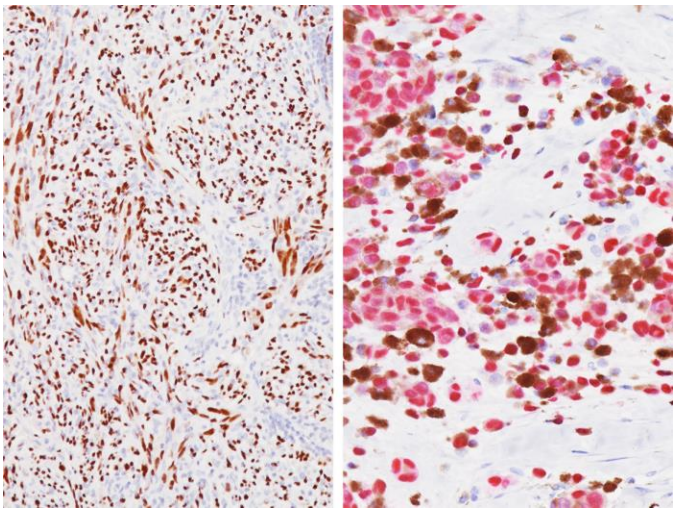
működik. A célsejtek megfelelő festése (amint azt fentebb jeleztük) pozitív reaktivitást jelez. Ha a pozitív szöveti kontrollok nem mutatnak pozitív festést, a vizsgálati minták minden eredményét érvénytelennek kell tekinteni.

A reakciótermék színe az alkalmazott szubsztrát kromogénektől függően változhat. A várható színreakciókért lásd az aljzat csomagolását. Ezenkívül a festési módszer változataiban metakromázia figyelhető meg.[11]
Ha ellenfestést használunk, az alkalmazott ellenfestés inkubációs hosszától és hatásosságától függően az ellenfestés a sejtmagok elszíneződését eredményezi. A túlzott vagy hiányos ellenfestés veszélyeztetheti az eredmények megfelelő értelmezését. Az ajánlott ellenfestéshez lásd a protokoll(oka)t.

Negatív szövetkontroll:
A negatív szöveti kontrollt a pozitív szöveti kontroll után meg kell vizsgálni, hogy ellenőrizzük a célantigén elsődleges antitest általi jelölésének specifitását. A specifikus festődés hiánya a negatív szöveti kontrollban megerősíti az antitest sejtekkel/sejtkomponensekkel szembeni keresztreaktivitásának hiányát. Ha specifikus festődés (álpozitív festődés) fordul elő a negatív külső szövetkontrollban, a betegminta eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

A nem specifikus festődés, ha van, általában diffúz megjelenésű. A túlzottan formalinban rögzített szövetekből származó metszeteken a kötőszövet szórványos festődése is megfigyelhető. Használjon ép sejteket a festési eredmények értelmezéséhez. A nekrotikus vagy degenerált sejtek gyakran nem specifikusan festődnek.

Betegszövet:
Vizsgálja meg a jelzett antitesttel megfestett betegmintákat utolsó. A pozitív festődés intenzitását a negatív reagens kontroll bármely nem specifikus háttérfestésével összefüggésben kell értékelni. Mint minden immunhisztokémiai tesztnél, a negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható, nem pedig azt, hogy az antigén hiányzott a vizsgált sejtekben/szövetekben. Ha szükséges, használja az antitestek paneljét az álnegatív reakciók azonosításához.



(balra) Orsósejtes melanoma (DAB); (Jobbra) Pigmentált melanoma (gyors vörös).

Tekintse meg az Összefoglalás és magyarázat, a Korlátozások és a Teljesítmény jellemzői című részt a jelzett antitest immunreaktivitással kapcsolatos konkrét információkért.

Korlátozások:

Általános korlátozások:
1. Mert *in vitro* diagnosztikai használat
2. Ez a termék kizárólag professzionális használatra készült: Az immunhisztokémia egy többlépcsős diagnosztikai folyamat, amely a megfelelő reagensek kiválasztására vonatkozó speciális képzésből áll; szövetek kiválasztása, rögzítése és feldolgozása; az IHC tárgylemez elkészítése; és a festési eredmények értelmezése.
3. A szövetfestés a szövet festés előtti kezelésétől és feldolgozásától függ. A nem megfelelő rögzítés, fagyasztás, felolvasztás, mosás, szárítás, melegítés, metszés vagy más szövetekkel vagy folyadékokkal való szennyeződés műtermékeket, ellenanyag-befogást vagy hamis negatív eredményeket eredményezhet. Az ellentmondásos eredmények oka lehet a rögzítési és beágyazási módszerek eltérése, vagy a szöveten belüli inherens szabálytalanságok.[12]
4. A túlzott vagy hiányos ellenfestés veszélyeztetheti az eredmények megfelelő értelmezését.
5. Bármely pozitív vagy negatív festődés klinikai értelmezését a klinikai megjelenés, a morfológia és egyéb kórszövettani kritériumok összefüggésében kell értékelni. A pozitív vagy negatív festődés klinikai értelmezését megfelelő pozitív és negatív belső és külső kontrollokat, valamint egyéb diagnosztikai teszteket alkalmazó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni. Az IHC antitestek, reagensek és módszerek megfelelő használatát ismerő, szakképzett patológus feladata, hogy értelmezze a végső IHC-készítmény elkészítéséhez és értelmezéséhez használt összes lépést.
6. Egy adott alkalmazáshoz az optimális antitesthígítás és protokollok változhatnak. Ezek közé tartozik többek között a rögzítés, a hővisszanyerési módszer, az inkubációs idők, a szövetmetszet vastagsága és a használt kimutatási készlet. Ezen egyedi reagensek kiváló érzékenysége miatt a felsorolt ajánlott inkubációs idők és titerek nem alkalmazhatók más kimutatási rendszerekre, mivel az eredmények eltérőek lehetnek. Az adatlap ajánlásai és protokolljai a Biocare termékek kizárólagos felhasználásán alapulnak. Végső soron a vizsgáló feladata az optimális feltételek meghatározása.
7. Ezt a terméket nem áramlási citometriában való használatra tervezték. Az áramlási citometria teljesítményjellemzőit nem határozták meg.
8. A hepatitis B vírussal fertőzött és hepatitis B felületi antigént (HBsAg) tartalmazó személyek szövetei torma-peroxidázzal nem specifikus festődést mutathatnak.[13]
9. A reagensek váratlan reakciókat mutathatnak korábban nem tesztelt szövetekben. A nem várt reakciók lehetősége még a vizsgált szövetcsoportokban sem zárható ki teljesen az antigénexpresszió biológiai variabilitása miatt daganatokban vagy más patológiás szövetekben.[14] Forduljon a Biocare műszaki támogatásához az 1-800-542-2002 telefonszámon vagy a biocare.net oldalon található műszaki támogatási információkon keresztül dokumentált váratlan reakciókkal.
10. A blokkoló lépésekben használt másodlagos antiszérumokkal azonos állati forrásból származó normál/nem immunszérum álnegatív vagy álpozitív eredményeket okozhat az autoantitestek vagy természetes antitestek miatt.
11. A fehérjék vagy szubsztrát reakciótermékek nem immunológiai kötődése miatt álpozitív eredményeket lehet látni. A pszeudo-peroxidáz aktivitás (eritrociták), az endogén peroxidáz aktivitás (citokróm C) vagy az endogén biotin (például máj, emlő, agy, vese) is okozhatja a használt immunfestés típusától függően.[12]

Termékspecifikus korlátozások:
Nincs feltüntetve termékspecifikus korlátozás.

Teljesítmény jellemzők:
Az érzékenységet, specificitást és keresztreaktivitást az 1. és 2. táblázat foglalja össze.

Immunreaktivitás:
A következő pozitív és negatív immunreaktivitásokat mutatjuk be az alábbi 1. és 2. táblázatban.

Az alábbi lista nem teljes, de jellemzi a jelzett antitesttel megfigyelt immunreaktivitás típusait.

Analitikai teljesítmény:
Az érzékenységi és specifitási festési teszteket elvégeztük, és az eredményeket az alábbiakban soroljuk fel.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

Érzékenység és specifitás:

Asztal 1: Az érzékenységet és specificitást formalinnal rögzített, paraffinba ágyazott beteg szövetek tesztelésével határoztuk meg.

Szövet	Pozitív esetek	Összes eset
Melanoma (bőr)	73	87 (83,9%)
Áttétes melanoma	19	19 (100%)
Orsósejtes melanoma	28	29 (96,6%)
Dezmoplasztikus melanoma	3	3 (100%)
Dezmoplasztikus/orsósejtes vegyes jellemzők	2	2 (100%)
Epithelioid melanoma	2	2 (100%)
Szarkomatoid melanoma	2	2 (100%)
Plasmacytoid melanoma	2	2 (100%)
Ballonsejtes melanoma	1	1 (100%)
Rhabdoid melanoma	20	20 (100%)
Jóindulatú nevus (különféle)	28	28 (100%)
Schwannoma (neurilemmoma)	73	87 (83,9%)

2. táblázat: A szöveti keresztreaktivitást formalinnal rögzített, paraffinba ágyazott normál szövetek tesztelésével határoztuk meg.

Szövet	Pozitív esetek	Összes eset
Nagyagy	4	6*
Kisagy	2	3*
Mellékvese	0	3
Petefészek	0	3
Hasnyálmirigy	0	3
Pajzsmirigy	0	3
Mellékpajzsmirigy	0	3
Herék	0	3
Csont	0	3
Lép	0	3
Mandula	0	3
Thymus	0	3
Csontvelő	0	3
Tüdő	0	3
Szív	0	3
Nyelőcső	0	3
Agyalapi	0	3
Mell	2	3*
Gyomor	0	3
Vékonybél	0	3
Kettőspont	0	3
Máj	0	3
Nyálmirigy	2	3*
Vese	0	3
Prosztata	0	3
Méh	0	3
Méh méhnyak	0	3
Vázizom	0	3
Bőr	3	3*
Perifériás ideg	2	3*
Tüdő	0	3
Gége	0	3
Hólyag	0	3
Placenta	0	3
Mesothelium	0	3

*Agy és kisagy: oligodendrociták és néhány asztrociták; mell: myoepithelialis sejtek; nyálmirigy: myoepithelialis sejtek; bőr: melanociták; perifériás ideg: Schwann-sejtek.

Hibaelhárítás:

1. A tárgylemezek nem festődnek – Ellenőrizze, hogy megfelelő pozitív kontrollszövetet, antitestet és kimutatási termékeket használt-e.
2. Az összes tárgylemez gyengén festődött – Ellenőrizze, hogy megfelelő pozitív kontrollszövetet, antitestet és kimutatási termékeket használt-e.
3. Az összes tárgylemez túlzott háttere – Magas szintű endogén biotin (biotin alapú kimutatási termékek használata esetén), endogén HRP aktivitás, amely a kromogént színes végtermékké alakítja (használjon peroxidáz blokkot), vagy túl sok nem specifikus fehérje kölcsönhatás (fehérje használata) blokkoló, például szérum- vagy kazein alapú blokkoló oldat).
4. A szövetmetszetek lemossák a tárgylemezeket az inkubáció során – Ellenőrizze a lemezeket, hogy megbizonyosodjon arról, hogy pozitív töltésűek.
5. A specifikus festés túl sötét – Ellenőrizze a protokollt, hogy megállapítsa, megfelelő antitesttitert alkalmaztak-e a tárgylemezen, valamint az összes reagens megfelelő inkubációs idejét. Ezenkívül győződjön meg arról, hogy a protokoll elegendő mosási lépést tartalmaz a felesleges reagensek eltávolításához az inkubációs lépések befejezése után.

Referenciák:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Az Ultraline antitesteket kizárólag a Biocare Medical LLC fejleszti, és nem jelenti azt, hogy a Ventana Medical Systems, Inc. vagy a Roche jóváhagyta vagy jóváhagyta a Biocare antitesteket. A Biocare, a Ventana és a Roche semmilyen módon nem kapcsolódnak egymáshoz, nem kapcsolódnak egymáshoz. A Ventana®, a BenchMark®, az ultraView és az OptiView a Roche védjegyei.

A Q sorozatú antitesteket kizárólag a Biocare Medical LLC fejleszti, és ez nem jelenti a Biocare antitestek Leica Biosystems általi jóváhagyását vagy jóváhagyását. A Biocare és a Leica Biosystems semmilyen módon nem kapcsolódnak egymáshoz, nem kapcsolódnak egymáshoz. A Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX és BOND-III a Leica Biosystems védjegyei.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Italian

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Destinazione d'uso:
Per *in vitro* Uso diagnostico
SOX10 (M) [BC34] è un anticorpo monoclonale murino destinato all'uso professionale in laboratorio dopo che la diagnosi iniziale del tumore è stata effettuata mediante istopatologia convenzionale utilizzando colorazioni istochimiche non immunologiche, nell'identificazione qualitativa di SOX10 proteine mediante immunoistochimica (IHC) in tessuti umani fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE). L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione o della sua assenza deve essere integrata da studi morfologici utilizzando controlli adeguati e deve essere valutata nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici da un patologo qualificato come ausilio nell'effettuare qualsiasi altra determinazione clinica.

Riepilogo e spiegazione:
Il gene HMG-Box 10 (SOX10) correlato al fattore di trascrizione SRY svolge un ruolo importante nello sviluppo della cresta neurale, del sistema nervoso periferico e delle cellule melanocitiche.[15-17] SOX10 è ampiamente espresso nei tessuti umani normali, inclusi i melanociti e il tessuto mammario. SOX10 è anche un importante marcatore nei tumori maligni come il melanoma, il carcinoma mammario, i gliomi e i tumori benigni come gli schwannomi.[17-20] Ancora più importante, è stato dimostrato che SOX10 è espresso nel 97-100% dei melanomi desmoplastici e a cellule fusate e ha anche dimostrato di essere espresso nel 100% dei nevi.[15] I melanomi a cellule fusate e i melanomi desmoplastici sono varianti rare del melanoma cutaneo invasivo, con un tasso di incidenza annuale di circa 2 su 100.000.[21] È stato dimostrato che la maggior parte degli oligodendrogliomi e un'ampia percentuale di astrocitomi e glioblastomi scarsamente differenziati esprimono SOX10.[17,19]

Brevetto USA 9.816.997 e brevetti in attesa di registrazione.

Principio della procedura:
Questo prodotto anticorpale può essere utilizzato come anticorpo primario nei test immunoistochimici di sezioni di tessuto fissate in formalina e incluse in paraffina. In generale, immunoistochimica (IHC) le tecniche di colorazione consentono la visualizzazione degli antigeni tramite l'applicazione sequenziale di a un anticorpo specifico verso l'antigene (anticorpo primario), un anticorpo secondario verso l'anticorpo primario (collegamento opzionale anticorpo/sonda), un complesso enzimatico ed un substrato cromogenico con interposte fasi di lavaggio. L'attivazione enzimatica del cromogeno determina un prodotto di reazione visibile nel sito dell'antigene. Il campione può quindi essere sottoposto a controcolorazione e coperto con vetrino. I risultati vengono interpretati utilizzando una luce microscopio e aiuto nella diagnosi differenziale dei processi patofisiologici, che possono o potrebbe non essere associato a un particolare antigene.

Materiali e metodi:

Reagenti forniti:
Origine ospite: Monoclonale murino
Reattività della specie: Umano; altre specie non testate.
Clone: BC34
Isotipo: IgG1
Concentrazione proteica: Contattare il supporto tecnico di Biocare per la concentrazione di Ig specifica.
Specificità: SOX10
Localizzazione cellulare: Nucleare
Metodo: Monoclonale murino purificato per affinità.

Ricostituzione, miscelazione, diluizione, titolazione:
Il reagente anticorpale prediluito è diluito in modo ottimale per l'uso con le piattaforme di colorazione riportate di seguito. Un'ulteriore diluizione può comportare la perdita della colorazione dell'antigene. L'utente deve convalidare qualsiasi modifica di questo tipo. Le differenze nella lavorazione dei tessuti e nelle procedure tecniche nel laboratorio dell'utente possono produrre una variabilità significativa nei risultati che richiedono l'esecuzione regolare di controlli interni (vedere la sezione Controllo qualità).
Il reagente concentrato richiede la diluizione come indicato nella tabella sopra.

Applicazioni conosciute:
Immunoistochimica (tessuti inclusi in paraffina fissati in formalina)

Fornito come:
Soluzione salina tamponata, pH 6,1 - 7,4, contenente un trasportatore proteico e meno dello 0,1% di conservante di sodio azide. Consultare la scheda di sicurezza per ulteriori dettagli.

Materiali e reagenti necessari ma non forniti:
Vetrini del microscopio caricati positivamente.
Controlli tissutali positivi e negativi
Camera del deserto (o forno di essiccazione simile)
Xilene o sostituto dello xilene
Etanolo o alcool reagente
Camera di disoccultamento (pentola a pressione)
Acqua deionizzata o distillata
Tampone di lavaggio
Reagenti di pretrattamento
Blocco della perossidasi
Blocco proteico (opzionale)
Sonda di rilevamento e polimero
Reagenti di controllo negativo
Cromogeni
Ematossilina (colorazione di contrasto)
Reagente azzurrante
Mezzo di montaggio
Vetro di copertura
Microscopio ottico (ingrandimento 40-400X)
Piattaforma di colorazione automatizzata dei vetrini

Le configurazioni del prodotto anticorpale sono disponibili per l'uso sugli strumenti indicati nella tabella sopra.

Conservazione e stabilità:

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Italian

BIOCARE MEDICAL

Conservare a una temperatura compresa tra 2ºC e 8ºC. Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flacone, se conservato in queste condizioni. Non utilizzare dopo la data di scadenza. È necessario verificare la conservazione in condizioni diverse da quelle specificate. I reagenti diluiti devono essere utilizzati tempestivamente; conservare l'eventuale reagente rimanente a una temperatura compresa tra 2ºC e 8ºC. La stabilità del reagente diluito dall'utente non è stata stabilita da Biocare.

I controlli positivi e negativi devono essere analizzati contemporaneamente con tutti i campioni dei pazienti. Se si osserva una colorazione inaspettata che non può essere spiegata da variazioni nelle procedure di laboratorio e si sospetta un problema con l'anticorpo, contattare il supporto tecnico di Biocare al numero 1-800-542-2002 o tramite le informazioni del supporto tecnico fornite su biocare.net.

Preparazione del campione:
I tessuti fissati in formalina sono adatti per l'uso prima dell'inclusione in paraffina. I tessuti ossei devono essere decalcificati prima della lavorazione dei tessuti per facilitare il taglio dei tessuti e prevenire danni alle lame del microtomo.[1,2]

I tessuti adeguatamente fissati e incorporati che esprimono il target antigenico specificato devono essere conservati in un luogo fresco. Il Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) del 1988 richiede in 42 CFR §493.1259(b) che "Il laboratorio deve conservare i vetrini colorati per almeno dieci anni dalla data di esame e conservare i blocchi campione per almeno due anni dalla data dell'esame."[3]

Trattamento dei tessuti prima della colorazione:
Eseguire il recupero degli epitopi indotti dal calore (HIER) secondo il protocollo consigliato di seguito. È stato dimostrato che l'uso di routine di HIER prima dell'IHC riduce al minimo l'incoerenza e standardizza la colorazione.[4,5]

Avvertenze e precauzioni:
1. Questo anticorpo contiene meno dello 0,1% di sodio azide. Concentrazioni inferiori allo 0,1% non sono materiali pericolosi segnalabili secondo U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication e Direttiva CE 91/155/CE. La sodio azide (NaN_3) utilizzato come conservante è tossico se ingerito. La sodio azide può reagire con le tubature in piombo e rame formando azidi metalliche altamente esplosive. Al momento dello smaltimento, sciacquare con grandi quantità di acqua per prevenire l'accumulo di azide nelle tubature. (Centro per il controllo delle malattie, 1976, Istituto nazionale per la sicurezza e la salute sul lavoro, 1976)[6]
2. I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali ad essi esposti devono essere maneggiati come se fossero in grado di trasmettere infezioni e smaltiti con le dovute precauzioni. Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto con la pelle e le mucose con reagenti e campioni. Se i reagenti o i campioni entrano in contatto con aree sensibili, lavare con abbondante acqua.[7]
3. La contaminazione microbica dei reagenti può comportare un aumento della colorazione aspecifica.
4. Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati potrebbero dare risultati errati. L'utente deve convalidare qualsiasi modifica di questo tipo.
5. Non utilizzare il reagente dopo la data di scadenza stampata sulla fiala.
6. Il reagente anticorpale prediluito è diluito in modo ottimale per l'uso. Un'ulteriore diluizione può comportare la perdita della colorazione dell'antigene.
7. La diluizione del reagente anticorpale concentrato deve essere convalidata prima dell'uso. Anche qualsiasi diluente utilizzato che non sia specificamente raccomandato deve essere convalidato per compatibilità e stabilità.
8. Smaltire tutti i reagenti usati e qualsiasi altro materiale monouso contaminato seguendo le procedure per i rifiuti infetti o potenzialmente infetti. È responsabilità di ciascun laboratorio gestire i rifiuti solidi e liquidi in base alla loro natura e al grado di pericolosità e trattarli e smaltirli (o farli trattare e smaltire) in conformità con le normative applicabili.
9. Seguire le normative locali sullo smaltimento della propria posizione insieme alle raccomandazioni nella Scheda dati di sicurezza per determinare lo smaltimento sicuro di questo prodotto
10. La SDS è disponibile su richiesta e si trova all'indirizzo http://biocare.net.
11. Per segnalare sospetti incidenti gravi legati a questo dispositivo, contattare il rappresentante Biocare locale e l'autorità competente dello Stato membro o del Paese in cui è stabilito l'utente.

Istruzioni per l'uso:
Protocolli di colorazione consigliati per SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX e uso manuale:

API3099 e IPI3099 per intelliPATH FLX e uso manuale, sono stati standardizzati con MACH 4 sistema di rilevamento. Utilizzare TBS per le fasi di lavaggio.	
Blocco di perossido:	Blocca per 5 minuti con Perossidato 1
Pretrattamento:	Esegui il recupero del calore utilizzando Diva Decloaker. Fare riferimento alla scheda tecnica di Diva Decloaker per istruzioni specifiche.
Blocco proteico (opzionale):	Incubare per 5-10 minuti a temperatura ambiente con Background Punisher.
Anticorpo primario:	Incubare per 30 minuti a temperatura ambiente.
Rilevamento:	Sonda: incubare per 10 minuti a temperatura ambiente con una sonda secondaria.
	Polimero: incubare per 10-20 minuti a temperatura ambiente con un polimero terziario.
Cromogeno:	Incubare per 5 minuti a temperatura ambiente con DAB di Biocare -OPPURE- Incubare per 5-7 minuti a temperatura ambiente con Warp Red.
Controcolorazione:	Controcolorare con ematossilina. Sciacquare con acqua deionizzata. Applicare la soluzione azzurrante di Tacha per 1 minuto. Sciacquare con acqua deionizzata.
IPI3099 è destinato all'uso con intelliPATH FLX. Fare riferimento al Manuale dell'utente per istruzioni specifiche sull'uso. Quando si utilizza intelliPATH FLX, è possibile eseguire il blocco del perossido con il reagente bloccante la perossidasi intelliPATH FLX (IPB5000) dopo il recupero del calore.	

Sistema automatizzato di colorazione dei vetrini ONCORE Pro:

OPAI3099 è destinato all'uso con ONCORE Pro. Fare riferimento al Manuale dell'utente per istruzioni specifiche sull'uso. I parametri del protocollo nell'editor del protocollo devono essere programmati come segue:		
Opzione di colorazione cromogena	**TAMPONARE**	**Rosso**
Nome del protocollo:	SOX10	APP SOX10
Modello di protocollo (descrizione):	Modello speciale (rilevamento ONCORE Pro-Tect richiesto)	Modello Sig.ra AP 1
Deparaffinazione (opzione DS Buffer):	DS2-50	DS2-50
Recupero dell'antigene (opzione AR):	AR1, pH alto; 103°C	AR1, pH alto; 103°C

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

IVD CE

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Opzione di blocco:	Respingente	Respingente
Nome reagente, ora, temperatura:	SOX10, 59 minuti, 37°C	SOX10, 59 minuti, 37°C

Benchmark Ventana ULTRA:

AVI3099 è destinato all'uso con BenchMark ULTRA. Fare riferimento al Manuale dell'utente per istruzioni specifiche sull'uso. I parametri del protocollo consigliati sono i seguenti:	
Modello/Rilevamento:	ultraViewDAB
Protocollo di pretrattamento:	Norma CC1
Perossidasi:	N / A
Anticorpo primario:	32 minuti, 37°C
Modello/Rilevamento:	OptiView DAB IHC
Protocollo di pretrattamento:	CC1 32 minuti
Perossidasi:	Inibitore pre primario della perossidasi
Anticorpo primario:	16 minuti, 36°C

Serie Q – Per Leica BOND-III:

ALI3099 è destinato all'uso con Leica BOND-III. Fare riferimento al Manuale dell'utente per istruzioni specifiche sull'uso. I parametri del protocollo consigliati sono i seguenti:		
Opzione di colorazione cromogena	**TAMPONARE**	**Rosso**
Nome del protocollo:	Protocollo IHC F	Protocollo IHC J
Rilevamento:	Raffinazione del polimero legante	Bond Polymer Refine Red
QUI:	20 minuti con ER2	20 minuti con ER2
Blocco di perossido:	5 minuti	
Marker (anticorpo primario):	15 minuti	15 minuti
Post Primario:	8 minuti	
Polimero:	8 minuti	
AP post-primario:		20 minuti
AP polimero:		30 minuti
Perfezionamento del cromogeno misto:	10 minuti	10 minuti + 5 minuti
Ematossilina:	5 minuti	5 minuti

Controllo di qualità:
Fare riferimento agli standard di qualità CLSI per la progettazione e l'implementazione dei test immunoistochimici; Linea guida approvata - Seconda edizione (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011[8]

Controllo positivo del tessuto: Melanoma
I materiali di controllo positivo esterno devono essere campioni freschi fissati, processati e incorporati il più presto possibile nello stesso modo dei campioni dei pazienti. I controlli positivi dei tessuti sono indicativi di tessuti preparati correttamente e di tecniche di colorazione adeguate. In ogni ciclo di colorazione deve essere incluso un controllo positivo del tessuto esterno per ciascuna serie di condizioni di test.

I tessuti utilizzati per i materiali di controllo positivo esterno devono essere selezionati da campioni di pazienti con bassi livelli ben caratterizzati dell'attività target positiva che dà una colorazione positiva debole. Il basso livello di positività per i controlli positivi esterni è progettato per garantire il rilevamento di sottili cambiamenti nella sensibilità dell'anticorpo primario dovuti a instabilità o problemi con la metodologia IHC. I vetrini di controllo dei tessuti disponibili in commercio o i campioni trattati in modo diverso dai campioni dei pazienti convalidano solo le prestazioni del reagente e non verificano la preparazione dei tessuti.
I controlli tissutali positivi noti devono essere utilizzati solo per monitorare la corretta prestazione dei tessuti trattati e dei reagenti del test, piuttosto che come ausilio nella formulazione di una diagnosi specifica dei campioni dei pazienti. Se i controlli positivi del tessuto non mostrano una colorazione positiva, i risultati con i campioni di test devono essere considerati non validi.

Controllo tissutale negativo:
Utilizzare un controllo tissutale negativo (noto a *essere SOX10* negativo) fissato, trattato e incorporato in modo identico ai campioni del paziente con ogni ciclo di colorazione per verificare la specificità dell'anticorpo primario IHC per dimostrazione dell'antigene bersaglio e fornire un'indicazione della specifica colorazione di fondo (colorazione falsa positiva). Inoltre, la varietà di diversi tipi di cellule presenti nella maggior parte delle sezioni di tessuto può farlo essere utilizzati dal laboratorista come siti di controllo negativo interno per verificare le prestazioni dell'IHC specifiche. I tipi e le fonti dei campioni che possono essere utilizzati per il tessuto negativo i controlli sono elencati nella sezione Caratteristiche prestazionali.

Se si verifica una colorazione specifica (colorazione falsa positiva) nel controllo negativo del tessuto, i risultati con i campioni dei pazienti devono essere considerati non validi.

Controllo del reagente negativo non specifico:
Utilizzare un controllo reagente negativo non specifico al posto dell'anticorpo primario con una sezione di ciascun campione del paziente per valutare la colorazione non specifica e
consentire una migliore interpretazione della colorazione specifica nel sito dell'antigene. Idealmente, un controllo del reagente negativo contiene un anticorpo SOX10 IgG1 prodotto dal surnatante di una coltura tissutale allo stesso modo dell'anticorpo primario, ma non mostra alcuna reattività specifica con i tessuti umani nella stessa matrice/soluzione dell'anticorpo primario. Anticorpo Biocare. Diluire un anticorpo di controllo negativo alla stessa concentrazione di immunoglobulina o proteina del primario diluito anticorpo utilizzando lo stesso diluente. Se il siero fetale di vitello viene trattenuto nell'anticorpo puro dopo la lavorazione, il siero fetale di vitello ad una concentrazione proteica equivalente all'anticorpo diluito è adatto all'uso anche l'anticorpo primario nello stesso diluente. (Fare riferimento al reagente fornito). Il diluente da solo può essere utilizzato come alternativa meno desiderabile ai controlli dei reagenti negativi precedentemente descritti. Il periodo di incubazione del controllo del reagente negativo deve corrispondere a quello dell'anticorpo primario.

Quando si utilizzano pannelli di diversi anticorpi su sezioni seriali, le aree a colorazione negativa di un vetrino possono fungere da controllo di fondo di legame negativo/non specifico per altri anticorpi. Per differenziare l'attività enzimatica endogena o il legame non specifico degli enzimi dall'immunoreattività specifica, ulteriori tessuti dei pazienti possono essere colorati esclusivamente rispettivamente con substrato-cromogeno o complessi enzimatici (PAP, avidina-biotina, streptavidina) e substrato-cromogeno.

Verifica del test:
Prima dell'uso iniziale di un anticorpo o di un sistema di colorazione in una procedura diagnostica, l'utente deve verificare la specificità dell'anticorpo testandolo su una serie di tessuti interni con caratteristiche di prestazione immunoistochimica note che rappresentano tessuti positivi e negativi noti. Fare riferimento alle procedure di controllo qualità precedentemente delineate in questa sezione del foglietto illustrativo e alle raccomandazioni sul controllo qualità del Programma di Certificazione CAP[9] per immunoistochimica e/o la linea guida NCCLS IHC[10]). Queste procedure di controllo qualità devono essere ripetute per ogni nuovo lotto di anticorpi o ogni volta che si verifica una modifica nei parametri del test. I tessuti elencati nella sezione Caratteristiche prestazionali sono idonei per la verifica del test.

Risoluzione dei problemi:
Seguire le raccomandazioni del protocollo specifico per l'anticorpo secondo la scheda tecnica fornita. Se si verificano risultati atipici, contattare il supporto tecnico di Biocare al numero 1-800-542-2002.

Interpretazione della colorazione:

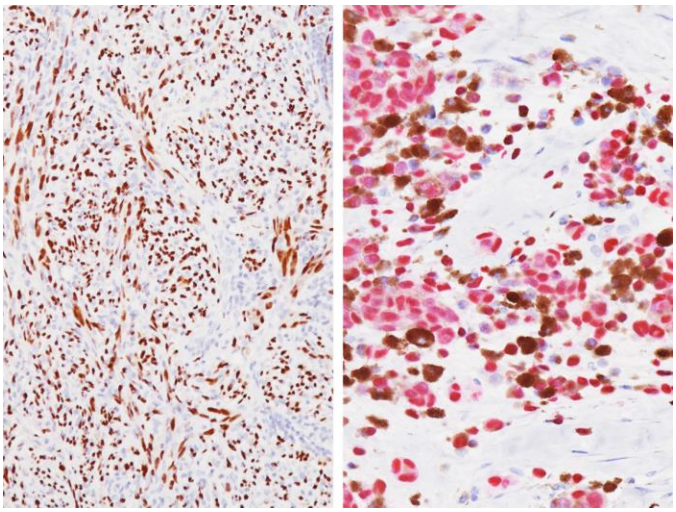
Controllo positivo del tessuto:
Il controllo positivo del tessuto colorato con l'anticorpo indicato deve essere esaminato innanzitutto per accertarsi che tutti i reagenti funzionino correttamente. La colorazione appropriata delle cellule bersaglio (come indicato sopra) è indicativa di reattività positiva. Se i controlli positivi del tessuto non mostrano una colorazione positiva, qualsiasi risultato con i campioni di test deve essere considerato non valido.

Il colore del prodotto di reazione può variare a seconda dei cromogeni del substrato utilizzati. Fare riferimento ai foglietti illustrativi del substrato per le reazioni cromatiche previste. Inoltre, la metacromasia può essere osservata in variazioni del metodo di colorazione.[11]
Quando si utilizza una colorazione di contrasto, a seconda della durata di incubazione e della potenza della colorazione di contrasto utilizzata, la colorazione di contrasto risulterà in una colorazione dei nuclei cellulari. Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati. Fare riferimento ai protocolli per la colorazione di contrasto consigliata.

Controllo tissutale negativo:
Il controllo tissutale negativo deve essere esaminato dopo il controllo tissutale positivo per verificare la specificità della marcatura dell'antigene bersaglio da parte dell'anticorpo primario. L'assenza di colorazione specifica nel controllo negativo del tessuto conferma l'assenza di reattività crociata dell'anticorpo verso cellule/componenti cellulari. Se si verifica una colorazione specifica (colorazione falsa positiva) nel controllo negativo del tessuto esterno, i risultati con il campione del paziente devono essere considerati non validi.

La colorazione aspecifica, se presente, ha solitamente un aspetto diffuso. Colorazioni sporadiche del tessuto connettivo possono essere osservate anche in sezioni di tessuti fissati eccessivamente in formalina. Utilizzare cellule intatte per l'interpretazione dei risultati della colorazione. Le cellule necrotiche o degenerate spesso si colorano in modo aspecifico.

Tessuto del paziente:
Esaminare i campioni dei pazienti colorati con l'anticorpo indicato scorso. L'intensità della colorazione positiva deve essere valutata nel contesto di qualsiasi colorazione di fondo non specifica del controllo del reagente negativo. Come con qualsiasi test immunoistochimico, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato rilevato e non che l'antigene era assente nelle cellule/tessuti analizzati. Se necessario, utilizzare un pannello di anticorpi per identificare le reazioni false negative.



(Sinistra) Melanoma a cellule fusate (DAB); (A destra) Melanoma pigmentato (rosso veloce).

Fare riferimento a Riepilogo e spiegazione, limitazioni e caratteristiche prestazionali per informazioni specifiche sull'immunoreattività dell'anticorpo indicata.

Limitazioni:

Limitazioni generali:
1. Per *in vitro* Uso diagnostico
2. Questo prodotto è solo per uso professionale: l'immunoistochimica è un processo diagnostico in più fasi che consiste in una formazione specializzata nella selezione dei reagenti appropriati; selezione, fissazione ed elaborazione dei tessuti; preparazione del vetrino IHC; e interpretazione dei risultati della colorazione.
3. La colorazione dei tessuti dipende dalla manipolazione e dalla lavorazione del tessuto prima della colorazione. Fissazione, congelamento, scongelamento, lavaggio, asciugatura, riscaldamento, sezionamento o contaminazione impropri con altri tessuti o fluidi possono produrre artefatti, intrappolamento di anticorpi o risultati falsi negativi. Risultati incoerenti possono essere dovuti a variazioni nei metodi di fissazione e inclusione o a irregolarità intrinseche all'interno del tessuto.[12]
4. Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati.
5. L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione positiva o negativa deve essere valutata nel contesto della presentazione clinica, della morfologia e di altri criteri istopatologici. L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione positiva o negativa deve essere integrata da studi morfologici utilizzando adeguati controlli interni ed esterni positivi e negativi, nonché altri test diagnostici. È responsabilità di un patologo qualificato che abbia familiarità con l'uso corretto degli anticorpi, dei reagenti e dei metodi IHC interpretare tutti i passaggi utilizzati per preparare e interpretare la preparazione IHC finale.
6. La diluizione ottimale dell'anticorpo e i protocolli per un'applicazione specifica possono variare. Questi includono, ma non sono limitati a, fissazione, metodo di recupero del calore, tempi di incubazione, spessore della sezione di tessuto e kit di rilevamento utilizzato. A causa della sensibilità superiore di questi reagenti unici, i tempi di incubazione consigliati e i titoli elencati non sono applicabili ad altri sistemi di rilevamento, poiché i risultati possono variare. Le raccomandazioni e i protocolli della scheda tecnica si basano sull'uso esclusivo di prodotti

Biocare. In definitiva, è responsabilità del ricercatore determinare le condizioni ottimali.

7. Questo prodotto non è destinato all'uso nella citometria a flusso. Le caratteristiche prestazionali non sono state determinate per la citometria a flusso.
8. I tessuti di persone infette dal virus dell'epatite B e contenenti l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) possono presentare una colorazione aspecifica con la perossidasi di rafano.[13]
9. I reagenti possono manifestare reazioni inaspettate in tessuti precedentemente non testati. La possibilità di reazioni inaspettate anche nei gruppi di tessuti testati non può essere completamente eliminata a causa della variabilità biologica dell'espressione dell'antigene nelle neoplasie o in altri tessuti patologici.[14] Contattare il supporto tecnico di Biocare al numero 1-800-542-2002 o tramite le informazioni di supporto tecnico fornite su biocare.net, con reazioni impreviste documentate.
10. I sieri normali/non immuni provenienti dalla stessa fonte animale degli antisieri secondari utilizzati nelle fasi di blocco possono causare risultati falsi negativi o falsi positivi a causa di autoanticorpi o anticorpi naturali.
11. Si possono osservare risultati falsi positivi a causa del legame non immunologico delle proteine o dei prodotti della reazione del substrato. Possono anche essere causati dall'attività della pseudo perossidasi (eritrociti), dall'attività della perossidasi endogena (citocromo C) o dalla biotina endogena (ad esempio fegato, mammella, cervello, rene) a seconda del tipo di immunocolorazione utilizzata.[12]

Limitazioni specifiche del prodotto:
Non sono state notate limitazioni specifiche del prodotto.

Caratteristiche di performance:
Sensibilità, specificità e reattività crociata sono riepilogate rispettivamente nelle Tabelle 1 e 2.

Immunoreattività:
Le seguenti immunoreattività positive e negative sono state dimostrate nelle Tabelle 1 e 2 di seguito.

L'elenco fornito di seguito non è esaustivo ma caratterizza i tipi di immunoreattività osservati con l'anticorpo indicato.

Prestazioni analitiche:
Sono stati condotti test di colorazione per sensibilità e specificità e i risultati sono elencati di seguito.

Sensibilità e specificità:

Tabella 1: La sensibilità e la specificità sono state determinate testando tessuti malati fissati in formalina e inclusi in paraffina.

Tessuto	Casi positivi	Casi totali
Melanoma (cutaneo)	73	87 (83,9%)
Melanoma metastatico	19	19 (100%)
Melanoma a cellule fusate	28	29 (96,6%)
Melanoma desmoplastico	3	3 (100%)
Caratteristiche miste delle cellule desmoplastiche/fusibili	2	2 (100%)
Melanoma epitelioide	2	2 (100%)
Melanoma sarcomatoide	2	2 (100%)
Melanoma plasmocitoide	2	2 (100%)
Melanoma a cellule palloncino	1	1 (100%)
Melanoma rabdoide	20	20 (100%)
Nevo benigno (Vari)	28	28 (100%)
Schwannoma (neurilmmoma)	73	87 (83,9%)

Tavolo 2: La reattività crociata dei tessuti è stata determinata testando tessuti normali fissati in formalina e inclusi in paraffina.

Tessuto	Casi positivi	Casi totali
Cervello	4	6*
Cervelletto	2	3*
Surrenale	0	3
Ovaio	0	3
Pancreas	0	3
Tiroide	0	3
paratiroidi	0	3
Testicolo	0	3
Osso	0	3
Milza	0	3
Tonsilla	0	3
Timo	0	3
Midollo osseo	0	3
Polmone	0	3
Cuore	0	3
Esofago	0	3
Pituitaria	0	3
Seno	2	3*
Stomaco	0	3
Intestino tenue	0	3
Colon	0	3
Fegato	0	3
Ghiandola salivare	2	3*
Rene	0	3
Prostata	0	3
Utero	0	3
Cervice uterina	0	3
Muscolo scheletrico	0	3
Pelle	3	3*
Nervo periferico	2	3*
Polmone	0	3
Laringe	0	3
Vescia	0	3
Placenta	0	3
Mesotelio	0	3

*Cervelletto e cervelletto: oligodendrociti e alcuni astrociti; seno: cellule mioepiteliali; ghiandole salivari: cellule mioepiteliali; pelle: melanociti; nervo periferico: cellule di Schwann.

Risoluzione dei problemi:

1. Nessuna colorazione dei vetrini – Verificare che siano stati utilizzati tessuto di controllo positivo, anticorpi e prodotti di rilevamento appropriati.
2. Colorazione debole di tutti i vetrini – Controllare per determinare se sono stati utilizzati tessuti di controllo positivo, anticorpi e prodotti di rilevamento adeguati.
3. Sfondo eccessivo di tutti i vetrini – Potrebbero essere presenti livelli elevati di biotina endogena (se si utilizzano prodotti di rilevamento a base di biotina), attività endogena dell'HRP che converte il cromogeno nel prodotto finale colorato (utilizzare il blocco della perossidasi) o un eccesso di interazione proteica non specifica (utilizzare una proteina blocco, come una soluzione bloccante a base di siero o caseina).
4. Le sezioni di tessuto vengono rimosse dai vetrini durante l'incubazione – Controllare i vetrini per assicurarsi che siano caricati positivamente.
5. Colorazione specifica troppo scura – Controllare il protocollo per determinare se al vetrino è stato applicato il titolo anticorpale corretto, nonché i tempi di incubazione corretti per tutti i reagenti. Inoltre, assicurarsi che il protocollo contenga fasi di lavaggio sufficienti per rimuovere i reagenti in eccesso una volta completate le fasi di incubazione.

Riferimenti:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Gli anticorpi Ultraline sono sviluppati esclusivamente da Biocare Medical LLC e non implicano l'approvazione o il sostegno degli anticorpi Biocare da parte di Ventana Medical Systems, Inc o Roche. Biocare, Ventana e Roche non sono affiliati, associati o collegati in alcun modo. Ventana®, BenchMark®, ultraView e OptiView sono marchi di Roche.

Gli anticorpi della serie Q sono sviluppati esclusivamente da Biocare Medical LLC e non implicano l'approvazione o il sostegno degli anticorpi Biocare da parte di Leica Biosystems. Biocare e Leica Biosystems non sono affiliati, associati o correlati in alcun modo. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX e BOND-III sono marchi di Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Korean

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

사용 목적:

을 위한 *시험관 내에서* 진단용

SOX10(M)[BC34]은 SOX10 의 정성 식별에서 비면역학적 조직화학적 염색을 사용하는 기존의 조직병리학으로 종양의 초기 진단이 이루어진 후 전문적인 실험실 사용을 목적으로 하는 마우스 단일클론 항체입니다. 포르말린 고정 파라핀 포매(FFPE) 인간 조직에서 면역조직화학(IHC)에 의한 단백질. 염색 또는 염색 부재에 대한 임상적 해석은 적절한 대조군을 사용한 형태학적 연구로 보완되어야 하며, 다른 임상 결정을 내리는 데 도움이 되도록 자격을 갖춘 병리학자가 환자의 임상 병력 및 기타 진단 테스트의 맥락 내에서 평가해야 합니다.

요약 및 설명:

전사 인자 SRY 관련 HMG-Box 유전자 10(SOX10)은 신경 능선, 말초 신경계 및 멜라닌 세포 발달에 중요한 역할을 합니다.[15-17] SOX10 은 멜라닌 세포와 유방 조직을 포함한 정상적인 인간 조직에서 널리 발현됩니다. SOX10 은 또한 흑색종, 유방암종, 신경교종과 같은 악성 종양 및 신경초종과 같은 양성 종양에서도 중요한 표지자입니다.[17-20] 더 중요한 것은 SOX10 이 결합형성성 흑색종과 방추 세포 흑색종의 97~100%에서 발현되는 것으로 나타났으며 모반에서도 100% 발현되는 것으로 나타났습니다.[15] 방추세포 및 조직형성 흑색종은 침습성 피부 흑색종의 드문 변종으로, 연간 발병률은 대략 100,000 명당 2 명입니다.[21] 대부분의 핍지교종과 많은 비율의 성상세포종 및 저분화 교모세포종도 SOX10 을 발현하는 것으로 나타났습니다.[17,19]

미국 특허 9,816,997 및 특허 출원 중입니다.

절차 원칙:

이 항체 제품은 포르말린 고정, 파라핀 포매 조직 절편의 면역조직화학 검사에서 1 차 항체로 사용될 수 있습니다. 일반적으로 면역조직화학(IHC) 염색 기술을 사용하면 순차적인 적용을 통해 항원을 시각화할 수 있습니다. 항원에 대한 특정 항체(1 차 항체), 1 차 항체에 대한 2 차 항체(선택적 링크 항체/프로브), 효소 복합체 및 중간 세척 단계가 있는 발색 기질. 발색체의 효소적 활성화로 인해 항원 부위에서 눈에 보이는 반응 생성물이 생성됩니다. 그러면 표본이 대조염색되고 덮개가 미끄러질 수 있습니다. 결과는 빛을 사용하여 해석됩니다. 현미경을 사용하여 병리생리학적 과정을 감별 진단하는 데 도움을 줄 수 있습니다. 특정 항원과 연관되지 않을 수도 있습니다.

재료 및 방법:

제공되는 시약:

호스트 소스: 마우스 단일클론

종 반응성: 인간; 다른 종은 테스트되지 않았습니다.

클론: 기원전 34 년

아이소타입: IgG1

단백질 농도: 특정 Ig 농도에 대해서는 Biocare 의 기술 지원에 문의하십시오.

특성: SOX10

셀룰러 현지화: 핵무기

방법: 친화력 정제된 마우스 단클론성.

재구성, 혼합, 희석, 적정:

미리 희석된 항체 시약은 아래 염색 플랫폼과 함께 사용하기 위해 최적으로 희석됩니다. 더 희석하면 항원 염색이 손실될 수 있습니다. 사용자는 그러한 변경 사항을 확인해야 합니다. 사용자 실험실의 조직 처리 및 기술 절차의 차이로 인해 정기적인 사내 관리가 필요한 결과가 크게 달라질 수 있습니다(품질 관리 섹션 참조).

농축된 시약은 위 표에 표시된 대로 희석이 필요합니다.

알려진 응용 프로그램:

면역조직화학(포르말린 고정 파라핀 포매 조직)

다음과 같이 제공됩니다:

완충 식염수 용액, pH 6.1~7.4, 단백질 담체 및 0.1% 미만의 아지드화 나트륨 방부제를 함유하고 있습니다. 자세한 내용은 안전 보건 자료를 참조하십시오.

필요하지만 제공되지 않은 재료 및 시약:

현미경 슬라이드는 양전하를 띠고 있습니다.
양성 및 음성 조직 대조군
Desert Chamber (또는 유사한 건조 오븐)
자일렌 또는 자일렌 대체물
에탄올 또는 시약 알코올
디클로킹 챔버(압력솥)
탈이온수 또는 증류수
세척 완충액
전처리 시약
퍼옥시다아제 블록

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

IVD CE
TP v6 (11/02/2023)

BIOCARE MEDICAL

단백질 블록(선택사항)
검출 프로브 및 폴리머
음성 대조 시약
발색체
헤마톡실린(대조염색)
블루링 시약
장착 매체
커버글래스
광학현미경(40-400X 배율)
자동 슬라이드 염색 플랫폼

항체 제품의 구성은 위 표에 표시된 기기에서 사용할 수 있습니다.

보관 및 안정성:

2°C~8°C 에서 보관하세요. 제품은 이러한 조건에서 보관할 경우 바이알 라벨에 인쇄된 유효 기간까지 안정적입니다. 유효기간 이후에는 사용하지 마세요. 지정된 조건 이외의 조건에서의 보관을 확인해야 합니다. 희석된 시약은 즉시 사용해야 합니다. 남은 시약은 2°C~8°C 에 보관하세요. 사용자 희석 시약의 안정성은 Biocare 에 의해 확립되지 않았습니다.

모든 환자 검체에 대해 양성 및 음성 대조를 동시에 실행해야 합니다. 실험실 절차의 변화로 설명할 수 없는 예상치 못한 염색이 관찰되고 항체 문제가 의심되는 경우 1-800-542-2002 로 전화하거나 biocare.net 에서 제공하는 기술 지원 정보를 통해 Biocare 기술 지원에 문의하십시오.

표본 준비:

포르말린으로 고정된 조직은 파라핀 포매 전에 사용하기에 적합합니다. 골조직은 조직 절단을 용이하게 하고 마이크로톰 블레이드의 손상을 방지하기 위해 조직 처리 전에 석회질을 제거해야 합니다.[1,2]

특정 항원 표적을 발현하는 적절하게 고정되고 매립된 조직은 서늘한 곳에 보관해야 합니다. 1988 년 임상검사실 개선법(CLIA)에서는 42 CFR 을 요구합니다. §493.1259(b) "실험실은 염색된 슬라이드를 날짜로부터 최소 10 년 동안 보관해야 합니다. 검사를 실시하고 검사일로부터 최소 2 년 동안 표본 블록을 보관해야 합니다."[3]

염색 전 조직 처리:

아래 권장 프로토콜에 따라 열 유도 항원결정부 검색(HIER)을 수행하십시오. IHC 이전에 HIER 을 일상적으로 사용하면 불일치를 최소화하고 염색을 표준화하는 것으로 나타났습니다.[4,5]

경고 및 주의사항:

1. 이 항체에는 0.1% 미만의 아지드화나트륨이 함유되어 있습니다. 0.1% 미만의 농도는 미국 29 CFR 1910.1200, OSHA 위험 통신 및 EC 지침 91/155/EC 에 따라 보고할 수 있는 위험 물질이 아닙니다. 아지드화나트륨(NaN_3) 방부제로 사용되는 경우 섭취하면 독성이 있습니다. 아지드화나트륨은 납 및 구리 배관과 반응하여 폭발성이 높은 금속 아지드화물을 형성할 수 있습니다. 폐기 시 배관에 아지드가 축적되는 것을 방지하기 위해 다량의 물로 씻어내십시오. (질병통제센터, 1976, 국립산업안전보건원, 1976)[6]
2. 고정 전후의 검체와 이에 노출된 모든 물질은 감염을 전파할 수 있는 것처럼 취급하고 적절한 예방조치를 통해 폐기해야 합니다. 절대로 시약을 입으로 피펫팅하지 말고 시약 및 검체가 피부와 점막에 닿지 않도록 하십시오. 시약이나 검체가 민감한 부위에 닿은 경우 다량의 물로 씻어내십시오.[7]
3. 시약의 미생물 오염으로 인해 비특이적 염색이 증가할 수 있습니다.
4. 지정된 것 이외의 배양 시간이나 온도는 잘못된 결과를 초래할 수 있습니다. 사용자는 그러한 변경 사항을 확인해야 합니다.
5. 바이알에 표기된 사용기한이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
6. 사전희석된 항체시약은 최적으로 희석하여 사용합니다. 더 희석하면 항원 염색이 손실될 수 있습니다.
7. 농축된 항체 시약의 희석 여부는 사용 전 반드시 검증되어야 합니다. 특별히 권장되지 않는 사용된 희석제도 호환성과 안정성이 검증되어야 합니다.
8. 감염성 또는 감염 가능성이 있는 폐기물에 대한 절차에 따라 사용한 모든 시약 및 기타 오염된 일회용 재료를 폐기합니다. 유해성 특성과 정도에 따라 고체 및 액체 폐기물을 처리하고 해당 규정에 따라 처리 및 폐기(또는 처리 및 폐기하도록 하는 것)하는 것은 각 실험실의 책임입니다.
9. 이 제품의 안전한 폐기 방법을 결정하려면 안전 보건 자료의 권장 사항과 함께 해당 지역의 현지 폐기 규정을 따르십시오.
10. SDS 는 요청 시 제공되며 http://biocare.net 에 있습니다.
11. 이 장치와 관련하여 의심되는 심각한 사고를 보고하려면 현지 Biocare 담당자 및 사용자가 거주하는 회원국 또는 국가의 관할 당국에 문의하십시오.

사용 지침:

SOX10 [BC34]에 권장되는 염색 프로토콜:

IntelliPATH FLX 및 수동 사용:

IntelliPATH FLX 및 수동 사용을 위한 API3099 및 IPI3099 는 MACH 4 로 표준화되었습니다. 탐지 시스템. 세척 단계에는 TBS 를 사용하십시오.	
과산화물 블록:	다음에 대한 차단 과산화수소화 1 로 5 분
전처리:	Diva Decloaker 를 사용하여 열 회수를 수행합니다. 구체적인 지침은 Diva Decloaker 데이터 시트를 참조하세요.
단백질 블록(선택 사항):	Background Punisher 를 사용하여 RT 에서 5~10 분 동안 배양합니다.
1 차 항체:	RT 에서 30 분 동안 배양합니다.
발각:	프로브: 보조 프로브를 사용하여 실온에서 10 분 동안 배양합니다.
	폴리머: 3 차 폴리머와 함께 실온에서 10~20 분 동안 배양합니다.

염색체:	Biocare 의 DAB 를 사용하여 실온에서 5 분간 배양합니다. -또는- Warp Red 를 사용하여 실온에서 5~7 분간 배양합니다.
대조염색:	헤마톡실린으로 대조염색합니다. 탈이온수로 헹굽니다. 타차 블루잉 솔루션을 1 분간 도포합니다. 탈이온수로 헹굽니다.
IPI3099 는 intelliPATH FLX 와 함께 사용하도록 고안되었습니다. 구체적인 사용 지침은 사용자 설명서를 참조하세요. intelliPATH FLX 를 사용하는 경우 intelliPATH FLX 퍼옥시다제 차단 시약(IPB5000)을 사용한 과산화물 차단은 열 회수 후에 수행될 수 있습니다.	

ONCORE Pro 자동 슬라이드 염색 시스템:

OPAI3099 는 ONCORE Pro 와 함께 사용하도록 고안되었습니다. 구체적인 사용 지침은 사용자 설명서를 참조하세요. 프로토콜 편집기의 프로토콜 매개변수는 다음과 같이 프로그래밍되어야 합니다.

염색체 염색 옵션	소량	빨간색
프로토콜 이름:	SOX10	SOX10 앱
프로토콜 템플릿(설명):	특수 템플릿(ONCORE Pro-Tect 감지 필요)	미스 AP 템플릿 1
탈왁스(DS 버퍼 옵션):	DS2-50	DS2-50
항원 검색(AR 옵션):	AR1, 높은 pH; 103°C	AR1, 높은 pH; 103°C
블록 옵션:	완충기	완충기
시약 이름, 시간, 온도:	SOX10, 59 분, 37°C	SOX10, 59 분, 37°C

벤타나 벤치마크 울트라:

AVI3099 는 BenchMark ULTRA 와 함께 사용하도록 고안되었습니다. 구체적인 사용 지침은 사용자 설명서를 참조하세요. 권장되는 프로토콜 매개변수는 다음과 같습니다.

템플릿/탐지:	울트라뷰 DAB
전처리 프로토콜:	CC1 표준
과산화효소:	해당 없음
1 차 항체:	32 분, 37°C
템플릿/탐지:	OptiView DAB IHC
전처리 프로토콜:	CC1 32 분
과산화효소:	사전 1 차 퍼옥시다제 억제제
1 차 항체:	16 분, 36°C

Q 시리즈 – 라이카 BOND-III 용:

ALI3099 는 Leica BOND-III 와 함께 사용하도록 고안되었습니다. 구체적인 사용 지침은 사용자 설명서를 참조하세요. 권장되는 프로토콜 매개변수는 다음과 같습니다.

염색체 염색 옵션	소량	빨간색
프로토콜 이름:	IHC 프로토콜 F	IHC 프로토콜 J
발각:	본드 폴리머 정제	본드 폴리머 리파인 레드
여기:	ER2 사용 시 20 분	ER2 사용 시 20 분
과산화물 블록:	5 분	
마커(1 차 항체):	15 분	15 분
초등교육 이후:	8 분	
고분자:	8 분	
포스트 기본 AP:		20 분
폴리머 AP:		30 분
혼합 염색체 정제:	10 분	10 분 + 5 분
헤마톡실린:	5 분	5 분

품질 관리:
면역조직화학 분석의 설계 및 구현에 대한 CLSI 품질 표준을 참조하십시오. 승인된 지침-제 2 판(I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA(www.clsi.org). 2011 년.

양성 조직 대조: 흑색종
외부 양성 대조 물질은 환자 검체와 동일한 방식으로 가능한 한 빨리 고정, 처리 및 삽입된 새로운 검체여야 합니다. 양성 조직 대조군은 올바르게 준비된 조직과 적절한 염색 기술을 나타냅니다. 각 염색 실행에는 각 테스트 조건 세트에 대한 하나의 양성 외부 조직 대조가 포함되어야 합니다.

외부 양성 대조 물질로 사용되는 조직은 약한 양성 염색을 제공하는 낮은 수준의 양성 표적 활성이 잘 특성화되어 있는 환자 검체에서 선택해야 합니다. 외부 양성 대조군에 대한 낮은 양성 수준은 IHC 방법론의 불안정성 또는 문제로 인한 1 차 항체 민감도의 미묘한 변화를 감지하도록 설계되었습니다. 시중에서 판매되는 조직 대조 슬라이드 또는 환자 샘플과 다르게 처리된 표본은 시약 성능만 검증하고 조직 준비는 검증하지 않습니다.

알려진 양성 조직 대조군은 환자 샘플의 특정 진단을 공식화하는 데 도움이 되기보다는 처리된 조직 및 테스트 시약의 올바른 성능을 모니터링하는 데에만 활용되어야 합니다. 양성 조직 대조군이 양성 염색을 나타내지 못하는 경우, 테스트 검체의 결과는 유효하지 않은 것으로 간주되어야 합니다.

음성 조직 제어:
음성 조직 대조군(다음으로 알려져 있음)을 사용하십시오. *SOX10 이 되다* 음성)에 대한 IHC 1 차 항체의 특이성을 확인하기 위해 각 염색 실행에서 환자 샘플과 동일한 방식으로 고정, 처리 및 삽입됩니다. 표적 항원을 입증하고 특정 배경 염색의 지표를 제공합니다. (거짓 양성 염색). 또한 대부분의 조직 절편에 존재하는 다양한 세포 유형이 IHC 의 성능을 확인하기 위해 실험실

직원이 내부 음성 대조 사이트로 사용할 수 있습니다. 명세서. 음성조직에 사용될 수 있는 검체의 종류와 출처 컨트롤은 성능 특성 섹션에 나열되어 있습니다.

음성 조직 대조에서 특정 염색(위양성 염색)이 발생하는 경우, 환자 검체의 결과는 유효하지 않은 것으로 간주되어야 합니다.

비특이적 음성 시약 대조:
비특이적 염색 및
항원 부위의 특정 염색을 더 잘 해석할 수 있습니다. 이상적으로 음성 시약 대조군에는 1 차 항체와 동일한 방식으로 조직 배양 상층액에서 생성된 SOX10 IgG1 항체가 포함되어 있지만 동일한 매트릭스/용액에서는 인간 조직과 특이적인 반응성을 나타내지 않습니다. 바이오케어 항체. 음성 대조 항체를 희석된 1 차 항체와 동일한 면역글로불린 또는 단백질 농도로 희석합니다. 동일한 희석제를 사용한 항체. 처리 후 순수한 항체에 송아지 태아 혈청이 남아 있으면 희석된 단백질 농도와 동등한 단백질 농도의 송아지 태아 혈청 동일한 희석제에 들어 있는 1 차 항체도 사용하기에 적합합니다. (제공된 시약 참조) 희석제 단독은 이전에 설명한 음성 시약 대조에 대한 덜 바람직한 대안으로 사용될 수 있습니다. 음성 시약 대조군의 배양 기간은 1 차 항체의 배양 기간과 일치해야 합니다.

여러 항체 패널이 연속 섹션에 사용되는 경우 한 슬라이드의 음성 염색 영역은 다른 항체에 대한 음성/비특이적 결합 배경 제어 역할을 할 수 있습니다. 내인성 효소 활성 또는 효소의 비특이적 결합을 특정 면역반응성과 구별하기 위해 추가 환자 조직을 기질-발색체 또는 효소 복합체(PAP, 아비딘-비오틴, 스트렙타비딘) 및 기질-발색체로만 염색할 수 있습니다.

분석 검증:
진단 절차에서 항체 또는 염색 시스템을 처음 사용하기 전에 사용자는 알려진 양성 및 음성 조직을 대표하는 면역조직화학적 성능 특성이 알려진 일련의 내부 조직에서 항체를 테스트하여 항체의 특이성을 확인해야 합니다. 제품 삽입물의 이 섹션에 이전에 설명된 품질 관리 절차와 CAP 인증 프로그램의 품질 관리 권장 사항을 참조하십시오.[9] 면역조직화학 및/또는 NCCLS IHC 지침[10]). 이러한 품질 관리 절차는 새로운 항체 로트마다 또는 분석 매개변수에 변경이 있을 때마다 반복되어야 합니다. 성능 특성 섹션에 나열된 조직은 분석 검증에 적합합니다.

문제 해결:
제공된 데이터 시트에 따라 항체 특정 프로토콜 권장 사항을 따르십시오. 비정형 결과가 발생하면 1-800-542-2002 번으로 Biocare 기술 지원부에 문의하십시오.

염색의 해석:

양성 조직 대조:
표시된 항체로 염색된 양성 조직 대조군을 먼저 검사하여 모든 시약이 제대로 기능하는지 확인해야 합니다. (위에 표시된 대로) 표적 세포의 적절한 염색은 양성 반응성을 나타냅니다. 양성 조직 대조군이 양성 염색을 나타내지 못하는 경우, 테스트 검체의 모든 결과는 유효하지 않은 것으로 간주되어야 합니다.

반응 생성물의 색상은 사용된 기질 발색체에 따라 달라질 수 있습니다. 예상되는 색상 반응은 인쇄물 패키지 삽입물을 참조하십시오. 또한, 염색 방법에 따라 변색증이 관찰될 수도 있습니다.[11]
대조염색을 사용하는 경우, 배양 기간과 사용된 대조염색의 효능에 따라 대조염색으로 인해 세포핵이 착색됩니다. 과도하거나 불완전한 대조염색은 결과의 올바른 해석을 손상시킬 수 있습니다. 권장되는 대조염색에 대해서는 프로토콜을 참조하십시오.

음성 조직 제어:
양성 조직 대조 후에는 음성 조직 대조를 검사하여 1 차 항체에 의한 표적 항원 표지의 특이성을 확인해야 합니다. 음성 조직 대조군에서 특정 염색이 없다는 것은 세포/세포 구성요소에 대한 항체 교차 반응성이 없음을 확인합니다. 음성 외부 조직 대조에서 특정 염색(위양성 염색)이 발생하는 경우, 환자 검체의 결과는 유효하지 않은 것으로 간주되어야 합니다.

비특이적 염색이 있는 경우 일반적으로 확산된 모습을 보입니다. 포르말린이 과도하게 고정된 조직의 절편에서도 결합 조직의 산발적인 염색이 관찰될 수도 있습니다. 염색 결과를 해석하려면 손상되지 않은 세포를 사용하십시오. 괴사성 또는 퇴행성 세포는 종종 비특이적으로 염색됩니다.

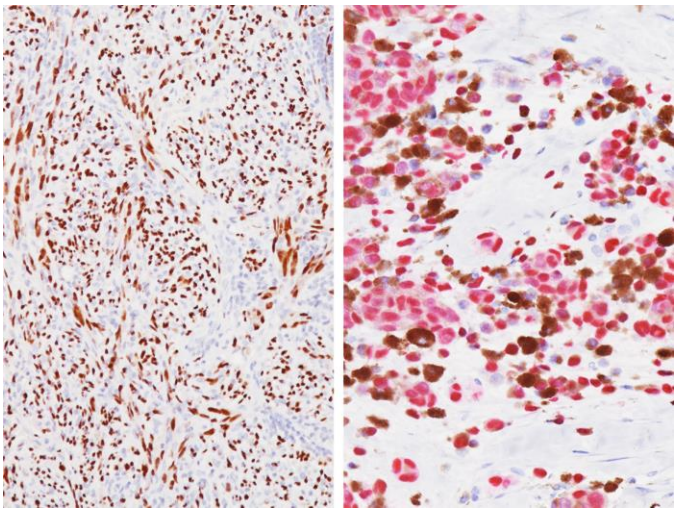
환자 조직:
표시된 항체로 염색된 환자 검체를 검사합니다. 마지막. 양성 염색 강도는 음성 시약 대조의 비특이적 배경 염색 맥락 내에서 평가되어야 합니다. 모든 면역조직화학적 검사와 마찬가지로, 음성 결과는 항원이 검출되지 않았음을 의미하며 분석된 세포/조직에 항원이 없다는 것을 의미하지는 않습니다. 필요한 경우 항체 패널을 사용하여 위음성 반응을 식별합니다.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody

901-3099-061324

Korean



(왼쪽) 방추세포 흑색종(DAB); (오른쪽) 색소성 흑색종(패스트 레드).

표시된 항체 면역반응성에 관한 특정 정보는 요약 및 설명, 제한사항 및 성능 특성을 참조하십시오.

제한사항:

일반 제한사항:

1. 을 위한 *시험관 내에서* 진단용
2. 이 제품은 전문가용입니다. 면역조직화학은 적절한 시약 선택에 대한 전문 교육으로 구성된 다단계 진단 과정입니다. 조직 선택, 고정 및 처리; IHC 슬라이드 준비; 염색 결과의 해석.
3. 조직 염색은 염색 전 조직의 취급 및 처리에 따라 달라집니다. 부적절한 고정, 냉동, 해동, 세척, 건조, 가열, 절개 또는 다른 조직이나 체액으로의 오염으로 인해 인공물, 항체 트래핑 또는 위음성 결과가 발생할 수 있습니다. 일관되지 않은 결과는 고정 및 삽입 방법의 차이 또는 조직 내의 고유한 불규칙성으로 인해 발생할 수 있습니다.[12]
4. 과도하거나 불완전한 대조염색은 결과의 올바른 해석을 손상시킬 수 있습니다.
5. 양성 또는 음성 염색에 대한 임상적 해석은 임상적 표현, 형태, 기타 조직병리학적 기준을 고려하여 평가해야 합니다. 양성 또는 음성 염색에 대한 임상적 해석은 적절한 양성 및 음성 내부 및 외부 대조와 기타 진단 테스트를 사용한 형태학적 연구를 통해 보완되어야 합니다. 최종 IHC 준비를 준비하고 해석하는 데 사용되는 모든 단계를 해석하는 것은 IHC 항체, 시약 및 방법의 적절한 사용에 익숙한 자격을 갖춘 병리학자의 책임입니다.
6. 특정 응용 분야에 대한 최적의 항체 희석 및 프로토콜은 다양할 수 있습니다. 여기에는 고정, 열 회수 방법, 배양 시간, 조직 단면 두께 및 사용된 검출 키트가 포함되지만 이에 국한되지는 않습니다. 이러한 고유한 시약의 뛰어난 감도로 인해 나열된 권장 배양 시간과 역가는 결과가 다를 수 있으므로 다른 검출 시스템에는 적용할 수 없습니다. 데이터 시트 권장 사항 및 프로토콜은 Biocare 제품의 독점적인 사용을 기반으로 합니다. 궁극적으로 최적의 조건을 결정하는 것은 조사자의 책임입니다.
7. 이 제품은 유세포 분석에 사용하기 위한 것이 아닙니다. 유세포분석에 대한 성능 특성은 결정되지 않았습니다.
8. B 형 간염 바이러스에 감염되고 B 형 간염 표면 항원(HBsAg)을 함유한 사람의 조직은 양 고추 냉이 퍼옥시다제에 의한 비특이적 염색을 나타낼 수 있습니다.[13]
9. 시약은 이전에 테스트되지 않은 조직에서 예상치 못한 반응을 나타낼 수 있습니다. 신생물이나 기타 병리학적 조직에서 항원 발현의 생물학적 다양성으로 인해 테스트된 조직 그룹에서도 예상치 못한 반응이 발생할 가능성을 완전히 제거할 수는 없습니다.[14] 예상치 못한 반응이 기록되어 있으면 1-800-542-2002 번으로 전화하거나 biocare.net 에서 제공하는 기술 지원 정보를 통해 Biocare 기술 지원부에 문의하십시오.
10. 차단 단계에 사용되는 2 차 항혈청과 동일한 동물 유래의 정상/비면역 혈청은 자가항체나 천연항체로 인해 위음성 또는 위양성 결과를 초래할 수 있습니다.
11. 단백질이나 기질 반응 생성물의 비면역학적 결합으로 인해 위양성 결과가 나타날 수 있습니다. 또한 사용된 면역염색제의 유형에 따라 가성 과산화효소 활성(적혈구), 내인성 과산화효소 활성(시토크롬 C) 또는 내인성 비오틴(예: 간, 유방, 뇌, 신장)으로 인해 발생할 수도 있습니다.[12]

제품별 제한 사항:

제품별 제한 사항은 명시되어 있지 않습니다.

성능 특성:

민감도, 특이도 및 교차 반응성은 각각 표 1 과 2 에 요약되어 있습니다.

면역반응성:

다음과 같은 양성 및 음성 면역반응이 아래 표 1 및 2 에 입증되었습니다.

아래 제공된 목록은 완전한 것은 아니지만 표시된 항체에서 관찰된 면역반응의 유형을 특성화합니다.

분석 성능:

민감도와 특이도에 대한 염색시험을 실시하였고 그 결과는 아래와 같습니다.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE
TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

민감도와 특이도:

1 번 테이블: 포르말린 고정, 파라핀 포매 질병 조직을 테스트하여 민감도와 특이도를 결정했습니다.

조직	긍정적인 사례	총 건수
흑색종(피부)	73	87 (83.9%)
전이성 흑색종	19	19 (100%)
방추세포 흑색종	28	29 (96.6%)
결합형성 흑색종	삼	3 (100%)
Desmoplastic/방추 세포 혼합 기능	2	2 (100%)
상피양 흑색종	2	2 (100%)
육종양 흑색종	2	2 (100%)
형질세포양 흑색종	2	2 (100%)
풍선세포 흑색종	1	1 (100%)
횡문근 흑색종	20	20 (100%)
양성 모반(다양함)	28	28 (100%)
신경초종(신경초종)	73	87 (83.9%)

표 2: 조직 교차 반응성은 포르말린 고정, 파라핀 포매 정상 조직을 테스트하여 결정되었습니다.

조직	긍정적인 사례	총 건수
뇌	4	6*
소뇌	2	삼*
부신	0	삼
난소	0	삼
콩팥	0	삼
갑상선	0	삼
부갑상선	0	삼
고환	0	삼
뼈	0	삼
비장	0	삼
편도선	0	삼
흉선	0	삼
골수	0	삼
폐	0	삼
마음	0	삼
식도	0	삼
뇌하수체	0	삼
가슴	2	삼*
위	0	삼
소장	0	삼
콜론	0	삼
간	0	삼
침샘	2	삼*
신장	0	삼
전립선	0	삼
자궁	0	삼
자궁 경부	0	삼
골격근	0	삼
피부	삼	삼*
말초신경	2	삼*
폐	0	삼
후두	0	삼
방광	0	삼
태반	0	삼
중피	0	삼

*대뇌 및 소뇌: 희소돌기아교세포 및 일부 성상교세포; 유방: 근상피 세포; 타액선: 근상피 세포; 피부: 멜라닌 세포; 말초 신경: 슈반 세포.

문제 해결:

1. 슬라이드에 염색이 되지 않음 - 적절한 양성 대조 조직, 항체 및 검출 제품이 사용되었는지 확인하십시오.
2. 모든 슬라이드의 약한 염색 - 적절한 양성 대조 조직, 항체 및 검출 제품이 사용되었는지 확인하십시오.
3. 모든 슬라이드의 과도한 배경 – 높은 수준의 내인성 비오틴(비오틴 기반 검출 제품을 사용하는 경우), 발색체를 유색 최종 생성물로 전환하는 내인성 HRP 활성(과산화효소 블록 사용) 또는 과도한 비특이적 단백질 상호작용(단백질 사용)이 있을 수 있습니다. 혈청 또는 카제인 기반 차단 용액과 같은 차단).
4. 배양 중에 조직 섹션이 슬라이드를 씻어냅니다. 슬라이드가 양전하를 띠고 있는지 확인하십시오.
5. 특정 염색이 너무 어두움 – 프로토콜을 확인하여 적절한 항체 역가가 슬라이드에 적용되었는지 확인하고 모든 시약에 대한 적절한 배양 시간을 확인하십시오. 또한 프로토콜에 인큐베이션 단계가 완료된 후 과잉 시약을 제거하기에 충분한 세척 단계가 있는지 확인하십시오.

참고자료:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline 항체는 Biocare Medical LLC 가 단독으로 개발했으며 Ventana Medical Systems, Inc 또는 Roche 의 Biocare 항체 승인 또는 보증을 의미하지 않습니다. Biocare, Ventana 및 Roche 는 어떤 방식으로든 제휴, 관련 또는 관련이 없습니다. Ventana®, BenchMark®, ultraView 및 OptiView 는 Roche 의 상표입니다.

Q 시리즈 항체는 Biocare Medical LLC 가 단독으로 개발했으며 Leica Biosystems 의 Biocare 항체 승인 또는 보증을 의미하지 않습니다. Biocare 와 Leica Biosystems 는 어떤 방식으로도 제휴, 관련 또는 관련이 없습니다. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX 및 BOND-III 는 Leica Biosystems 의 상표입니다.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Latvian

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Paredzētais lietojums:
Priekš *in vitro* Diagnostikas lietošana
SOX10 (M) [BC34] ir peles monoklonāla antiviela, kas paredzēta profesionālai laboratorijas lietošanai pēc sākotnējās audzēja diagnozes noteikšanas ar parasto histopatoloģiju, izmantojot neimunoloģiskos histoķīmiskos traipus, SOX10 kvalitatīvai identificēšanai. olbaltumvielas ar imūnhistoķīmiju (IHC) formalīnā fiksētos parafīnā iestrādātos (FFPE) cilvēka audos. Jebkuras iekrāsošanās vai tās neesamības klīniskā interpretācija ir jāpapildina ar morfoloģiskiem pētījumiem, izmantojot atbilstošas kontroles, un tā ir jānovērtē pacienta klīniskās vēstures un citu diagnostisko testu kontekstā, ko veic kvalificēts patologs, lai palīdzētu veikt jebkādas citas klīniskas noteikšanas.

Kopsavilkums un skaidrojums:
Ar transkripcijas faktoru saistītajam HMG-Box gēnam 10 (SOX10) ir svarīga loma nervu cekulas, perifērās nervu sistēmas un melanocītu šūnu attīstībā.[15-17] SOX10 plaši izpaužas normālos cilvēka audos, tostarp melanocītos un krūšu audos. SOX10 ir arī svarīgs ļaundabīgo audzēju, piemēram, melanomas, krūts karcinomas, gliomu un labdabīgo audzēju, piemēram, švanomas, marķieris.[17-20] Vēl svarīgāk ir tas, ka ir pierādīts, ka SOX10 tiek ekspresēts 97–100% desmoplastisko un vārpstveida šūnu melanomu, kā arī ir pierādīts, ka tas izpaužas 100% nevus.[15] Vārpstveida šūnu un desmoplastiskās melanomas ir reti sastopami invazīvas ādas melanomas varianti, kuru sastopamības biežums gadā ir aptuveni 2 no 100 000.[21] Ir pierādīts, ka lielākā daļa oligodendrogliomu un liela daļa astrocitomu un slikti diferencētu glioblastomu ekspresē SOX10.[17,19]

ASV patents 9,816,997 un patenti, kas tiek izskatīti.

Procedūras princips:
Šo antivielu produktu var izmantot kā primāro antivielu formalīnā fiksētu, parafīnā iestrādātu audu sekciju imūnhistoķīmiskajā pārbaudē. Kopumā imūnhistoķīmiskā (IHC) krāsošanas metodes ļauj vizualizēt antigēnus, secīgi pielietojot a specifiska antiviela pret antigēnu (primārā antiviela), sekundārā antiviela pret primāro antivielu (neobligāta saite antiviela/zonde), enzīmu komplekss un hromogēns substrāts ar iestrādātiem mazgāšanas posmiem. Hrogēna fermentatīvā aktivizēšana rada redzamu reakcijas produktu antigēna vietā. Pēc tam paraugu var iekrāsot un noslīdēt vāku. Rezultāti tiek interpretēti, izmantojot gaismu mikroskopu un palīglīdzekli patofizioloģisko procesu diferenciāldiagnozē, kas var vai var nebūt saistīts ar noteiktu antigēnu.

Materiāli un metodes:

Piedāvātie reaģenti:
Resursdatora avots: Pele monoklonāla
Sugas reaģētspēja: Cilvēks; citas sugas, kas nav pārbaudītas.
Klonēt: BC34
Izotips: IgG1
Olbaltumvielu koncentrācija: Sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu, lai uzzinātu konkrētu Ig koncentrāciju.
Specifiskums: SOX10
Šūnu lokalizācija: Kodolenerģija
Metode: Afinitātes attīrīta pele monoklonāla.

Atšķaidīšana, sajaukšana, atšķaidīšana, titrēšana:
Iepriekš atšķaidīts antivielu reaģents ir optimāli atšķaidīts lietošanai ar tālāk norādītajām krāsošanas platformām. Turpmāka atšķaidīšana var izraisīt antigēna krāsojuma zudumu. Lietotājam ir jāapstiprina visas šādas izmaiņas. Atšķirības audu apstrādē un tehniskajās procedūrās lietotāja laboratorijā var radīt ievērojamas atšķirības rezultātos, tādēļ ir nepieciešama regulāra iekšējā kontrole (skatiet sadaļu Kvalitātes kontrole).
Koncentrēts reaģents ir jāatšķaida, kā norādīts iepriekš tabulā.

Zināmās lietojumprogrammas:
Imūnhistoķīmija (formalīnā fiksēti parafīnā iestrādāti audi)

Piegādāts kā:
Buferēts sāls šķīdums, pH 6,1–7,4, kas satur proteīna nesēju un mazāk nekā 0,1% nātrija azīda konservantu. Papildinformāciju skatiet drošības datu lapā.

Nepieciešamie materiāli un reaģenti, kas nav nodrošināti:
Mikroskopa priekšmetstikliņi ir pozitīvi uzlādēti.
Pozitīvās un negatīvās audu kontroles
Tuksneša kamera (vai līdzīga žāvēšanas krāsns)
Ksilols vai ksilola aizstājējs
Etanols vai reaģenta spirts
Apslāņošanās kamera (spiediena plīts)
Dejonizēts vai destilēts ūdens
Mazgāšanas buferis
Priekšapstrādes reaģenti
Peroksidāzes blokāde
Olbaltumvielu bloks (pēc izvēles)
Detekcijas zonde un polimērs
Negatīvie kontroles reaģenti
Hrogēni
Hematoksilīns (pretkrāsa)
Bluing reaģents
Montāžas vide
Vāka stikls
Gaismas mikroskops (40-400X palielinājums)
Automatizēta priekšmetstikliņu krāsošanas platforma

Antivielu produkta konfigurācijas ir pieejamas lietošanai iepriekš tabulā norādītajos instrumentos.

Uzglabāšana un stabilitāte:
Uzglabāt temperatūrā no 2ºC līdz 8ºC. Uzglabājot šādos apstākļos, produkts ir stabils līdz derīguma termiņam, kas uzdrukāts uz flakona etiķetes. Nelietot pēc derīguma termiņa beigām. Uzglabāšana citos apstākļos, izņemot norādītos, ir jāpārbauda. Atšķaidīti reaģenti jāizlieto nekavējoties; uzglabājiet

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands
IVD CE
TP v6 (11/02/2023)
Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Latvian

BIOCARE MEDICAL

atlikušo reaģentu 2°C līdz 8°C temperatūrā. Biocare nav noteikusi lietotāja atšķaidītā reaģenta stabilitāti.

Pozitīvās un negatīvās kontroles jāveic vienlaikus ar visiem pacienta paraugiem. Ja tiek novērota neparedzēta iekrāsošanās, ko nevar izskaidrot ar atšķirībām laboratorijas procedūrās, un ir aizdomas par problēmu ar antivielu, sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002 vai izmantojot tehniskā atbalsta informāciju, kas sniegta vietnē biocare.net.

Parauga sagatavošana:
Formalīnā fiksēti audi ir piemēroti lietošanai pirms parafīna iestrādāšanas. Kaulu audi pirms audu apstrādes ir jāatkaļķo, lai atvieglotu audu griešanu un novērstu mikrotomu asmeņu bojājumus.[1,2]

Pareizi fiksēti un iestrādāti audi, kas ekspresē norādīto antigēna mērķi, jāuzglabā vēsā vietā. 1988. gada Klīniskās laboratorijas uzlabošanas likums (CLIA) pieprasa 42 CFR. §493.1259(b), ka "Laboratorijai ir jāsaglabā iekrāsotie priekšmetstikliņi vismaz desmit gadus no datuma, kad pārbaudi un saglabā paraugu blokus vismaz divus gadus no pārbaudes datuma.[3]

Audu apstrāde pirms krāsošanas:
Veiciet siltuma izraisītu epitopu izgūšanu (HIER) saskaņā ar tālāk ieteikto protokolu. Ir pierādīts, ka regulāra HIER lietošana pirms IHC samazina nekonsekvenci un standartizē krāsošanu.[4,5]

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi:
1. Šī antiviela satur mazāk par 0,1% nātrija azīda. Koncentrācijas, kas ir mazākas par 0,1%, nav ziņojami bīstami materiāli saskaņā ar U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard communication un EK Direktīvu 91/155/EK. Nātrija azīds (NaN_3), ko lieto kā konservantu, ir toksisks, ja to norij. Nātrija azīds var reaģēt ar svina un vara santehniku, veidojot ļoti sprādzienbīstamus metālu azīdus. Pēc likvidēšanas izskalojiet ar lielu ūdens daudzumu, lai novērstu azīda uzkrāšanos santehnikā. (Slimību kontroles centrs, 1976, Nacionālais darba drošības un veselības institūts, 1976)[6]
2. Paraugi pirms un pēc fiksācijas un visi tiem pakļautie materiāli ir jārīkojas tā, it kā tie varētu pārnēsāt infekciju, un tie jāiznīcina, ievērojot atbilstošus piesardzības pasākumus. Nekad nepipeējiet reaģentus iekšķīgi un izvairieties no saskares ar ādu un gļotādām ar reaģentiem un paraugiem. Ja reaģenti vai paraugi nonāk saskarē ar jutīgām zonām, nomazgājiet ar lielu ūdens daudzumu.[7]
3. Reaģentu mikrobu piesārņojums var izraisīt nespecifiskas krāsošanās palielināšanos.
4. Inkubācijas laiki vai temperatūras, kas atšķiras no norādītajām, var sniegt kļūdainus rezultātus. Lietotājam ir jāapstiprina visas šādas izmaiņas.
5. Nelietot reaģentu pēc derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz flakona.
6. Iepriekš atšķaidīts antivielu reaģents ir optimāli atšķaidīts lietošanai. Turpmāka atšķaidīšana var izraisīt antigēna krāsojuma zudumu.
7. Koncentrēta antivielu reaģenta atšķaidīšana ir jāvalidē pirms lietošanas. Jebkurš izmantotais šķīdinātājs, kas nav īpaši ieteikts, arī ir jāapstiprina savietojamībai un stabilitātei.
8. Izmetiet visus izlietotos reaģentus un visus citus piesārņotos vienreizlietojamos materiālus, ievērojot procedūras attiecībā uz infekcioziem vai potenciāli infekcioziem atkritumiem. Katra laboratorija ir atbildīga par cieto un šķidro atkritumu apstrādi atbilstoši to veidam un bīstamības pakāpei, kā arī to apstrādi un apglabāšanu (vai apstrādi un likvidēšanu) saskaņā ar spēkā esošajiem noteikumiem.
9. Ievērojiet jūsu atrašanās vietas vietējos atkritumu likvidēšanas noteikumus, kā arī ieteikumus drošības datu lapā, lai noteiktu šī produkta drošu iznīcināšanu.
10. SDS ir pieejams pēc pieprasījuma un atrodas http://biocare.net.
11. Lai ziņotu par iespējamiem nopietniem incidentiem saistībā ar šo ierīci, sazinieties ar vietējo Biocare pārstāvi un tās dalībvalsts vai valsts kompetento iestādi, kurā lietotājs ir reģistrēts.

Lietošanas instrukcija:
Ieteicamie krāsošanas protokoli SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX un manuāla lietošana:

API3099 un IPI3099 intelliPATH FLX un manuālai lietošanai ir standartizēti ar MACH 4 noteikšanas sistēma. Mazgāšanas soļiem izmantojiet TBS.	
Peroksīda bloks:	Bloķēt par 5 minūtes ar peroksidētu 1
Iepriekšēja apstrāde:	Veiciet siltuma izgūšanu, izmantojot Diva Decloaker. Konkrētus norādījumus skatiet Diva Decloaker datu lapā.
Olbaltumvielu bloks (pēc izvēles):	Inkubējiet 5-10 minūtes istabas temperatūrā ar Background Punisher.
Primārā antiviela:	Inkubē 30 minūtes RT.
Atklāšana:	Zonde: inkubēt 10 minūtes RT ar sekundāro zondi.
	Polimērs: inkubēt 10-20 minūtes RT ar terciāro polimēru.
Hrogēns:	Inkubējiet 5 minūtes RT ar Biocare DAB - OR- Inkubējiet 5-7 minūtes RT ar Warp Red.
Pretkrāsojums:	Pretkrāsot ar hematoksilīnu. Noskalo ar dejonizētu ūdeni. Uzklājiet Tacha's Bluing Solution 1 minūti. Noskalo ar dejonizētu ūdeni.
IPI3099 ir paredzēts lietošanai ar intelliPATH FLX. Konkrētus lietošanas norādījumus skatiet lietotāja rokasgrāmatā. Izmantojot intelliPATH FLX, pēc siltuma iegūšanas var veikt peroksīda bloķēšanu ar intelliPATH FLX peroksidāzes bloķējošo reaģentu (IPB5000).	

ONCORE Pro automatizētā priekšmetstiklinu krāsošanas sistēma:

OPAI3099 ir paredzēts lietošanai ar ONCORE Pro. Konkrētus lietošanas norādījumus skatiet lietotāja rokasgrāmatā. Protokola parametri protokola redaktorā jāieprogrammē šādi:		
Hrogēnas krāsošanas iespēja	**DAB**	**sarkans**
Protokola nosaukums:	SOX10	SOX10 APP
Protokola veidne (apraksts):	Īpaša veidne (nepieciešama ONCORE Pro-Tect noteikšana)	AP kundze 1. veidne
Devaska noņemšana (DS bufera opcija):	DS2-50	DS2-50
Antigēna izguve (AR opcija):	AR1, augsts pH līmenis; 103°C	AR1, augsts pH līmenis; 103°C
Bloķēšanas opcija:	Buferis	Buferis
Reaģenta nosaukums, laiks, temp.:	SOX10, 59 min., 37°C	SOX10, 59 min., 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 ir paredzēts lietošanai ar BenchMark ULTRA. Konkrētus lietošanas norādījumus skatiet lietotāja rokasgrāmatā. Ieteicamie protokola parametri ir šādi:	
Veidne/atklāšana:	ultraView DAB
Priekšapstrādes protokols:	CC1 standarts
Peroksidāze:	N/A
Primārā antiviela:	32 minūtes, 37°C
Veidne/atklāšana:	OptiView DAB IHC

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Latvian

BIOCARE MEDICAL

Priekšapstrādes protokols:	CC1 32 minūtes
Peroksidāze:	Pirms primārais peroksidāzes inhibitors
Primārā antiviela:	16 minūtes, 36°C

Q sērija — Leica BOND-III:

ALI3099 ir paredzēts lietošanai ar Leica BOND-III. Konkrētus lietošanas norādījumus skatiet lietotāja rokasgrāmatā. Ieteicamie protokola parametri ir šādi:

Hrogēnas krāsošanas iespēja	**DAB**	**sarkans**
Protokola nosaukums:	IHC protokols F	IHC protokols J
Atklāšana:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Red
ŠEIT:	20 min ar ER2	20 min ar ER2
Peroksīda bloks:	5 min	
Marķieris (primārā antiviela):	15 min	15 min
Izlikt primāro:	8 min	
Polimērs:	8 min	
Izlikt primāro AP:		20 min
Polimērs AP:		30 min
Jaukta hromogēna attīrīšana:	10 min	10 min + 5 min
Hematoksilīns:	5 min	5 min

Kvalitātes kontrole:
Skatiet CLSI kvalitātes standartus imūnhistoķīmijas testu izstrādei un ieviešanai; Apstiprināts vadlīniju otrais izdevums (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011. gads[8]

Pozitīvā audu kontrole: Melanoma
Ārējiem pozitīvās kontroles materiāliem jābūt svaigiem paraugiem, kas fiksēti, apstrādāti un pēc iespējas ātrāk jāievieto tādā pašā veidā kā pacienta paraugs(-i). Pozitīva audu kontrole liecina par pareizi sagatavotiem audiem un pareizām krāsošanas metodēm. Katrā krāsošanas ciklā jāiekļauj viena pozitīva ārējā audu kontrole katrai testa apstākļu kopai.

Ārējiem pozitīvās kontroles materiāliem izmantotie audi jāizvēlas no pacientu paraugiem ar labi raksturotu zemu pozitīvās mērķa aktivitātes līmeni, kas rada vāju pozitīvu krāsojumu. Zemais pozitivitātes līmenis ārējām pozitīvajām kontrolēm ir paredzēts, lai nodrošinātu smalku primāro antivielu jutības izmaiņu noteikšanu, ko izraisa nestabilitāte vai problēmas ar IHC metodoloģiju. Tirdzniecībā pieejamie audu kontroles priekšmetstikliņi vai paraugi, kas apstrādāti atšķirīgi no pacienta parauga(-iem), apstiprina tikai reaģenta darbību un nepārbauda audu sagatavošanu.

Zināmas pozitīvās audu kontroles ir jāizmanto tikai apstrādāto audu un testa reaģentu pareizas darbības uzraudzībai, nevis kā palīglīdzeklis konkrētas pacienta paraugu diagnozes formulēšanā. Ja pozitīvās audu kontroles neizdodas uzrādīt pozitīvu iekrāsošanos, testa paraugu rezultāti jāuzskata par nederīgiem.

Negatīvo audu kontrole:
Izmantojiet negatīvu audu kontroli (zināms *būt SOX10* negatīvi) fiksēti, apstrādāti un iegulti identiski pacienta paraugam(-iem) katrā krāsošanas ciklā, lai pārbaudītu IHC primārās antivielas specifiskumu mērķa antigēna demonstrēšana un sniegt norādi par specifisku fona krāsojumu (viltus pozitīva krāsošana). Arī dažādu šūnu tipu dažādība, kas atrodas lielākajā daļā audu sekciju, var Laboratorija izmantos kā iekšējās negatīvās kontroles vietas, lai pārbaudītu IHC darbību specifikācijas. Paraugu veidi un avoti, ko var izmantot negatīviem audiem vadīklas ir uzskaitītas sadaļā Veiktspējas raksturlielumi.

Ja negatīvajā audu kontrolē notiek specifiska iekrāsošanās (viltus pozitīva iekrāsošanās), pacienta paraugu rezultāti jāuzskata par nederīgiem.

Nespecifiskā negatīvā reaģenta kontrole:
Primārās antivielas vietā izmantojiet nespecifisku negatīvu reaģenta kontroli ar katra pacienta parauga daļu, lai novērtētu nespecifisko krāsošanos un ļauj labāk interpretēt specifisko krāsojumu antigēna vietā. Ideālā gadījumā negatīvā reaģenta kontrole satur SOX10 IgG1 antivielu, kas iegūta no audu kultūras supernatanta tādā pašā veidā kā primārā antiviela, bet tai nav specifiskas reaktivitātes ar cilvēka audiem tajā pašā matricā/šķīdumā kā Biocare antiviela. Negatīvās kontroles antivielu atšķaida līdz tādai pašai imūnglobulīna vai proteīna koncentrācijai kā atšķaidītajai primārajai antivielai antivielu, izmantojot identisku šķīdinātāju. Ja teļa augļa serums pēc apstrādes saglabājas tīrā antivielā, teļa augļa serums ar proteīna koncentrāciju, kas līdzvērtīga atšķaidītajai lietošanai ir piemērota arī primārā antiviela tajā pašā šķīdinātājā. (Skatīt pievienoto reaģentu). Atšķaidītāju vienu pašu var izmantot kā mazāk vēlamo alternatīvu iepriekš aprakstītajām negatīvajām reaģentu kontrolēm. Negatīvā reaģenta kontroles inkubācijas periodam jāatbilst primārās antivielas inkubācijas periodam.

Ja sērijveida sekcijās tiek izmantoti vairāku antivielu paneļi, viena priekšmetstikliņa negatīvi iekrāsotie apgabali var kalpot kā negatīva/nespecifiska saistīšanās fona kontrole citām antivielām. Lai atšķirtu endogēno enzīmu aktivitāti vai nespecifisku enzīmu saistīšanos no specifiskas imūnreaktivitātes, papildu pacienta audus var iekrāsot tikai ar substrāta-hromogēna vai enzīmu kompleksiem (PAP, avidīns-biotīns, streptavidīns) un substrāta-hromogēnu, attiecīgi.

Testa pārbaude:
Pirms antivielas vai krāsošanas sistēmas sākotnējās izmantošanas diagnostikas procedūrā, lietotājam jāpārbauda antivielas specifika, pārbaudot to uz vairākiem iekšējiem audiem ar zināmiem imūnhistoķīmiskās veiktspējas raksturlielumiem, kas atspoguļo zināmus pozitīvus un negatīvus audus. Skatiet kvalitātes kontroles procedūras, kas iepriekš aprakstītas šajā produkta ievietojuma sadaļā, un KLP sertifikācijas programmas kvalitātes kontroles ieteikumus.[9] imūnhistoķīmijai un/vai NCCLS IHC vadlīnijām[10]). Šīs kvalitātes kontroles procedūras jāatkārto katrai jaunai antivielu partijai vai ikreiz, kad notiek izmaiņas testa parametros. Veiktspējas raksturlielumu sadaļā uzskaitītie audi ir piemēroti testa pārbaudei.

Problēmu novēršana:
Ievērojiet antivielu specifiskā protokola ieteikumus saskaņā ar sniegto datu lapu. Ja rodas netipiski rezultāti, sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002.

Krāsošanas interpretācija:

Pozitīvā audu kontrole:
Vispirms ir jāpārbauda pozitīvā audu kontrole, kas iekrāsota ar norādīto antivielu, lai pārliecinātos, ka visi reaģenti darbojas pareizi. Atbilstoša mērķa šūnu krāsošana (kā norādīts iepriekš) liecina par pozitīvu reaktivitāti. Ja pozitīvās audu kontroles neizdodas uzrādīt pozitīvu iekrāsošanos, visi testa paraugu rezultāti jāuzskata par nederīgiem.

Reakcijas produkta krāsa var atšķirties atkarībā no izmantotajiem substrāta hromogēniem. Paredzamās krāsu reakcijas skatiet substrāta iepakojuma lappusēs. Turklāt metahromāziju var novērot krāsošanas metodes variācijās.[11]

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Latvian

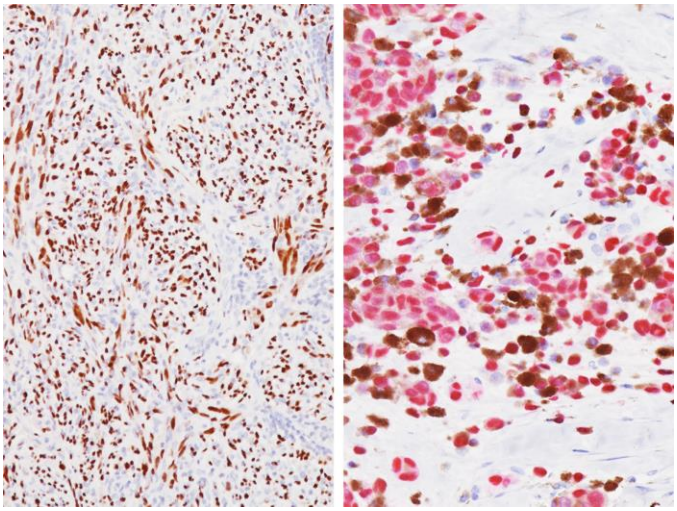
BIOCARE MEDICAL

Ja tiek izmantots pretkrāsojums, atkarībā no inkubācijas ilguma un izmantotā pretkrāsojuma stipruma, pretkrāsošana izraisīs šūnu kodolu krāsojumu. Pārmērīga vai nepilnīga pretkrāsošana var apdraudēt pareizu rezultātu interpretāciju. Skatiet protokolu(-s), lai uzzinātu par ieteicamo pretkrāsošanu.

Negatīvo audu kontrole:
Negatīvā audu kontrole jāpārbauda pēc pozitīvās audu kontroles, lai pārbaudītu primārās antivielas mērķa antigēna marķēšanas specifiku. Specifiskas iekrāsošanās trūkums negatīvajā audu kontrolē apstiprina antivielu krusteniskās reaktivitātes trūkumu pret šūnām/šūnu komponentiem. Ja negatīvā ārējā audu kontrolē notiek specifiska iekrāsošanās (viltus pozitīva iekrāsošanās), pacienta parauga rezultāti jāuzskata par nederīgiem.

Nespecifiska krāsošana, ja tāda ir, parasti ir izkliedēta. Sporadisku saistaudu iekrāsošanos var novērot arī sekcijās no pārmērīgi formalīna fiksētiem audiem. Krāsošanas rezultātu interpretācijai izmantojiet neskartas šūnas. Nekrotiskas vai deģenerētas šūnas bieži krāsojas nespecifiski.

Pacienta audi:
Pārbaudiet pacientu paraugus, kas iekrāsoti ar norādītajām antivielām Pēdējais. Pozitīvā krāsošanas intensitāte jānovērtē saistībā ar jebkuru nespecifisku negatīvā reaģenta kontroles fona krāsojumu. Tāpat kā ar jebkuru imūnhistoķīmisko testu, negatīvs rezultāts nozīmē, ka antigēns nav konstatēts, nevis antigēna nebija pārbaudītajās šūnās/audiem. Ja nepieciešams, izmantojiet antivielu paneli, lai identificētu viltus negatīvas reakcijas.



(Pa kreisi) Vārpstas šūnu melanoma (DAB); (Pa labi) Pigmentēta melanoma (Ātri sarkana).

Lai iegūtu specifisku informāciju par norādīto antivielu imūnreaktivitāti, skatiet kopsavilkumu un skaidrojumu, ierobežojumus un veiktspējas raksturlielumus.

Ierobežojumi:

Vispārīgi ierobežojumi:
1. Priekš *in vitro* diagnostikas izmantošana
2. Šis produkts ir paredzēts tikai profesionālai lietošanai: Imūnhistoķīmija ir daudzpakāpju diagnostikas process, kas sastāv no specializētas apmācības atbilstošu reaģentu izvēlē; audu atlase, fiksācija un apstrāde; IHC priekšmetstikliņa sagatavošana; un krāsošanas rezultātu interpretācija.
3. Audu krāsošana ir atkarīga no audu apstrādes un apstrādes pirms krāsošanas. Nepareiza fiksācija, sasaldēšana, atkausēšana, mazgāšana, žāvēšana, karsēšana, sadalīšana vai piesārņošana ar citiem audiem vai šķidrumiem var radīt artefaktus, antivielu slazdošanu vai viltus negatīvus rezultātus. Nekonsekventi rezultāti var būt fiksācijas un iegulšanas metožu atšķirību dēļ vai audos raksturīgu nelīdzenumu dēļ.[12]
4. Pārmērīga vai nepilnīga pretkrāsošana var apdraudēt pareizu rezultātu interpretāciju.
5. Jebkuras pozitīvas vai negatīvas iekrāsošanās klīniskā interpretācija jānovērtē klīniskā attēla, morfoloģijas un citu histopatoloģisku kritēriju kontekstā. Jebkuras pozitīvas vai negatīvas iekrāsošanās klīniskā interpretācija jāpapildina ar morfoloģiskiem pētījumiem, izmantojot atbilstošus pozitīvos un negatīvos iekšējos un ārējos kontroles testus, kā arī citus diagnostikas testus. Kvalificēts patologs, kurš ir iepazinies ar pareizu IHC antivielu, reaģentu un metožu lietošanu, ir atbildīgs, lai interpretētu visas darbības, kas izmantotas, lai sagatavotu un interpretētu galīgo IHC preparātu.
6. Optimālais antivielu atšķaidījums un protokoli konkrētam lietojumam var atšķirties. Tie ietver (bet ne tikai) fiksāciju, siltuma iegūšanas metodi, inkubācijas laikus, audu sekcijas biezumu un izmantoto noteikšanas komplektu. Šo unikālo reaģentu augstākās jutības dēļ norādītie ieteicamie inkubācijas laiki un titri nav piemērojami citām noteikšanas sistēmām, jo rezultāti var atšķirties. Datu lapas ieteikumi un protokoli ir balstīti uz ekskluzīvu Biocare produktu izmantošanu. Galu galā pētnieka pienākums ir noteikt optimālos apstākļus.
7. Šis produkts nav paredzēts izmantošanai plūsmas citometrijā. Plūsmas citometrijas veiktspējas raksturlielumi nav noteikti.
8. Audos no personām, kas inficētas ar B hepatīta vīrusu un satur B hepatīta virsmas antigēnu (HBsAg), var būt nespecifiska iekrāsošanās ar mārrutku peroksidāzi.[13]
9. Reaģenti var parādīt negaidītas reakcijas iepriekš nepārbaudītos audos. Negaidītu reakciju iespējamību pat pārbaudītajās audu grupās nevar pilnībā novērst antigēnu ekspresijas bioloģiskās variabilitātes dēļ jaunveidojumos vai citos patoloģiskos audos.[14] Sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002 vai izmantojot tehniskā atbalsta informāciju, kas sniegta vietnē biocare.net, norādot dokumentētu neparedzētu reakciju.
10. Normāli/neimūnie serumi no tā paša dzīvnieku izcelsmes avota kā sekundārie antiserumi, ko izmanto bloķēšanas posmos, var izraisīt kļūdaini negatīvus vai kļūdaini pozitīvus rezultātus autoantivielu vai dabisko antivielu dēļ.
11. Kļūdaini pozitīvus rezultātus var redzēt proteīnu vai substrāta reakcijas produktu neimunoloģiskas saistīšanās dēļ. Tos var izraisīt arī pseidoperoksidāzes aktivitāte (eritrocīti), endogēna peroksidāzes aktivitāte (citohroms C) vai endogēns biotīns (piemēram, aknas, krūts, smadzenes, nieres) atkarībā no izmantotā imūnkrāsojuma veida.[12]

Produkta specifiskie ierobežojumi:
Nav norādīti konkrēti produkta ierobežojumi.

Veiktspējas raksturojums:
Jutība, specifiskums un krusteniskā reaktivitāte ir apkopotas attiecīgi 1. un 2. tabulā.

Imūnreaktivitāte:
Tālāk 1. un 2. tabulā ir parādītas šādas pozitīvās un negatīvās imūnreaktivitātes.

Tālāk sniegtais saraksts nav pilnīgs, bet raksturo imūnreaktivitātes veidus, kas novēroti ar norādīto antivielu.

Analītiskā veiktspēja:
Tika veikti krāsošanas testi jutīguma un specifiskuma noteikšanai, un rezultāti ir uzskaitīti zemāk.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Latvian

BIOCARE MEDICAL

Jutība un specifika:

1. tabula: Jutīgums un specifiskums tika noteikts, pārbaudot formalīnā fiksētus, parafīnā iestrādātus slimos audus.

Audu	Pozitīvi gadījumi	Kopējais lietu skaits
Melanoma (ādas)	73	87 (83,9%)
Metastātiska melanoma	19	19 (100%)
Vārpstas šūnu melanoma	28	29 (96,6%)
Desmoplastiskā melanoma	3	3 (100%)
Desmoplastiskas / vārpstas šūnu jauktās īpašības	2	2 (100%)
Epitēlija melanoma	2	2 (100%)
Sarkomatoīda melanoma	2	2 (100%)
Plazmacitoīda melanoma	2	2 (100%)
Balonu šūnu melanoma	1	1 (100%)
Rabdoīda melanoma	20	20 (100%)
Labdabīgs nevus (dažādi)	28	28 (100%)
Švannoma (neirilemma)	73	87 (83,9%)

2. tabula: Audu krusteniskā reaktivitāte tika noteikta, pārbaudot ar formalīnu fiksētus, parafīnā iestrādātus normālus audus.

Audu	Pozitīvi gadījumi	Kopējais lietu skaits
Smadzenes	4	6*
Smadzenītes	2	3*
Virsnieru dziedzeris	0	3
Olnīca	0	3
Aizkuņģa dziedzeris	0	3
Vairogdziedzeris	0	3
Parathormons	0	3
Sēklinieks	0	3
Kauls	0	3
Liesa	0	3
Mandeles	0	3
Thymus	0	3
Kaulu smadzenes	0	3
Plaušas	0	3
Sirds	0	3
Barības vads	0	3
Hipofīze	0	3
Krūtis	2	3*
Vēders	0	3
Tievās zarnas	0	3
Kols	0	3
Aknas	0	3
Siekalu dziedzeris	2	3*
Nieres	0	3
Prostata	0	3
Dzemde	0	3
Dzemdes dzemdes kakls	0	3
Skeleta muskulis	0	3
Āda	3	3*
Perifērais nervs	2	3*
Plaušu	0	3
Balsene	0	3
Urīnpūslis	0	3
Placenta	0	3
Mezotēlijs	0	3

*Smadzenes un smadzenītes: oligodendrocīti un daži astrocīti; krūts: mioepitēlija šūnaș; siekalu dziedzeris: mioepitēlija šūnas; āda: melanocīti; perifērais nervs: Švāna šūnas.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Latvian

Problēmu novēršana:

1. Priekšmetstikliņi nav iekrāsoti – pārbaudiet, lai noteiktu, vai ir izmantoti atbilstoši pozitīvās kontroles audi, antivielas un noteikšanas produkti.
2. Vāja visu priekšmetstikliņu krāsošana – pārbaudiet, lai noteiktu, vai ir izmantoti atbilstoši pozitīvās kontroles audi, antivielas un noteikšanas produkti.
3. Pārmērīgs visu priekšmetstikliņu fons — var būt augsts endogēnā biotīna līmenis (ja izmanto noteikšanas produktus uz biotīna bāzes), endogēna HRP aktivitāte, kas pārvērš hromogēnu krāsainā galaproduktā (izmantojiet peroksidāzes bloku) vai pārmērīga nespecifiskā proteīna mijiedarbība (izmantojiet proteīnu). blokādi, piemēram, bloķējošs šķīdums uz seruma vai kazeīna bāzes).
4. Audu sekcijas nomazgā priekšmetstikliņus inkubācijas laikā – pārbaudiet priekšmetstikliņus, lai pārliecinātos, ka tie ir pozitīvi uzlādēti.
5. Īpaša krāsošanās ir pārāk tumša – pārbaudiet protokolu, lai noteiktu, vai priekšmetstikliņiem ir piemērots pareizs antivielu titrs, kā arī pareizu visu reaģentu inkubācijas laiku. Turklāt pārliecinieties, ka protokolā ir pietiekami daudz mazgāšanas soļu, lai pēc inkubācijas darbību pabeigšanas noņemtu liekos reaģentus.

Atsauces:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline antivielas izstrādā tikai Biocare Medical LLC, un tas nenozīmē, ka Ventana Medical Systems, Inc vai Roche ir apstiprinājusi vai apstiprinājusi Biocare antivielas. Biocare, Ventana un Roche nav nekādā veidā saistīti, saistīti vai saistīti. Ventana®, BenchMark®, ultraView un OptiView ir Roche preču zīmes.

Q sērijas antivielas izstrādā tikai Biocare Medical LLC, un tas nenozīmē, ka Leica Biosystems ir apstiprinājusi vai apstiprinājusi Biocare antivielas. Biocare un Leica Biosystems nav nekādā veidā saistīti, saistīti vai saistīti. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX un BOND-III ir Leica Biosystems preču zīmes.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

IVD CE

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Lithuanian

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Paskirtis:
Dėl *in vitro* Diagnostinis naudojimas
SOX10 (M) [BC34] yra pelių monokloninis antikūnas, skirtas profesionaliam naudojimui laboratorijoje po to, kai pradinė naviko diagnozė buvo atlikta įprastine histopatologija, naudojant neimunologines histochemines dėmes, kokybiniam SOX10 identifikavimui. baltymo imunohistochemijos (IHC) būdu formalinu fiksuotuose parafinu įterptuose (FFPE) žmogaus audiniuose. Klinikinis bet kokio dažymo ar jo nebuvimo aiškinimas turėtų būti papildytas morfologiniais tyrimais, naudojant tinkamą kontrolę, ir turėtų būti įvertintas atsižvelgiant į paciento klinikinę istoriją ir kitus diagnostinius tyrimus, kuriuos atlieka kvalifikuotas patologas, kad būtų galima atlikti kitus klinikinius sprendimus.

Santrauka ir paaiškinimas:
Su transkripcijos faktoriumi susijęs HMG-Box genas 10 (SOX10) vaidina svarbų vaidmenį nervų skiaute, periferinėje nervų sistemoje ir melanocitinių ląstelių vystyme.[15-17] SOX10 yra plačiai ekspresuojamas normaliuose žmogaus audiniuose, įskaitant melanocitus ir krūties audinius. SOX10 taip pat yra svarbus piktybinių navikų, tokių kaip melanoma, krūties karcinoma, gliomos ir gerybiniai navikai, tokie kaip švannomos, žymuo.[17-20] Dar svarbiau, kad buvo įrodyta, kad SOX10 ekspresuojamas 97–100% desmoplastinių ir verpstės ląstelių melanomų, taip pat buvo įrodyta, kad jis ekspresuojamas 100% nevi.[15] Verpstės ląstelių ir desmoplastinės melanomos yra reti invazinės odos melanomos variantai, kurių metinis dažnis yra maždaug 2 atvejai iš 100 000.[21] Taip pat įrodyta, kad dauguma oligodendrogliomų ir didelis procentas astrocitomos bei prastai diferencijuotų glioblastomų išreiškia SOX10.[17,19]

JAV patentas 9 816 997 ir laukiami patentai.

Procedūros principas:
Šis antikūnų produktas gali būti naudojamas kaip pagrindinis antikūnas atliekant formalinu fiksuotų, parafinu įterptų audinių pjūvių imunohistocheminius tyrimus. Apskritai imunohistocheminis (IHC) dažymo metodai leidžia vizualizuoti antigenus nuosekliai taikant a specifinis antikūnas prieš antigeną (pirminis antikūnas), antrinis antikūnas prieš pirminį antikūną (neprivalomas antikūnas/zondas), fermentų kompleksas ir chromogeninis substratas su tarpinėmis plovimo etapais. Dėl fermentinio chromogeno aktyvavimo antigeno vietoje susidaro matomas reakcijos produktas. Tada mėginys gali būti nudažytas ir dangtis nuslysta. Rezultatai interpretuojami naudojant lemputę mikroskopu ir pagalba diferencinei patofiziologinių procesų diagnostikai, kurie gali arba gali būti nesusiję su konkrečiu antigenu.

Medžiagos ir metodai:

Pateikiami reagentai:
Prieglobos šaltinis: Pelės monokloninės
Rūšių reaktyvumas: Žmogus; kitos rūšys, netirtos.
Klonuoti: BC34
Izotipas: IgG1
Baltymų koncentracija: Dėl konkrečios Ig koncentracijos susisiekite su Biocare techninės pagalbos tarnyba.
Specifiškumas: SOX10
Mobilioji lokalizacija: Branduolinės

Metodas: Afinitetu išgryninta pelė monokloninė.

Atskiedimas, maišymas, skiedimas, titravimas:
Iš anksto praskiestas antikūnų reagentas yra optimaliai atskiestas naudoti su toliau nurodytomis dažymo platformomis. Tolesnis skiedimas gali sukelti antigeno dažymo praradimą. Vartotojas turi patvirtinti visus tokius pakeitimus. Dėl audinių apdorojimo ir techninių procedūrų skirtumų vartotojo laboratorijoje rezultatai gali labai skirtis, todėl reikia reguliariai atlikti vidaus kontrolę (žr. Kokybės kontrolės skyrių).
Koncentruotą reagentą reikia skiesti, kaip nurodyta aukščiau esančioje lentelėje.

Žinomos programos:
Imunohistochemija (formalinu fiksuoti audiniai, įterpti į parafiną)

Tiekiama kaip:
Buferinis druskos tirpalas, pH 6,1–7,4, su baltymų nešikliu ir mažiau nei 0,1 % natrio azido konservanto. Daugiau informacijos rasite saugos duomenų lape.

Reikalingos, bet nepateiktos medžiagos ir reagentai:
Mikroskopo skaidrės įkrautos teigiamai.
Teigiama ir neigiama audinių kontrolė
Dykumos kamera (arba panaši džiovinimo krosnis)
Ksilenas arba ksileno pakaitalas
Etanolis arba alkoholio reagentas
Užblokavimo kamera (slėginė viryklė)
Dejonizuotas arba distiliuotas vanduo
Skalbimo buferis
Pirminio apdorojimo reagentai
Peroksidazės blokada
Baltymų blokas (neprivaloma)
Aptikimo zondas ir polimeras
Neigiami kontroliniai reagentai
Chromogenai
Hematoksilinas (priežastis)
Mėlynojimo reagentas
Montavimo terpė
Dengiamasis stiklas
Šviesos mikroskopas (40-400X padidinimas)
Automatizuota stiklelių dažymo platforma

Antikūnų produkto konfigūracijas galima naudoti aukščiau esančioje lentelėje nurodytais instrumentais.

Sandėliavimas ir stabilumas:
Laikyti 2°C – 8°C temperatūroje. Laikant tokiomis sąlygomis, produktas yra stabilus iki galiojimo datos, nurodytos ant buteliuko etiketės. Nenaudoti pasibaigus tinkamumo laikui. Turi būti patikrintas saugojimas bet kokiomis kitokiomis sąlygomis nei nurodytos. Praskiesti reagentai turi būti naudojami nedelsiant; likusį reagentą laikykite 2–8 °C temperatūroje. Biocare nenustatė vartotojo praskiesto reagento stabilumo.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Lithuanian

BIOCARE MEDICAL

Teigiamas ir neigiamas kontrolė turi būti atliekama vienu metu su visais paciento mėginiais. Jei pastebimas netikėtas dažymas, kurio negalima paaiškinti laboratorinių procedūrų skirtumais, ir įtariate antikūnų problemą, susisiekite su Biocare techninės pagalbos tarnyba telefonu 1-800-542-2002 arba per techninės pagalbos informaciją, pateiktą biocare.net.

Mėginio paruošimas:
Formalinu fiksuoti audiniai tinkami naudoti prieš įterpiant į parafiną. Kauliniai audiniai turi būti nukalkinti prieš audinių apdorojimą, kad būtų lengviau nupjauti audinį ir nepažeisti mikrotomo ašmenų.[1,2]

Tinkamai fiksuoti ir įterpti audiniai, išreiškiantys nurodytą antigeno taikinį, turi būti laikomi vėsioje vietoje. 1988 m. Klinikinių laboratorijų tobulinimo įstatymas (CLIA) reikalauja 42 CFR §493.1259(b), kad „Laboratorija turi saugoti beicuotus stiklelius mažiausiai dešimt metų nuo ištirti ir saugoti mėginių blokus mažiausiai dvejus metus nuo tyrimo datos.[3]

Audinių gydymas prieš dažymą:
Atlikite šilumos sukeltą epitopų paiešką (HIER) pagal toliau pateiktą rekomenduojamą protokolą. Įrodyta, kad įprastas HIER naudojimas prieš IHC sumažina nenuoseklumą ir standartizuoja dažymą.[4,5]

Įspėjimas ir atsargumo priemonės:
1. Šiame antikūne yra mažiau nei 0,1 % natrio azido. Pagal JAV 29 CFR 1910.1200, OSHA pranešimus apie pavojų ir EB direktyvą 91/155/EB, mažesnės nei 0,1 % koncentracijos nėra pavojingos medžiagos. Natrio azidas (NaN_3), naudojamas kaip konservantas, yra toksiškas prarijus. Natrio azidas gali reaguoti su švino ir vario vandentiekiu ir sudaryti labai sprogius metalo azidus. Išmetus, nuplaukite dideliu kiekiu vandens, kad vandentiekyje nesikauptų azidas. (Ligų kontrolės centras, 1976 m., Nacionalinis darbuotojų saugos ir sveikatos institutas, 1976 m.)[6]
2. Mėginiai prieš ir po fiksavimo bei visos su jais paveiktos medžiagos turi būti tvarkomos taip, lyg galėtų perduoti infekciją, ir sunaikintos laikantis tinkamų atsargumo priemonių. Niekada nepilkite reagentų pipete per burną ir venkite reagentų bei mėginių sąlyčio su oda ir gleivinėmis. Jei reagentai ar mėginiai pateko į jautrias vietas, nuplaukite dideliu kiekiu vandens.[7]
3. Mikrobinis reagentų užterštumas gali padidinti nespecifinį dažymą.
4. Kitos nei nurodytos inkubacijos trukmės arba temperatūros rezultatai gali duoti klaidingus rezultatus. Vartotojas turi patvirtinti visus tokius pakeitimus.
5. Nenaudokite reagento pasibaigus tinkamumo laikui, nurodytam ant buteliuko.
6. Iš anksto praskiestas antikūnų reagentas yra optimaliai atskiestas naudojimui. Tolesnis skiedimas gali sukelti antigeno dažymo praradimą.
7. Koncentruoto antikūno reagento praskiedimas turi būti patvirtintas prieš naudojimą. Bet koks naudojamas skiediklis, kuris nėra specialiai rekomenduojamas, taip pat turi būti patvirtintas dėl suderinamumo ir stabilumo.
8. Išmeskite visus panaudotus reagentus ir visas kitas užterštas vienkartines medžiagas laikydamiesi infekcinių arba potencialiai infekcinių atliekų pašalinimo. Kiekviena laboratorija yra atsakinga už kietųjų ir skystųjų atliekų tvarkymą pagal jų pobūdį ir pavojingumo laipsnį bei jų apdorojimą ir šalinimą (arba pasirūpinimą, kad jos būtų apdorotos ir pašalintos) pagal galiojančias taisykles.
9. Laikykitės vietinių jūsų vietos atliekų šalinimo taisyklių ir saugos duomenų lapo rekomendacijų, kad nustatytumėte, kaip saugiai išmesti šį gaminį.
10. SDS galima gauti paprašius ir jis yra adresu http://biocare.net.
11. Norėdami pranešti apie įtariamus rimtus incidentus, susijusius su šiuo prietaisu, susisiekite su vietiniu Biocare atstovu ir valstybės narės arba šalies, kurioje yra įsisteigęs naudotojas, kompetentinga institucija.

Naudojimo instrukcijos:
Rekomenduojami SOX10 [BC34] dažymo protokolai:

„IntelliPATH FLX" ir rankinis naudojimas:

API3099 ir IPI3099, skirti intelliPATH FLX ir rankiniam naudojimui, buvo standartizuoti su MACH 4 aptikimo sistema. Skalbimo etapams naudokite TBS.	
Peroksido blokas:	Blokuoti už 5 minutes su peroksiduotu 1
Pirminis apdorojimas:	Atlikite šilumos paėmimą naudodami Diva Decloaker. Konkrečių instrukcijų ieškokite Diva Decloaker duomenų lape.
Baltymų blokas (nebūtina):	Inkubuokite 5–10 minučių kambario temperatūroje su Background Punisher.
Pirminis antikūnas:	Inkubuokite 30 minučių kambario temperatūroje.
Aptikimas:	Zondas: inkubuokite 10 minučių kambario temperatūroje su antriniu zondu.
	Polimeras: inkubuokite 10-20 minučių kambario temperatūroje su tretiniu polimeru.
Chromogenas:	Inkubuokite 5 minutes kambario temperatūroje su Biocare DAB -OR- Inkubuokite 5-7 minutes kambario temperatūroje su Warp Red.
Kontrastas:	Priešgaisrinis dažymas hematoksilinu. Nuplaukite dejonizuotu vandeniu. Taikyti Tacha's Bluing tirpalą 1 minutę. Nuplaukite dejonizuotu vandeniu.
IPI3099 skirtas naudoti su intelliPATH FLX. Konkrečių naudojimo instrukcijų ieškokite vartotojo vadove. Naudojant intelliPATH FLX, po šilumos paėmimo gali būti atliktas peroksido blokavimas su intelliPATH FLX peroksidazės blokavimo reagentu (IPB5000).	

ONCORE Pro automatinė stiklelių dažymo sistema:

OPAI3099 skirtas naudoti su ONCORE Pro. Konkrečių naudojimo instrukcijų ieškokite vartotojo vadove. Protokolo parametrai protokolų rengyklėje turi būti užprogramuoti taip:		
Chromogeno dažymo parinktis	**DAB**	**Raudona**
Protokolo pavadinimas:	SOX10	SOX10 APP
Protokolo šablonas (aprašas):	Specialus šablonas (reikalingas ONCORE Pro-Tect aptikimas)	Ponia AP 1 šablonas
Vaškavimas (DS buferio parinktis):	DS2-50	DS2-50
Antigeno paieška (AR parinktis):	AR1, aukštas pH; 103°C	AR1, aukštas pH; 103°C
Blokavimo parinktis:	Buferis	Buferis
Reagento pavadinimas, laikas, temperatūra:	SOX10, 59 min., 37°C	SOX10, 59 min., 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 skirtas naudoti su BenchMark ULTRA. Konkrečių naudojimo instrukcijų ieškokite vartotojo vadove. Rekomenduojami protokolo parametrai yra tokie:	
Šablonas / aptikimas:	ultraView DAB
Pirminio apdorojimo protokolas:	CC1 standartas
Peroksidazė:	N/A
Pirminis antikūnas:	32 minutes, 37°C
Šablonas / aptikimas:	OptiView DAB IHC

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Pirminio apdorojimo protokolas:	CC1 32 minutės
Peroksidazė:	Pirminis peroksidazės inhibitorius
Pirminis antikūnas:	16 minučių, 36°C

Q serija – skirta Leica BOND-III:

ALI3099 skirtas naudoti su Leica BOND-III. Konkrečių naudojimo instrukcijų ieškokite vartotojo vadove. Rekomenduojami protokolo parametrai yra tokie:

Chromogeno dažymo parinktis	**DAB**	**Raudona**
Protokolo pavadinimas:	IHC protokolas F	IHC protokolas J
Aptikimas:	Klijavimo polimeras Rafine	Bond Polymer Refine Red
ČIA:	20 min su ER2	20 min su ER2
Peroksido blokas:	5 min	
Žymeklis (pirminis antikūnas):	15 min	15 min
Pagrindinis pranešimas:	8 min	
Polimeras:	8 min	
Paskelbti pagrindinį AP:		20 min
Polimeras AP:		30 min
Mišrus chromogeno valymas:	10 min	10 min + 5 min
Hematoksilinas:	5 min	5 min

Kokybės kontrolė:
Žr. CLSI Imunohistocheminių tyrimų projektavimo ir įgyvendinimo kokybės standartus; Patvirtintas gairių antrasis leidimas (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA JAV (www.clsi.org). 2011 m[8]

Teigiama audinių kontrolė: Melanoma
Išorinės teigiamos kontrolės medžiagos turi būti švieži mėginiai, užfiksuoti, apdoroti ir įterpti kuo greičiau tokiu pačiu būdu, kaip ir paciento mėginys (-iai). Teigiamas audinių kontrolė rodo tinkamai paruoštus audinius ir tinkamus dažymo būdus. Į kiekvieną dažymo eigą turėtų būti įtraukta viena teigiama išorinio audinio kontrolė kiekvienam tyrimo sąlygų rinkiniui.

Audiniai, naudojami išorinėms teigiamoms kontrolinėms medžiagoms, turėtų būti parenkami iš pacientų mėginių, kurių teigiamas tikslinis aktyvumas yra žemas, o tai suteikia silpną teigiamą dažymą. Žemas teigiamumo lygis išorinėms teigiamoms kontrolėms skirtas užtikrinti subtilių pirminių antikūnų jautrumo pokyčių, atsirandančių dėl nestabilumo arba problemų, susijusių su IHC metodika, aptikimą. Parduodamos audinių kontrolinės skaidrės arba mėginiai, apdoroti kitaip nei paciento mėginys (-iai), patvirtina tik reagento veikimą ir netikrina audinių paruošimo.

Žinomos teigiamos audinių kontrolės priemonės turėtų būti naudojamos tik norint stebėti tinkamą apdorotų audinių ir tiriamųjų reagentų veikimą, o ne kaip pagalbinė priemonė nustatant konkrečią paciento mėginių diagnozę. Jei teigiami audinių kontroliniai mėginiai neparodo teigiamo dažymosi, bandinių rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Neigiamų audinių kontrolė:
Naudokite neigiamą audinių kontrolę (žinoma *būti SOX10* neigiami) fiksuoti, apdoroti ir įterpti tokiu pačiu būdu kaip paciento mėginys (-iai) per kiekvieną dažymo eigą, siekiant patikrinti IHC pirminio antikūno specifiškumą. tikslinio antigeno demonstravimas ir specifinio fono dažymo požymis (klaidingai teigiamas dažymas). Be to, daugumoje audinių sekcijų gali būti įvairių tipų ląstelių Laboratorijos gali naudoti kaip vidines neigiamos kontrolės vietas, kad patikrintų IHC veikimą specifikacijas. Mėginių, kurie gali būti naudojami neigiamiems audiniams, tipai ir šaltiniai valdikliai išvardyti skyriuje Veikimo charakteristikos.

Jei neigiamų audinių kontrolėje atsiranda specifinis dažymas (klaidingai teigiamas dažymas), paciento mėginių rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Nespecifinė neigiamo reagento kontrolė:
Vietoj pirminio antikūno naudokite nespecifinio neigiamo reagento kontrolę su kiekvieno paciento mėginio dalimi, kad įvertintumėte nespecifinį dažymąsi ir
leidžia geriau interpretuoti specifinį dažymąsi antigeno vietoje. Idealiu atveju neigiamo reagento kontrolėje yra SOX10 IgG1 antikūnas, pagamintas iš audinių kultūros supernatanto taip pat, kaip ir pirminis antikūnas, bet neturi specifinio reaktyvumo su žmogaus audiniais toje pačioje matricoje / tirpale kaip ir Biocare antikūnas. Praskieskite neigiamą kontrolinį antikūną iki tokios pat imunoglobulino ar baltymo koncentracijos kaip ir praskiestas pirminis antikūnas naudojant identišką skiediklį. Jei po apdorojimo veršelio vaisiaus serumas lieka gryname antikūne, veršelio vaisiaus serume, kurio baltymų koncentracija lygi praskiestai Pirminis antikūnas tame pačiame skiediklyje taip pat tinkamas naudoti. (Žr. pateiktą reagentą). Vien tik skiediklis gali būti naudojamas kaip mažiau pageidautina anksčiau aprašytų neigiamų reagentų kontrolės alternatyva. Neigiamo reagento kontrolės inkubacinis laikotarpis turi atitikti pirminio antikūno inkubacinį laikotarpį.

Kai serijiniuose pjūviuose naudojamos kelių antikūnų plokštės, vieno stiklelio neigiamai nusidažiusios sritys gali būti neigiamos / nespecifinės kitų antikūnų surišimo fono kontrolė. Norint atskirti endogeninį fermentų aktyvumą arba nespecifinį fermentų prisijungimą nuo specifinio imunoreaktyvumo, papildomi paciento audiniai gali būti nudažyti tik atitinkamai substrato-chromogeno arba fermentų kompleksais (PAP, avidino-biotino, streptavidino) ir substrato-chromogenu.

Tyrimo patvirtinimas:
Prieš pradėdamas naudoti antikūną arba dažymo sistemą diagnostikos procedūroje, vartotojas turėtų patikrinti antikūno specifiškumą, išbandydamas jį su keletu vidinių audinių su žinomomis imunohistocheminėmis charakteristikomis, atitinkančiomis žinomus teigiamus ir neigiamus audinius. Žr. kokybės kontrolės procedūras, anksčiau aprašytas šiame gaminio informacinio lapelio skyriuje, ir BŽŪP sertifikavimo programos kokybės kontrolės rekomendacijas.[9] imunohistochemijai ir (arba) NCCLS IHC gairėms[10]). Šios kokybės kontrolės procedūros turi būti kartojamos kiekvienai naujai antikūnų partijai arba kiekvieną kartą, kai pasikeičia tyrimo parametrai. Veikimo charakteristikų skyriuje išvardyti audiniai yra tinkami tyrimo patikrinimui.

Problemų sprendimas:
Laikykitės specifinių antikūnų protokolo rekomendacijų pagal pateiktą duomenų lapą. Jei atsiranda netipinių rezultatų, susisiekite su Biocare technine pagalba telefonu 1-800-542-2002.

Dažymo aiškinimas:

Teigiama audinių kontrolė:
Pirmiausia reikia ištirti teigiamą audinių kontrolę, nudažytą nurodytu antikūnu, siekiant įsitikinti, kad visi reagentai veikia tinkamai. Tinkamas tikslinių ląstelių dažymas (kaip nurodyta aukščiau) rodo teigiamą reaktyvumą. Jei teigiami audinių kontroliniai mėginiai neparodo teigiamo dažymosi, visi bandinių rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Lithuanian

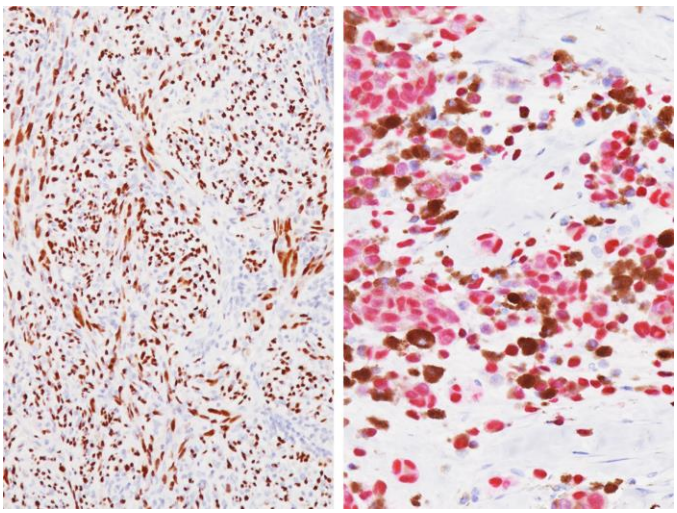
BIOCARE MEDICAL

Reakcijos produkto spalva gali skirtis priklausomai nuo naudojamų substrato chromogenų. Numatytas spalvų reakcijas žr. pagrindo pakuotės lapeliuose. Be to, metachromazija gali būti stebima dažymo metodo variantuose.[11]
Kai naudojamas kontrastinis dažymas, priklausomai nuo inkubacijos trukmės ir naudojamo priešinio dažymo stiprumo, priešdažymas sukels ląstelių branduolių spalvą. Pernelyg didelis arba neišsamus dažymas gali pakenkti tinkamam rezultatų interpretavimui. Žr. protokolą (-us) dėl rekomenduojamo priešdažo.

Neigiamų audinių kontrolė:
Neigiama audinių kontrolė turėtų būti ištirta po teigiamos audinių kontrolės, siekiant patikrinti tikslinio antigeno žymėjimo pirminiu antikūnu specifiškumą. Specifinio dažymo nebuvimas neigiamoje audinių kontrolėje patvirtina antikūnų kryžminio reaktyvumo su ląstelėmis / ląstelių komponentais nebuvimą. Jei neigiamo išorinio audinio kontrolėje atsiranda specifinis dažymas (klaidingai teigiamas dažymas), paciento mėginio rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Nespecifinis dažymas, jei yra, paprastai yra difuzinis. Sporadinis jungiamojo audinio dažymas taip pat gali būti stebimas pjūviuose iš pernelyg formalino fiksuotų audinių. Dažymo rezultatams interpretuoti naudokite nepažeistas ląsteles. Nekrotinės arba išsigimusios ląstelės dažnai nusidažo nespecifiškai.

Paciento audiniai:
Ištirkite paciento mėginius, nudažytus nurodytais antikūnais paskutinis. Teigiamas dažymo intensyvumas turėtų būti vertinamas atsižvelgiant į bet kokį nespecifinį neigiamo reagento kontrolės foninį dažymą. Kaip ir bet kurio imunohistocheminio tyrimo atveju, neigiamas rezultatas reiškia, kad antigenas nebuvo aptiktas, o ne tai, kad antigeno nebuvo tiriamose ląstelėse / audiniuose. Jei reikia, naudokite antikūnų grupę, kad nustatytumėte klaidingai neigiamas reakcijas.



(Kairėje) Verpstės ląstelių melanoma (DAB); (Dešinėje) Pigmentinė melanoma (greita raudona).

Konkrečios informacijos apie nurodytą antikūnų imunoreaktyvumą žr. Santrauka ir paaiškinimas, Apribojimai ir Veikimo charakteristikos.

Apribojimai:
Bendrieji apribojimai:
1. Dėl *in vitro* diagnostinis naudojimas
2. Šis gaminys skirtas tik profesionaliam naudojimui: Imunohistochemija yra daugiapakopis diagnostikos procesas, kurį sudaro specializuoti mokymai parinkti tinkamus reagentus; audinių parinkimas, fiksavimas ir apdorojimas; IHC stiklelio paruošimas; ir dažymo rezultatų interpretavimas.
3. Audinių dažymas priklauso nuo audinio tvarkymo ir apdorojimo prieš dažymą. Netinkamas fiksavimas, užšaldymas, atšildymas, plovimas, džiovinimas, kaitinimas, pjaustymas arba užteršimas kitais audiniais ar skysčiais gali sukelti artefaktus, antikūnų įstrigimą arba klaidingai neigiamus rezultatus. Nenuoseklūs rezultatai gali atsirasti dėl fiksavimo ir įterpimo metodų skirtumų arba dėl įgimtų audinių nelygumų.[12]
4. Pernelyg didelis arba neišsamus dažymas gali pakenkti tinkamam rezultatų interpretavimui.
5. Klinikinis bet kokio teigiamo ar neigiamo dažymo aiškinimas turi būti įvertintas atsižvelgiant į klinikinį vaizdą, morfologiją ir kitus histopatologinius kriterijus. Klinikinis bet kokio teigiamo ar neigiamo dažymo aiškinimas turėtų būti papildytas morfologiniais tyrimais, naudojant tinkamą teigiamą ir neigiamą vidinę ir išorinę kontrolę, taip pat kitus diagnostinius tyrimus. Kvalifikuotas patologas, susipažinęs su tinkamu IHC antikūnų, reagentų ir metodų naudojimu, yra atsakingas už visus veiksmus, naudojamus ruošiant ir interpretuojant galutinį IHC preparatą.
6. Optimalus antikūnų skiedimas ir protokolai konkrečiam naudojimui gali skirtis. Tai apima, bet tuo neapsiribojant, fiksavimą, šilumos atgavimo metodą, inkubacijos laiką, audinio pjūvio storį ir naudojamą aptikimo rinkinį. Dėl didesnio šių unikalių reagentų jautrumo išvardyti rekomenduojami inkubavimo laikai ir titrai netaikomi kitoms aptikimo sistemoms, nes rezultatai gali skirtis. Duomenų lapo rekomendacijos ir protokolai yra pagrįsti išskirtiniu Biocare produktų naudojimu. Galiausiai tyrėjas turi nustatyti optimalias sąlygas.
7. Šis produktas nėra skirtas naudoti srauto citometrijoje. Srauto citometrijos veikimo charakteristikos nenustatytos.
8. Asmenų, užsikrėtusių hepatito B virusu ir turinčių hepatito B paviršiaus antigeno (HBsAg), audiniai gali būti nespecifiniai krienų peroksidaze.[13]
9. Reagentai gali parodyti netikėtas reakcijas anksčiau nepatikrintuose audiniuose. Netikėtų reakcijų galimybės net tirtose audinių grupėse negali būti visiškai pašalintos dėl biologinio antigeno ekspresijos neoplazmų ar kitų patologinių audinių kintamumo.[14] Susisiekite su Biocare technine pagalba telefonu 1-800-542-2002 arba per techninės pagalbos informaciją, pateiktą biocare.net, ir pateikite dokumentuotą (-as) netikėtą (-as) reakciją (-as).
10. Normalūs/neimuniniai serumai iš to paties gyvūninio šaltinio kaip ir antriniai antiserumai, naudojami blokavimo etapuose, dėl autoantikūnų arba natūralių antikūnų gali sukelti klaidingai neigiamus arba klaidingai teigiamus rezultatus.
11. Klaidingai teigiami rezultatai gali būti matomi dėl neimunologinio baltymų ar substrato reakcijos produktų prisijungimo. Juos taip pat gali sukelti pseudoperoksidazės aktyvumas (eritrocitai), endogeninis peroksidazės aktyvumas (citochromas C) arba endogeninis biotinas (pvz., kepenys, krūtys, smegenys, inkstai), priklausomai nuo naudojamos imuninės dažų rūšies.[12]

Specifiniai gaminio apribojimai:
Konkrečių gaminio apribojimų nenurodyta.

Veikimo charakteristikos:
Jautrumas, specifiškumas ir kryžminis reaktyvumas apibendrinti atitinkamai 1 ir 2 lentelėse.

Imunoreaktyvumas:
Toliau pateikiami teigiami ir neigiami imunoreaktyvumai parodyti 1 ir 2 lentelėse.

Toliau pateiktas sąrašas nėra baigtinis, bet apibūdina imunoreaktyvumo tipus, pastebėtus naudojant nurodytą antikūną.

Analitinis našumas:
Buvo atlikti dažymo jautrumo ir specifiškumo testai, o rezultatai pateikti žemiau.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

IVD CE
TP v6 (11/02/2023)

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Lithuanian

BIOCARE MEDICAL

Jautrumas ir specifiškumas:

1 lentelė: Jautrumas ir specifiškumas buvo nustatyti tiriant formalinu fiksuotus, parafinu įterptus sergančius audinius.

Audinys	Teigiami atvejai	Iš viso atvejų
Melanoma (odos)	73	87 (83,9 %)
Metastazavusi melanoma	19	19 (100 %)
Verpstės ląstelių melanoma	28	29 (96,6 %)
Desmoplastinė melanoma	3	3 (100 %)
Desmoplastinės / verpstės ląstelių mišrios savybės	2	2 (100 %)
Epitelioidinė melanoma	2	2 (100 %)
Sarkomatoidinė melanoma	2	2 (100 %)
Plazmacitoidinė melanoma	2	2 (100 %)
Balioninių ląstelių melanoma	1	1 (100 %)
Rabdoidinė melanoma	20	20 (100 %)
Gerybinis nevus (įvairus)	28	28 (100 %)
Švanoma (neurilemma)	73	87 (83,9 %)

2 lentelė: Audinių kryžminis reaktyvumas buvo nustatytas tiriant formalinu fiksuotus, parafinu įterptus normalius audinius.

Audinys	Teigiami atvejai	Iš viso atvejų
Smegenėlės	4	6*
Smegenėlės	2	3*
Antinksčiai	0	3
Kiaušidės	0	3
Kasa	0	3
Skydliaukė	0	3
Prieskydinė liauka	0	3
Sėklidės	0	3
Kaulas	0	3
Blužnis	0	3
Tonzilė	0	3
Užkrūčio liauka	0	3
Kaulų čiulpai	0	3
Plaučiai	0	3
Širdis	0	3
Stemplė	0	3
Hipofizė	0	3
Krūtinė	2	3*
Skrandis	0	3
Plonoji žarna	0	3
Dvitaškis	0	3
Kepenys	0	3
Seilių liauka	2	3*
Inkstas	0	3
Prostata	0	3
Gimda	0	3
Gimdos kaklelis	0	3
Skeletinis raumuo	0	3
Oda	3	3*
Periferinis nervas	2	3*
Plaučiai	0	3
Gerklos	0	3
Šlapimo pūslė	0	3
Placenta	0	3
Mezotelis	0	3

*Smegenėlės ir smegenėlės: oligodendrocitai ir kai kurie astrocitai; krūtis: mioepitelinės ląstelės; seilių liaukos: mioepitelinės ląstelės; oda: melanocitai; periferinis nervas: Schwann ląstelės.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Problemų sprendimas:

1. Jokių stiklelių nesidažyta – Patikrinkite, ar buvo naudojami tinkami teigiami kontroliniai audiniai, antikūnai ir aptikimo produktai.
2. Silpnas visų stiklelių dažymas – Patikrinkite, ar buvo naudojami tinkami teigiami kontroliniai audiniai, antikūnai ir aptikimo produktai.
3. Per didelis visų skaidrių fonas – gali būti didelis endogeninio biotino kiekis (jei naudojami biotino pagrindu pagaminti aptikimo produktai), endogeninis HRP aktyvumas, paverčiantis chromogeną spalvotu galutiniu produktu (naudokite peroksidazės bloką) arba perteklinė nespecifinė baltymų sąveika (naudokite baltymą). blokuoti, pvz., serumo arba kazeino pagrindu pagamintą blokuojantį tirpalą).
4. Inkubacijos metu audinių sekcijos nuplaunamos nuo stiklelių – Patikrinkite stiklelius, kad įsitikintumėte, jog jie yra teigiamai įkrauti.
5. Specifinis dažymas per tamsus – Patikrinkite protokolą, kad nustatytumėte, ar ant stiklelio buvo pritaikytas tinkamas antikūnų titras, taip pat tinkamas visų reagentų inkubacijos laikas. Be to, įsitikinkite, kad protokole yra pakankamai plovimo etapų, kad pašalintumėte reagentų perteklių po inkubacijos etapų.

Nuorodos:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline antikūnus kuria tik Biocare Medical LLC ir tai nereiškia, kad Ventana Medical Systems, Inc. ar Roche patvirtino ar patvirtino Biocare antikūnus. „Biocare", „Ventana" ir „Roche" nėra jokiu būdu susijusios, nesusijusios ar susijusios. Ventana®, BenchMark®, ultraView ir OptiView yra Roche prekių ženklai.

Q serijos antikūnus sukūrė tik „Biocare Medical LLC" ir tai nereiškia, kad „Leica Biosystems" patvirtino ar patvirtino „Biocare" antikūnus. „Biocare" ir „Leica Biosystems" nėra jokiu būdu susijusios, nesusijusios ar susijusios. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX ir BOND-III yra Leica Biosystems prekių ženklai.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Norwegian

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Tiltenkt bruk:
Til *in vitro* Diagnostisk bruk
SOX10 (M) [BC34] er et muse monoklonalt antistoff som er beregnet for profesjonell laboratoriebruk etter at den første diagnosen av svulst er gjort ved konvensjonell histopatologi ved bruk av ikke-immunologiske histokjemiske farginger, i kvalitativ identifikasjon av SOX10 protein ved immunhistokjemi (IHC) i formalinfiksert parafininnstøpt (FFPE) humant vev. Den kliniske tolkningen av enhver farging eller fravær av den bør kompletteres med morfologiske studier med riktige kontroller og bør evalueres i sammenheng med pasientens kliniske historie og andre diagnostiske tester av en kvalifisert patolog som en hjelp til å foreta andre kliniske avgjørelser.

Sammendrag og forklaring:
Det transkripsjonsfaktor SRY-relaterte HMG-Box-genet 10 (SOX10) spiller en viktig rolle i nevrale kam, perifert nervesystem og melanocytisk celleutvikling.[15-17] SOX10 er mye uttrykt i normalt humant vev inkludert melanocytter og brystvev. SOX10 er også en viktig markør i ondartede svulster som melanom, brystkarsinom, gliomer og godartede svulster som schwannomer.[17-20] Enda viktigere, SOX10 har vist seg å komme til uttrykk i 97-100 % av desmoplastiske og spindelcelle melanomer og har også vist seg å komme til uttrykk i 100 % av nevi.[15] Spindelcelle og desmoplastiske melanomer er sjeldne varianter av invasiv hudmelanom, med en årlig forekomst på omtrent 2 per 100 000.[21] Flertallet av oligodendrogliomer og en stor prosentandel av astrocytom og dårlig differensierte glioblastomer har også vist seg å uttrykke SOX10.[17,19]

U.S. Patent 9 816 997 og patentsøknader.

Prosedyreprinsipp:
Dette antistoffproduktet kan brukes som det primære antistoffet i immunhistokjemitesting av formalinfikserte, parafininnstøpte vevssnitt. Generelt immunhistokjemisk (IHC) fargeteknikker tillater visualisering av antigener via sekvensiell påføring av en spesifikt antistoff mot antigenet (primært antistoff), et sekundært antistoff mot det primære antistoffet (valgfritt koblingsantistoff/probe), et enzymkompleks og et kromogent substrat med mellomliggende vasketrinn. Den enzymatiske aktiveringen av kromogenet resulterer i et synlig reaksjonsprodukt på antigenstedet. Prøven kan deretter motfarges og dekselet gli. Resultatene tolkes ved hjelp av et lys mikroskop og hjelp i differensialdiagnose av patofysiologiske prosesser, som kan eller kan ikke være assosiert med et bestemt antigen.

Materialer og metoder:

Reagenser som følger med:
Vertskilde: Mus monoklonal
Artsreaktivitet: Menneskelig; andre arter ikke testet.
Klone: BC34
Isotype: IgG1
Proteinkonsentrasjon: Kontakt Biocares tekniske støtte for spesifikk Ig-konsentrasjon.
Spesifisitet: SOX10
Mobil lokalisering: Kjernefysisk
Metode: Affinitetsrenset mus monoklonal.

Rekonstituering, blanding, fortynning, titrering:
Forhåndsfortynnet antistoffreagens er optimalt fortynnet for bruk med fargeplattformene nedenfor. Ytterligere fortynning kan føre til tap av antigenfarging. Brukeren må validere enhver slik endring. Forskjeller i vevsbehandling og tekniske prosedyrer i brukerens laboratorium kan gi betydelig variasjon i resultatene som krever regelmessig utførelse av interne kontroller (se avsnittet Kvalitetskontroll).
Konsentrert reagens krever fortynning som angitt i tabellen ovenfor.

Kjente applikasjoner:
Immunhistokjemi (formalinfiksert parafininnstøpt vev)

Leveres som:
Bufret saltoppløsning, pH 6,1–7,4, inneholder en proteinbærer og mindre enn 0,1 % natriumazidkonserveringsmiddel. Se sikkerhetsdatabladet for ytterligere detaljer.

Materialer og reagenser som trengs, men følger ikke med:
Mikroskopobjektglass positivt ladet.
Positive og negative vevskontroller
Desert Chamber (eller lignende tørkeovn)
Xylen eller xylenerstatning
Etanol eller reagens alkohol
Decloaking Chamber (trykkkoker)
Avionisert eller destillert vann
Vaskebuffer
Forbehandlingsreagenser
Peroksidase blokk
Proteinblokk (valgfritt)
Deteksjonssonde og polymer
Negative kontrollreagenser
Kromogener
Hematoxylin (motfarging)
Blånende reagens
Monteringsmedium
Dekkglass
Lysmikroskop (40-400X forstørrelse)
Automatisert Slide Staining Platform

Konfigurasjoner av antistoffproduktet er tilgjengelig for bruk på instrumentene som er angitt i tabellen ovenfor.

Lagring og stabilitet:
Oppbevares ved 2ºC til 8ºC. Produktet er stabilt til utløpsdatoen som er trykt på hetteglassetiketten, når det oppbevares under disse forholdene. Må ikke brukes etter utløpsdato. Oppbevaring under andre forhold enn de som er spesifisert, må verifiseres. Fortynnede reagenser bør brukes umiddelbart; oppbevar eventuell gjenværende reagens ved 2ºC til 8ºC. Stabiliteten til brukerfortynnet reagens er ikke fastslått av Biocare.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Norwegian

BIOCARE MEDICAL

Positive og negative kontroller bør kjøres samtidig med alle pasientprøver. Hvis det observeres uventet farging som ikke kan forklares av variasjoner i laboratorieprosedyrer og det er mistanke om et problem med antistoffet, kontakt Biocares tekniske støtte på 1-800-542-2002 eller via den tekniske støtteinformasjonen på biocare.net.

Prøveforberedelse:
Vev fikset i formalin er egnet for bruk før parafininnstøping. Ossøst vev bør avkalkes før vevsbehandling for å lette skjæring av vev og forhindre skade på mikrotombladene.[1,2]

Riktig fiksert og innebygd vev som uttrykker det spesifiserte antigenmålet, bør oppbevares på et kjølig sted. The Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) av 1988 krever i 42 CFR §493.1259(b) at "Laboratoriet må beholde fargede objektglass i minst ti år fra datoen for undersøkelse og oppbevar prøveblokker i minst to år fra eksamensdatoen."[3]

Behandling av vev før farging:
Utfør Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) i henhold til anbefalt protokoll nedenfor. Rutinemessig bruk av HIER før IHC har vist seg å minimere inkonsekvens og standardisere farging.[4,5]

Advarsel og forholdsregler:
1. Dette antistoffet inneholder mindre enn 0,1 % natriumazid. Konsentrasjoner mindre enn 0,1 % er ikke rapporterbare farlige materialer i henhold til U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication og EC-direktiv 91/155/EC. Natriumazid (NaN_3) brukt som konserveringsmiddel er giftig ved inntak. Natriumazid kan reagere med bly- og kobberrør og danne svært eksplosive metallazider. Ved avhending, skyll med store mengder vann for å forhindre oppbygging av azid i rørleggerarbeid. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)[6]
2. Prøver, før og etter fiksering, og alt materiale som eksponeres for dem, skal håndteres som om de er i stand til å overføre infeksjon og kastes med riktige forholdsregler. Pipetter aldri reagenser gjennom munnen og unngå kontakt med hud og slimhinner med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med sensitive områder, vask med rikelige mengder vann.[7]
3. Mikrobiell kontaminering av reagenser kan føre til en økning i uspesifikk farging.
4. Andre inkubasjonstider eller temperaturer enn de spesifiserte kan gi feilaktige resultater. Brukeren må validere enhver slik endring.
5. Ikke bruk reagens etter utløpsdatoen som er trykt på hetteglasset.
6. Forhåndsfortynnet antistoffreagens er optimalt fortynnet for bruk. Ytterligere fortynning kan føre til tap av antigenfarging.
7. Fortynning av konsentrert antistoffreagens må valideres før bruk. Eventuelle fortynningsmidler som ikke er spesifikt anbefalt, må også valideres for kompatibilitet og stabilitet.
8. Kast alle brukte reagenser og alle andre kontaminerte engangsmaterialer ved å følge prosedyrer for smittefarlig eller potensielt smittefarlig avfall. Det er hvert laboratoriums ansvar å håndtere fast og flytende avfall i henhold til deres natur og grad av farlighet og å behandle og deponere det (eller få det behandlet og deponert) i samsvar med gjeldende forskrifter.
9. Følg lokale forskrifter for avhending for ditt sted sammen med anbefalingene i sikkerhetsdatabladet for å fastslå sikker avhending av dette produktet
10. SDS er tilgjengelig på forespørsel og ligger på http://biocare.net.
11. For å rapportere mistenkte alvorlige hendelser relatert til denne enheten, kontakt den lokale Biocare-representanten og den kompetente myndigheten i medlemsstaten eller landet der brukeren er etablert.

Instruksjoner for bruk:
Anbefalte fargingsprotokoller for SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX og manuell bruk:

API3099 og IPI3099 for intelliPATH FLX og manuell bruk, er standardisert med MACH 4 deteksjonssystem. Bruk TBS for vasketrinn.	
Peroksidblokk:	Blokker for 5 minutter med Peroxidazed 1
Forbehandling:	Utfør varmehenting med Diva Decloaker. Se Diva Decloaker-databladet for spesifikke instruksjoner.
Proteinblokk (valgfritt):	Inkuber i 5-10 minutter ved RT med Background Punisher.
Primært antistoff:	Inkuber i 30 minutter ved romtemperatur.
Gjenkjenning:	Probe: Inkuber i 10 minutter ved romtemperatur med en sekundær probe.
	Polymer: Inkuber i 10-20 minutter ved romtemperatur med en tertiær polymer.
Kromogen:	Inkuber i 5 minutter ved RT med Biocares DAB -ELLER- Inkuber i 5-7 minutter ved RT med Warp Red.
Motfarge:	Motfarge med hematoxylin. Skyll med avionisert vann. Påfør Tacha's Blueing Solution i 1 minutt. Skyll med avionisert vann.
IPI3099 er beregnet for bruk med intelliPATH FLX. Se brukerhåndboken for spesifikke bruksanvisninger. Når du bruker intelliPATH FLX, kan peroksidblokkering med intelliPATH FLX Peroxidase Blocking Reagent (IPB5000) utføres etter varmehenting.	

ONCORE Pro Automated Slide Staining System:

OPAI3099 er beregnet for bruk med ONCORE Pro. Se brukerhåndboken for spesifikke bruksanvisninger. Protokollparametere i Protocol Editor bør programmeres som følger:		
Alternativ for kromogenfarging	**DAB**	**rød**
Protokollnavn:	SOX10	SOX10 APP
Protokollmal (beskrivelse):	Spesiell mal (ONCORE Pro-Tect-deteksjon kreves)	Ms AP-mal 1
Avvoksing (DS-bufferalternativ):	DS2-50	DS2-50
Antigenhenting (AR-alternativ):	AR1, høy pH; 103°C	AR1, høy pH; 103°C
Blokkeringsalternativ:	Buffer	Buffer
Reagensnavn, tid, temperatur:	SOX10, 59 min., 37°C	SOX10, 59 min., 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 er beregnet for bruk med BenchMark ULTRA. Se brukerhåndboken for spesifikke bruksanvisninger. Anbefalte protokollparametere er som følger:	
Mal/deteksjon:	ultraView DAB
Forbehandlingsprotokoll:	CC1 Standard
Peroksidase:	N/A
Primært antistoff:	32 minutter, 37°C
Mal/deteksjon:	OptiView DAB IHC
Forbehandlingsprotokoll:	CC1 32 minutter
Peroksidase:	Preprimær peroksidasehemmer

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Primært antistoff:	16 minutter, 36°C

Q-serien – For Leica BOND-III:

ALI3099 er beregnet for bruk med Leica BOND-III. Se brukerhåndboken for spesifikke bruksanvisninger. Anbefalte protokollparametere er som følger:		
Alternativ for kromogenfarging	**DAB**	**rød**
Protokollnavn:	IHC-protokoll F	IHC-protokoll J
Gjenkjenning:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Red
HER:	20 min med ER2	20 min med ER2
Peroksidblokk:	5 min	
Markør (primært antistoff):	15 min	15 min
Post Primær:	8 min	
Polymer:	8 min	
Post Primær AP:		20 min
Polymer AP:		30 min
Blandet kromogen raffiner:	10 min	10 min + 5 min
Hematoksylin:	5 min	5 min

Kvalitetskontroll:
Se CLSI kvalitetsstandarder for design og implementering av immunhistokjemianalyser; Godkjent guideline-andre utgave (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011[8]

Positiv vevskontroll: Melanom
Eksternt positivt kontrollmateriale bør være ferske prøver fiksert, behandlet og innebygd så snart som mulig på samme måte som pasientprøven(e). Positive vevskontroller er en indikasjon på korrekt forberedt vev og riktige fargeteknikker. Én positiv ekstern vevskontroll for hvert sett med testbetingelser bør inkluderes i hver farging.

Vevene som brukes til de eksterne positive kontrollmaterialene bør velges fra pasientprøver med godt karakteriserte lave nivåer av den positive målaktiviteten som gir svak positiv farging. Det lave nivået av positivitet for eksterne positive kontroller er designet for å sikre påvisning av subtile endringer i det primære antistoffølsomheten fra ustabilitet eller problemer med IHC-metodikken. Kommersielt tilgjengelige vevskontrollobjektglass eller prøver behandlet annerledes enn pasientprøven(e) validerer bare reagensytelsen og verifiserer ikke vevsforberedelse.

Kjente positive vevskontroller bør kun brukes for å overvåke korrekt ytelse av behandlet vev og testreagenser, i stedet for som en hjelp til å formulere en spesifikk diagnose av pasientprøver. Hvis de positive vevskontrollene ikke viser positiv farging, bør resultatene med testprøvene anses som ugyldige.

Negativ vevskontroll:
Bruk en negativ vevskontroll (kjent for *være SOX10* negativ) fiksert, behandlet og innebygd på en måte som er identisk med pasientprøven(e) med hver fargekjøring for å verifisere spesifisiteten til det primære IHC-antistoffet for demonstrasjon av målantigenet, og for å gi en indikasjon på spesifikk bakgrunnsfarging (falsk positiv farging). Også mangfoldet av forskjellige celletyper som finnes i de fleste vevssnitt kan brukes av laboratoriet som interne negative kontrollsteder for å verifisere IHCs ytelse spesifikasjoner. Typer og kilder til prøver som kan brukes for negativt vev kontrollene er oppført i delen Ytelseskarakteristikk.

Hvis spesifikk farging (falsk positiv farging) oppstår i den negative vevskontrollen, bør resultatene med pasientprøvene anses som ugyldige.

Uspesifikk negativ reagenskontroll:
Bruk en uspesifikk negativ reagenskontroll i stedet for det primære antistoffet med en del av hver pasientprøve for å evaluere uspesifikk farging og tillate bedre tolkning av spesifikk farging på antigenstedet. Ideelt sett inneholder en negativ reagenskontroll et SOX10 IgG1-antistoff produsert fra vevskultursupernatant på samme måte som det primære antistoffet, men viser ingen spesifikk reaktivitet med humant vev i samme matrise/løsning som Biocare antistoff. Fortynn et negativt kontrollantistoff mot samme immunglobulin- eller proteinkonsentrasjon som det fortynnede primære antistoff ved bruk av identisk fortynningsmiddel. Hvis føtalt kalveserum holdes tilbake i det rene antistoffet etter prosessering, føtalt kalveserum i en proteinkonsentrasjon som tilsvarer det fortynnede primært antistoff i samme fortynningsmiddel er også egnet for bruk. (Se medfølgende reagens). Fortynningsmiddel alene kan brukes som et mindre ønskelig alternativ til de tidligere beskrevne negative reagenskontrollene. Inkubasjonsperioden for den negative reagenskontrollen skal tilsvare inkubasjonsperioden for det primære antistoffet.

Når paneler med flere antistoffer brukes på seriesnitt, kan de negativt fargede områdene på ett objektglass tjene som en negativ/uspesifikk bindingsbakgrunnskontroll for andre antistoffer. For å skille endogen enzymaktivitet eller uspesifikk binding av enzymer fra spesifikk immunreaktivitet, kan ytterligere pasientvev farges utelukkende med henholdsvis substrat-kromogen eller enzymkomplekser (PAP, avidin-biotin, streptavidin) og substrat-kromogen.

Assaybekreftelse:
Før den første bruken av et antistoff eller fargesystem i en diagnostisk prosedyre, bør brukeren verifisere antistoffets spesifisitet ved å teste det på en serie internt vev med kjente immunhistokjemiske ytelsesegenskaper som representerer kjente positive og negative vev. Se kvalitetskontrollprosedyrene som er skissert tidligere i denne delen av produktvedlegget og til kvalitetskontrollanbefalingene til CAP-sertifiseringsprogrammet[9] for immunhistokjemi og/eller NCCLS IHC-retningslinjen[10]). Disse kvalitetskontrollprosedyrene bør gjentas for hvert nytt antistofflot, eller når det er en endring i analyseparametere. Vev oppført i avsnittet Ytelsesegenskaper er egnet for analyseverifisering.

Feilsøking:
Følg de antistoffspesifikke protokollanbefalingene i henhold til databladet som følger med. Hvis det oppstår atypiske resultater, kontakt Biocares tekniske støtte på 1-800-542-2002.

Tolkning av farging:

Positiv vevskontroll:
Den positive vevskontrollen farget med indikert antistoff bør undersøkes først for å sikre at alle reagenser fungerer som de skal. Den passende fargingen av målceller (som angitt ovenfor) indikerer positiv reaktivitet. Hvis de positive vevskontrollene ikke viser positiv farging, bør alle resultater med testprøvene anses som ugyldige.

Fargen på reaksjonsproduktet kan variere avhengig av substratkromogener som brukes. Se pakningsvedlegget til substratet for forventede fargereaksjoner. Videre kan metakromasi observeres i variasjoner av metoden for farging.[11]
Når en motfarging brukes, avhengig av inkubasjonslengden og styrken til motfargen som brukes, vil motfarging resultere i en farging av cellekjernene. Overdreven eller ufullstendig motfarging kan kompromittere riktig tolkning av resultatene. Se protokoll(er) for anbefalt motbeis.

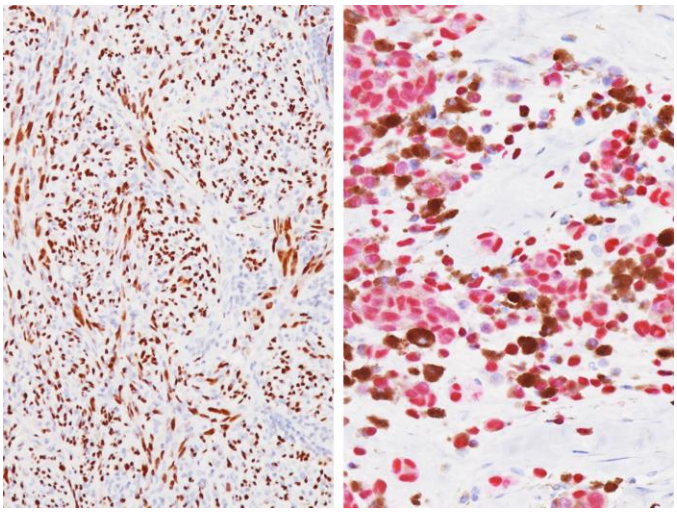
SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Norwegian

Negativ vevskontroll:
Den negative vevskontrollen bør undersøkes etter den positive vevskontrollen for å verifisere spesifisiteten til merkingen av målantigenet med det primære antistoffet. Fraværet av spesifikk farging i den negative vevskontrollen bekrefter mangelen på antistoffkryssreaktivitet til celler/cellekomponenter. Hvis spesifikk farging (falsk positiv farging) oppstår i den negative eksterne vevskontrollen, bør resultatene med pasientprøven anses som ugyldige.

Uspesifikk farging, hvis tilstede, har vanligvis et diffust utseende. Sporadisk farging av bindevev kan også observeres i snitt fra formalinfiksert vev. Bruk intakte celler for tolkning av fargeresultater. Nekrotiske eller degenererte celler farger ofte uspesifikt.

Pasientvev:
Undersøk pasientprøver farget med indikert antistoff siste. Positiv fargingsintensitet bør vurderes i sammenheng med enhver uspesifikk bakgrunnsfarging av den negative reagenskontrollen. Som med enhver immunhistokjemisk test betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet var fraværende i cellene/vevet som ble analysert. Om nødvendig, bruk et panel med antistoffer for å identifisere falske negative reaksjoner.



(Venstre) Spindelcelle melanom (DAB); (Høyre) Pigmentert melanom (rask rødt).

Se sammendrag og forklaring, begrensninger og ytelsesegenskaper for spesifikk informasjon om indikert antistoffimmunreaktivitet.

Begrensninger:

Generelle begrensninger:
1. Til *in vitro* diagnostisk bruk
2. Dette produktet er kun for profesjonell bruk: Immunhistokjemi er en flertrinns diagnostisk prosess som består av spesialisert opplæring i valg av passende reagenser; vevseleksjon, fiksering og prosessering; klargjøring av IHC-glasset; og tolkning av fargeresultatene.
3. Vevsfarging er avhengig av håndtering og bearbeiding av vevet før farging. Feil fiksering, frysing, tining, vasking, tørking, oppvarming, seksjonering eller kontaminering med andre vev eller væsker kan produsere artefakter, antistofffanger eller falske negative resultater. Inkonsekvente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstøpingsmetoder, eller iboende uregelmessigheter i vevet.[12]
4. Overdreven eller ufullstendig motfarging kan kompromittere riktig tolkning av resultatene.
5. Den kliniske tolkningen av enhver positiv eller negativ farging bør evalueres i sammenheng med klinisk presentasjon, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Den kliniske tolkningen av enhver positiv eller negativ farging bør kompletteres med morfologiske studier som bruker riktige positive og negative interne og eksterne kontroller samt andre diagnostiske tester. Det er ansvaret til en kvalifisert patolog som er kjent med riktig bruk av IHC-antistoffer, reagenser og metoder for å tolke alle trinnene som brukes til å forberede og tolke det endelige IHC-preparatet.
6. Den optimale antistofffortynningen og protokollene for en spesifikk applikasjon kan variere. Disse inkluderer, men er ikke begrenset til, fiksering, varmehentingsmetode, inkubasjonstider, vevssnitttykkelse og deteksjonssett som brukes. På grunn av den overlegne sensitiviteten til disse unike reagensene, er de anbefalte inkubasjonstidene og titrene som er oppført ikke gjeldende for andre deteksjonssystemer, da resultatene kan variere. Databladanbefalingene og protokollene er basert på eksklusiv bruk av Biocare-produkter. Til syvende og sist er det etterforskerens ansvar å bestemme optimale forhold.
7. Dette produktet er ikke beregnet for bruk i flowcytometri. Ytelseskarakteristikker er ikke bestemt for flowcytometri.
8. Vev fra personer infisert med hepatitt B-virus og som inneholder hepatitt B-overflateantigen (HBsAg) kan vise uspesifikk farging med pepperrotperoksidase.[1, 3]
9. Reagenser kan vise uventede reaksjoner i tidligere ikke-testet vev. Muligheten for uventede reaksjoner selv i testede vevsgrupper kan ikke elimineres fullstendig på grunn av biologisk variasjon av antigenekspresjon i neoplasmer eller annet patologisk vev.[14] Kontakt Biocares tekniske støtte på 1-800-542-2002, eller via den tekniske støtteinformasjonen gitt på biocare.net, med dokumenterte uventede reaksjoner.
10. Normale/ikke-immune sera fra samme dyrekilde som sekundære antisera brukt i blokkeringstrinn kan forårsake falskt negative eller falskt positive resultater på grunn av autoantistoffer eller naturlige antistoffer.
11. Falsk-positive resultater kan sees på grunn av ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter. De kan også være forårsaket av pseudoperoksidaseaktivitet (erytrocytter), endogen peroksidaseaktivitet (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) avhengig av typen immunfarging som brukes.[12]

Produktspesifikke begrensninger:
Ingen produktspesifikke begrensninger notert.

Ytelsesegenskaper:
Sensitivitet, spesifisitet og kryssreaktivitet er oppsummert i henholdsvis tabell 1 og 2.

Immunreaktivitet:
Følgende positive og negative immunreaktiviteter er vist i tabell 1 og 2 nedenfor.

Listen nedenfor er ikke uttømmende, men karakteriserer typene immunreaktiviteter observert med det angitte antistoffet.

Analytisk ytelse:
Fargetester for sensitivitet og spesifisitet ble utført, og resultatene er oppført nedenfor.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE
TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Sensitivitet og spesifisitet:

Tabell 1: Sensitivitet og spesifisitet ble bestemt ved å teste formalinfiksert, parafininnstøpt sykt vev.

Vev	Positive tilfeller	Totalt antall saker
Melanom (hud)	73	87 (83,9 %)
Metastatisk melanom	19	19 (100 %)
Spindelcelle melanom	28	29 (96,6 %)
Desmoplastisk melanom	3	3 (100 %)
Blandede funksjoner av desmoplast/spindelcelle	2	2 (100 %)
Epiteloid melanom	2	2 (100 %)
Sarcomatoid melanom	2	2 (100 %)
Plasmacytoid melanom	2	2 (100 %)
Ballongcelle melanom	1	1 (100 %)
Rhabdoid melanom	20	20 (100 %)
Godartet Nevus (forskjellig)	28	28 (100 %)
Schwannom (neurilemmom)	73	87 (83,9 %)

Tabell 2: Vevskryssreaktivitet ble bestemt ved å teste formalinfiksert, parafininnstøpt normalt vev.

Vev	Positive saker	Totalt antall saker
Cerebrum	4	6*
Lillehjernen	2	3*
Binyrene	0	3
Eggstokk	0	3
Bukspyttkjertelen	0	3
Skjoldbruskkjertelen	0	3
Parathyroid	0	3
Testis	0	3
Bein	0	3
Milt	0	3
Mandel	0	3
Thymus	0	3
Beinmarg	0	3
Lunge	0	3
Hjerte	0	3
Spiserøret	0	3
Hypofysen	0	3
Bryst	2	3*
Mage	0	3
Tynntarm	0	3
Kolon	0	3
Lever	0	3
Spyttkjertel	2	3*
Nyre	0	3
Prostata	0	3
Livmor	0	3
Livmor livmorhalsen	0	3
Skjelettmuskulatur	0	3
Hud	3	3*
Perifer nerve	2	3*
Lunge	0	3
Larynx	0	3
Blære	0	3
Placenta	0	3
Mesothelium	0	3

*Cerebrum og cerebellum: oligodendrocytter og noen astrocytter; bryst: myoepitelceller; spyttkjertel: myoepitelceller; hud: melanocytter; perifer nerve: Schwann-celler.

Feilsøking:

1. Ingen farging av noen objektglass – Kontroller for å fastslå at det er brukt passende positivt kontrollvev, antistoff og deteksjonsprodukter.
2. Svak farging av alle objektglass – Kontroller for å fastslå at det er brukt passende positivt kontrollvev, antistoff og deteksjonsprodukter.
3. Overdreven bakgrunn av alle lysbildene - Det kan være høye nivåer av endogent biotin (hvis du bruker biotinbaserte deteksjonsprodukter), endogen HRP-aktivitet som konverterer kromogen til farget sluttprodukt (bruk peroksidaseblokk), eller overflødig ikke-spesifikk proteininteraksjon (bruk et protein blokk, for eksempel serum- eller kaseinbasert blokkeringsløsning).
4. Vevsseksjoner vasker av objektglass under inkubering – Sjekk objektglassene for å sikre at de er positivt ladet.
5. Spesifikk farging for mørk – Sjekk protokollen for å finne ut om riktig antistofftiter ble brukt på objektglasset, samt riktige inkubasjonstider for alle reagenser. Sørg i tillegg for at protokollen har nok vasketrinn til å fjerne overflødig reagens etter at inkubasjonstrinnene er fullført.

Referanser:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline-antistoffer utvikles utelukkende av Biocare Medical LLC og innebærer ikke godkjenning eller godkjenning av Biocare-antistoffer av Ventana Medical Systems, Inc eller Roche. Biocare, Ventana og Roche er ikke tilknyttet, assosiert eller relatert på noen måte. Ventana®, BenchMark®, ultraView og OptiView er varemerker for Roche.

Antistoffer i Q-serien er utviklet utelukkende av Biocare Medical LLC og innebærer ikke godkjenning eller godkjenning av Biocare-antistoffer fra Leica Biosystems. Biocare og Leica Biosystems er ikke tilknyttet, assosiert eller relatert på noen måte. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX og BOND-III er varemerker for Leica Biosystems.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE
TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Polish

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Przeznaczenie:
Dla *in vitro* Zastosowanie diagnostyczne
SOX10 (M) [BC34] to mysie przeciwciało monoklonalne przeznaczone do profesjonalnego użytku laboratoryjnego po postawieniu wstępnej diagnozy nowotworu za pomocą konwencjonalnej histopatologii przy użyciu nieimmunologicznych barwień histochemicznych, w jakościowej identyfikacji SOX10 białka metodą immunohistochemiczną (IHC) w utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie (FFPE) tkankach ludzkich. Kliniczną interpretację jakiegokolwiek zabarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi z zastosowaniem odpowiednich kontroli i należy ją ocenić w kontekście historii klinicznej pacjenta i innych badań diagnostycznych przez wykwalifikowanego patologa, jako pomoc w dokonaniu wszelkich innych ustaleń klinicznych.

Podsumowanie i wyjaśnienie:
Gen HMG-Box 10 (SOX10) związany z czynnikiem transkrypcyjnym SRY odgrywa ważną rolę w rozwoju grzebienia nerwowego, obwodowego układu nerwowego i komórek melanocytowych.[15-17] SOX10 ulega szerokiej ekspresji w normalnych tkankach ludzkich, w tym w melanocytach i tkance piersi. SOX10 jest także ważnym markerem nowotworów złośliwych, takich jak czerniak, rak piersi, glejaki i nowotwory łagodne, takie jak nerwiaki.[17-20] Co ważniejsze, wykazano, że SOX10 ulega ekspresji w 97-100% czerniaków desmoplastycznych i wrzecionowatych, a także wykazano, że ulega ekspresji w 100% znamion.[15] Czerniak wrzecionowatokomórkowy i czerniak desmoplastyczny to rzadkie odmiany inwazyjnego czerniaka skóry, z roczną częstością występowania około 2 na 100 000 osób.[21] Wykazano również, że większość skąpodrzewiaków i duży odsetek gwiaździaków oraz słabo zróżnicowanych glejaków wielopostaciowych wykazuje ekspresję SOX10.[17,19]

Patent USA 9,816,997 i patenty w toku.

Zasada postępowania:
Ten produkt będący przeciwciałem może być stosowany jako przeciwciało pierwotne w badaniach immunohistochemicznych skrawków tkankowych utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie. Ogólnie rzecz biorąc, immunohistochemiczne (IHC) techniki barwienia pozwalają na wizualizację antygenów poprzez sekwencyjne nakładanie a swoiste przeciwciało przeciwko antygenowi (przeciwciało pierwotne), przeciwciało wtórne przeciwko przeciwciału pierwotnemu (opcjonalnie przeciwciało łączące/sonda), kompleks enzymatyczny i substrat chromogenny z nałożonymi na siebie etapami przemywania. Enzymatyczna aktywacja chromogenu powoduje powstanie widocznego produktu reakcji w miejscu antygenu. Próbkę można następnie wybarwić kontrastowo i nałożyć nakładkę. Wyniki interpretuje się za pomocą światła mikroskopu i pomoc w diagnostyce różnicowej procesów patofizjologicznych, które mogą lub mogą nie być powiązane z konkretnym antygenem.

Materiały i metody:

Dostarczone odczynniki:
Źródło hosta: Mysz monoklonalna
Reaktywność gatunku: Człowiek; inne gatunki nie testowane.
Klon: BC34
Izotyp: IgG1
Stężenie białka: Skontaktuj się z pomocą techniczną firmy Biocare, aby uzyskać szczegółowe informacje na temat stężenia Ig.
Specyficzność: SOX10
Lokalizacja komórkowa: Jądrowy
Metoda: Mysie monoklonalne oczyszczone za pomocą powinowactwa.

Rekonstytucja, mieszanie, rozcieńczanie, miareczkowanie:
Wstępnie rozcieńczony odczynnik przeciwciał jest optymalnie rozcieńczony do użycia z poniższymi platformami barwienia. Dalsze rozcieńczanie może spowodować utratę barwienia antygenu. Użytkownik musi zatwierdzić każdą taką zmianę. Różnice w przetwarzaniu tkanek i procedurach technicznych w laboratorium użytkownika mogą powodować znaczną zmienność wyników, wymagającą regularnego przeprowadzania wewnętrznych kontroli (patrz sekcja Kontrola jakości).
Skoncentrowany odczynnik wymaga rozcieńczenia zgodnie z tabelą powyżej.

Znane zastosowania:
Immunohistochemia (tkanki utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie)

Dostarczane jako:
Buforowany roztwór soli fizjologicznej, pH 6,1 – 7,4, zawierający nośnik białkowy i mniej niż 0,1% azydku sodu jako środka konserwującego. Dodatkowe szczegóły znajdują się w Karcie Charakterystyki.

Materiały i odczynniki potrzebne, ale niedostarczane:
Szkiełka mikroskopowe naładowane dodatnio.
Pozytywne i negatywne kontrole tkanek
Komora pustynna (lub podobna Suszarka)
Ksylen lub substytut ksylenu
Etanol lub alkohol odczynnikowy
Komora odkrywania (szybwar)
Woda dejonizowana lub destylowana
Bufor płuczący
Odczynniki do obróbki wstępnej
Blok peroksydazy
Blok białkowy (opcjonalnie)
Sonda detekcyjna i polimer
Odczynniki do kontroli negatywnej
Chromogeny
Hematoksylina (kontrabarwnik)
Odczynnik niebieszczący
Środek montażowy
Szklana pokrywa
Mikroskop świetlny (powiększenie 40-400X)
Zautomatyzowana platforma do barwienia preparatów

Dostępne są konfiguracje produktu będącego przeciwciałem do stosowania w instrumentach wskazanych w powyższej tabeli.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Polish

Przechowywanie i stabilność:
Przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C. Produkt jest stabilny do daty ważności podanej na etykiecie fiolki, jeśli jest przechowywany w tych warunkach. Nie stosować po upływie terminu ważności. Należy zweryfikować przechowywanie w warunkach innych niż określone. Rozcieńczone odczynniki należy natychmiast zużyć; przechowywać pozostały odczynnik w temperaturze od 2°C do 8°C. Stabilność odczynnika rozcieńczonego przez użytkownika nie została ustalona przez firmę Biocare.

Kontrole dodatnie i ujemne należy oznaczyć jednocześnie ze wszystkimi próbkami od pacjentów. W przypadku zaobserwowania nieoczekiwanego zabarwienia, którego nie można wytłumaczyć zmianami w procedurach laboratoryjnych, i jeśli podejrzewa się problem z przeciwciałem, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002 lub za pośrednictwem informacji pomocy technicznej dostępnych na stronie biocare.net.

Przygotowanie próbki:
Chusteczki utrwalone w formalinie nadają się do użycia przed zatapianiem w parafinie. Tkanki kostne należy odwapnić przed obróbką tkanki, aby ułatwić przecięcie tkanki i zapobiec uszkodzeniu ostrzy mikrotomu.[1,2]

Prawidłowo utrwalone i zatopione tkanki wyrażające określony docelowy antygen należy przechowywać w chłodnym miejscu. Ustawa o doskonaleniu laboratoriów klinicznych (CLIA) z 1988 r. wymaga 42 CFR §493.1259(b), że „Laboratorium musi przechowywać wybarwione preparaty przez co najmniej dziesięć lat od daty badania i przechowuje bloki próbek przez co najmniej dwa lata od daty badania."[3]

Obróbka tkanek przed barwieniem:
Wykonaj indukowane ciepłem pobieranie epitopów (HIER) zgodnie z zalecanym protokołem poniżej. Wykazano, że rutynowe stosowanie HIER przed IHC minimalizuje niespójności i standaryzuje barwienie.[4,5]

Ostrzeżenia i środki ostrożności:
1. To przeciwciało zawiera mniej niż 0,1% azydku sodu. Stężenia mniejsze niż 0,1% nie są materiałami niebezpiecznymi podlegającymi zgłoszeniu zgodnie z US 29 CFR 1910.1200, komunikatem OSHA dotyczącym zagrożeń i dyrektywą WE 91/155/WE. Azydek sodu (NaN_3) stosowany jako środek konserwujący jest toksyczny w przypadku spożycia. Azydek sodu może reagować z ołowiem i miedzią, tworząc wysoce wybuchowe azydki metali. Po usunięciu przepłukać dużą ilością wody, aby zapobiec gromadzeniu się azydku w instalacjach wodno-kanalizacyjnych. (Centrum Kontroli Chorób, 1976, Państwowy Instytut Bezpieczeństwa i Higieny Pracy, 1976)[6]
2. Z próbkami przed i po utrwaleniu oraz ze wszystkimi materiałami, które miały z nimi kontakt, należy postępować tak, jakby mogły przenosić infekcję, i usuwać je z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności. Nigdy nie pipetować odczynników ustami i unikać kontaktu odczynników i próbek ze skórą i błonami śluzowymi. Jeżeli odczynniki lub próbki wejdą w kontakt z wrażliwymi miejscami, należy je przemyć dużą ilością wody.[7]
3. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne odczynników może skutkować zwiększeniem nieswoistego barwienia.
4. Czasy inkubacji lub temperatury inne niż podane mogą dawać błędne wyniki. Użytkownik musi zatwierdzić każdą taką zmianę.
5. Nie używać odczynnika po upływie daty ważności wydrukowanej na fiolce.
6. Wstępnie rozcieńczony odczynnik przeciwciał jest optymalnie rozcieńczony do użycia. Dalsze rozcieńczanie może spowodować utratę barwienia antygenu.
7. Przed użyciem należy sprawdzić rozcieńczenie stężonego odczynnika zawierającego przeciwciała. Każdy zastosowany rozcieńczalnik, który nie jest szczególnie zalecany, również musi zostać sprawdzony pod kątem kompatybilności i stabilności.
8. Wszystkie zużyte odczynniki i inne zanieczyszczone materiały jednorazowe należy utylizować zgodnie z procedurami postępowania z odpadami zakaźnymi lub potencjalnie zakaźnymi. Każde laboratorium ma obowiązek postępować z odpadami stałymi i płynnymi zgodnie z ich charakterem i stopniem niebezpieczeństwa oraz za ich przetwarzanie i utylizację (lub zlecanie ich przetworzenia i utylizacji) zgodnie z obowiązującymi przepisami.
9. Postępuj zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi utylizacji obowiązującymi w Twojej lokalizacji oraz zaleceniami zawartymi w Karcie Charakterystyki, aby określić bezpieczną utylizację tego produktu
10. Karta charakterystyki jest dostępna na żądanie i znajduje się pod adresem http://biocare.net.
11. Aby zgłosić podejrzenie poważnych incydentów związanych z tym urządzeniem, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Biocare oraz właściwym organem Państwa członkowskiego lub kraju, w którym użytkownik ma siedzibę.

Instrukcja użycia:
Zalecane protokoły barwienia dla SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX i użycie ręczne:

API3099 i IPI3099 dla intelliPATH FLX i użytku ręcznego zostały ustandaryzowane za pomocą MACH 4 system detekcji. Do mycia należy używać TBS.	
Blok nadtlenkowy:	Zablokuj dla 5 minut z Peroksydacją 1
Obróbka wstępna:	Wykonaj odzyskiwanie ciepła za pomocą Diva Decloaker. Szczegółowe instrukcje można znaleźć w arkuszu danych Diva Decloaker.
Blok białkowy (opcjonalnie):	Inkubować przez 5-10 minut w temperaturze pokojowej z programem Tło Punisher.
Przeciwciało pierwotne:	Inkubować przez 30 minut w temperaturze pokojowej.
Wykrycie:	Sonda: Inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej z sondą dodatkową.
	Polimer: Inkubować przez 10-20 minut w temperaturze pokojowej z polimerem trzeciorzędowym.
Chromogen:	Inkubować przez 5 minut w temperaturze pokojowej z DAB firmy Biocare -OR- Inkubować przez 5-7 minut w temperaturze pokojowej z Warp Red.
Kontrast:	Barwienie kontrastowe hematoksyliną. Spłucz wodą dejonizowaną. Zastosuj roztwór Bluing Solution firmy Tacha na 1 minutę. Spłucz wodą dejonizowaną.
IPI3099 jest przeznaczony do użytku z intelliPATH FLX. Szczegółowe instrukcje dotyczące użytkowania można znaleźć w instrukcji obsługi. W przypadku stosowania intelliPATH FLX blokowanie nadtlenkowe za pomocą odczynnika blokującego peroksydazę intelliPATH FLX (IPB5000) można przeprowadzić po odzyskaniu ciepła.	

Zautomatyzowany system barwienia preparatów ONCORE Pro:

OPAI3099 jest przeznaczony do użytku z ONCORE Pro. Szczegółowe instrukcje dotyczące użytkowania można znaleźć w instrukcji obsługi. Parametry protokołu w Edytorze protokołów należy zaprogramować w następujący sposób:		
Opcja barwienia chromogenowego	**ZIMNICA**	**Czerwony**
Nazwa protokołu:	SOX10	Aplikacja SOX10
Szablon protokołu (opis):	Szablon specjalny (wymagane wykrywanie ONCORE Pro-Tect)	Pani AP Szablon 1
Odwoskowanie (opcja bufora DS):	DS2-50	DS2-50

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Pobieranie antygenu (opcja AR):	AR1, wysokie pH; 103°C	AR1, wysokie pH; 103°C
Opcja bloku:	Bufor	Bufor
Nazwa odczynnika, czas, temperatura:	SOX10, 59 minut, 37°C	SOX10, 59 minut, 37°C

Test porównawczy Ventana ULTRA:

AVI3099 jest przeznaczony do użytku z BenchMark ULTRA. Szczegółowe instrukcje dotyczące użytkowania można znaleźć w instrukcji obsługi. Zalecane parametry protokołu są następujące:	
Szablon/wykrywanie:	UltraView DAB
Protokół obróbki wstępnej:	Norma CC1
Peroksydaza:	Nie dotyczy
Przeciwciało pierwotne:	32 minuty, 37°C
Szablon/wykrywanie:	OptiView DAB IHC
Protokół obróbki wstępnej:	CC1 32 minuty
Peroksydaza:	Przedpierwotny inhibitor peroksydazy
Przeciwciało pierwotne:	16 minut, 36°C

Seria Q – dla Leica BOND-III:

ALI3099 jest przeznaczony do użytku z Leica BOND-III. Szczegółowe instrukcje dotyczące użytkowania można znaleźć w instrukcji obsługi. Zalecane parametry protokołu są następujące:		
Opcja barwienia chromogenowego	**ZIMNICA**	**Czerwony**
Nazwa protokołu:	Protokół IHC F	Protokół IHC J
Wykrycie:	Wiązanie polimeru Udoskonalenie	Bond Polymer Uszlachetnij czerwień
TUTAJ:	20 minut z ER2	20 minut z ER2
Blok nadtlenkowy:	5 minut	
Marker (przeciwciało pierwotne):	15 minut	15 minut
Post główny:	8 minut	
Polimer:	8 minut	
Po głównym AP:		20 minut
Polimer AP:		30 minut
Mieszany chromogen Rafinacja:	10 minut	10 minut + 5 minut
Hematoksylina:	5 minut	5 minut

Kontrola jakości:
Patrz Standardy jakości CLSI dotyczące projektowania i wdrażania testów immunohistochemicznych; Zatwierdzone wytyczne – wydanie drugie (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA, USA (www.clsi.org). 2011[8]

Pozytywna kontrola tkanek: Czerniak
Zewnętrzne materiały kontroli dodatniej powinny składać się ze świeżych próbek, utrwalonych, przetworzonych i osadzonych tak szybko, jak to możliwe, w taki sam sposób, jak próbki pacjenta. Pozytywne kontrole tkanek wskazują na prawidłowo przygotowane tkanki i odpowiednie techniki barwienia. Do każdego cyklu barwienia należy włączyć jedną pozytywną zewnętrzną kontrolę tkanek dla każdego zestawu warunków testowych.

Tkanki stosowane w materiałach zewnętrznej kontroli pozytywnej należy wybierać spośród próbek pacjentów o dobrze scharakteryzowanym niskim poziomie dodatniej aktywności docelowej, która powoduje słabe dodatnie barwienie. Niski poziom dodatniości zewnętrznych kontroli pozytywnych ma na celu zapewnienie wykrycia subtelnych zmian we wrażliwości przeciwciał pierwotnych wynikających z niestabilności lub problemów z metodologią IHC. Dostępne w handlu szkiełka do kontroli tkanek lub próbki przetworzone inaczej niż próbki pacjenta potwierdzają jedynie działanie odczynnika i nie weryfikują przygotowania tkanki.
Znane pozytywne kontrole tkankowe należy wykorzystywać wyłącznie do monitorowania prawidłowego działania przetworzonych tkanek i odczynników testowych, a nie jako pomoc w formułowaniu konkretnej diagnozy próbek od pacjentów. Jeżeli dodatnie kontrole tkankowe nie wykażą dodatniego barwienia, wyniki uzyskane dla próbek testowych należy uznać za nieważne.

Negatywna kontrola tkankowa:
Użyj negatywnej kontroli tkankowej (znanej z *być SOX10* negatywne) utrwalone, przetworzone i zatopione w sposób identyczny jak próbki pacjenta przy każdym barwieniu w celu sprawdzenia specyficzności przeciwciała pierwotnego IHC dla demonstracja docelowego antygenu i dostarczenie wskazania specyficznego barwienia tła (barwienie fałszywie dodatnie). Również różnorodność różnych typów komórek obecnych w większości skrawków tkanek może to powodować być wykorzystywane przez laboratorium jako wewnętrzne miejsca kontroli negatywnej w celu sprawdzenia działania IHC specyfikacje. Rodzaje i źródła próbek, które można wykorzystać do badania tkanek ujemnych elementy sterujące są wymienione w sekcji Charakterystyka wydajności.

Jeżeli w negatywnej kontroli tkankowej wystąpi specyficzne zabarwienie (fałszywie dodatnie zabarwienie), wyniki uzyskane na próbkach pacjentów należy uznać za nieważne.

Nieswoista kontrola ujemna odczynnika:
Do wycinka każdej próbki pacjenta należy zastosować nieswoistą kontrolę ujemną z odczynnikiem zamiast przeciwciała pierwotnego w celu oceny nieswoistego barwienia i
pozwalają na lepszą interpretację specyficznego barwienia w miejscu antygenu. W idealnym przypadku kontrola ujemna odczynnika zawiera przeciwciało IgG1 SOX10 IgG1 wytworzone z supernatantu hodowli tkankowej w taki sam sposób jak przeciwciało pierwotne, ale nie wykazuje żadnej specyficznej reaktywności z tkankami ludzkimi w tej samej matrycy/roztworze co Przeciwciało Biocare. Rozcieńczyć przeciwciało stanowiące kontrolę ujemną do takiego samego stężenia immunoglobuliny lub białka jak rozcieńczone przeciwciało pierwotne przeciwciało przy użyciu identycznego rozcieńczalnika. Jeżeli po przetworzeniu w czystym przeciwciele pozostaje płodowa surowica cielęca, płodowa surowica cielęca o stężeniu białka równoważnym rozcieńczeniu Odpowiednie do użycia jest również przeciwciało pierwszorzędowe w tym samym rozcieńczalniku. (Patrz dostarczony odczynnik). Można zastosować sam rozcieńczalnik jako mniej pożądaną alternatywę dla opisanych wcześniej kontroli ujemnych z odczynnikami. Okres inkubacji kontroli ujemnej odczynnika powinien odpowiadać okresowi inkubacji przeciwciała pierwszorzędowego.

Jeżeli w skrawkach seryjnych stosuje się panele kilku przeciwciał, obszary jednego szkiełka barwiące się negatywnie mogą służyć jako ujemna/nieswoiście wiążąca kontrola tła dla innych przeciwciał. Aby odróżnić endogenną aktywność enzymatyczną lub nieswoiste wiązanie enzymów od swoistej immunoreaktywności, dodatkowe tkanki pacjenta można wybarwić wyłącznie odpowiednio substratem-chromogenem lub kompleksami enzymatycznymi (PAP, awidyna-biotyna, streptawidyna) i substrat-chromogen.

Weryfikacja testu:
Przed pierwszym użyciem przeciwciała lub systemu barwienia w procedurze diagnostycznej użytkownik powinien zweryfikować specyficzność przeciwciała, testując je na szeregu własnych tkanek o znanej charakterystyce działania immunohistochemicznego, reprezentujących znane tkanki dodatnie i ujemne. Należy zapoznać się z procedurami kontroli jakości opisanymi wcześniej w tej części ulotki produktu oraz z zaleceniami dotyczącymi kontroli jakości Programu certyfikacji CAP[9] do immunohistochemii i/lub wytyczne NCCLS IHC[10]). Te procedury kontroli

jakości należy powtarzać dla każdej nowej partii przeciwciał lub za każdym razem, gdy nastąpi zmiana parametrów testu. Tkanki wymienione w sekcji Charakterystyka działania nadają się do weryfikacji testu.

Rozwiązywanie problemów:
Postępuj zgodnie z zaleceniami protokołu dotyczącymi specyficznych przeciwciał, zgodnie z dostarczoną kartą charakterystyki. W przypadku wystąpienia nietypowych wyników należy skontaktować się z pomocą techniczną firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002.

Interpretacja barwienia:

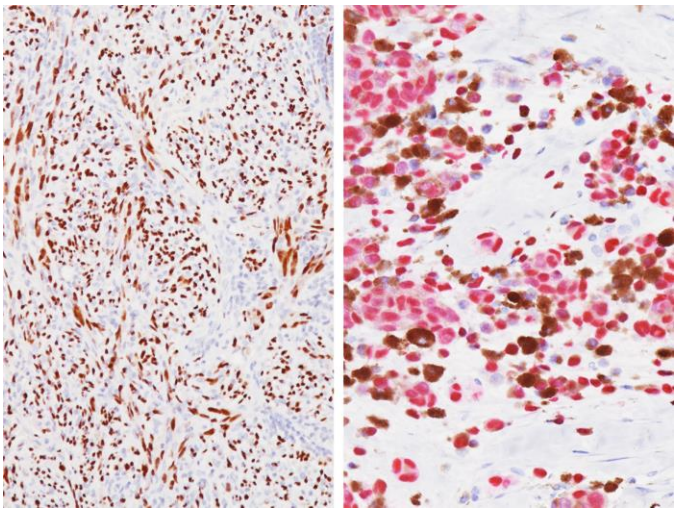
Pozytywna kontrola tkanek:
Najpierw należy zbadać pozytywną kontrolę tkankową barwioną wskazanym przeciwciałem, aby upewnić się, że wszystkie odczynniki działają prawidłowo. Odpowiednie barwienie komórek docelowych (jak wskazano powyżej) wskazuje na pozytywną reaktywność. Jeżeli dodatnie kontrole tkanek nie wykażą dodatniego barwienia, wszelkie wyniki uzyskane dla próbek testowych należy uznać za nieważne.

Kolor produktu reakcji może się różnić w zależności od użytego chromogenu substratu. Informacje na temat oczekiwanych reakcji kolorystycznych można znaleźć w ulotkach dołączonych do podłoża. Ponadto metachromazję można zaobserwować w odmianach metody barwienia.[11]
W przypadku stosowania barwnika kontrastowego, w zależności od długości inkubacji i siły użytego barwnika kontrastowego, barwienie kontrastowe spowoduje zabarwienie jąder komórkowych. Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastowe może zakłócić prawidłową interpretację wyników. Zalecane barwienie kontrastowe znajduje się w protokołach.

Negatywna kontrola tkanek:
Negatywną kontrolę tkankową należy zbadać po pozytywnej kontroli tkankowej, aby zweryfikować specyficzność znakowania docelowego antygenu przez przeciwciało pierwszorzędowe. Brak swoistego barwienia w negatywnej kontroli tkankowej potwierdza brak reaktywności krzyżowej przeciwciał w stosunku do komórek/składników komórkowych. Jeżeli w ujemnej zewnętrznej kontroli tkanek wystąpi specyficzne zabarwienie (fałszywie dodatnie zabarwienie), wyniki uzyskane dla próbki pacjenta należy uznać za nieważne.

Niespecyficzne zabarwienie, jeśli występuje, zwykle ma rozproszony wygląd. Sporadyczne zabarwienie tkanki łącznej można również zaobserwować w skrawkach tkanek nadmiernie utrwalonych w formalinie. Do interpretacji wyników barwienia należy używać nienaruszonych komórek. Komórki martwicze lub zdegenerowane często barwią się nieswoiście.

Tkanka pacjenta:
Zbadaj próbki pacjentów wybarwione wskazanymi przeciwciałami ostatni. Intensywność barwienia dodatniego należy oceniać w kontekście wszelkich nieswoistych barwień tła kontroli negatywnej z odczynnikiem. Podobnie jak w przypadku każdego testu immunohistochemicznego, wynik ujemny oznacza, że antygen nie został wykryty, a nie, że antygen był nieobecny w testowanych komórkach/tkance. Jeśli to konieczne, użyj panelu przeciwciał w celu zidentyfikowania reakcji fałszywie ujemnych.



(Po lewej) Czerniak wrzecionowokomórkowy (DAB); (Po prawej) Czerniak barwnikowy (szybka czerwień).

Aby uzyskać szczegółowe informacje dotyczące wskazanej immunoreaktywności przeciwciał, patrz Podsumowanie i wyjaśnienia, ograniczenia i charakterystyka działania.

Ograniczenia:

Ogólne ograniczenia:
1. Dla *in vitro* zastosowanie diagnostyczne
2. Ten produkt jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego: Immunohistochemia to wieloetapowy proces diagnostyczny, który obejmuje specjalistyczne szkolenie w zakresie doboru odpowiednich odczynników; wybór tkanki, utrwalanie i przetwarzanie; przygotowanie szkiełka IHC; i interpretację wyników barwienia.
3. Barwienie tkanek zależy od sposobu postępowania z tkanką i jej obróbki przed barwieniem. Niewłaściwe utrwalanie, zamrażanie, rozmrażanie, mycie, suszenie, podgrzewanie, dzielenie na skrawki lub zanieczyszczenie innymi tkankami lub płynami może spowodować artefakty, uwięzienie przeciwciał lub wyniki fałszywie ujemne. Niespójne wyniki mogą wynikać z różnic w metodach utrwalania i osadzania lub z nieodłącznych nieprawidłowości w tkance.[12]
4. Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastowe może zakłócić prawidłową interpretację wyników.
5. Kliniczną interpretację każdego dodatniego lub ujemnego zabarwienia należy ocenić w kontekście obrazu klinicznego, morfologii i innych kryteriów histopatologicznych. Kliniczną interpretację każdego dodatniego lub ujemnego zabarwienia należy uzupełnić badaniami morfologicznymi z zastosowaniem odpowiednich dodatnich i ujemnych kontroli wewnętrznych i zewnętrznych, a także innych testów diagnostycznych. Za interpretację wszystkich etapów przygotowania i interpretacji końcowego preparatu IHC odpowiada wykwalifikowany patolog, który jest zaznajomiony z właściwym użyciem przeciwciał IHC, odczynników i metod.
6. Optymalne rozcieńczenie przeciwciał i protokoły dla konkretnego zastosowania mogą się różnić. Należą do nich między innymi utrwalanie, metoda odzyskiwania ciepła, czasy inkubacji, grubość skrawków tkanki i zastosowany zestaw do detekcji. Ze względu na wyjątkową czułość tych unikalnych odczynników, podane zalecane czasy inkubacji i miana nie mają zastosowania do innych systemów detekcji, ponieważ wyniki mogą się różnić. Zalecenia i protokoły zawarte w arkuszach danych opierają się na wyłącznym stosowaniu produktów Biocare. Ostatecznie zadaniem badacza jest określenie optymalnych warunków.

7. Ten produkt nie jest przeznaczony do stosowania w cytometrii przepływowej. Charakterystyki działania nie zostały określone dla cytometrii przepływowej.
8. Tkanki osób zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu B i zawierające antygen powierzchniowy wirusa zapalenia wątroby typu B (HBsAg) mogą wykazywać niespecyficzne barwienie peroksydazą chrzanową.[13]
9. Odczynniki mogą wykazywać nieoczekiwane reakcje w wcześniej nietestowanych tkankach. Nie można całkowicie wyeliminować możliwości wystąpienia nieoczekiwanych reakcji nawet w badanych grupach tkanek ze względu na biologiczną zmienność ekspresji antygenów w nowotworach lub innych tkankach patologicznych.[14] Skontaktuj się z pomocą techniczną firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002 lub za pośrednictwem informacji pomocy technicznej dostępnych na stronie biocare.net, podając udokumentowane nieoczekiwane reakcje.
10. Surowice normalne/nieimmunologiczne pochodzące z tego samego źródła zwierzęcego, co surowice wtórne stosowane na etapach blokowania, mogą dawać wyniki fałszywie ujemne lub fałszywie dodatnie ze względu na obecność autoprzeciwciał lub przeciwciał naturalnych.
11. Wyniki fałszywie dodatnie mogą wystąpić w wyniku nieimmunologicznego wiązania białek lub produktów reakcji substratu. Mogą być również spowodowane aktywnością pseudoperoksydazy (erytrocyty), endogenną aktywnością peroksydazy (cytochrom C) lub endogenną biotyną (np. wątroba, pierś, mózg, nerki), w zależności od rodzaju użytego barwnika immunologicznego.[12]

Ograniczenia specyficzne dla produktu:
Nie zanotowano żadnych ograniczeń specyficznych dla produktu.

Charakterystyka wydajności:
Czułość, swoistość i reaktywność krzyżową podsumowano odpowiednio w Tabelach 1 i 2.

Immunoreaktywność:
W Tabelach 1 i 2 poniżej wykazano następujące dodatnie i ujemne immunoreaktywności.

Poniższa lista nie jest wyczerpująca, ale charakteryzuje rodzaje reakcji immunologicznych obserwowanych w przypadku wskazanego przeciwciała.

Wydajność analityczna:
Przeprowadzono testy barwienia pod kątem czułości i swoistości, a wyniki wymieniono poniżej.

Czułość i swoistość:

Tabela 1: Czułość i swoistość określono poprzez badanie utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie chorych tkanek.

Tkanka	Pozytywne przypadki	Całkowita liczba przypadków
Czerniak (skórny)	73	87 (83,9%)
Czerniak z przerzutami	19	19 (100%)
Czerniak wrzecionowatokomórkowy	28	29 (96,6%)
Czerniak desmoplastyczny	3	3 (100%)
Mieszane cechy komórek desmoplastycznych i wrzecionowych	2	2 (100%)
Czerniak nabłonkowy	2	2 (100%)
Czerniak sarkomatoidalny	2	2 (100%)
Czerniak plazmocytoidalny	2	2 (100%)
Czerniak balonowokomórkowy	1	1 (100%)
Czerniak rabdoidalny	20	20 (100%)
Łagodny znamię (różne)	28	28 (100%)
Schwannoma (nerwiak)	73	87 (83,9%)

Tabela 2: Reaktywność krzyżową tkanek określono poprzez badanie normalnych tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie.

Tkanka	Pozytywne przypadki	Całkowita liczba przypadków
Mózg	4	6*
Móżdżek	2	3*
Nadnerkowy	0	3
Jajnik	0	3
Trzustka	0	3
Tarczyca	0	3
Przytarczyca	0	3
Jądro	0	3
Kość	0	3
Śledziona	0	3
Migdałek	0	3
Grasica	0	3
Szpik kostny	0	3
Płuco	0	3
Serce	0	3
Przełyk	0	3
Przysadka mózgowa	0	3
Pierś	2	3*
Żołądek	0	3
Jelito cienkie	0	3
Okrężnica	0	3
Wątroba	0	3
Gruczoł ślinowy	2	3*
Nerka	0	3
Prostata	0	3
Macica	0	3
Szyjka macicy	0	3
Mięśnie szkieletowe	0	3
Skóra	3	3*
Nerw obwodowy	2	3*
Płuco	0	3
Krtań	0	3
Pęcherz moczowy	0	3
Łożysko	0	3
Międzybłonek	0	3

*Mózg i móżdżek: oligodendrocyty i niektóre astrocyty; pierś: komórki mioepitelialne; gruczoł ślinowy: komórki mioepitelialne; skóra: melanocyty; nerw obwodowy: komórki Schwanna.

Rozwiązywanie problemów:

1. Brak barwienia jakichkolwiek szkiełek – sprawdzić, czy użyto odpowiedniej tkanki kontroli pozytywnej, przeciwciał i produktów do wykrywania.
2. Słabe barwienie wszystkich preparatów – sprawdzić, czy użyto odpowiedniej tkanki kontroli pozytywnej, przeciwciał i produktów do wykrywania.
3. Nadmierne tło wszystkich preparatów – Może występować wysoki poziom endogennej biotyny (w przypadku stosowania produktów do wykrywania na bazie biotyny), endogenna aktywność HRP przekształcająca chromogen w kolorowy produkt końcowy (użyj bloku peroksydazy) lub nadmierne niespecyficzne interakcje białek (użyj białka bloker, taki jak roztwór blokujący na bazie surowicy lub kazeiny).
4. Skrawki tkanek zmywają szkiełka podczas inkubacji – Sprawdź szkiełka, aby upewnić się, że są naładowane dodatnio.
5. Specyficzne barwienie jest zbyt ciemne – Sprawdź protokół, aby ustalić, czy do szkiełka nałożono właściwe miano przeciwciał, a także czy określono właściwy czas inkubacji dla wszystkich odczynników. Ponadto należy upewnić się, że protokół zawiera wystarczającą liczbę etapów płukania, aby usunąć nadmiar odczynników po zakończeniu etapów inkubacji.

Bibliografia:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Przeciwciała Ultraline są opracowywane wyłącznie przez Biocare Medical LLC i nie oznaczają zatwierdzenia ani poparcia przeciwciał Biocare przez Ventana Medical Systems, Inc lub Roche. Biocare, Ventana i Roche nie są w żaden sposób powiązane, stowarzyszone ani powiązane. Ventana®, BenchMark®, ultraView i OptiView są znakami towarowymi firmy Roche.

Przeciwciała serii Q zostały opracowane wyłącznie przez Biocare Medical LLC i nie oznaczają zatwierdzenia ani poparcia przeciwciał Biocare przez Leica Biosystems. Firmy Biocare i Leica Biosystems nie są w żaden sposób powiązane, stowarzyszone ani powiązane. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX i BOND-III są znakami towarowymi firmy Leica Biosystems.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Portuguese

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Uso pretendido:
Para *em vitro* Uso de diagnóstico
SOX10 (M) [BC34] é um anticorpo monoclonal de camundongo destinado ao uso laboratorial profissional após o diagnóstico inicial do tumor ter sido feito por histopatologia convencional usando colorações histoquímicas não imunológicas, na identificação qualitativa de SOX10 proteína por imuno-histoquímica (IHC) em tecidos humanos fixados em formalina e embebidos em parafina (FFPE). A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos utilizando controlos adequados e deve ser avaliada no contexto da história clínica do paciente e de outros testes de diagnóstico por um patologista qualificado como auxílio na realização de quaisquer outras determinações clínicas.

Resumo e explicação:
O gene HMG-Box 10 (SOX10) relacionado ao fator de transcrição SRY desempenha um papel importante na crista neural, no sistema nervoso periférico e no desenvolvimento de células melanocíticas.[15-17] SOX10 é amplamente expresso em tecidos humanos normais, incluindo melanócitos e tecido mamário. SOX10 também é um marcador importante em tumores malignos, como melanoma, carcinoma de mama, gliomas e tumores benignos, como schwannomas.[17-20] Mais importante ainda, foi demonstrado que o SOX10 é expresso em 97-100% dos melanomas desmoplásicos e de células fusiformes e também foi demonstrado que é expresso em 100% dos nevos.[15] Os melanomas fusiformes e desmoplásicos são variantes raras do melanoma cutâneo invasivo, com uma taxa de incidência anual de aproximadamente 2 por 100.000.[21] A maioria dos oligodendrogliomas e uma grande porcentagem de astrocitomas e glioblastomas pouco diferenciados também demonstraram expressar SOX10.[17,19]

Patente dos EUA 9.816.997 e patentes pendentes.

Princípio do Procedimento:
Este produto de anticorpo pode ser usado como anticorpo primário em testes imuno-histoquímicos de secções de tecido fixadas em formalina e embebidas em parafina. Em geral, imuno-histoquímica (IHQ) técnicas de coloração permitem a visualização de antígenos através da aplicação sequencial de um anticorpo específico para o antígeno (anticorpo primário), um anticorpo secundário para o anticorpo primário (ligação anticorpo/sonda opcional), um complexo enzimático e um substrato cromogênico com etapas de lavagem interpostas. A ativação enzimática do cromogênio resulta em um produto de reação visível no local do antígeno. A amostra pode então ser contrastada e lamínula. Os resultados são interpretados usando uma luz microscópio e auxiliar no diagnóstico diferencial de processos fisiopatológicos, que podem ou pode não estar associado a um antígeno específico.

Materiais e métodos:

Reagentes fornecidos:
Fonte do host: Rato monoclonal
Reatividade da espécie: Humano; outras espécies não testadas.
Clone: AC34
Isótipo: IgG1
Concentração de Proteína: Contate o Suporte Técnico da Biocare para obter informações sobre concentração de Ig específica.
Especificidade: SOX10
Localização Celular: Nuclear
Método: Monoclonal de camundongo purificado por afinidade.

Reconstituição, mistura, diluição, titulação:
O reagente de anticorpo pré-diluído é diluído de forma ideal para utilização com as plataformas de coloração abaixo. Uma diluição adicional pode resultar na perda da coloração do antigénio. O usuário deve validar qualquer alteração desse tipo. As diferenças no processamento de tecidos e nos procedimentos técnicos no laboratório do utilizador podem produzir uma variabilidade significativa nos resultados, necessitando da realização regular de controlos internos (ver secção Controlo de Qualidade).
O reagente concentrado requer diluição conforme indicado na tabela acima.

Aplicações conhecidas:
Imunohistoquímica (tecidos fixados em formalina e embebidos em parafina)

Fornecido como:
Solução salina tamponada, pH 6,1 - 7,4, contendo um transportador de proteína e menos de 0,1% de conservante azida sódica. Consulte a Ficha de Dados de Segurança para obter detalhes adicionais.

Materiais e reagentes necessários, mas não fornecidos:
Lâminas de microscópio carregadas positivamente.
Controles de tecido positivos e negativos
Câmara do Deserto (ou forno de secagem semelhante)
Xileno ou substituto de xileno
Etanol ou álcool reagente
Câmara de descamuflagem (panela de pressão)
Água deionizada ou destilada
Tampão de lavagem
Reagentes de pré-tratamento
Bloqueio de peroxidase
Bloco de proteína (opcional)
Sonda de detecção e polímero
Reagentes de controle negativo
Cromógenos
Hematoxilina (contracorante)
Reagente azul
Meio de montagem
Tampa de vidro
Microscópio óptico (ampliação de 40-400X)
Plataforma automatizada de coloração de lâminas

As configurações do produto de anticorpo estão disponíveis para utilização nos instrumentos indicados na tabela acima.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Portuguese

Armazenamento e estabilidade:
Conservar entre 2ºC a 8ºC. O produto é estável até o prazo de validade impresso no rótulo do frasco, quando armazenado nessas condições. Não use após a data de validade. O armazenamento sob qualquer condição diferente das especificadas deve ser verificado. Os reagentes diluídos devem ser usados imediatamente; armazenar qualquer reagente restante entre 2ºC e 8ºC. A estabilidade do reagente diluído pelo utilizador não foi estabelecida pela Biocare.

Os controlos positivos e negativos devem ser analisados simultaneamente com todas as amostras dos pacientes. Se for observada coloração inesperada que não pode ser explicada por variações nos procedimentos laboratoriais e houver suspeita de um problema com o anticorpo, entre em contato com o Suporte Técnico da Biocare pelo telefone 1-800-542-2002 ou através das informações de suporte técnico fornecidas em biocare.net.

Preparação de amostras:
Os tecidos fixados em formalina são adequados para utilização antes da inclusão em parafina. Os tecidos ósseos devem ser descalcificados antes do processamento do tecido para facilitar o corte do tecido e evitar danos às lâminas do micrótomo.[1,2]

Os tecidos devidamente fixados e embebidos que expressam o antígeno alvo especificado devem ser armazenados em local fresco. A Lei de Melhoria de Laboratórios Clínicos (CLIA) de 1988 exige em 42 CFR §493.1259(b) que "O laboratório deve reter as lâminas coradas por pelo menos dez anos a partir da data de exame e reter blocos de amostras por pelo menos dois anos a partir da data do exame."[3]

Tratamento de tecidos antes da coloração:
Execute a recuperação de epítopos induzida por calor (HIER) de acordo com o protocolo recomendado abaixo. Foi demonstrado que o uso rotineiro de HIER antes da IHC minimiza a inconsistência e padroniza a coloração.[4,5]

Aviso e Precauções:
1. Este anticorpo contém menos de 0,1% de azida de sódio. Concentrações inferiores a 0,1% não são materiais perigosos reportáveis de acordo com U.S. 29 CFR 1910.1200, comunicação de perigo OSHA e Diretiva CE 91/155/EC. Azida de sódio (NaN_3) usado como conservante é tóxico se ingerido. A azida de sódio pode reagir com encanamentos de chumbo e cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Após o descarte, lave com grandes volumes de água para evitar o acúmulo de azida no encanamento. (Centro de Controle de Doenças, 1976, Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional, 1976)[6]
2. As amostras, antes e depois da fixação, e todos os materiais a elas expostos devem ser manuseados como se fossem capazes de transmitir infecções e eliminados com as devidas precauções. Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contacto da pele e das membranas mucosas com reagentes e amostras. Se os reagentes ou as amostras entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave com água em abundância.[7]
3. A contaminação microbiana dos reagentes pode resultar num aumento de coloração inespecífica.
4. Tempos de incubação ou temperaturas diferentes dos especificados podem dar resultados errados. O usuário deve validar qualquer alteração desse tipo.
5. Não utilize o reagente após o prazo de validade impresso no frasco.
6. O reagente de anticorpo pré-diluído é diluído de forma ideal para utilização. Uma diluição adicional pode resultar na perda da coloração do antigénio.
7. A diluição do reagente de anticorpo concentrado deve ser validada antes da utilização. Qualquer diluente utilizado que não seja especificamente recomendado também deve ser validado quanto à compatibilidade e estabilidade.
8. Descarte todos os reagentes usados e quaisquer outros materiais descartáveis contaminados seguindo os procedimentos para resíduos infecciosos ou potencialmente infecciosos. É responsabilidade de cada laboratório manusear os resíduos sólidos e líquidos de acordo com a sua natureza e grau de perigosidade e tratá-los e descartá-los (ou fazer com que sejam tratados e eliminados) de acordo com quaisquer regulamentos aplicáveis.
9. Siga os regulamentos de descarte locais para sua localização, juntamente com as recomendações da Ficha de Dados de Segurança para determinar o descarte seguro deste produto.
10. A FDS está disponível mediante solicitação e está localizada em http://biocare.net.
11. Para comunicar suspeitas de incidentes graves relacionados com este dispositivo, contacte o representante local da Biocare e a autoridade competente do Estado-Membro ou país onde o utilizador está estabelecido.

Instruções de uso:
Protocolos de coloração recomendados para SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX e uso manual:

API3099 e IPI3099 para intelliPATH FLX e uso manual, foram padronizados com MACH 4 sistema de detecção. Use TBS para etapas de lavagem.	
Bloco de peróxido:	Bloquear para 5 minutos com Peroxidado 1
Pré-tratamento:	Execute a recuperação de calor usando Diva Decloaker. Consulte a folha de dados do Diva Decloaker para obter instruções específicas.
Bloco de Proteína (Opcional):	Incubar por 5-10 minutos em temperatura ambiente com Punisher de fundo.
Anticorpo Primário:	Incubar por 30 minutos em temperatura ambiente.
Detecção:	Sonda: Incubar durante 10 minutos à temperatura ambiente com uma sonda secundária.
	Polímero: Incubar durante 10-20 minutos à temperatura ambiente com um polímero terciário.
Cromógeno:	Incubar durante 5 minutos à temperatura ambiente com DAB da Biocare -OU- Incubar durante 5-7 minutos à temperatura ambiente com Warp Red.
Contracoloração:	Contracoloração com hematoxilina. Enxágüe com água deionizada. Aplique a solução Bluing da Tacha por 1 minuto. Enxágüe com água deionizada.
O IPI3099 deve ser usado com o intelliPATH FLX. Consulte o Manual do Usuário para obter instruções específicas de uso. Ao usar o intelliPATH FLX, o bloqueio de peróxido com o reagente bloqueador de peroxidase intelliPATH FLX (IPB5000) pode ser realizado após a recuperação de calor.	

Sistema automatizado de coloração de lâminas ONCORE Pro:

OPAI3099 deve ser usado com o ONCORE Pro. Consulte o Manual do Usuário para obter instruções específicas de uso. Os parâmetros do protocolo no Editor de protocolo devem ser programados da seguinte forma:		
Opção de coloração com cromogênio	**DAB**	**Vermelho**
Nome do protocolo:	SOX10	APLICATIVO SOX10
Modelo de protocolo (descrição):	Modelo especial (detecção ONCORE Pro-Tect necessária)	Sra. AP Modelo 1
Desparafinação (opção DS Buffer):	DS2-50	DS2-50

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Recuperação de antígeno (opção AR):	AR1, pH elevado; 103°C	AR1, pH elevado; 103°C
Opção de bloqueio:	Amortecedor	Amortecedor
Nome do reagente, hora, temperatura:	SOX10, 59 min., 37°C	SOX10, 59 min., 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 destina-se ao uso com o BenchMark ULTRA. Consulte o Manual do Usuário para obter instruções específicas de uso. Os parâmetros de protocolo recomendados são os seguintes:	
Modelo/Detecção:	ultraView DAB
Protocolo de pré-tratamento:	Padrão CC1
Peroxidase:	N / D
Anticorpo Primário:	32 minutos, 37°C
Modelo/Detecção:	OptiView DAB IHC
Protocolo de pré-tratamento:	CC1 32 minutos
Peroxidase:	Inibidor pré-primário da peroxidase
Anticorpo Primário:	16 minutos, 36°C

Série Q – Para Leica BOND-III:

ALI3099 deve ser usado com o Leica BOND-III. Consulte o Manual do Usuário para obter instruções específicas de uso. Os parâmetros de protocolo recomendados são os seguintes:		
Opção de coloração com cromogênio	**DAB**	**Vermelho**
Nome do protocolo:	Protocolo IHC F	Protocolo IHC J
Detecção:	Refinamento de polímero de ligação	Bond Polímero Refinar Vermelho
AQUI:	20 minutos com ER2	20 minutos com ER2
Bloco de peróxido:	5 minutos	
Marcador (anticorpo primário):	15 minutos	15 minutos
Pós-primária:	8 minutos	
Polímero:	8 minutos	
AP pós-primário:		20 minutos
Polímero AP:		30 minutos
Refinamento de cromogênio misto:	10 minutos	10 minutos + 5 minutos
Hematoxilina:	5 minutos	5 minutos

Controle de qualidade:
Consulte os Padrões de Qualidade CLSI para Projeto e Implementação de Ensaios Imunohistoquímicos; Diretriz Aprovada – Segunda edição (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA EUA (www.clsi.org). 2011[8]

Controle Positivo de Tecidos: Melanoma
Os materiais de controle positivo externo devem ser amostras frescas fixadas, processadas e incorporadas o mais rápido possível, da mesma maneira que a(s) amostra(s) do paciente. Os controlos teciduais positivos são indicativos de tecidos correctamente preparados e de técnicas de coloração adequadas. Deve ser incluído em cada execução de coloração um controlo tecidual externo positivo para cada conjunto de condições de teste.

Os tecidos utilizados para os materiais de controlo positivo externo devem ser seleccionados a partir de amostras de pacientes com baixos níveis bem caracterizados de actividade alvo positiva que originam uma coloração positiva fraca. O baixo nível de positividade para controles positivos externos foi projetado para garantir a detecção de alterações sutis na sensibilidade do anticorpo primário devido à instabilidade ou problemas com a metodologia IHC. As lâminas de controlo de tecidos disponíveis comercialmente ou as amostras processadas de forma diferente da(s) amostra(s) do paciente validam apenas o desempenho dos reagentes e não verificam a preparação do tecido.

Os controlos teciduais positivos conhecidos só devem ser utilizados para monitorizar o desempenho correcto dos tecidos processados e dos reagentes de teste, e não como auxílio na formulação de um diagnóstico específico de amostras de pacientes. Se os controlos teciduais positivos não demonstrarem coloração positiva, os resultados com as amostras de teste deverão ser considerados inválidos.

Controle Negativo de Tecidos:
Use um controle tecidual negativo (conhecido por *ser SOX10* negativo) fixado, processado e incorporado de maneira idêntica à(s) amostra(s) do paciente em cada execução de coloração para verificar a especificidade do anticorpo primário IHC para demonstração do antígeno alvo e para fornecer uma indicação de coloração de fundo específica (coloração falso positivo). Além disso, a variedade de diferentes tipos de células presentes na maioria das secções de tecido pode ser usados pelo laboratório como locais de controle negativo interno para verificar o desempenho do IHC especificações. Os tipos e fontes de amostras que podem ser usadas para tecido negativo os controles estão listados na seção Características de desempenho.

Se ocorrer coloração específica (coloração falsa positiva) no controlo negativo do tecido, os resultados com as amostras do paciente deverão ser considerados inválidos.

Controle de reagente negativo inespecífico:
Use um controle de reagente negativo inespecífico no lugar do anticorpo primário com uma seção de cada amostra do paciente para avaliar coloração inespecífica e
permitem uma melhor interpretação da coloração específica no local do antígeno. Idealmente, um controle de reagente negativo contém um anticorpo IgG1 SOX10 produzido a partir do sobrenadante da cultura de tecidos da mesma forma que o anticorpo primário, mas não exibe reatividade específica com tecidos humanos na mesma matriz/solução que o anticorpo primário. Anticorpo Biocare. Diluir um anticorpo de controle negativo na mesma concentração de imunoglobulina ou proteína que o primário diluído anticorpo usando o diluente idêntico. Se o soro fetal de vitelo for retido no anticorpo puro após o processamento, o soro fetal de vitelo numa concentração de proteína equivalente ao diluído anticorpo primário no mesmo diluente também é adequado para uso. (Consulte o reagente fornecido). O diluente sozinho pode ser utilizado como uma alternativa menos desejável aos controlos de reagentes negativos descritos anteriormente. O período de incubação do reagente de controlo negativo deve corresponder ao do anticorpo primário.

Quando são utilizados painéis de vários anticorpos em secções em série, as áreas de coloração negativa de uma lâmina podem servir como controlo de fundo de ligação negativo/inespecífico para outros anticorpos. Para diferenciar a atividade enzimática endógena ou a ligação inespecífica de enzimas da imunorreatividade específica, tecidos adicionais do paciente podem ser corados exclusivamente com substrato-cromógeno ou complexos enzimáticos (PAP, avidina-biotina, estreptavidina) e substrato-cromógeno, respectivamente.

Verificação do ensaio:
Antes da utilização inicial de um anticorpo ou sistema de coloração num procedimento de diagnóstico, o utilizador deve verificar a especificidade do anticorpo testando-o numa série de tecidos internos com características de desempenho imuno-histoquímica conhecidas, representando tecidos positivos e negativos conhecidos. Consulte os procedimentos de controle de qualidade descritos anteriormente nesta seção da bula do produto e as

recomendações de controle de qualidade do Programa de Certificação CAP[9] para imunohistoquímica e/ou a diretriz NCCLS IHC[10]). Estes procedimentos de controle de qualidade devem ser repetidos para cada novo lote de anticorpos ou sempre que houver alteração nos parâmetros do ensaio. Os tecidos listados na Seção de Características de Desempenho são adequados para verificação de ensaio.

Solução de problemas:
Siga as recomendações do protocolo específico do anticorpo de acordo com a ficha técnica fornecida. Se ocorrerem resultados atípicos, entre em contato com o Suporte Técnico da Biocare pelo telefone 1-800-542-2002.

Interpretação da coloração:

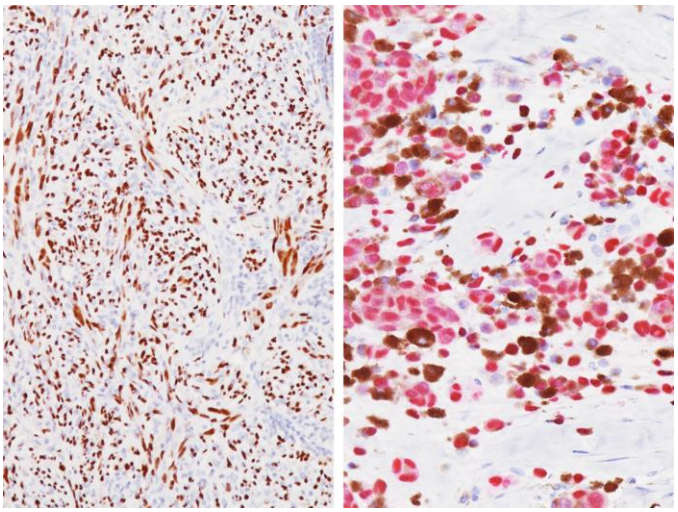
Controle Positivo de Tecidos:
O controlo tecidular positivo corado com o anticorpo indicado deve ser examinado primeiro para verificar se todos os reagentes estão a funcionar correctamente. A coloração apropriada das células alvo (como indicado acima) é indicativa de reactividade positiva. Se os controlos teciduais positivos não demonstrarem coloração positiva, quaisquer resultados com as amostras de teste deverão ser considerados inválidos.

A cor do produto da reação pode variar dependendo dos cromógenos do substrato utilizados. Consulte as bulas do substrato para obter as reações de cor esperadas. Além disso, a metacromasia pode ser observada em variações do método de coloração.[11]
Quando é utilizado um contracorante, dependendo da duração da incubação e da potência do contracorante utilizado, o contracorante resultará numa coloração dos núcleos das células. A contrastação excessiva ou incompleta pode comprometer a interpretação adequada dos resultados. Consulte o(s) protocolo(s) para obter a contracoloração recomendada.

Controle Negativo de Tecidos:
O controle tecidual negativo deve ser examinado após o controle tecidual positivo para verificar a especificidade da marcação do antígeno alvo pelo anticorpo primário. A ausência de coloração específica no controlo negativo de tecido confirma a falta de reactividade cruzada do anticorpo com células/componentes celulares. Se ocorrer coloração específica (coloração falsa positiva) no controlo tecidual externo negativo, os resultados com a amostra do paciente deverão ser considerados inválidos.

A coloração inespecífica, se presente, geralmente tem aparência difusa. A coloração esporádica do tecido conjuntivo também pode ser observada em secções de tecidos excessivamente fixados em formalina. Use células intactas para interpretação dos resultados de coloração. Células necróticas ou degeneradas geralmente apresentam coloração inespecífica.

Tecido do Paciente:
Examinar amostras de pacientes coradas com o anticorpo indicado durar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada no contexto de qualquer coloração de fundo inespecífica do controlo de reagente negativo. Tal como acontece com qualquer teste imuno-histoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno estava ausente nas células/tecidos analisados. Se necessário, utilize um painel de anticorpos para identificar reações falso-negativas.



(Esquerda) Melanoma de células fusiformes (DAB); (Direita) Melanoma pigmentado (vermelho rápido).

Consulte Resumo e Explicação, Limitações e Características de Desempenho para obter informações específicas sobre a imunorreatividade de anticorpos indicada.

Limitações:

Limitações Gerais:
1. Para *em vitro* Uso diagnóstico
2. Este produto é apenas para uso profissional: A imunohistoquímica é um processo de diagnóstico em múltiplas etapas que consiste em treinamento especializado na seleção dos reagentes adequados; seleção, fixação e processamento de tecidos; preparação da lâmina IHC; e interpretação dos resultados da coloração.
3. A coloração do tecido depende do manuseio e processamento do tecido antes da coloração. Fixação, congelamento, descongelamento, lavagem, secagem, aquecimento, seccionamento ou contaminação inadequados com outros tecidos ou fluidos podem produzir artefatos, aprisionamento de anticorpos ou resultados falsos negativos. Resultados inconsistentes podem ser devidos a variações nos métodos de fixação e inclusão, ou a irregularidades inerentes ao tecido.[12]
4. A contrastação excessiva ou incompleta pode comprometer a interpretação adequada dos resultados.
5. A interpretação clínica de qualquer coloração positiva ou negativa deve ser avaliada dentro do contexto da apresentação clínica, morfologia e outros critérios histopatológicos. A interpretação clínica de qualquer coloração positiva ou negativa deve ser complementada por estudos morfológicos utilizando controlos internos e externos positivos e negativos adequados, bem como outros testes de diagnóstico. É responsabilidade de um patologista qualificado que esteja familiarizado com o uso adequado de anticorpos, reagentes e métodos de IHC interpretar todas as etapas usadas para preparar e interpretar a preparação final de IHC.
6. A diluição ideal de anticorpos e os protocolos para uma aplicação específica podem variar. Estes incluem, mas não estão limitados a fixação, método de recuperação de calor, tempos de incubação, espessura da secção de tecido e kit de detecção utilizado. Devido à sensibilidade superior destes reagentes exclusivos, os tempos de incubação recomendados e os títulos listados não são aplicáveis a outros sistemas de detecção, pois os resultados podem variar. As recomendações e protocolos da ficha técnica são baseados no uso

exclusivo de produtos Biocare. Em última análise, é responsabilidade do investigador determinar as condições ideais.

7. Este produto não se destina ao uso em citometria de fluxo. As características de desempenho não foram determinadas para citometria de fluxo.
8. Os tecidos de pessoas infectadas com o vírus da hepatite B e contendo antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) podem apresentar coloração inespecífica com peroxidase de rábano.[13]
9. Os reagentes podem demonstrar reações inesperadas em tecidos não testados anteriormente. A possibilidade de reações inesperadas mesmo em grupos de tecidos testados não pode ser completamente eliminada devido à variabilidade biológica da expressão do antígeno em neoplasias ou outros tecidos patológicos.[14] Entre em contato com o suporte técnico da Biocare pelo telefone 1-800-542-2002 ou por meio das informações de suporte técnico fornecidas em biocare.net, com reações inesperadas documentadas.
10. Os soros normais/não imunes da mesma origem animal que os anti-soros secundários utilizados nas etapas de bloqueio podem causar resultados falso-negativos ou falso-positivos devido a autoanticorpos ou anticorpos naturais.
11. Resultados falso-positivos podem ser observados devido à ligação não imunológica de proteínas ou produtos de reação de substrato. Eles também podem ser causados por atividade de pseudo peroxidase (eritrócitos), atividade de peroxidase endógena (citocromo C) ou biotina endógena (por exemplo, fígado, mama, cérebro, rim), dependendo do tipo de imunocoloração utilizada.[12]

Limitações Específicas do Produto:
Nenhuma limitação específica do produto foi observada.

Características de desempenho:
Sensibilidade, especificidade e reatividade cruzada estão resumidas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Imunoreatividade:
As seguintes imunorreatividades positivas e negativas foram demonstradas nas Tabelas 1 e 2 abaixo.

A lista fornecida abaixo não é exaustiva, mas caracteriza os tipos de imunorreatividades observadas com o anticorpo indicado.

Desempenho Analítico:
Foram realizados testes de coloração para sensibilidade e especificidade e os resultados estão listados abaixo.

Sensibilidade e Especificidade:

Tabela 1: A sensibilidade e a especificidade foram determinadas testando tecidos doentes fixados em formalina e embebidos em parafina.

Tecido	Casos Positivos	Total de casos
Melanoma (cutâneo)	73	87 (83,9%)
Melanoma metastático	19	19 (100%)
Melanoma de células fusiformes	28	29 (96,6%)
Melanoma desmoplásico	3	3 (100%)
Recursos mistos desmoplásticos/células fusiformes	2	2 (100%)
Melanoma epitelióide	2	2 (100%)
Melanoma sarcomatóide	2	2 (100%)
Melanoma plasmocitóide	2	2 (100%)
Melanoma de células em balão	1	1 (100%)
Melanoma rabdóide	20	20 (100%)
Nevo benigno (vários)	28	28 (100%)
Schwannoma (neurilemoma)	73	87 (83,9%)

Mesa 2: A reatividade cruzada tecidual foi determinada testando tecidos normais fixados em formalina e embebidos em parafina.

Tecido	Casos Positivos	Total de casos
Cérebro	4	6*
Cerebelo	2	3*
Ad-renal	0	3
Ovário	0	3
Pâncreas	0	3
Tireoide	0	3
Paratireoide	0	3
Testículo	0	3
Osso	0	3
Baço	0	3
Amídala	0	3
Timo	0	3
Medula óssea	0	3
Pulmão	0	3
Coração	0	3
Esôfago	0	3
Hipófise	0	3
Seios	2	3*
Estômago	0	3
Intestino delgado	0	3
Cólon	0	3
Fígado	0	3
Glândula salivar	2	3*
Rim	0	3
Próstata	0	3
Útero	0	3
Colo uterino	0	3
Músculo esquelético	0	3
Pele	3	3*
Nervo periférico	2	3*
Pulmão	0	3
Laringe	0	3
Bexiga	0	3
Placenta	0	3
Mesotélio	0	3

*Cérebro e cerebelo: oligodendrócitos e alguns astrócitos; mama: células mioepiteliais; glândula salivar: células mioepiteliais; pele: melanócitos; nervo periférico: células de Schwann.

Solução de problemas:

1. Nenhuma coloração em nenhuma lâmina – Verifique para determinar se foram utilizados tecidos de controle positivo, anticorpos e produtos de detecção apropriados.
2. Coloração fraca de todas as lâminas – Verifique para determinar se foram utilizados tecidos de controlo positivo apropriados, anticorpos e produtos de detecção.
3. Fundo excessivo de todas as lâminas – Pode haver altos níveis de biotina endógena (se estiver usando produtos de detecção à base de biotina), atividade endógena de HRP convertendo cromogênio em produto final colorido (use bloco de peroxidase) ou excesso de interação proteica não específica (use uma proteína bloqueio, como solução de bloqueio à base de soro ou caseína).
4. As secções de tecido são removidas das lâminas durante a incubação – Verifique as lâminas para garantir que estão carregadas positivamente.
5. Coloração específica demasiado escura – Verifique o protocolo para determinar se o título de anticorpos adequado foi aplicado à lâmina, bem como os tempos de incubação adequados para todos os reagentes. Além disso, certifique-se de que o protocolo tenha etapas de lavagem suficientes para remover o excesso de reagentes após a conclusão das etapas de incubação.

Referências:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Os anticorpos Ultraline são desenvolvidos exclusivamente pela Biocare Medical LLC e não implicam aprovação ou endosso de anticorpos Biocare pela Ventana Medical Systems, Inc ou Roche. Biocare, Ventana e Roche não são afiliadas, associadas ou relacionadas de forma alguma. Ventana®, BenchMark®, ultraView e OptiView são marcas registradas da Roche.

Os anticorpos da Série Q são desenvolvidos exclusivamente pela Biocare Medical LLC e não implicam aprovação ou endosso de anticorpos Biocare pela Leica Biosystems. A Biocare e a Leica Biosystems não são afiliadas, associadas ou relacionadas de forma alguma. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX e BOND-III são marcas registradas da Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Romanian

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Utilizarea prevăzută:
Pentru *in vitro* Utilizare pentru diagnosticare
SOX10 (M) [BC34] este un anticorp monoclonal de șoarece care este destinat utilizării profesionale în laborator după ce diagnosticul inițial al tumorii a fost făcut prin histopatologie convențională folosind colorări histochimice nonimunologice, în identificarea calitativă a SOX10. proteină prin imunohistochimie (IHC) în țesuturi umane încorporate în parafină fixată în formalină (FFPE). Interpretarea clinică a oricărei colorări sau absența acesteia ar trebui completată de studii morfologice folosind controale adecvate și ar trebui evaluată în contextul istoricului clinic al pacientului și al altor teste de diagnostic de către un patolog calificat, ca ajutor în efectuarea oricăror alte determinări clinice.

Rezumat și explicație:
Gena 10 HMG-Box legată de factorul de transcripție SRY (SOX10) joacă un rol important în dezvoltarea crestei neurale, a sistemului nervos periferic și a celulelor melanocitare.[15-17] SOX10 este exprimat pe scară largă în țesuturile umane normale, inclusiv în melanocite și în țesutul mamar. SOX10 este, de asemenea, un marker important în tumorile maligne, cum ar fi melanomul, carcinomul mamar, glioamele și tumorile benigne, cum ar fi schwannoamele.[17-20] Mai important, s-a demonstrat că SOX10 este exprimat în 97-100% din melanoamele desmoplastice și cu celule fusiforme și, de asemenea, s-a demonstrat că este exprimat în 100% dintre nevi.[15] Melanoamele fusiforme și desmoplastice sunt variante rare ale melanomului cutanat invaziv, cu o rată anuală de incidență de aproximativ 2 la 100.000.[21] S-a demonstrat că majoritatea oligodendroglioamelor și un procent mare de astrocitom și glioblastoame slab diferențiate exprimă SOX10.[17,19]

Brevetul SUA 9.816.997 și brevete în curs.

Principiul procedurii:
Acest produs anticorp poate fi utilizat ca anticorp primar în testarea imunohistochimică a secțiunilor de țesut fixate cu formol, încorporate în parafină. În general, imunohistochimic (IHC) tehnicile de colorare permit vizualizarea antigenelor prin aplicarea secvenţială a a anticorp specific la antigen (anticorp primar), un anticorp secundar la anticorpul primar (anticorp/sondă opțional link), un complex enzimatic și un substrat cromogen cu etape de spălare interpuse. Activarea enzimatică a cromogenului are ca rezultat un produs de reacție vizibil la locul antigenului. Eșantionul poate fi apoi contracolorat și capacul poate fi plasat. Rezultatele sunt interpretate folosind o lumină microscop și ajută la diagnosticul diferențial al proceselor fiziopatologice, care pot sau poate să nu fie asociat cu un anumit antigen.

Materiale și metode:

Reactivi furnizati:
Sursa gazdei: Șoarece monoclonal
Reactivitatea speciei: Uman; alte specii netestate.
Clonează: BC34
Izotip: IgG1
Concentrația de proteine: Contactați asistența tehnică Biocare pentru concentrația specifică de Ig.
Specificitate: SOX10
Localizare celulară: Nuclear
Metodă: Monoclonal de șoarece purificat prin afinitate.

Reconstituire, amestecare, diluare, titrare:
Reactivul anticorp prediluat este diluat optim pentru utilizare cu platformele de colorare de mai jos. O diluare ulterioară poate duce la pierderea colorării cu antigen. Utilizatorul trebuie să valideze orice astfel de modificare. Diferențele în procesarea țesuturilor și procedurile tehnice din laboratorul utilizatorului pot produce o variabilitate semnificativă a rezultatelor care necesită efectuarea regulată a controalelor interne (vezi secțiunea Controlul calității).
Reactivul concentrat necesită diluare așa cum este indicat în tabelul de mai sus.

Aplicații cunoscute:
Imunohistochimie (țesuturi încorporate în parafină fixate în formol)

Furnizat ca:
Soluție salină tamponată, pH 6,1 – 7,4, conținând un purtător proteic și mai puțin de 0,1% conservant cu azidă de sodiu. Consultați Fișa cu date de securitate pentru detalii suplimentare.

Materiale și reactivi necesari, dar nefurnizați:
Lamele de microscop încărcate pozitiv.
Controale tisulare pozitive și negative
Camera deșertului (sau cuptor de uscare similar)
Xilen sau înlocuitor de xilen
Etanol sau alcool reactiv
Camera de decloaking (oala sub presiune)
Apă deionizată sau distilată
Tampon de spălare
Reactivi de pretratare
Bloc de peroxidază
Bloc de proteine (opțional)
Sondă de detectare și polimer
Reactivi de control negativ
Cromogene
Hematoxilină (contracolor)
Reactiv de albastru
Mediu de montaj
Sticlă de acoperire
Microscop cu lumină (mărire 40-400X)
Platformă automată de colorare a diapozitivelor

Configurațiile produsului cu anticorpi sunt disponibile pentru utilizare pe instrumentele indicate în tabelul de mai sus.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE
TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Romanian

Depozitare și stabilitate:
A se păstra la 2ºC până la 8ºC. Produsul este stabil până la data de expirare imprimată pe eticheta flaconului, atunci când este păstrat în aceste condiții. Nu utilizați după data de expirare. Depozitarea în orice alte condiții decât cele specificate trebuie verificată. Reactivii diluați trebuie utilizați prompt; depozitați orice reactiv rămas la 2ºC până la 8ºC. Stabilitatea reactivului diluat de utilizator nu a fost stabilită de Biocare.

Controalele pozitive și negative trebuie efectuate simultan cu toate probele pacientului. Dacă se observă o colorare neașteptată care nu poate fi explicată prin variații ale procedurilor de laborator și se suspectează o problemă cu anticorpul, contactați Asistența Tehnică Biocare la 1-800-542-2002 sau prin intermediul informațiilor de asistență tehnică furnizate pe biocare.net.

Pregătirea probei:
Țesuturile fixate în formol sunt adecvate pentru utilizare înainte de încorporarea parafinei. Țesuturile osoase trebuie decalcificate înainte de prelucrarea țesuturilor pentru a facilita tăierea țesuturilor și pentru a preveni deteriorarea lamelor microtomului.[1,2]

Țesuturile fixate și încorporate în mod corespunzător care exprimă antigenul țintă specificat trebuie păstrate într-un loc răcoros. Actul Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) din 1988 impune în 42 CFR §493.1259(b) că „laboratorul trebuie să rețină lamele colorate cel puțin zece ani de la data examinarea și păstrarea blocurilor de specimene cel puțin doi ani de la data examinării.”[3]

Tratamentul țesuturilor înainte de colorare:
Efectuați recuperarea epitopului indusă de căldură (HIER) conform protocolului recomandat de mai jos. S-a demonstrat că utilizarea de rutină a HIER înainte de IHC reduce la minimum inconsistența și standardizează colorarea.[4,5]

Avertisment și precauții:
1. Acest anticorp conține mai puțin de 0,1% azidă de sodiu. Concentrațiile mai mici de 0,1% nu sunt materiale periculoase raportabile conform U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication și Directivei CE 91/155/EC. Azida de sodiu (NaN_3) folosit ca conservant este toxic daca este ingerat. Azida de sodiu poate reacționa cu plumbul și cuprul pentru a forma azide metalice extrem de explozive. La eliminare, clătiți cu cantități mari de apă pentru a preveni acumularea de azidă în instalații sanitare. (Centrul pentru Controlul Bolilor, 1976, Institutul Național de Securitate și Sănătate în Muncă, 1976)[6]
2. Specimenele, înainte și după fixare, și toate materialele expuse acestora trebuie manipulate ca și cum ar fi capabile să transmită infecția și eliminate cu măsurile de precauție corespunzătoare. Nu pipetați niciodată reactivii pe gură și evitați contactul pielii și mucoaselor cu reactivii și mostrele. Dacă reactivii sau mostrele vin în contact cu zone sensibile, spălați-vă cu cantități mari de apă.[7]
3. Contaminarea microbiană a reactivilor poate duce la o creștere a colorației nespecifice.
4. Timpii de incubare sau alte temperaturi decât cele specificate pot da rezultate eronate. Utilizatorul trebuie să valideze orice astfel de modificare.
5. Nu utilizați reactiv după data de expirare imprimată pe flacon.
6. Reactivul anticorp prediluat este diluat optim pentru utilizare. O diluare ulterioară poate duce la pierderea colorării cu antigen.
7. Diluția reactivului anticorp concentrat trebuie validată înainte de utilizare. Orice diluant utilizat care nu este recomandat în mod specific trebuie, de asemenea, validat pentru compatibilitate și stabilitate.
8. Aruncați toți reactivii utilizați și orice alte materiale contaminate de unică folosință urmând procedurile pentru deșeurile infecțioase sau potențial infecțioase. Este responsabilitatea fiecărui laborator să manipuleze deșeurile solide și lichide în conformitate cu natura și gradul de periculozitate al acestora și să le trateze și să le elimine (sau să le facă tratate și eliminate) în conformitate cu orice reglementări aplicabile.
9. Urmați reglementările locale de eliminare pentru locația dvs., împreună cu recomandările din Fișa cu date de securitate pentru a determina eliminarea în siguranță a acestui produs
10. FDS este disponibilă la cerere și se află la http://biocare.net.
11. Pentru a raporta incidente grave suspectate legate de acest dispozitiv, contactați reprezentantul local Biocare și autoritatea competentă din statul membru sau țara în care este stabilit utilizatorul.

Instructiuni de folosire:
Protocoale de colorare recomandate pentru SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX și utilizare manuală:

API3099 și IPI3099 pentru intelliPATH FLX și utilizare manuală, a fost standardizat cu MACH 4 sistem de detectare. Utilizați TBS pentru etapele de spălare.	
Bloc de peroxid:	Bloc pentru 5 minute cu Peroxidazed 1
Pretratament:	Efectuați recuperarea căldurii folosind Diva Decloaker. Consultați fișa de date Diva Decloaker pentru instrucțiuni specifice.
Bloc de proteine (opțional):	Incubați timp de 5-10 minute la RT cu Background Punisher.
Anticorp primar:	Se incubează timp de 30 de minute la RT.
Detectare:	Sondă: Se incubează timp de 10 minute la temperatura camerei cu o sondă secundară.
	Polimer: Se incubează timp de 10-20 minute la temperatura camerei cu un polimer terțiar.
Cromogen:	Incubați timp de 5 minute la RT cu DAB -OR- de la Biocare. Incubați timp de 5-7 minute la RT cu Warp Red.
Contrapata:	Contracolorarea cu hematoxilină. Clătiți cu apă deionizată. Aplicați soluția de albastru Tacha timp de 1 minut. Clătiți cu apă deionizată.
IPI3099 este destinat utilizării cu intelliPATH FLX. Consultați manualul de utilizare pentru instrucțiuni specifice de utilizare. Când se utilizează intelliPATH FLX, blocarea peroxidului cu reactiv de blocare a peroxidazei intelliPATH FLX (IPB5000) poate fi efectuată după recuperarea căldurii.	

Sistem automat de colorare a lamelor ONCORE Pro:

OPAI3099 este destinat utilizării cu ONCORE Pro. Consultați manualul de utilizare pentru instrucțiuni specifice de utilizare. Parametrii protocolului din Editorul de protocol trebuie programați după cum urmează:		
Opțiune de colorare cu cromogen	**DAB**	**roșu**
Nume protocol:	SOX10	APLICAȚIA SOX10
Șablon de protocol (descriere):	Șablon special (este necesară detectarea ONCORE Pro-Tect)	Șablonul Ms AP 1
Deparafinare (opțiune de tampon DS):	DS2-50	DS2-50
Preluare antigen (opțiune AR):	AR1, pH ridicat; 103°C	AR1, pH ridicat; 103°C
Opțiunea de blocare:	Tampon	Tampon
Nume reactiv, timp, temperatură:	SOX10, 59 min., 37°C	SOX10, 59 min., 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 este destinat utilizării cu BenchMark ULTRA. Consultați manualul de utilizare pentru instrucțiuni specifice de utilizare. Parametrii de protocol recomandați sunt următorii:	
Șablon/Detecție:	ultraView DAB
Protocolul de pretratare:	Standard CC1
Peroxidaza:	N / A
Anticorp primar:	32 minute, 37°C
Șablon/Detecție:	OptiView DAB IHC
Protocolul de pretratare:	CC1 32 minute
Peroxidaza:	Inhibitor preprimar de peroxidază
Anticorp primar:	16 minute, 36°C

Seria Q – Pentru Leica BOND-III:

ALI3099 este destinat utilizării cu Leica BOND-III. Consultați manualul de utilizare pentru instrucțiuni specifice de utilizare. Parametrii de protocol recomandați sunt următorii:		
Opțiune de colorare cu cromogen	**DAB**	**roșu**
Nume protocol:	Protocolul IHC F	Protocolul IHC J
Detectare:	Rafinarea polimerului de legătură	Bond Polymer Refine Red
AICI:	20 min cu ER2	20 min cu ER2
Bloc de peroxid:	5 minute	
Marker (anticorp primar):	15 minute	15 minute
Post primar:	8 min	
Polimer:	8 min	
AP post primar:		20 min
Polimer AP:		30 minute
Rafinarea cromogenului mixt:	10 minute	10 min + 5 min
Hematoxilina:	5 minute	5 minute

Control de calitate:
Consultați Standardele de calitate CLSI pentru proiectarea și implementarea testelor imunohistochimice; Ghid aprobat-A doua ediție (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA SUA (www.clsi.org). 2011[8]

Control pozitiv al țesuturilor: Melanomul
Materialele de control pozitiv extern trebuie să fie probe proaspete fixate, procesate și încorporate cât mai curând posibil, în același mod ca probele pacientului. Controalele pozitive ale țesuturilor indică țesuturile pregătite corect și tehnicile adecvate de colorare. Un control de țesut extern pozitiv pentru fiecare set de condiții de testare ar trebui să fie inclus în fiecare cursă de colorare.

Țesuturile utilizate pentru materialele de control pozitiv extern trebuie selectate din mostre de pacient cu niveluri scăzute bine caracterizate ale activității țintei pozitive care dă colorare pozitivă slabă. Nivelul scăzut de pozitivitate pentru controalele pozitive externe este conceput pentru a asigura detectarea modificărilor subtile ale sensibilității anticorpilor primari din instabilitate sau probleme cu metodologia IHC. Lamelele de control al țesuturilor disponibile comercial sau mostrele procesate diferit de eșantioanele pacientului validează doar performanța reactivului și nu verifică pregătirea țesuturilor.

Controalele de țesut pozitive cunoscute ar trebui utilizate numai pentru monitorizarea performanței corecte a țesuturilor procesate și a reactivilor de testare, mai degrabă decât ca ajutor în formularea unui diagnostic specific al probelor de pacienți. Dacă controalele pozitive ale țesuturilor nu reușesc să demonstreze o colorare pozitivă, rezultatele cu probele de testat trebuie considerate nevalide.

Controlul negativ al țesuturilor:
Utilizați un control negativ al țesuturilor (cunoscut de *fii SOX10* negativ) fixat, procesat și încorporat într-un mod identic cu eșantionul(e) pacientului cu fiecare colorare pentru a verifica specificitatea anticorpului primar IHC pentru demonstrarea antigenului țintă și pentru a oferi o indicație a colorării specifice de fond (colorare fals pozitivă). De asemenea, varietatea diferitelor tipuri de celule prezente în majoritatea secțiunilor de țesut poate să fie utilizate de către laborator ca locuri de control negativ intern pentru a verifica performanța IHC specificații. Tipurile și sursele de specimene care pot fi utilizate pentru țesutul negativ controalele sunt listate în secțiunea Caracteristici de performanță.

Dacă apare o colorare specifică (colorare fals pozitivă) în controlul negativ al țesutului, rezultatele cu mostrele pacientului trebuie considerate nevalide.

Control reactiv negativ nespecific:
Utilizați un control reactiv negativ nespecific în locul anticorpului primar cu o secțiune din fiecare specimen de pacient pentru a evalua colorarea nespecifică și
permit o mai bună interpretare a colorării specifice la locul antigenului. În mod ideal, un control reactiv negativ conține un anticorp SOX10 IgG1 produs din supernatantul culturii de țesuturi în același mod ca anticorpul primar, dar nu prezintă reactivitate specifică cu țesuturile umane în aceeași matrice/soluție ca și soluția. Anticorp Biocare. Se diluează un anticorp de control negativ la aceeași concentrație de imunoglobulină sau proteină ca și primarul diluat anticorp folosind diluant identic. Dacă serul fetal de vițel este reținut în anticorpul curat după procesare, serul fetal de vițel la o concentrație de proteine echivalentă cu cea diluată. anticorpul primar din același diluant este de asemenea adecvat pentru utilizare. (Consultați reactivul furnizat). Numai diluantul poate fi utilizat ca o alternativă mai puțin dorită față de controalele negative descrise anterior. Perioada de incubație pentru controlul reactiv negativ trebuie să corespundă cu cea a anticorpului primar.

Când sunt utilizate panouri de mai mulți anticorpi pe secțiuni în serie, zonele cu colorare negativă ale unei lame pot servi ca un control de fond negativ/nespecific de legare pentru alți anticorpi. Pentru a diferenția activitatea enzimatică endogene sau legarea nespecifică a enzimelor de imunoreactivitatea specifică, țesuturile suplimentare ale pacientului pot fi colorate exclusiv cu substrat-cromogen sau complexe enzimatice (PAP, avidină-biotină, streptavidină) și respectiv substrat-cromogen.

Verificarea testului:
Înainte de utilizarea inițială a unui anticorp sau a unui sistem de colorare într-o procedură de diagnosticare, utilizatorul trebuie să verifice specificitatea anticorpului testându-l pe o serie de țesuturi interne cu caracteristici de performanță imunohistochimice cunoscute reprezentând țesuturi pozitive și negative cunoscute. Consultați procedurile de control al calității prezentate anterior în această secțiune a prospectului produsului și recomandările de control al calității din Programul de certificare CAP.[9] pentru imunohistochimie și/sau ghidul NCCLS IHC[10]). Aceste proceduri de control al calității trebuie repetate pentru fiecare lot nou de anticorpi sau ori de câte ori există o modificare a parametrilor de analiză. Țesuturile enumerate în secțiunea Caracteristici de performanță sunt potrivite pentru verificarea testului.

Depanare:
Urmați recomandările protocolului specific anticorpilor conform fișei de date furnizate. Dacă apar rezultate atipice, contactați asistența tehnică Biocare la 1-800-542-2002.

Interpretarea colorării:

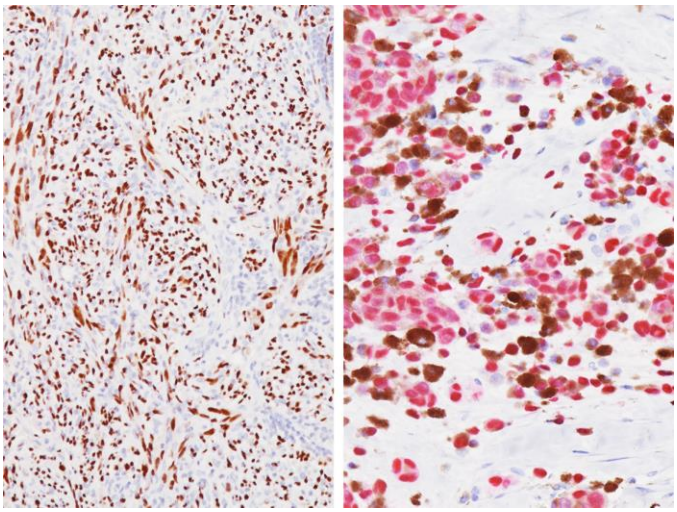
Control pozitiv al țesuturilor:
Controlul pozitiv al țesutului colorat cu anticorpul indicat trebuie examinat mai întâi pentru a se asigura că toți reactivii funcționează corect. Colorarea adecvată a celulelor țintă (așa cum s-a indicat mai sus) indică reactivitate pozitivă. Dacă controalele pozitive ale țesuturilor nu reușesc să demonstreze o colorare pozitivă, orice rezultat cu probele de testat trebuie considerat nevalid.

Culoarea produsului de reacție poate varia în funcție de cromogenii substratului utilizați. Consultați prospectele de ambalaj pentru substrat pentru reacțiile de culoare așteptate. Mai mult, metacromazia poate fi observată în variațiile metodei de colorare.[11]
Când se folosește o contracolorare, în funcție de durata de incubare și de potența contracolorului utilizat, contracolorarea va avea ca rezultat o colorare a nucleilor celulari. Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor. Consultați protocoalele pentru contracolorarea recomandată.

Controlul negativ al țesuturilor:
Controlul negativ al țesuturilor trebuie examinat după controlul pozitiv al țesutului pentru a verifica specificitatea etichetării antigenului țintă de către anticorpul primar. Absența colorației specifice în controlul negativ al țesutului confirmă lipsa reactivității încrucișate a anticorpilor la celule/componentele celulare. Dacă apare o colorare specifică (colorare fals pozitivă) în controlul extern negativ al țesutului, rezultatele cu specimenul pacientului trebuie considerate nevalide.

Colorația nespecifică, dacă este prezentă, are de obicei un aspect difuz. Colorarea sporadică a țesutului conjunctiv poate fi observată și în secțiuni din țesuturi fixate în exces de formol. Utilizați celule intacte pentru interpretarea rezultatelor colorării. Celulele necrotice sau degenerate se colorează adesea nespecific.

Țesutul pacientului:
Examinați mostrele pacientului colorate cu anticorpul indicat ultimul. Intensitatea colorării pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorări de fond nespecifice a controlului reactiv negativ. Ca și în cazul oricărui test imunohistochimic, un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, nu că antigenul a fost absent în celulele/țesutul testat. Dacă este necesar, utilizați un panou de anticorpi pentru a identifica reacțiile fals-negative.



(Stânga) Melanomul cu celule fusiforme (DAB); (Dreapta) Melanomul pigmentat (Roșu rapid).

Consultați Rezumatul și Explicația, Limitările și Caracteristicile de performanță pentru informații specifice privind imunoreactivitatea indicată a anticorpilor.

Limitări:

Limitări generale:
1. Pentru *in vitro* Utilizare de diagnostic
2. Acest produs este doar pentru uz profesional: Imunohistochimia este un proces de diagnosticare în mai multe etape care constă în pregătire specializată în selectarea reactivilor corespunzători; selecția, fixarea și prelucrarea țesuturilor; prepararea lamei IHC; și interpretarea rezultatelor colorării.
3. Colorarea țesuturilor depinde de manipularea și prelucrarea țesutului înainte de colorare. Fixarea necorespunzătoare, înghețarea, dezghețarea, spălarea, uscarea, încălzirea, secționarea sau contaminarea cu alte țesuturi sau fluide pot produce artefacte, captarea anticorpilor sau rezultate fals negative. Rezultatele inconsecvente se pot datora variațiilor în metodele de fixare și încorporare sau neregularităților inerente în țesut.[12]
4. Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor.
5. Interpretarea clinică a oricărei colorații pozitive sau negative trebuie evaluată în contextul prezentării clinice, al morfologiei și al altor criterii histopatologice. Interpretarea clinică a oricărei colorări pozitive sau negative ar trebui să fie completată de studii morfologice care utilizează controale interne și externe pozitive și negative adecvate, precum și alte teste de diagnostic. Este responsabilitatea unui patolog calificat care este familiarizat cu utilizarea corectă a anticorpilor, reactivilor și metodelor IHC să interpreteze toți pașii utilizați pentru pregătirea și interpretarea preparatului final IHC.
6. Diluția optimă a anticorpilor și protocoalele pentru o anumită aplicație pot varia. Acestea includ, dar nu se limitează la fixarea, metoda de recuperare a căldurii, timpii de incubare, grosimea secțiunii de țesut și trusa de detectare utilizată. Datorită sensibilității superioare a acestor reactivi unici, timpii și titrurile de incubare recomandate enumerate nu sunt aplicabile altor sisteme de detectare, deoarece rezultatele pot varia. Recomandările și protocoalele din fișa de date se bazează pe utilizarea exclusivă a produselor Biocare. În cele din urmă, este responsabilitatea investigatorului să determine condițiile optime.

7. Acest produs nu este destinat utilizării în citometria în flux. Caracteristicile de performanță nu au fost determinate pentru citometria în flux.
8. Țesuturile de la persoane infectate cu virusul hepatitei B și care conțin antigenul de suprafață al hepatitei B (HBsAg) pot prezenta colorare nespecifică cu peroxidază de hrean.[13]
9. Reactivii pot demonstra reacții neașteptate în țesuturile netestate anterior. Posibilitatea unor reacții neașteptate chiar și în grupurile de țesuturi testate nu poate fi complet eliminată din cauza variabilității biologice a exprimării antigenului în neoplasme sau în alte țesuturi patologice.[14] Contactați asistența tehnică Biocare la 1-800-542-2002 sau prin intermediul informațiilor de asistență tehnică furnizate pe biocare.net, cu reacții neașteptate documentate.
10. Serurile normale/neimune din aceeași sursă animală ca și antiserurile secundare utilizate în etapele de blocare pot provoca rezultate fals negative sau fals pozitive din cauza autoanticorpilor sau a anticorpilor naturali.
11. Rezultate fals pozitive pot fi observate din cauza legării neimunologice a proteinelor sau a produselor de reacție substrat. Ele pot fi, de asemenea, cauzate de activitatea pseudo-peroxidazei (eritrocite), activitatea peroxidazei endogene (citocromul C) sau biotina endogenă (de exemplu, ficat, sân, creier, rinichi), în funcție de tipul de imunocolor utilizat.[12]

Limitări specifice produsului:
Nu au fost observate limitări specifice produsului.

Caracteristici de performanta:
Sensibilitatea, specificitatea și reactivitatea încrucișată sunt rezumate în Tabelele 1 și, respectiv, 2.

Imunoreactivitate:
Următoarele imunoreactivități pozitive și negative au fost demonstrate în tabelele 1 și 2 de mai jos.

Lista furnizată mai jos nu este exhaustivă, dar caracterizează tipurile de imunoreactivități observate cu anticorpul indicat.

Performanță analitică:
Au fost efectuate teste de colorare pentru sensibilitate și specificitate, iar rezultatele sunt enumerate mai jos.

Sensibilitate și specificitate:

Tabelul 1: Sensibilitatea și specificitatea au fost determinate prin testarea țesuturilor bolnave fixate în formol, încorporate în parafină.

Țesut	Cazuri pozitive	Total de cazuri
Melanomul (cutanat)	73	87 (83,9%)
Melanomul metastatic	19	19 (100%)
Melanomul cu celule fusiforme	28	29 (96,6%)
Melanomul desmoplastic	3	3 (100%)
Caracteristici mixte cu celule desmoplastice/fusibile	2	2 (100%)
Melanomul epitelioid	2	2 (100%)
Melanomul sarcomatoid	2	2 (100%)
Melanomul plasmacitoid	2	2 (100%)
Melanomul cu celule balon	1	1 (100%)
Melanomul rabdoid	20	20 (100%)
Nevus benign (diverse)	28	28 (100%)
Schwannom (neurilemom)	73	87 (83,9%)

Masa 2: Reactivitatea încrucișată a țesutului a fost determinată prin testarea țesuturilor normale fixate în formol, încorporate în parafină.

Țesut	Cazuri pozitive	Total de cazuri
Creierul	4	6*
Cerebel	2	3*
suprarenale	0	3
Ovar	0	3
Pancreas	0	3
Glanda tiroida	0	3
paratiroidă	0	3
Testicul	0	3
Os	0	3
Splină	0	3
amigdale	0	3
Timusul	0	3
Măduvă osoasă	0	3
Plămân	0	3
inima	0	3
Esofag	0	3
Pituitară	0	3
Sânul	2	3*
Stomac	0	3
Intestinul subtire	0	3
Colon	0	3
Ficat	0	3
Glanda salivara	2	3*
Rinichi	0	3
Prostata	0	3
Uter	0	3
Colul uterin	0	3
Mușchi scheletic	0	3
Piele	3	3*
Nervul periferic	2	3*
Plămân	0	3
Laringe	0	3
Vezica urinara	0	3
Placenta	0	3
Mezoteliu	0	3

*Cerebru si cerebel: oligodendrocite si unele astrocite; sân: celule mioepiteliale; glanda salivară: celule mioepiteliale; piele: melanocite; nervul periferic: celulele Schwann.

Depanare:

1. Nicio colorare a niciunei lame – Verificați pentru a determina că au fost utilizate țesuturi de control pozitiv adecvate, anticorpi și produse de detectare.
2. Colorare slabă a tuturor lamelor – Verificați pentru a determina că au fost utilizate țesuturi de control pozitiv adecvate, anticorpi și produse de detectare.
3. Fundal excesiv al tuturor diapozitivelor – Pot exista niveluri ridicate de biotină endogenă (dacă se utilizează produse de detecție pe bază de biotină), activitate HRP endogenă de conversie a cromogenului în produs final colorat (utilizați bloc de peroxidază) sau interacțiune proteică nespecifică în exces (utilizați o proteină). bloc, cum ar fi soluția de blocare pe bază de ser sau cazeină).
4. Secțiunile de țesut spăla lamelele în timpul incubației – Verificați lamele pentru a vă asigura că sunt încărcate pozitiv.
5. Colorare specifică prea întunecată – Verificați protocolul pentru a determina dacă pe lame a fost aplicat titrul adecvat de anticorpi, precum și timpii de incubare corespunzători pentru toți reactivii. În plus, asigurați-vă că protocolul are suficienți pași de spălare pentru a elimina excesul de reactivi după finalizarea etapelor de incubare.

Referinte:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Anticorpii Ultraline sunt dezvoltați exclusiv de Biocare Medical LLC și nu implică aprobarea sau aprobarea anticorpilor Biocare de către Ventana Medical Systems, Inc sau Roche. Biocare, Ventana și Roche nu sunt afiliate, asociate sau legate în niciun fel. Ventana®, BenchMark®, ultraView și OptiView sunt mărci comerciale ale Roche.

Anticorpii din seria Q sunt dezvoltați exclusiv de Biocare Medical LLC și nu implică aprobarea sau aprobarea anticorpilor Biocare de către Leica Biosystems. Biocare și Leica Biosystems nu sunt afiliate, asociate sau legate în niciun fel. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX și BOND-III sunt mărci comerciale ale Leica Biosystems.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE
TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Slovak

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Zamýšľané použitie:
Pre *in vitro* Diagnostické použitie
SOX10 (M) [BC34] je myšacia monoklonálna protilátka, ktorá je určená na profesionálne laboratórne použitie po prvotnej diagnóze nádoru konvenčnou histopatológiou pomocou neimunologického histochemického farbenia, pri kvalitatívnej identifikácii SOX10 proteín imunohistochémiou (IHC) vo formalíne fixovaných v parafíne zaliatych (FFPE) ľudských tkanivách. Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho neprítomnosti by mala byť doplnená morfologickými štúdiami s použitím vhodných kontrol a mala by byť vyhodnotená v kontexte pacientovej klinickej anamnézy a iných diagnostických testov kvalifikovaným patológom ako pomôcka pri vykonávaní akýchkoľvek iných klinických stanovení.

Zhrnutie a vysvetlenie:
Gén 10 HMG-Box súvisiaci s transkripčným faktorom SRY (SOX10) hrá dôležitú úlohu pri vývoji neurálnej lišty, periférneho nervového systému a melanocytových buniek.[15-17] SOX10 je široko exprimovaný v normálnych ľudských tkanivách vrátane melanocytov a prsného tkaniva. SOX10 je tiež dôležitým markerom pri malígnych nádoroch, ako je melanóm, karcinóm prsníka, gliómy a benígne nádory, ako sú schwannómy.[17-20] Ešte dôležitejšie je, že sa ukázalo, že SOX10 je exprimovaný v 97-100% desmoplastických a vretenovitých melanómoch a tiež sa ukázalo, že je exprimovaný v 100% névov.[15] Vretenovité a desmoplastické melanómy sú zriedkavé varianty invazívneho kožného melanómu s ročnou incidenciou približne 2 na 100 000.[21] Ukázalo sa, že väčšina oligodendrogliómov a veľké percento astrocytómov a slabo diferencovaných glioblastómov exprimujú SOX10.[17,19]

Patent USA 9 816 997 a prihlásené patenty.

Princíp postupu:
Tento protilátkový produkt sa môže použiť ako primárna protilátka pri imunohistochemickom testovaní vo formalíne fixovaných, v parafíne zaliatych tkanivových rezov. Vo všeobecnosti imunohistochemické (IHC) techniky farbenia umožňujú vizualizáciu antigénov prostredníctvom sekvenčnej aplikácie a špecifická protilátka k antigénu (primárna protilátka), sekundárna protilátka k primárnej protilátke (voliteľná väzba protilátka/sonda), enzýmový komplex a chromogénny substrát s vloženými krokmi premývania. Enzymatická aktivácia chromogénu vedie k viditeľnému reakčnému produktu v mieste antigénu. Vzorka sa potom môže kontrastne zafarbiť a kryt sa nasunie. Výsledky sa interpretujú pomocou svetla mikroskop a pomôcka pri diferenciálnej diagnostike patofyziologických procesov, ktoré môžu resp nemusia byť spojené s konkrétnym antigénom.

Materiály a metódy:

Dodávané činidlá:
Zdroj hostiteľa: Myš monoklonálna
Reaktivita druhov: človek; iné druhy netestované.
Klonovať: BC34
Izotyp: IgG1
Koncentrácia bielkovín: Pre konkrétnu koncentráciu Ig kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare.
Špecifickosť: SOX10
Bunková lokalizácia: Jadrový
metóda: Afinitne purifikovaný myší monoklonálny.

Rekonštitúcia, miešanie, riedenie, titrácia:
Predriedené protilátkové činidlo je optimálne nariedené na použitie s nižšie uvedenými farbiacimi platformami. Ďalšie riedenie môže viesť k strate zafarbenia antigénu. Používateľ musí každú takúto zmenu potvrdiť. Rozdiely v spracovaní tkaniva a technických postupoch v laboratóriu používateľa môžu spôsobiť značnú variabilitu výsledkov, čo si vyžaduje pravidelné vykonávanie interných kontrol (pozri časť Kontrola kvality).
Koncentrované činidlo vyžaduje riedenie, ako je uvedené v tabuľke vyššie.

Známe aplikácie:
Imunohistochémia (tkanivá fixované v parafíne fixované formalínom)

Dodávané ako:
Pufrovaný fyziologický roztok, pH 6,1 – 7,4, obsahujúci proteínový nosič a menej ako 0,1 % konzervačnej látky azidu sodného. Ďalšie podrobnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov.

Potrebné materiály a činidlá, ktoré nie sú súčasťou dodávky:
Mikroskopické sklíčka sú kladne nabité.
Pozitívne a negatívne kontroly tkaniva
Púštna komora (alebo podobná sušiareň)
Xylén alebo náhrada xylénu
Etanol alebo reagenčný alkohol
Odmasťovacia komora (tlakový hrniec)
Deionizovaná alebo destilovaná voda
Premývací pufor
Činidlá na predúpravu
Peroxidázový blok
Proteínový blok (voliteľné)
Detekčná sonda a polymér
Negatívne kontrolné činidlá
Chromogény
Hematoxylín (kontrafarba)
Blueingovo činidlo
Montážne médium
Krycie sklo
Svetelný mikroskop (40-400x zväčšenie)
Automatizovaná platforma na farbenie diapozitívov

Konfigurácie protilátkového produktu sú dostupné na použitie s nástrojmi uvedenými v tabuľke vyššie.

Skladovanie a stabilita:
Skladujte pri teplote 2ºC až 8ºC. Produkt je stabilný do dátumu exspirácie vytlačeného na štítku injekčnej liekovky, ak sa uchováva za týchto podmienok. Nepoužívajte po dátume exspirácie. Skladovanie za akýchkoľvek iných podmienok, ako sú uvedené, musí byť overené. Zriedené činidlá by sa mali použiť okamžite; akékoľvek zvyšné činidlo skladujte pri teplote 2ºC až 8ºC.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Stabilita užívateľom zriedeného činidla nebola stanovená spoločnosťou Biocare.

Pozitívne a negatívne kontroly by sa mali vykonávať súčasne so všetkými vzorkami pacienta. Ak spozorujete neočakávané zafarbenie, ktoré nemožno vysvetliť odchýlkami v laboratórnych postupoch a máte podozrenie na problém s protilátkou, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 alebo prostredníctvom informácií o technickej podpore poskytovaných na biocare.net.

Príprava vzorky:
Tkanivá fixované vo formalíne sú vhodné na použitie pred zaliatím do parafínu. Kostné tkanivá by sa mali pred spracovaním tkaniva odvápniť, aby sa uľahčilo rezanie tkaniva a zabránilo sa poškodeniu čepieľok mikrotómu.[1,2]

Správne fixované a zaliate tkanivá exprimujúce špecifikovaný cieľový antigén by sa mali skladovať na chladnom mieste. Zákon o zlepšovaní klinických laboratórií (CLIA) z roku 1988 vyžaduje v 42 CFR §493.1259(b), že „Laboratórium musí uchovávať zafarbené sklíčka najmenej desať rokov od dátumu vyšetrenie a uchovávať bloky vzoriek najmenej dva roky od dátumu vyšetrenia.[3]

Ošetrenie tkanív pred farbením:
Vykonajte teplom indukované vyhľadávanie epitopu (HIER) podľa odporúčaného protokolu uvedeného nižšie. Ukázalo sa, že rutinné používanie HIER pred IHC minimalizuje nekonzistentnosť a štandardizuje farbenie.[4,5]

Varovanie a bezpečnostné opatrenia:
1. Táto protilátka obsahuje menej ako 0,1 % azidu sodného. Koncentrácie nižšie ako 0,1 % nie sú nebezpečné materiály, ktoré sa hlásia podľa U.S. Azid sodný (NaN_3) používaný ako konzervačná látka je pri požití toxický. Azid sodný môže reagovať s olovom a medeným potrubím za vzniku vysoko výbušných azidov kovov. Po likvidácii opláchnite veľkým množstvom vody, aby ste zabránili hromadeniu azidov vo vodovodnom potrubí. (Centrum pre kontrolu chorôb, 1976, Národný inštitút bezpečnosti a ochrany zdravia pri práci, 1976)[6]
2. So vzorkami pred a po fixácii a so všetkými materiálmi, ktoré sú im vystavené, by sa malo zaobchádzať tak, ako keby boli schopné prenášať infekciu, a mali by sa likvidovať podľa náležitých opatrení. Nikdy nepipetujte reagencie ústami a vyhýbajte sa kontaktu kože a slizníc s činidlami a vzorkami. Ak sa reagencie alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody.[7]
3. Mikrobiálna kontaminácia činidiel môže viesť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.
4. Inkubačné časy alebo teploty iné, ako sú uvedené, môžu viesť k chybným výsledkom. Používateľ musí každú takúto zmenu potvrdiť.
5. Nepoužívajte činidlo po dátume exspirácie vytlačenom na injekčnej liekovke.
6. Predriedené protilátkové činidlo je optimálne nariedené na použitie. Ďalšie riedenie môže viesť k strate zafarbenia antigénu.
7. Zriedenie koncentrovaného protilátkového činidla musí byť pred použitím validované. Akékoľvek použité riedidlo, ktoré sa špecificky neodporúča, musí byť tiež overené z hľadiska kompatibility a stability.
8. Všetky použité reagencie a akýkoľvek iný kontaminovaný jednorazový materiál zlikvidujte podľa postupov pre infekčný alebo potenciálne infekčný odpad. Zodpovednosťou každého laboratória je nakladať s pevným a tekutým odpadom podľa ich povahy a stupňa nebezpečnosti a zaobchádzať s ním a zneškodňovať ho (alebo nechať ho spracovať a zneškodniť) v súlade s akýmikoľvek platnými predpismi.
9. Dodržiavajte miestne predpisy o likvidácii vo vašej lokalite spolu s odporúčaniami v karte bezpečnostných údajov, aby ste určili bezpečnú likvidáciu tohto produktu
10. KBÚ je k dispozícii na požiadanie a nachádza sa na http://biocare.net.
11. Ak chcete nahlásiť podozrenie na vážne incidenty súvisiace s týmto zariadením, kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Biocare a príslušný orgán členského štátu alebo krajiny, v ktorej má používateľ sídlo.

Inštrukcie na používanie:
Odporúčané protokoly farbenia pre SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX a manuálne použitie:

API3099 a IPI3099 pre intelliPATH FLX a manuálne použitie, bol štandardizovaný s MACH 4 detekčný systém. Na premývanie použite TBS.	
Peroxidový blok:	Blokovať pre 5 minút s peroxidázou 1
Predúprava:	Vykonajte spätné získavanie tepla pomocou Diva Decloaker. Konkrétne pokyny nájdete v údajovom liste Diva Decloaker.
Proteínový blok (voliteľné):	Inkubujte 5-10 minút pri teplote miestnosti pomocou zariadenia Background Punisher.
Primárna protilátka:	Inkubujte 30 minút pri teplote miestnosti.
Detekcia:	Sonda: Inkubujte 10 minút pri teplote miestnosti so sekundárnou sondou.
	Polymér: Inkubujte 10-20 minút pri teplote miestnosti s terciárnym polymérom.
Chromogén:	Inkubujte 5 minút pri RT s Biocare's DAB -OR- Inkubujte 5-7 minút pri RT s Warp Red.
Protifarba:	Kontrafarba s hematoxylínom. Opláchnite deionizovanou vodou. Aplikujte Tacha's Blueing Solution na 1 minútu. Opláchnite deionizovanou vodou.
IPI3099 je určený na použitie s intelliPATH FLX. Konkrétne pokyny na použitie nájdete v používateľskej príručke. Keď používate intelliPATH FLX, peroxidový blok s intelliPATH FLX činidlom blokujúcim peroxidázu (IPB5000) možno vykonať po získaní tepla.	

Automatizovaný systém farbenia sklíčok ONCORE Pro:

OPAI3099 je určený na použitie s ONCORE Pro. Konkrétne pokyny na použitie nájdete v používateľskej príručke. Parametre protokolu v editore protokolov by sa mali naprogramovať nasledovne:		
Možnosť farbenia chromogénom	**DAB**	**Červená**
Názov protokolu:	SOX10	APP SOX10
Šablóna protokolu (popis):	Špeciálna šablóna (vyžaduje sa detekcia ONCORE Pro-Tect)	Pani AP Šablóna 1
Odvoskovanie (možnosť DS pufra):	DS2-50	DS2-50
Získavanie antigénu (možnosť AR):	AR1, vysoké pH; 103 °C	AR1, vysoké pH; 103 °C
Možnosť blokovania:	Buffer	Buffer
Názov činidla, čas, teplota:	SOX10, 59 min., 37 °C	SOX10, 59 min., 37 °C

BenchMark Ventana ULTRA:

AVI3099 je určený na použitie s BenchMark ULTRA. Konkrétne pokyny na použitie nájdete v používateľskej príručke. Odporúčané parametre protokolu sú nasledovné:	
Šablóna/Detekcia:	ultraView DAB
Protokol predbežnej úpravy:	Štandard CC1
peroxidáza:	N/A
Primárna protilátka:	32 minút, 37 °C

Šablóna/Detekcia:	OptiView DAB IHC
Protokol predbežnej úpravy:	CC1 32 minút
peroxidáza:	Predprimárny inhibítor peroxidázy
Primárna protilátka:	16 minút, 36 °C

Séria Q – Pre Leica BOND-III:

ALI3099 je určený na použitie s Leica BOND-III. Konkrétne pokyny na použitie nájdete v používateľskej príručke. Odporúčané parametre protokolu sú nasledovné:

Možnosť farbenia chromogénom	**DAB**	**Červená**
Názov protokolu:	Protokol IHC F	Protokol IHC J
Detekcia:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Red
TU:	20 minút s ER2	20 minút s ER2
Peroxidový blok:	5 min	
Marker (primárna protilátka):	15 min	15 min
Primárny príspevok:	8 min	
Polymér:	8 min	
Post Primary AP:		20 min
Polymér AP:		30 min
Upresnenie zmiešaného chromogénu:	10 min	10 min + 5 min
Hematoxylín:	5 min	5 min

Kontrola kvality:
Pozrite si štandardy kvality CLSI pre návrh a implementáciu imunohistochemických testov; Schválená smernica – druhé vydanie (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011[8]

Pozitívna kontrola tkaniva: Melanóm
Materiály na externú pozitívnu kontrolu by mali byť čerstvé vzorky fixované, spracované a vložené čo najskôr rovnakým spôsobom ako vzorka (vzorky) pacienta. Pozitívne kontroly tkaniva naznačujú správne pripravené tkanivá a správne techniky farbenia. Do každého cyklu farbenia by mala byť zahrnutá jedna pozitívna externá tkanivová kontrola pre každý súbor testovacích podmienok.

Tkanivá použité pre externé materiály pre pozitívnu kontrolu by sa mali vyberať zo vzoriek pacientov s dobre charakterizovanými nízkymi hladinami pozitívnej cieľovej aktivity, ktorá poskytuje slabé pozitívne zafarbenie. Nízka úroveň pozitivity pre externé pozitívne kontroly je navrhnutá tak, aby zabezpečila detekciu jemných zmien citlivosti primárnej protilátky z nestability alebo problémov s metodikou IHC. Komerčne dostupné tkanivové kontrolné sklíčka alebo vzorky spracované inak ako vzorka (vzorky) pacienta iba overujú účinnosť činidla a neoverujú prípravu tkaniva.

Známe pozitívne kontroly tkaniva by sa mali používať len na monitorovanie správneho výkonu spracovaných tkanív a testovacích činidiel, a nie ako pomôcka pri formulovaní špecifickej diagnózy vzoriek pacientov. Ak pozitívne kontroly tkaniva nepreukážu pozitívne zafarbenie, výsledky s testovanými vzorkami by sa mali považovať za neplatné.

Negatívna kontrola tkaniva:
Použite negatívnu kontrolu tkaniva (známe *byť SOX10* negatívne) fixované, spracované a vložené spôsobom identickým so vzorkou (vzorkami) pacienta pri každom cykle farbenia, aby sa overila špecifickosť primárnej protilátky IHC pre preukázanie cieľového antigénu a poskytnutie indikácie špecifického zafarbenia pozadia (falošne pozitívne farbenie). Môže to byť aj množstvo rôznych typov buniek prítomných vo väčšine tkanivových rezov byť použité laboratóriom ako interné negatívne kontrolné miesta na overenie výkonu IHC technické údaje. Typy a zdroje vzoriek, ktoré možno použiť na negatívne tkanivo ovládacie prvky sú uvedené v časti Výkonnostné charakteristiky.

Ak sa v negatívnej kontrole tkaniva vyskytne špecifické zafarbenie (falošne pozitívne zafarbenie), výsledky so vzorkami pacienta by sa mali považovať za neplatné.

Nešpecifická negatívna kontrola reagencií:
Použite nešpecifickú negatívnu kontrolu činidla namiesto primárnej protilátky s rezom každej vzorky pacienta na vyhodnotenie nešpecifického zafarbenia a umožňujú lepšiu interpretáciu špecifického zafarbenia v mieste antigénu. V ideálnom prípade obsahuje negatívna reagenčná kontrola protilátku SOX10 IgG1 produkovanú zo supernatantu tkanivovej kultúry rovnakým spôsobom ako primárna protilátka, ale nevykazuje žiadnu špecifickú reaktivitu s ľudskými tkanivami v rovnakej matrici/roztoku ako Biocare protilátka. Narieďte negatívnu kontrolnú protilátku na rovnakú koncentráciu imunoglobulínu alebo proteínu ako zriedená primárna protilátka protilátka s použitím rovnakého riedidla. Ak sa fetálne teľacie sérum po spracovaní zachová v čistej protilátke, fetálne teľacie sérum s koncentráciou proteínu ekvivalentnou zriedenému primárna protilátka v rovnakom riedidle je tiež vhodná na použitie. (Pozrite si dodané činidlo). Samotné riedidlo sa môže použiť ako menej žiaduca alternatíva k predtým opísaným negatívnym kontrolným činidlám. Inkubačná doba pre negatívnu reagenčnú kontrolu by mala zodpovedať dobe primárnej protilátky.

Keď sa na sériových rezoch použijú panely niekoľkých protilátok, negatívne zafarbené oblasti jedného sklíčka môžu slúžiť ako negatívna/nešpecifická väzbová kontrola pozadia pre iné protilátky. Na odlíšenie endogénnej enzýmovej aktivity alebo nešpecifickej väzby enzýmov od špecifickej imunoreaktivity môžu byť ďalšie tkanivá pacienta zafarbené výlučne substrát-chromogén alebo enzýmovými komplexmi (PAP, avidín-biotín, streptavidín) a substrát-chromogén, v tomto poradí.

Overenie testu:
Pred prvým použitím protilátky alebo farbiaceho systému v diagnostickom postupe by si mal používateľ overiť špecifickosť protilátky testovaním na sérii vlastných tkanív so známymi imunohistochemickými charakteristikami, ktoré predstavujú známe pozitívne a negatívne tkanivá. Pozrite si postupy kontroly kvality predtým uvedené v tejto časti príbalového letáku k produktu a odporúčania kontroly kvality certifikačného programu CAP[9] pre imunohistochémiu a/alebo usmernenie NCCLS IHC[10]). Tieto postupy kontroly kvality by sa mali opakovať pre každú novú šaržu protilátok alebo vždy, keď dôjde k zmene parametrov testu. Na overenie testu sú vhodné tkanivá uvedené v časti Výkonnostné charakteristiky.

Riešenie problémov:
Postupujte podľa odporúčaní protokolu špecifického pre protilátky podľa priloženého údajového listu. Ak sa vyskytnú atypické výsledky, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002.

Interpretácia farbenia:

Pozitívna kontrola tkaniva:
Pozitívna tkanivová kontrola zafarbená indikovanou protilátkou by sa mala najskôr vyšetriť, aby sa zistilo, že všetky činidlá fungujú správne. Príslušné farbenie cieľových buniek (ako je uvedené vyššie) svedčí o pozitívnej reaktivite. Ak pozitívne kontroly tkaniva nepreukážu pozitívne zafarbenie, akékoľvek výsledky s testovanými vzorkami by sa mali považovať za neplatné.

Farba reakčného produktu sa môže meniť v závislosti od použitých substrátových chromogénov. Očakávané farebné reakcie nájdete v

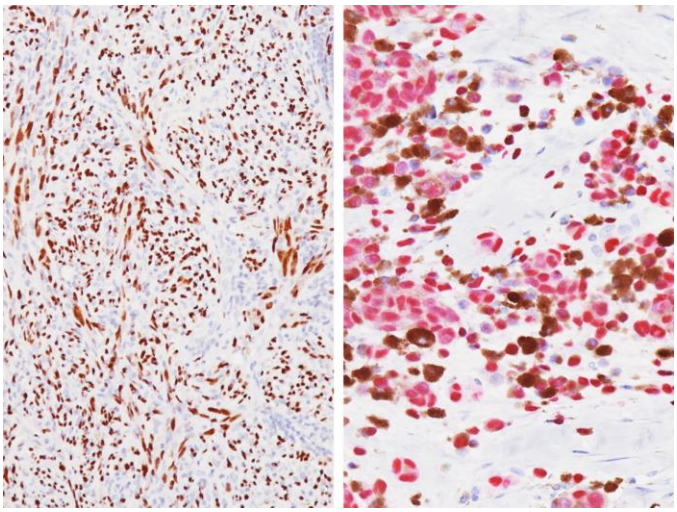
Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA
IVD CE
TP v6 (11/02/2023)
EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands
Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

príbalových letákoch substrátu. Ďalej je možné pozorovať metachromáziu vo variantoch spôsobu farbenia.[11]
Keď sa použije kontrastné farbenie, v závislosti od dĺžky inkubácie a účinnosti použitého kontrastného farbenia, kontrastné farbenie povedie k zafarbeniu bunkových jadier. Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže ohroziť správnu interpretáciu výsledkov. Odporúčané kontrastné farbenie nájdete v protokole(och).

Negatívna kontrola tkaniva:
Negatívna tkanivová kontrola by sa mala vyšetriť po pozitívnej kontrole tkaniva, aby sa overila špecifickosť označenia cieľového antigénu primárnou protilátkou. Neprítomnosť špecifického zafarbenia v negatívnej kontrole tkaniva potvrdzuje nedostatok krížovej reaktivity protilátky s bunkami/bunkovými zložkami. Ak sa v negatívnej vonkajšej kontrole tkaniva vyskytne špecifické zafarbenie (falošne pozitívne zafarbenie), výsledky so vzorkou pacienta by sa mali považovať za neplatné.

Nešpecifické sfarbenie, ak je prítomné, má zvyčajne difúzny vzhľad. Sporadické zafarbenie spojivového tkaniva možno pozorovať aj na rezoch z tkanív nadmerne fixovaných formalínom. Na interpretáciu výsledkov farbenia použite neporušené bunky. Nekrotické alebo degenerované bunky sa často farbia nešpecificky.

Tkanivo pacienta:
Preskúmajte vzorky pacientov zafarbené indikovanou protilátkou posledný. Intenzita pozitívneho zafarbenia by sa mala posúdiť v kontexte akéhokoľvek nešpecifického zafarbenia pozadia negatívnej kontroly s činidlom. Ako pri akomkoľvek imunohistochemickom teste, negatívny výsledok znamená, že antigén nebol detegovaný, nie že antigén chýbal v testovaných bunkách/tkanive. V prípade potreby použite panel protilátok na identifikáciu falošne negatívnych reakcií.



(vľavo) vretenovitý melanóm (DAB); (Vpravo) Pigmentovaný melanóm (Rýchla červená).

Špecifické informácie týkajúce sa indikovanej imunoreaktivity protilátok nájdete v časti Súhrn a vysvetlenie, obmedzenia a výkonnostné charakteristiky.

Obmedzenia:

Všeobecné obmedzenia:
1. Pre *in vitro* diagnostické použitie
2. Tento produkt je určený len na profesionálne použitie: Imunohistochémia je viackrokový diagnostický proces, ktorý pozostáva zo špecializovaného školenia vo výbere vhodných činidiel; výber tkaniva, fixácia a spracovanie; príprava podložného sklíčka IHC; a interpretácia výsledkov farbenia.
3. Farbenie tkaniva závisí od manipulácie a spracovania tkaniva pred farbením. Nesprávna fixácia, zmrazovanie, rozmrazovanie, umývanie, sušenie, zahrievanie, rezanie alebo kontaminácia inými tkanivami alebo tekutinami môže spôsobiť artefakty, zachytávanie protilátok alebo falošne negatívne výsledky. Nekonzistentné výsledky môžu byť spôsobené odchýlkami v metódach fixácie a zapustenia alebo prirodzenými nepravidelnosťami v tkanive.[12]
4. Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže ohroziť správnu interpretáciu výsledkov.
5. Klinická interpretácia akéhokoľvek pozitívneho alebo negatívneho zafarbenia by sa mala hodnotiť v kontexte klinického obrazu, morfológie a iných histopatologických kritérií. Klinická interpretácia akéhokoľvek pozitívneho alebo negatívneho zafarbenia by mala byť doplnená morfologickými štúdiami s použitím správnych pozitívnych a negatívnych vnútorných a vonkajších kontrol, ako aj iných diagnostických testov. Je zodpovednosťou kvalifikovaného patológa, ktorý je oboznámený so správnym používaním IHC protilátok, činidiel a metód, interpretovať všetky kroky použité na prípravu a interpretáciu konečného IHC preparátu.
6. Optimálne riedenie protilátky a protokoly pre špecifickú aplikáciu sa môžu líšiť. Tieto zahŕňajú, ale nie sú obmedzené na fixáciu, metódu získavania tepla, inkubačné časy, hrúbku tkanivového rezu a použitú detekčnú súpravu. Z dôvodu vyššej citlivosti týchto jedinečných činidiel nie je možné odporúčané inkubačné časy a uvedené titre aplikovať na iné detekčné systémy, pretože výsledky sa môžu líšiť. Odporúčania a protokoly údajových listov sú založené na výhradnom používaní produktov Biocare. V konečnom dôsledku je zodpovednosťou vyšetrovateľa určiť optimálne podmienky.
7. Tento produkt nie je určený na použitie v prietokovej cytometrii. Výkonnostné charakteristiky neboli stanovené pre prietokovú cytometriu.
8. Tkanivá od osôb infikovaných vírusom hepatitídy B a obsahujúce povrchový antigén hepatitídy B (HBsAg) môžu vykazovať nešpecifické zafarbenie chrenovou peroxidázou.[13]
9. Reagencie môžu vykazovať neočakávané reakcie v predtým netestovaných tkanivách. Možnosť neočakávaných reakcií ani v testovaných skupinách tkanív nie je možné úplne eliminovať z dôvodu biologickej variability expresie antigénu v novotvaroch alebo iných patologických tkanivách.[14] Kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 alebo prostredníctvom informácií technickej podpory poskytnutých na biocare.net so zdokumentovanými neočakávanými reakciami.
10. Normálne/neimunitné séra z rovnakého zvieracieho zdroja ako sekundárne antiséra použité v blokovacích krokoch môžu spôsobiť falošne negatívne alebo falošne pozitívne výsledky v dôsledku autoprotilátok alebo prirodzených protilátok.
11. Falošne pozitívne výsledky môžu byť pozorované v dôsledku neimunologickej väzby proteínov alebo produktov reakcie substrátu. Môžu byť spôsobené aj pseudoperoxidázovou aktivitou (erytrocyty), endogénnou peroxidázovou aktivitou (cytochróm C) alebo endogénnym biotínom (napr. pečeň, prsia, mozog, obličky) v závislosti od typu použitého imunofarbiva.[12]

Špecifické obmedzenia produktu:
Nie sú zaznamenané žiadne špecifické obmedzenia produktu.

Výkonnostné charakteristiky:
Senzitivita, špecifickosť a krížová reaktivita sú zhrnuté v tabuľkách 1 a 2, v tomto poradí.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Slovak

Imunoreaktivita:
Nasledujúce pozitívne a negatívne imunoreaktivity boli demonštrované v tabuľkách 1 a 2 nižšie.

Nižšie uvedený zoznam nie je vyčerpávajúci, ale charakterizuje typy imunoreaktivít pozorovaných pri uvedenej protilátke.

Analytický výkon:
Boli uskutočnené farbiace testy na citlivosť a špecifickosť a výsledky sú uvedené nižšie.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Slovak

BIOCARE MEDICAL

Citlivosť a špecifickosť:

Stôl 1: Citlivosť a špecificita sa stanovili testovaním chorých tkanív fixovaných vo formalíne a zaliatych v parafíne.

Tkanivo	Pozitívne prípady	Celkový počet prípadov
Melanóm (kožný)	73	87 (83,9 %)
Metastatický melanóm	19	19 (100 %)
Vretenovitý melanóm	28	29 (96,6 %)
Desmoplastický melanóm	3	3 (100 %)
Desmoplastické/vretenovité zmiešané znaky	2	2 (100 %)
Epiteloidný melanóm	2	2 (100 %)
Sarkomatoidný melanóm	2	2 (100 %)
Plazmocytoidný melanóm	2	2 (100 %)
Balónikový melanóm	1	1 (100 %)
Rabdoidný melanóm	20	20 (100 %)
Benígny nevus (rôzne)	28	28 (100 %)
Schwannóm (neuriléma)	73	87 (83,9 %)

Tabuľka 2: Krížová reaktivita tkaniva bola stanovená testovaním normálnych tkanív fixovaných vo formalíne a zaliatych v parafíne.

Tkanivo	Pozitívne prípady	Celkový počet prípadov
Cerebrum	4	6*
Cerebellum	2	3*
Nadobličky	0	3
Vaječník	0	3
Pankreas	0	3
Štítna žľaza	0	3
prištítnych teliesok	0	3
semenníky	0	3
Kosť	0	3
Slezina	0	3
Tonsil	0	3
Thymus	0	3
Kostná dreň	0	3
Lung	0	3
Srdce	0	3
Pažerák	0	3
Hypofýza	0	3
Prsník	2	3*
Žalúdok	0	3
Tenké črevo	0	3
Dvojbodka	0	3
Pečeň	0	3
Slinná žľaza	2	3*
obličky	0	3
Prostata	0	3
Uterus	0	3
Krčka maternice	0	3
Kostrový sval	0	3
Koža	3	3*
Periférny nerv	2	3*
Lung	0	3
Hrtan	0	3
močového mechúra	0	3
Placenta	0	3
Mesothelium	0	3

*Veľký mozog a cerebellum: oligodendrocyty a niektoré astrocyty; prsník: myoepiteliálne bunky; slinná žľaza: myoepiteliálne bunky; koža: melanocyty; periférny nerv: Schwannove bunky.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Riešenie problémov:

1. Žiadne zafarbenie na sklíčkach – Skontrolujte, či sa použilo vhodné tkanivo pozitívnej kontroly, protilátka a detekčné produkty.
2. Slabé zafarbenie všetkých podložných sklíčok – Skontrolujte, či sa použilo vhodné tkanivo pozitívnej kontroly, protilátka a detekčné produkty.
3. Nadmerné pozadie všetkých sklíčok – Môžu existovať vysoké hladiny endogénneho biotínu (ak používate detekčné produkty na báze biotínu), endogénna aktivita HRP premieňajúca chromogén na farebný konečný produkt (použite peroxidázový blok) alebo nadmerná nešpecifická proteínová interakcia (použite proteín blok, ako je blokovací roztok na báze séra alebo kazeínu).
4. Tkanivové rezy zmyjú sklíčka počas inkubácie – Skontrolujte sklíčka, aby ste sa uistili, že sú pozitívne nabité.
5. Špecifické zafarbenie je príliš tmavé – Skontrolujte protokol a zistite, či bol na sklíčko aplikovaný správny titer protilátok, ako aj správne inkubačné časy pre všetky činidlá. Okrem toho sa uistite, že protokol obsahuje dostatok premývacích krokov na odstránenie nadbytočných činidiel po dokončení inkubačných krokov.

Referencie:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Protilátky Ultraline sú vyvinuté výhradne spoločnosťou Biocare Medical LLC a neznamenajú schválenie alebo schválenie protilátok Biocare spoločnosťou Ventana Medical Systems, Inc alebo Roche. Biocare, Ventana a Roche nie sú nijakým spôsobom prepojené, spojené ani prepojené. Ventana®, BenchMark®, ultraView a OptiView sú ochranné známky spoločnosti Roche.

Protilátky série Q sú vyvinuté výhradne spoločnosťou Biocare Medical LLC a neznamenajú schválenie alebo schválenie protilátok Biocare spoločnosťou Leica Biosystems. Biocare a Leica Biosystems nie sú nijakým spôsobom prepojené, spojené ani prepojené. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX a BOND-III sú ochranné známky spoločnosti Leica Biosystems.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE
TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Slovenian

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Predvidena uporaba:
Za *in vitro* Diagnostična uporaba
SOX10 (M) [BC34] je mišje monoklonsko protitelo, ki je namenjeno profesionalni laboratorijski uporabi po začetni diagnozi tumorja s konvencionalno histopatologijo z uporabo neimunoloških histokemičnih barvanj pri kvalitativni identifikaciji SOX10 beljakovin z imunohistokemijo (IHC) v človeških tkivih, fiksiranih s formalinom, vgrajenih v parafin (FFPE). Klinično interpretacijo kakršnega koli obarvanja ali njegove odsotnosti je treba dopolniti z morfološkimi študijami z uporabo ustreznih kontrol in jo mora oceniti usposobljeni patolog v kontekstu bolnikove klinične anamneze in drugih diagnostičnih testov kot pomoč pri drugih kliničnih ugotovitvah.

Povzetek in razlaga:
S transkripcijskim faktorjem SRY povezan gen HMG-Box 10 (SOX10) ima pomembno vlogo pri razvoju nevralnega grebena, perifernega živčnega sistema in melanocitnih celic.[15-17] SOX10 je močno izražen v normalnih človeških tkivih, vključno z melanociti in tkivom dojke. SOX10 je tudi pomemben marker pri malignih tumorjih, kot so melanom, karcinom dojke, gliomi in benigni tumorji, kot so švanomi.[17-20] Še pomembneje je, da se je pokazalo, da je SOX10 izražen v 97-100 % dezmoplastičnih in vretenastih celičnih melanomov, prav tako se je pokazalo, da je izražen v 100 % nevusov.[15] Vretenastocelični in dezmoplastični melanomi so redke različice invazivnega kožnega melanoma z letno incidenco približno 2 na 100.000.[21] Pokazalo se je tudi, da večina oligodendrogliomov in velik odstotek astrocitomov ter slabo diferenciranih glioblastomov izražajo SOX10.[17,19]

Patent ZDA 9,816,997 in patenti v teku.

Načelo postopka:
Ta izdelek s protitelesi se lahko uporablja kot primarno protitelo pri imunohistokemijskem testiranju s formalinom fiksiranih in v parafin vgrajenih tkivnih odsekov. Na splošno imunohistokemični (IHC) tehnike barvanja omogočajo vizualizacijo antigenov z zaporedno uporabo a specifično protitelo proti antigenu (primarno protitelo), sekundarno protitelo proti primarnemu protitelesu (neobvezno povezovalno protitelo/sonda), encimski kompleks in kromogeni substrat z vmesnimi koraki pranja. Posledica encimske aktivacije kromogena je viden reakcijski produkt na mestu antigena. Vzorec se nato lahko nasprotno obarva in prekrije. Rezultati se interpretirajo z uporabo luči mikroskopom in pomoč pri diferencialni diagnostiki patofizioloških procesov, ki lahko oz morda ni povezan z določenim antigenom.

Materiali in metode:

Priloženi reagenti:
Vir gostitelja: Mišji monoklonski
Reaktivnost vrste: Človek; druge vrste niso testirane.
Klon: BC34
Izotip: IgG1
Koncentracija beljakovin: Za specifično koncentracijo Ig se obrnite na tehnično podporo podjetja Biocare.
Specifičnost: SOX10
Celična lokalizacija: Jedrska
metoda: Afinitetno prečiščen mišji monoklon.

Rekonstitucija, mešanje, redčenje, titracija:
Predhodno razredčen reagent protiteles je optimalno razredčen za uporabo s spodnjimi platformami za barvanje. Nadaljnje redčenje lahko povzroči izgubo obarvanja antigena. Uporabnik mora vsako takšno spremembo potrditi. Razlike v obdelavi tkiv in tehničnih postopkih v laboratoriju uporabnika lahko povzročijo znatno variabilnost rezultatov, zaradi česar je potrebno redno izvajanje internih kontrol (glejte poglavje Nadzor kakovosti).
Koncentrirani reagent je treba razredčiti, kot je navedeno v zgornji tabeli.

Znane aplikacije:
Imunohistokemija (tkiva, fiksirana s formalinom in parafinom)

Dobavljeno kot:
Pufrirana fiziološka raztopina, pH 6,1 – 7,4, ki vsebuje beljakovinski nosilec in manj kot 0,1 % konzervansa natrijevega azida. Za dodatne podrobnosti glejte varnostni list.

Potrebni materiali in reagenti, ki niso priloženi:
Mikroskopska stekelca pozitivno nabita.
Pozitivne in negativne kontrole tkiva
Puščavska komora (ali podobna sušilna peč)
Ksilen ali nadomestek ksilena
Etanol ali reagentni alkohol
Komora za razkrivanje (lonec pod pritiskom)
Deionizirana ali destilirana voda
Pufer za pranje
Reagenti za predobdelavo
Blok peroksidaze
Beljakovinski blok (neobvezno)
Sonda za odkrivanje in polimer
Reagenti negativne kontrole
Kromogeni
Hematoksilin (protibarvanje)
Reagent za pomodrelo
Montažni medij
Pokrivno steklo
Svetlobni mikroskop (40-400-kratna povečava)
Avtomatizirana platforma za barvanje preparatov

Konfiguracije produkta protiteles so na voljo za uporabo na instrumentih, navedenih v zgornji tabeli.

Shranjevanje in stabilnost:
Shranjujte pri 2ºC do 8ºC. Pri shranjevanju pod temi pogoji je izdelek stabilen do datuma izteka roka uporabnosti, ki je natisnjen na nalepki viale. Ne uporabljajte po preteku roka uporabnosti. Preveriti je treba shranjevanje pod kakršnimi koli pogoji, razen navedenih. Razredčene reagente je treba uporabiti takoj; preostali reagent shranite pri 2ºC do 8ºC. Biocare ni ugotovil stabilnosti uporabniško razredčenega reagenta.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Slovenian

BIOCARE MEDICAL

Pozitivne in negativne kontrole je treba opraviti hkrati z vsemi vzorci bolnikov. Če opazite nepričakovano obarvanje, ki ga ni mogoče razložiti z variacijami v laboratorijskih postopkih, in obstaja sum na težavo s protitelesi, se obrnite na tehnično podporo Biocare na 1-800-542-2002 ali prek informacij o tehnični podpori na biocare.net.

Priprava vzorca:
Robčki, fiksirani v formalinu, so primerni za uporabo pred vgradnjo v parafin. Kostna tkiva je treba pred obdelavo tkiva dekalcificirati, da olajšamo rezanje tkiva in preprečimo poškodbe rezil mikrotoma.[1,2]

Pravilno fiksirana in vdelana tkiva, ki izražajo določeno tarčo antigena, morajo biti shranjena na hladnem. Zakon o izboljšanju kliničnega laboratorija (CLIA) iz leta 1988 zahteva v 42 CFR §493.1259(b), da mora laboratorij hraniti obarvana stekelca najmanj deset let od datuma pregledati in hraniti bloke vzorcev vsaj dve leti od datuma pregleda."[3]

Obdelava tkiv pred barvanjem:
Izvedite toplotno povzročeno pridobivanje epitopov (HIER) po priporočenem protokolu spodaj. Pokazalo se je, da rutinska uporaba HIER pred IHC zmanjšuje nedoslednost in standardizira barvanje.[4,5]

Opozorilo in previdnostni ukrepi:
1. To protitelo vsebuje manj kot 0,1 % natrijevega azida. Koncentracije, nižje od 0,1 %, niso nevarni materiali, ki jih je treba prijaviti v skladu z U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard message in EC Directive 91/155/EC. Natrijev azid (NaN_3), ki se uporablja kot konzervans, je pri zaužitju strupen. Natrijev azid lahko reagira s svinčenimi in bakrenimi vodovodnimi napeljavami ter tvori zelo eksplozivne kovinske azide. Po odlaganju sperite z veliko količino vode, da preprečite kopičenje azida v vodovodnih napeljavah. (Center za nadzor bolezni, 1976, Nacionalni inštitut za varnost in zdravje pri delu, 1976)[6]
2. Z vzorci pred in po fiksaciji ter z vsemi materiali, ki so jim izpostavljeni, je treba ravnati, kot da bi lahko prenašali okužbo, in jih odstraniti z ustreznimi varnostnimi ukrepi. Reagentov nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte stiku reagentov in vzorcev s kožo in sluznicami. Če pridejo reagenti ali vzorci v stik z občutljivimi območji, jih sperite z veliko vode.[7]
3. Mikrobna kontaminacija reagentov lahko povzroči povečanje nespecifičnega obarvanja.
4. Časi inkubacije ali temperature, ki niso navedene, lahko dajo napačne rezultate. Uporabnik mora vsako takšno spremembo potrditi.
5. Reagenta ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, ki je natisnjen na viali.
6. Predhodno razredčen reagent protiteles je optimalno razredčen za uporabo. Nadaljnje redčenje lahko povzroči izgubo obarvanja antigena.
7. Pred uporabo je treba potrditi razredčitev koncentriranega reagenta protiteles. Vsako uporabljeno razredčilo, ki ni izrecno priporočeno, mora biti tudi potrjeno glede združljivosti in stabilnosti.
8. Odstranite vse uporabljene reagente in vse druge kontaminirane materiale za enkratno uporabo po postopkih za infektivne ali potencialno infektivne odpadke. Odgovornost vsakega laboratorija je, da ravna s trdnimi in tekočimi odpadki glede na njihovo naravo in stopnjo nevarnosti ter da jih obdela in odstrani (ali da jih obdelati in odstraniti) v skladu z veljavnimi predpisi.
9. Upoštevajte lokalne predpise o odstranjevanju za vašo lokacijo skupaj s priporočili v varnostnem listu, da določite varno odstranjevanje tega izdelka.
10. Varnostni list je na voljo na zahtevo in se nahaja na http://biocare.net.
11. Če želite prijaviti domnevne resne incidente, povezane s to napravo, se obrnite na lokalnega predstavnika družbe Biocare in pristojni organ države članice ali države, v kateri ima uporabnik sedež.

Navodila za uporabo:
Priporočeni protokoli barvanja za SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX in ročna uporaba:

API3099 in IPI3099 za intelliPATH FLX in ročno uporabo je bil standardiziran z MACH 4 sistem zaznavanja. Uporabite TBS za korake pranja.	
Peroksidni blok:	Blokiraj za 5 minut s Peroxidazed 1
Predobdelava:	Izvedite pridobivanje toplote z uporabo Diva Decloaker. Za posebna navodila glejte podatkovni list Diva Decloaker.
Beljakovinski blok (neobvezno):	Inkubirajte 5-10 minut pri sobni temperaturi z Background Punisher.
Primarno protitelo:	Inkubirajte 30 minut pri sobni temperaturi.
Zaznavanje:	Sonda: Inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi s sekundarno sondo.
	Polimer: Inkubirajte 10-20 minut pri sobni temperaturi s terciarnim polimerom.
Kromogen:	Inkubirajte 5 minut pri sobni temperaturi z Biocare DAB -OR- Inkubirajte 5-7 minut pri sobni temperaturi z Warp Red.
Counterstain:	Kontrabarvanje s hematoksilinom. Izperite z deionizirano vodo. Nanesite raztopino Tacha's Bluing Solution za 1 minuto. Izperite z deionizirano vodo.
IPI3099 je namenjen uporabi z intelliPATH FLX. Za posebna navodila za uporabo glejte uporabniški priročnik. Pri uporabi intelliPATH FLX se lahko po odvzemu toplote izvede peroksidni blok z reagentom za blokiranje peroksidaze intelliPATH FLX (IPB5000).	

ONCORE Pro Avtomatski sistem za barvanje stekelc:

OPAI3099 je namenjen za uporabo z ONCORE Pro. Za posebna navodila za uporabo glejte uporabniški priročnik. Parametri protokola v urejevalniku protokolov morajo biti programirani na naslednji način:		
Možnost barvanja s kromogenom	**DAB**	**rdeča**
Ime protokola:	SOX10	APLIKACIJA SOX10
Predloga protokola (opis):	Posebna predloga (potrebno je zaznavanje ONCORE Pro-Tect)	Predloga Ms AP 1
Razvoskanje (možnost medpomnilnika DS):	DS2-50	DS2-50
Pridobivanje antigena (možnost AR):	AR1, visok pH; 103°C	AR1, visok pH; 103°C
Možnost blokiranja:	Medpomnilnik	Medpomnilnik
Ime reagenta, čas, temperatura:	SOX10, 59 min., 37 °C	SOX10, 59 min., 37 °C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 je namenjen uporabi z BenchMark ULTRA. Za posebna navodila za uporabo glejte uporabniški priročnik. Priporočeni parametri protokola so naslednji:	
Predloga/zaznavanje:	ultraView DAB
Protokol predhodne obdelave:	Standard CC1
Peroksidaza:	N/A
Primarno protitelo:	32 minut, 37°C
Predloga/zaznavanje:	OptiView DAB IHC
Protokol predhodne obdelave:	CC1 32 minut

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Peroksidaza:	Predprimarni zaviralec peroksidaze
Primarno protitelo:	16 minut, 36°C

Serija Q – za Leica BOND-III:

ALI3099 je namenjen uporabi z Leica BOND-III. Za posebna navodila za uporabo glejte uporabniški priročnik. Priporočeni parametri protokola so naslednji:		
Možnost barvanja s kromogenom	**DAB**	**rdeča**
Ime protokola:	IHC protokol F	Protokol IHC J
Zaznavanje:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Red
TUKAJ:	20 minut z ER2	20 minut z ER2
Peroksidni blok:	5 min	
Marker (primarno protitelo):	15 min	15 min
Post Primarni:	8 min	
polimer:	8 min	
Post primarni AP:		20 min
Polimer AP:		30 min
Mešano kromogensko prečiščevanje:	10 min	10 min + 5 min
Hematoksilin:	5 min	5 min

Nadzor kakovosti:
Glejte standarde kakovosti CLSI za načrtovanje in izvajanje imunohistokemijskih testov; Odobrene smernice – druga izdaja (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ZDA (www.clsi.org). 2011[8]

Pozitivna kontrola tkiva: melanom
Zunanji materiali za pozitivno kontrolo morajo biti sveži vzorci, fiksirani, obdelani in vdelani čim prej na enak način kot vzorec(-e) bolnika. Pozitivne kontrole tkiva kažejo na pravilno pripravljena tkiva in pravilne tehnike barvanja. V vsak postopek barvanja je treba vključiti eno pozitivno zunanjo kontrolo tkiva za vsak niz testnih pogojev.

Tkiva, uporabljena za materiale za zunanjo pozitivno kontrolo, je treba izbrati iz bolnikovih vzorcev z dobro označenimi nizkimi ravnmi pozitivne ciljne aktivnosti, ki daje šibko pozitivno obarvanje. Nizka raven pozitivnosti za zunanje pozitivne kontrole je zasnovana tako, da zagotavlja odkrivanje subtilnih sprememb v občutljivosti primarnega protitelesa zaradi nestabilnosti ali težav z metodologijo IHC. Komercialno dostopna stekelca za kontrolo tkiva ali vzorci, obdelani drugače kot vzorec(-i) bolnika, potrjujejo samo učinkovitost reagenta in ne preverjajo priprave tkiva.

Znane pozitivne kontrole tkiv je treba uporabiti samo za spremljanje pravilnega delovanja obdelanih tkiv in testnih reagentov, ne pa kot pomoč pri oblikovanju specifične diagnoze bolnikovih vzorcev. Če pozitivne kontrole tkiva ne pokažejo pozitivnega obarvanja, je treba rezultate s preskusnimi vzorci šteti za neveljavne.

Negativna kontrola tkiva:
Uporabite negativno kontrolo tkiva (znano *biti SOX10* negativno), fiksirano, obdelano in vdelano na enak način kot vzorci bolnika z vsakim postopkom barvanja, da se preveri specifičnost primarnega protitelesa IHC za prikaz tarčnega antigena in podatek o specifičnem obarvanju ozadja (lažno pozitivno obarvanje). Tudi različne vrste celic, ki so prisotne v večini delov tkiva, lahko laboratorij uporablja kot mesta notranje negativne kontrole za preverjanje delovanja IHC specifikacije. Vrste in viri vzorcev, ki se lahko uporabijo za negativno tkivo kontrolniki so navedeni v razdelku Performance Characterists.

Če se pri negativni kontroli tkiva pojavi specifično obarvanje (lažno pozitivno obarvanje), je treba rezultate bolnikovih vzorcev obravnavati kot neveljavne.

Nespecifična negativna kontrola reagenta:
Uporabite nespecifično negativno kontrolo reagenta namesto primarnega protitelesa z odsekom vsakega bolnikovega vzorca, da ocenite nespecifično obarvanje in
omogočajo boljšo interpretacijo specifičnega obarvanja na mestu antigena. V idealnem primeru negativna kontrola reagenta vsebuje protitelo SOX10 IgG1, proizvedeno iz supernatanta tkivne kulture na enak način kot primarno protitelo, vendar ne kaže specifične reaktivnosti s človeškimi tkivi v istem matriksu/raztopini kot Biocare protitelesa. Protitelo negativne kontrole razredčite na enako koncentracijo imunoglobulina ali beljakovin kot razredčeno primarno protitelesa z enakim razredčilom. Če se fetalni telečji serum po obdelavi ohrani v čistem protitelesu, se fetalni telečji serum v koncentraciji beljakovin, ki je enaka razredčeni primarno protitelo v istem razredčilu je prav tako primerno za uporabo. (Glejte priloženi reagent). Samo razredčilo se lahko uporabi kot manj zaželena alternativa prej opisanim negativnim kontrolam reagenta. Inkubacijsko obdobje za negativno kontrolo reagenta mora ustrezati obdobju primarnega protitelesa.

Kadar se plošče z več protitelesi uporabljajo na serijskih odsekih, lahko negativno obarvana področja enega preparata služijo kot negativna/nespecifična vezavna kontrola ozadja za druga protitelesa. Za razlikovanje endogene encimske aktivnosti ali nespecifične vezave encimov od specifične imunoreaktivnosti se lahko dodatna bolnikova tkiva obarvajo izključno s substrat-kromogenom ali encimskimi kompleksi (PAP, avidin-biotin, streptavidin) oziroma substrat-kromogen.

Preverjanje testa:
Pred prvo uporabo protitelesa ali sistema obarvanja v diagnostičnem postopku mora uporabnik preveriti specifičnost protitelesa tako, da ga testira na nizu lastnih tkiv z znanimi lastnostmi imunohistokemičnega delovanja, ki predstavljajo znana pozitivna in negativna tkiva. Glejte postopke nadzora kakovosti, ki so bili predhodno opisani v tem razdelku vložka izdelka, in priporočila za nadzor kakovosti certifikacijskega programa CAP[9] za imunohistokemijo in/ali smernico NCCLS IHC[10]). Te postopke nadzora kakovosti je treba ponoviti za vsako novo serijo protiteles ali vsakič, ko pride do spremembe parametrov testa. Tkiva, navedena v razdelku o značilnostih delovanja, so primerna za preverjanje analize.

Odpravljanje težav:
Sledite priporočilom protokola za specifična protitelesa v skladu s priloženim podatkovnim listom. Če pride do netipičnih rezultatov, se obrnite na tehnično podporo Biocare na 1-800-542-2002.

Razlaga barvanja:

Pozitivna kontrola tkiva:
Najprej je treba pregledati pozitivno kontrolo tkiva, obarvano z navedenim protitelesom, da se prepričamo, ali vsi reagenti delujejo pravilno. Ustrezno obarvanje ciljnih celic (kot je navedeno zgoraj) kaže na pozitivno reaktivnost. Če pozitivne kontrole tkiva ne pokažejo pozitivnega obarvanja, je treba vse rezultate s preskusnimi vzorci obravnavati kot neveljavne.

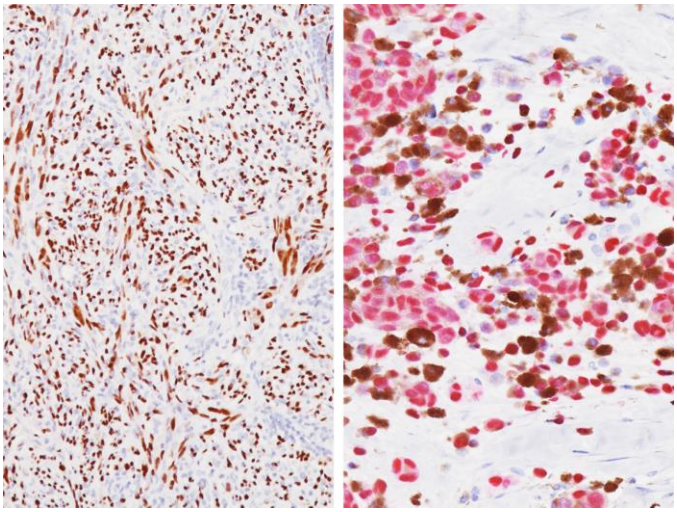
Barva reakcijskega produkta se lahko razlikuje glede na uporabljene substratne kromogene. Za pričakovane barvne reakcije glejte navodila za embalažo substrata. Poleg tega lahko opazimo metakromazijo pri različnih metodah obarvanja.[11]

Ko se uporabi nasprotno barvanje, bo odvisno od dolžine inkubacije in moči uporabljenega nasprotnega barvanja povzročilo obarvanje celičnih jeder. Prekomerno ali nepopolno kontrastno barvanje lahko ogrozi pravilno interpretacijo rezultatov. Glejte protokol(e) za priporočeno kontrastno barvanje.

Negativna kontrola tkiva:
Negativno tkivno kontrolo je treba pregledati po pozitivni tkivni kontroli, da se preveri specifičnost označevanja tarčnega antigena s primarnim protitelesom. Odsotnost specifičnega barvanja v negativni tkivni kontroli potrjuje pomanjkanje navzkrižne reaktivnosti protiteles na celice/celične komponente. Če pride do specifičnega obarvanja (lažno pozitivno obarvanje) pri negativni zunanji kontroli tkiva, je treba rezultate bolnikovega vzorca šteti za neveljavne.

Nespecifično obarvanje, če je prisotno, ima običajno razpršen videz. Občasno obarvanje vezivnega tkiva je mogoče opaziti tudi v odsekih tkiv, ki so preveč fiksirana s formalinom. Za razlago rezultatov obarvanja uporabite nedotaknjene celice. Nekrotične ali degenerirane celice se pogosto obarvajo nespecifično.

Bolnikovo tkivo:
Preglejte bolnikove vzorce, obarvane z navedenim protitelesom zadnja. Intenzivnost pozitivnega obarvanja je treba oceniti v kontekstu morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja negativne reagentne kontrole. Kot pri vsakem imunohistokemičnem testu negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil odkrit, ne pa, da antigena ni bilo v testiranih celicah/tkivu. Po potrebi uporabite ploščo protiteles za identifikacijo lažno negativnih reakcij.



(Levo) Vretenastocelični melanom (DAB); (Desno) Pigmentirani melanom (hitro rdeče).

Glejte povzetek in razlago, omejitve in značilnosti delovanja za posebne informacije glede indicirane imunoreaktivnosti protiteles.

Omejitve:
Splošne omejitve:
1. Za *in vitro* diagnostična uporaba
2. Ta izdelek je samo za profesionalno uporabo: Imunohistokemija je večstopenjski diagnostični proces, ki je sestavljen iz specializiranega usposabljanja za izbiro ustreznih reagentov; izbira, fiksacija in obdelava tkiv; priprava preparata IHC; in interpretacijo rezultatov barvanja.
3. Obarvanje tkiva je odvisno od ravnanja in obdelave tkiva pred barvanjem. Nepravilna fiksacija, zamrzovanje, odmrzovanje, pranje, sušenje, segrevanje, rezanje ali kontaminacija z drugimi tkivi ali tekočinami lahko povzroči artefakte, ujetost protiteles ali lažno negativne rezultate. Neskladni rezultati so lahko posledica razlik v metodah fiksacije in vdelave ali inherentnih nepravilnosti v tkivu.[12]
4. Prekomerno ali nepopolno kontrastno barvanje lahko ogrozi pravilno interpretacijo rezultatov.
5. Klinično interpretacijo kakršnega koli pozitivnega ali negativnega obarvanja je treba ovrednotiti v okviru klinične slike, morfologije in drugih histopatoloških meril. Klinično interpretacijo kakršnega koli pozitivnega ali negativnega obarvanja je treba dopolniti z morfološkimi študijami z uporabo ustreznih pozitivnih in negativnih notranjih in zunanjih kontrol ter drugih diagnostičnih testov. Odgovornost kvalificiranega patologa, ki je seznanjen s pravilno uporabo protiteles, reagentov in metod IHC, je za razlago vseh korakov, uporabljenih za pripravo in razlago končnega pripravka IHC.
6. Optimalna razredčitev protiteles in protokoli za določeno aplikacijo se lahko razlikujejo. Ti vključujejo, vendar niso omejeni na fiksacijo, metodo odvzema toplote, inkubacijske čase, debelino odsekov tkiva in uporabljen komplet za odkrivanje. Zaradi vrhunske občutljivosti teh edinstvenih reagentov navedeni priporočeni inkubacijski časi in titri ne veljajo za druge detekcijske sisteme, saj se lahko rezultati razlikujejo. Priporočila in protokoli podatkovnega lista temeljijo na izključni uporabi izdelkov Biocare. Navsezadnje je odgovornost raziskovalca, da določi optimalne pogoje.
7. Ta izdelek ni namenjen uporabi v pretočni citometriji. Značilnosti delovanja za pretočno citometrijo niso bile določene.
8. Tkiva oseb, okuženih z virusom hepatitisa B in vsebujejo površinski antigen hepatitisa B (HBsAg), so lahko nespecifično obarvana s hrenovo peroksidazo.[13]
9. Reagenti lahko pokažejo nepričakovane reakcije v predhodno netestiranih tkivih. Možnosti nepričakovanih reakcij tudi v testiranih skupinah tkiv ni mogoče popolnoma odpraviti zaradi biološke variabilnosti izražanja antigenov v novotvorbah ali drugih patoloških tkivih.[14] Obrnite se na tehnično podporo podjetja Biocare na 1-800-542-2002 ali prek informacij o tehnični podpori na biocare.net z dokumentiranimi nepričakovanimi reakcijami.
10. Normalni/neimunski serumi iz istega živalskega izvora kot sekundarni antiserumi, uporabljeni v korakih blokiranja, lahko povzročijo lažno negativne ali lažno pozitivne rezultate zaradi avtoprotiteles ali naravnih protiteles.
11. Lažno pozitivne rezultate lahko opazimo zaradi neimunološke vezave beljakovin ali reakcijskih produktov substrata. Lahko jih povzroči tudi aktivnost psevdo peroksidaze (eritrociti), aktivnost endogene peroksidaze (citokrom C) ali endogeni biotin (npr. jetra, dojke, možgani, ledvice), odvisno od vrste uporabljenega imunskega barvanja.[12]

Posebne omejitve izdelka:
Posebne omejitve za izdelek niso navedene.

Značilnosti delovanja:
Občutljivost, specifičnost in navzkrižna reaktivnost so povzeti v tabeli 1 oziroma 2.

Imunoreaktivnost:
V tabelah 1 in 2 spodaj so bile prikazane naslednje pozitivne in negativne imunoreaktivnosti.

Spodnji seznam ni izčrpen, vendar opisuje vrste imunoreaktivnosti, opažene pri navedenem protitelesu.

Analitična zmogljivost:
Izvedeni so bili testi obarvanja za občutljivost in specifičnost, rezultati pa so navedeni spodaj.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Slovenian

BIOCARE MEDICAL

Občutljivost in specifičnost:

Tabela 1: Občutljivost in specifičnost sta bili določeni s testiranjem obolelih tkiv, fiksiranih v formalinu in v parafinu.

Tkivo	Pozitivni primeri	Skupaj primerov
Melanom (kožni)	73	87 (83,9 %)
Metastatski melanom	19	19 (100%)
Vretenastocelični melanom	28	29 (96,6 %)
Desmoplastični melanom	3	3 (100%)
Mešane lastnosti desmoplastičnih/vretenskih celic	2	2 (100 %)
Epiteloidni melanom	2	2 (100 %)
Sarkomatoidni melanom	2	2 (100 %)
Plazmacitoidni melanom	2	2 (100 %)
Melanom balonskih celic	1	1 (100 %)
Rabdoidni melanom	20	20 (100 %)
Benigni nevus (različno)	28	28 (100%)
Schwannoma (neurilemoma)	73	87 (83,9 %)

Tabela 2: Navzkrižno reaktivnost tkiv so določili s testiranjem normalnih tkiv, fiksiranih s formalinom in v parafin.

Tkivo	Pozitivni primeri	Skupaj primerov
Veliki možgani	4	6*
Mali možgani	2	3*
Nadledvične žleze	0	3
Jajčnik	0	3
trebušna slinavka	0	3
Ščitnica	0	3
Obščitnica	0	3
Testis	0	3
kosti	0	3
Vranica	0	3
tonzil	0	3
Timus	0	3
kostni mozeg	0	3
Pljuča	0	3
srce	0	3
požiralnik	0	3
hipofiza	0	3
Prsi	2	3*
želodec	0	3
Tanko črevo	0	3
Debelo črevo	0	3
Jetra	0	3
Žleza slinavka	2	3*
Ledvica	0	3
Prostata	0	3
Maternica	0	3
Maternični vrat	0	3
Skeletna mišica	0	3
koža	3	3*
Periferni živec	2	3*
Pljuča	0	3
Larinks	0	3
Mehur	0	3
Placenta	0	3
Mezotelij	0	3

*Veliki in mali možgani: oligodendrociti in nekateri astrociti; dojke: mioepitelijske celice; žleza slinavka: mioepitelijske celice; koža: melanociti; periferni živec: Schwannove celice.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Odpravljanje težav:

1. Nobeno stekelec ni obarvan – preverite, da ugotovite, ali so bila uporabljena ustrezna pozitivna kontrola, tkivo, protitelesa in izdelki za odkrivanje.
2. Šibko obarvanje vseh stekelcev – Preverite, da ugotovite, ali so bila uporabljena ustrezna pozitivna kontrola, tkivo, protitelesa in izdelki za odkrivanje.
3. Prekomerno ozadje vseh stekelcev – morda so visoke ravni endogenega biotina (če uporabljate izdelke za odkrivanje na osnovi biotina), endogena aktivnost HRP, ki pretvarja kromogen v obarvani končni produkt (uporabite blok peroksidaze) ali presežek nespecifične interakcije z beljakovinami (uporabite beljakovino blok, kot je raztopina za blokiranje na osnovi seruma ali kazeina).
4. Odrezki tkiv se med inkubacijo sperejo s stekelcev – Preverite stekelca, da zagotovite, da so pozitivno naelektrena.
5. Specifično barvanje je pretemno – Preverite protokol, da ugotovite, ali je bil na objektnem stekelcu uporabljen ustrezen titer protiteles, kot tudi ustrezne inkubacijske čase za vse reagente. Poleg tega zagotovite, da ima protokol dovolj korakov pranja, da odstranite odvečne reagente po zaključku korakov inkubacije.

Reference:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Protitelesa Ultraline je razvilo izključno podjetje Biocare Medical LLC in ne pomenijo odobritve ali odobritve protiteles Biocare s strani Ventana Medical Systems, Inc ali Roche. Biocare, Ventana in Roche niso kakor koli povezani, povezani ali povezani. Ventana®, BenchMark®, ultraView in OptiView so blagovne znamke družbe Roche.

Protitelesa serije Q je razvila izključno družba Biocare Medical LLC in ne pomenijo odobritve ali odobritve protiteles Biocare s strani Leica Biosystems. Biocare in Leica Biosystems nista na noben način povezana, povezana ali povezana. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX in BOND-III so blagovne znamke družbe Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Spanish

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Uso previsto:
Para *in vitro* Uso diagnóstico
SOX10 (M) [BC34] es un anticuerpo monoclonal de ratón destinado al uso profesional en laboratorio después de que se haya realizado el diagnóstico inicial del tumor mediante histopatología convencional utilizando tinciones histoquímicas no inmunológicas, en la identificación cualitativa de SOX10. proteína por inmunohistoquímica (IHC) en tejidos humanos fijados con formalina e incluidos en parafina (FFPE). La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos utilizando controles adecuados y debe ser evaluada dentro del contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas de diagnóstico por un patólogo calificado como ayuda para realizar otras determinaciones clínicas.

Resumen y explicación:
El gen HMG-Box 10 (SOX10) relacionado con el factor de transcripción SRY desempeña un papel importante en la cresta neural, el sistema nervioso periférico y el desarrollo de las células melanocíticas.[15-17] SOX10 se expresa ampliamente en tejidos humanos normales, incluidos los melanocitos y el tejido mamario. SOX10 también es un marcador importante en tumores malignos como el melanoma, el carcinoma de mama, los gliomas y los tumores benignos como los schwannomas.[17-20] Más importante aún, se ha demostrado que SOX10 se expresa en el 97-100 % de los melanomas desmoplásicos y de células fusiformes y también se ha demostrado que se expresa en el 100 % de los nevos.[15] Los melanomas de células fusiformes y desmoplásicos son variantes raras del melanoma cutáneo invasivo, con una tasa de incidencia anual de aproximadamente 2 por 100 000.[21] También se ha demostrado que la mayoría de los oligodendrogliomas y un gran porcentaje de astrocitomas y glioblastomas poco diferenciados expresan SOX10.[17,19]

Patente estadounidense 9.816.997 y patentes pendientes.

Principio de Procedimiento:
Este producto de anticuerpo se puede utilizar como anticuerpo primario en pruebas inmunohistoquímicas de secciones de tejido fijadas con formalina e incluidas en parafina. En general, inmunohistoquímica (IHC) Las técnicas de tinción permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario contra el anticuerpo primario (enlace opcional anticuerpo/sonda), un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con pasos de lavado interpuestos. La activación enzimática del cromógeno da como resultado un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrir con un cubreobjetos. Los resultados se interpretan utilizando una luz. microscopio y ayuda en el diagnóstico diferencial de procesos fisiopatológicos, que pueden o Puede no estar asociado con un antígeno en particular.

Materiales y métodos:

Reactivos proporcionados:
Fuente del anfitrión: monoclonal de ratón
Reactividad de las especies: Humano; otras especies no probadas.
Clon: BC34
Isotipo: IgG1
Concentración de proteínas: Comuníquese con el soporte técnico de Biocare para conocer la concentración de Ig específica.
Especificidad: SOX10
Localización celular: Nuclear
Método: Monoclonal de ratón purificado por afinidad.

Reconstitución, mezcla, dilución, valoración:
El reactivo de anticuerpos prediluido se diluye de manera óptima para su uso con las siguientes plataformas de tinción. Una mayor dilución puede provocar la pérdida de la tinción del antígeno. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo. Las diferencias en el procesamiento de tejidos y los procedimientos técnicos en el laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados, lo que requiere la realización regular de controles internos (consulte la sección Control de calidad).
El reactivo concentrado requiere dilución como se indica en la tabla anterior.

Aplicaciones conocidas:
Inmunohistoquímica (tejidos incluidos en parafina y fijados con formalina)

Se suministra como:
Solución salina tamponada, pH 6,1 – 7,4, que contiene una proteína portadora y menos de 0,1 % de conservante de azida sódica. Consulte la Hoja de datos de seguridad para obtener detalles adicionales.

Materiales y reactivos necesarios pero no proporcionados:
Portaobjetos de microscopio cargados positivamente.
Controles de tejido positivos y negativos.
Cámara del Desierto (o horno de secado similar)
Xileno o sustituto del xileno
Etanol o alcohol reactivo
Cámara de ocultación (olla a presión)
Agua desionizada o destilada
Tampón de lavado
Reactivos de pretratamiento
Bloqueo de peroxidasa
Bloque de proteínas (opcional)
Sonda de detección y polímero.
Reactivos de control negativo
cromógenos
Hematoxilina (contratinción)
reactivo de azulado
Medio de montaje
Vidrio de protección
Microscopio óptico (aumento 40-400X)
Plataforma de tinción de portaobjetos automatizada

Las configuraciones del producto de anticuerpo están disponibles para su uso en los instrumentos indicados en la tabla anterior.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Spanish

Almacenamiento y estabilidad:
Conservar entre 2ºC y 8ºC. El producto es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta del vial, cuando se almacena en estas condiciones. No utilizar después de la fecha de caducidad. Se debe verificar el almacenamiento en cualquier condición distinta a las especificadas. Los reactivos diluidos deben utilizarse lo antes posible; almacene el reactivo restante entre 2ºC y 8ºC. Biocare no ha establecido la estabilidad del reactivo diluido por el usuario.

Se deben realizar controles positivos y negativos simultáneamente con todas las muestras de pacientes. Si se observa una tinción inesperada que no puede explicarse por variaciones en los procedimientos de laboratorio y se sospecha un problema con el anticuerpo, comuníquese con el soporte técnico de Biocare al 1-800-542-2002 o mediante la información de soporte técnico proporcionada en biocare.net.

Preparación de espécimen:
Los tejidos fijados en formalina son adecuados para su uso antes de la inclusión en parafina. Los tejidos óseos deben descalcificarse antes del procesamiento del tejido para facilitar el corte del tejido y evitar daños a las hojas del micrótomo.[1,2]

Los tejidos correctamente fijados e incluidos que expresen el antígeno objetivo especificado deben almacenarse en un lugar fresco. La Ley de Mejora de Laboratorios Clínicos (CLIA) de 1988 exige en 42 CFR §493.1259(b) que "El laboratorio debe conservar los portaobjetos teñidos al menos diez años a partir de la fecha de examen y conservar los bloques de muestras al menos dos años después de la fecha del examen".[3]

Tratamiento de tejidos antes de la tinción:
Realice la recuperación de epítopos inducida por calor (HIER) según el protocolo recomendado a continuación. Se ha demostrado que el uso rutinario de HIER antes de la IHC minimiza la inconsistencia y estandariza la tinción.[4,5]

Advertencias y precauciones:
1. Este anticuerpo contiene menos del 0,1 % de azida sódica. Las concentraciones inferiores al 0,1% no son materiales peligrosos reportables según U.S. 29 CFR 1910.1200, Comunicación de peligros de OSHA y la Directiva CE 91/155/CE. Azida de sodio (NaN_3) utilizado como conservante es tóxico si se ingiere. La azida de sodio puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre para formar azidas metálicas altamente explosivas. Al desecharlo, enjuague con grandes volúmenes de agua para evitar la acumulación de azida en las tuberías. (Centro para el Control de Enfermedades, 1976, Instituto Nacional de Seguridad y Salud Ocupacional, 1976)[6]
2. Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a ellas deben manipularse como si pudieran transmitir infecciones y eliminarse con las precauciones adecuadas. Nunca pipetee reactivos con la boca y evite el contacto de la piel y las membranas mucosas con reactivos y muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lave con abundante agua.[7]
3. La contaminación microbiana de los reactivos puede provocar un aumento de la tinción inespecífica.
4. Tiempos de incubación o temperaturas distintas a las especificadas pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.
5. No utilice el reactivo después de la fecha de vencimiento impresa en el vial.
6. El reactivo de anticuerpos prediluido se diluye de manera óptima para su uso. Una mayor dilución puede provocar la pérdida de la tinción del antígeno.
7. La dilución del reactivo de anticuerpos concentrado debe validarse antes de su uso. Cualquier diluyente utilizado que no esté específicamente recomendado también debe validarse en cuanto a compatibilidad y estabilidad.
8. Deseche todos los reactivos usados y cualquier otro material desechable contaminado siguiendo los procedimientos para desechos infecciosos o potencialmente infecciosos. Es responsabilidad de cada laboratorio manipular los residuos sólidos y líquidos según su naturaleza y grado de peligrosidad y tratarlos y eliminarlos (o hacer que los traten y eliminarlos) de acuerdo con las normas aplicables.
9. Siga las normas locales de eliminación de su ubicación junto con las recomendaciones de la Hoja de datos de seguridad para determinar la eliminación segura de este producto.
10. La SDS está disponible previa solicitud y se encuentra en http://biocare.net.
11. Para informar sospechas de incidentes graves relacionados con este dispositivo, comuníquese con el representante local de Biocare y la autoridad competente del Estado miembro o país en el que está establecido el usuario.

Instrucciones de uso:
Protocolos de tinción recomendados para SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX y uso manual:

API3099 e IPI3099 para intelliPATH FLX y uso manual, han sido estandarizados con MACH 4 Sistema de detección. Utilice TBS para los pasos de lavado.	
Bloque de peróxido:	Bloquear para 5 minutos con Peroxidazed 1
Pretratamiento:	Realice la recuperación de calor utilizando Diva Decloaker. Consulte la hoja de datos de Diva Decloaker para obtener instrucciones específicas.
Bloque de proteínas (opcional):	Incubar durante 5-10 minutos a temperatura ambiente con Background Punisher.
Anticuerpo primario:	Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
Detección:	Sonda: Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente con una sonda secundaria.
	Polímero: Incubar durante 10-20 minutos a temperatura ambiente con un polímero terciario.
Cromógeno:	Incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente con DAB de Biocare -O- Incubar durante 5-7 minutos a temperatura ambiente con Warp Red.
Contratinción:	Contrateñir con hematoxilina. Enjuague con agua desionizada. Aplicar la Solución Azulante de Tacha durante 1 minuto. Enjuague con agua desionizada.
IPI3099 está diseñado para usarse con intelliPATH FLX. Consulte el Manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Cuando se utiliza intelliPATH FLX, se puede realizar un bloqueo de peróxido con el reactivo de bloqueo de peroxidasa intelliPATH FLX (IPB5000) después de la recuperación de calor.	

Sistema automatizado de tinción de portaobjetos ONCORE Pro:

OPAI3099 está diseñado para usarse con ONCORE Pro. Consulte el Manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros de protocolo en el Editor de protocolos deben programarse de la siguiente manera:		
Opción de tinción con cromógeno	**LENGUADO**	**Rojo**
Nombre del protocolo:	SOX10	APLICACIÓN SOX10
Plantilla de protocolo (descripción):	Plantilla especial (se requiere detección ONCORE Pro-Tect)	Sra. AP Plantilla 1

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

Desparafinado (opción de tampón DS):	DS2-50	DS2-50
Recuperación de antígenos (opción AR):	AR1, pH alto; 103ºC	AR1, pH alto; 103ºC
Opción de bloqueo:	Buffer	Buffer
Nombre del reactivo, tiempo, temperatura:	SOX10, 59 min, 37°C	SOX10, 59 min, 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 está diseñado para usarse con BenchMark ULTRA. Consulte el Manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros de protocolo recomendados son los siguientes:	
Plantilla/Detección:	ultraView DAB
Protocolo de pretratamiento:	Estándar CC1
Peroxidasa:	N / A
Anticuerpo primario:	32 minutos, 37°C
Plantilla/Detección:	OptiView DAB IHC
Protocolo de pretratamiento:	CC1 32 minutos
Peroxidasa:	Inhibidor preprimario de peroxidasa
Anticuerpo primario:	16 minutos, 36°C

Serie Q – Para Leica BOND-III:

ALI3099 está diseñado para usarse con el Leica BOND-III. Consulte el Manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros de protocolo recomendados son los siguientes:		
Opción de tinción con cromógeno	**LENGUADO**	**Rojo**
Nombre del protocolo:	Protocolo IHC F	Protocolo IHC J
Detección:	Refinar polímero de enlace	Bond Polymer Refinar Rojo
AQUÍ:	20 min con ER2	20 min con ER2
Bloque de peróxido:	5 minutos	
Marcador (anticuerpo primario):	15 minutos	15 minutos
Post Primaria:	8 minutos	
Polímero:	8 minutos	
AP posterior a la primaria:		20 minutos
Polímero AP:		30 minutos
Refinación de cromógeno mixto:	10 minutos	10 minutos + 5 minutos
Hematoxilina:	5 minutos	5 minutos

Control de calidad:
Consulte los Estándares de calidad del CLSI para el diseño e implementación de ensayos de inmunohistoquímica; Guía aprobada-Segunda edición (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011[8]

Control Positivo de Tejidos: Melanoma
Los materiales de control positivo externo deben ser muestras frescas fijadas, procesadas e incluidas lo antes posible de la misma manera que las muestras del paciente. Los controles de tejido positivos son indicativos de tejidos correctamente preparados y técnicas de tinción adecuadas. En cada proceso de tinción se debe incluir un control de tejido externo positivo para cada conjunto de condiciones de prueba.

Los tejidos utilizados para los materiales de control positivo externo deben seleccionarse de muestras de pacientes con niveles bajos bien caracterizados de actividad diana positiva que proporcione una tinción positiva débil. El bajo nivel de positividad para los controles positivos externos está diseñado para garantizar la detección de cambios sutiles en la sensibilidad del anticuerpo primario debido a inestabilidad o problemas con la metodología IHC. Los portaobjetos de control de tejido disponibles comercialmente o las muestras procesadas de manera diferente a las muestras del paciente validan únicamente el rendimiento del reactivo y no verifican la preparación del tejido.

Los controles de tejido positivos conocidos solo deben utilizarse para monitorear el desempeño correcto de los tejidos procesados y los reactivos de prueba, en lugar de como ayuda para formular un diagnóstico específico de muestras de pacientes. Si los controles de tejido positivos no logran demostrar una tinción positiva, los resultados de las muestras de prueba deben considerarse inválidos.

Control de tejido negativo:
Utilice un control de tejido negativo (conocido por *ser SOX10* negativo) fijado, procesado e incluido de manera idéntica a las muestras del paciente con cada proceso de tinción para verificar la especificidad del anticuerpo primario IHC para demostración del antígeno diana y para proporcionar una indicación de tinción de fondo específica (tinción falsa positiva). Además, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de las secciones de tejido puede Ser utilizado por el laboratorio como sitios de control negativo interno para verificar el desempeño de la IHC. especificaciones. Los tipos y fuentes de muestras que pueden usarse para tejido negativo. Los controles se enumeran en la sección Características de rendimiento.

Si se produce una tinción específica (tinción falsa positiva) en el control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

Control de reactivos negativos no específicos:
Utilice un control reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con una sección de cada muestra de paciente para evaluar la tinción no específica y
permitir una mejor interpretación de la tinción específica en el sitio del antígeno. Idealmente, un control reactivo negativo contiene un anticuerpo SOX10 IgG1 producido a partir del sobrenadante de cultivo de tejidos de la misma manera que el anticuerpo primario, pero no muestra reactividad específica con tejidos humanos en la misma matriz/solución que el anticuerpo. Anticuerpo biocuidado. Diluir un anticuerpo de control negativo a la misma concentración de inmunoglobulina o proteína que el anticuerpo primario diluido. anticuerpo utilizando el mismo diluyente. Si el suero fetal de ternera se retiene en el anticuerpo puro después del procesamiento, el suero fetal de ternera en una concentración de proteínas equivalente al diluido El anticuerpo primario en el mismo diluyente también es adecuado para su uso. (Consulte el reactivo proporcionado). Se puede utilizar diluyente solo como una alternativa menos deseable a los controles reactivos negativos descritos anteriormente. El período de incubación del control reactivo negativo debe corresponder al del anticuerpo primario.

Cuando se utilizan paneles de varios anticuerpos en secciones en serie, las áreas teñidas negativamente de un portaobjetos pueden servir como control de fondo de unión negativa/no específica para otros anticuerpos. Para diferenciar la actividad enzimática endógena o la unión no específica de enzimas de la inmunorreactividad específica, se pueden teñir tejidos adicionales del paciente exclusivamente con sustrato-cromógeno o complejos enzimáticos (PAP, avidina-biotina, estreptavidina) y sustrato-cromógeno, respectivamente.

Verificación del ensayo:
Antes del uso inicial de un anticuerpo o sistema de tinción en un procedimiento de diagnóstico, el usuario debe verificar la especificidad del anticuerpo probándolo en una serie de tejidos internos con características de

rendimiento inmunohistoquímico conocidas que representen tejidos positivos y negativos conocidos. Consulte los procedimientos de control de calidad descritos anteriormente en esta sección del prospecto del producto y las recomendaciones de control de calidad del Programa de Certificación CAP.[9] para inmunohistoquímica y/o la guía NCCLS IHC[10]). Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse para cada nuevo lote de anticuerpos o siempre que haya un cambio en los parámetros del ensayo. Los tejidos enumerados en la sección Características de rendimiento son adecuados para la verificación del ensayo.

Solución de problemas:
Siga las recomendaciones del protocolo específico de anticuerpos según la hoja de datos proporcionada. Si se producen resultados atípicos, comuníquese con el soporte técnico de Biocare al 1-800-542-2002.

Interpretación de la tinción:

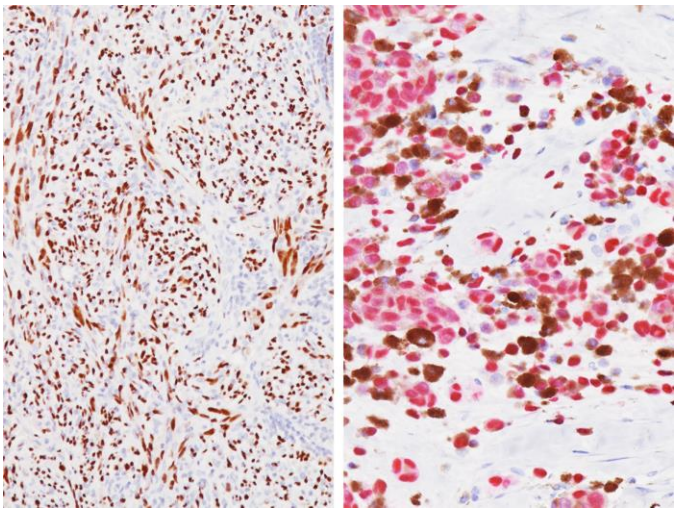
Control Positivo de Tejidos:
Primero se debe examinar el control de tejido positivo teñido con el anticuerpo indicado para comprobar que todos los reactivos funcionan correctamente. La tinción apropiada de las células diana (como se indicó anteriormente) es indicativa de reactividad positiva. Si los controles de tejido positivos no logran demostrar una tinción positiva, cualquier resultado con las muestras de prueba debe considerarse inválido.

El color del producto de reacción puede variar dependiendo de los cromógenos del sustrato utilizados. Consulte los prospectos del paquete del sustrato para conocer las reacciones de color esperadas. Además, se puede observar metacromasia en variaciones del método de tinción.[11]
Cuando se utiliza una contratinción, dependiendo de la duración de la incubación y la potencia de la contratinción utilizada, la contratinción dará como resultado una coloración de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Consulte los protocolos para conocer la contratinción recomendada.

Control de tejido negativo:
El control de tejido negativo debe examinarse después del control de tejido positivo para verificar la especificidad del marcaje del antígeno diana por parte del anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la falta de reactividad cruzada de anticuerpos con células/componentes celulares. Si se produce una tinción específica (tinción falsa positiva) en el control de tejido externo negativo, los resultados con la muestra del paciente se deben considerar no válidos.

La tinción inespecífica, si está presente, suele tener una apariencia difusa. También se puede observar tinción esporádica del tejido conectivo en secciones de tejidos excesivamente fijados con formalina. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. Las células necróticas o degeneradas a menudo se tiñen de forma inespecífica.

Tejido del paciente:
Examinar muestras de pacientes teñidas con el anticuerpo indicado. último. La intensidad de la tinción positiva debe evaluarse en el contexto de cualquier tinción de fondo inespecífica del control de reactivo negativo. Como ocurre con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se detectó el antígeno, no que el antígeno estuviera ausente en las células/tejido analizado. Si es necesario, utilice un panel de anticuerpos para identificar reacciones falsas negativas.



(Izquierda) Melanoma de células fusiformes (DAB); (Derecha) Melanoma pigmentado (rojo rápido).

Consulte Resumen y explicación, limitaciones y características de rendimiento para obtener información específica sobre la inmunorreactividad de los anticuerpos indicada.

Limitaciones:

Limitaciones generales:
1. Para *in vitro* Uso diagnóstico
2. Este producto es sólo para uso profesional: La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico de varios pasos que consiste en una capacitación especializada en la selección de los reactivos adecuados; selección, fijación y procesamiento de tejidos; preparación del portaobjetos IHC; e interpretación de los resultados de la tinción.
3. La tinción de tejidos depende de la manipulación y procesamiento del tejido antes de la tinción. La fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento, corte o contaminación inadecuados con otros tejidos o fluidos pueden producir artefactos, atrapamiento de anticuerpos o resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden deberse a variaciones en los métodos de fijación e inclusión, o a irregularidades inherentes dentro del tejido.[12]
4. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
5. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva o negativa debe evaluarse dentro del contexto de la presentación clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva o negativa debe complementarse con estudios morfológicos utilizando controles internos y externos positivos y negativos adecuados, así como otras pruebas de diagnóstico. Es responsabilidad de un patólogo calificado que esté familiarizado con el uso adecuado de los anticuerpos, reactivos y métodos de IHC interpretar todos los pasos utilizados para preparar e interpretar la preparación IHC final.
6. La dilución óptima de anticuerpos y los protocolos para una aplicación específica pueden variar. Estos incluyen, entre otros, fijación, método de recuperación de calor, tiempos de incubación, espesor de la sección de tejido y kit de detección utilizado. Debido a la sensibilidad superior de estos reactivos únicos, los tiempos de incubación recomendados y los títulos enumerados no son aplicables a otros sistemas de detección, ya que los resultados pueden variar. Las recomendaciones y protocolos de la ficha técnica se basan en el uso exclusivo de productos Biocare.

En última instancia, es responsabilidad del investigador determinar las condiciones óptimas.

7. Este producto no está diseñado para usarse en citometría de flujo. No se han determinado las características de rendimiento para la citometría de flujo.
8. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contienen el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) pueden presentar tinciones inespecíficas con peroxidasa de rábano picante.[13]
9. Los reactivos pueden demostrar reacciones inesperadas en tejidos no probados previamente. La posibilidad de reacciones inesperadas incluso en grupos de tejidos probados no se puede eliminar por completo debido a la variabilidad biológica de la expresión de antígenos en neoplasias u otros tejidos patológicos.[14] Comuníquese con el soporte técnico de Biocare al 1-800-542-2002, o a través de la información de soporte técnico proporcionada en biocare.net, con reacciones inesperadas documentadas.
10. Los sueros normales/no inmunes de la misma fuente animal que los antisueros secundarios utilizados en los pasos de bloqueo pueden causar resultados falsos negativos o falsos positivos debido a autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
11. Se pueden observar resultados falsos positivos debido a la unión no inmunológica de proteínas o productos de reacción del sustrato. También pueden ser causados por actividad pseudo peroxidasa (eritrocitos), actividad peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (p. ej., hígado, mama, cerebro, riñón), según el tipo de inmunotinción utilizada.[12]

Limitaciones específicas del producto:
No se observaron limitaciones específicas del producto.

Características de presentación:
La sensibilidad, especificidad y reactividad cruzada se resumen en las Tablas 1 y 2, respectivamente.

Inmunoreactividad:
Las siguientes inmunorreactividades positivas y negativas se han demostrado en las Tablas 1 y 2 a continuación.

La lista que se proporciona a continuación no es exhaustiva, pero caracteriza los tipos de inmunorreactividades observadas con el anticuerpo indicado.

Rendimiento analítico:
Se realizaron pruebas de tinción para determinar sensibilidad y especificidad y los resultados se enumeran a continuación.

Sensibilidad y especificidad:

Tabla 1: La sensibilidad y la especificidad se determinaron analizando tejidos enfermos fijados en formalina e incluidos en parafina.

Tejido	Casos Positivos	Casos totales
Melanoma (cutáneo)	73	87 (83,9%)
melanoma metastásico	19	19 (100%)
Melanoma de células fusiformes	28	29 (96,6%)
Melanoma desmoplásico	3	3 (100%)
Características mixtas desmoplásticas/células fusiformes	2	2 (100%)
melanoma epitelioide	2	2 (100%)
melanoma sarcomatoide	2	2 (100%)
Melanoma plasmocitoide	2	2 (100%)
Melanoma de células de globo	1	1 (100%)
melanoma rabdoide	20	20 (100%)
Nevus benigno (varios)	28	28 (100%)
Schwannoma (neurilemoma)	73	87 (83,9%)

Tabla 2: La reactividad cruzada del tejido se determinó analizando tejidos normales fijados con formalina e incluidos en parafina.

Tejido	Casos Positivos	Casos totales
Cerebro	4	6*
Cerebelo	2	3*
Suprarrenal	0	3
Ovario	0	3
Páncreas	0	3
Tiroides	0	3
Paratiroides	0	3
Testículo	0	3
Hueso	0	3
Bazo	0	3
Amígdala	0	3
timo	0	3
Médula ósea	0	3
Pulmón	0	3
Corazón	0	3
Esófago	0	3
Pituitaria	0	3
Mama	2	3*
Estómago	0	3
Intestino delgado	0	3
Colon	0	3
Hígado	0	3
Glándula salival	2	3*
Riñón	0	3
Próstata	0	3
Útero	0	3
Cuello uterino	0	3
Músculo esquelético	0	3
Piel	3	3*
Nervio periférico	2	3*
Pulmón	0	3
Laringe	0	3
Vejiga	0	3
Placenta	0	3
mesotelio	0	3

*Cerebro y cerebelo: oligodendrocitos y algunos astrocitos; mama: células mioepiteliales; glándula salival: células mioepiteliales; piel: melanocitos; Nervio periférico: células de Schwann.

Solución de problemas:

1. Sin tinción de ningún portaobjetos: verifique que se hayan utilizado tejido de control positivo, anticuerpos y productos de detección adecuados.
2. Tinción débil de todos los portaobjetos: verifique que se hayan utilizado tejido de control positivo, anticuerpos y productos de detección adecuados.
3. Fondo excesivo en todos los portaobjetos: puede haber niveles altos de biotina endógena (si se utilizan productos de detección basados en biotina), actividad HRP endógena que convierte el cromógeno en un producto final coloreado (use un bloque de peroxidasa) o un exceso de interacción proteica no específica (use una proteína). bloqueante, como una solución bloqueadora a base de suero o caseína).
4. Las secciones de tejido se lavan de los portaobjetos durante la incubación. Revise los portaobjetos para asegurarse de que estén cargados positivamente.
5. Tinción específica demasiado oscura: consulte el protocolo para determinar si se aplicó el título de anticuerpos adecuado al portaobjetos, así como los tiempos de incubación adecuados para todos los reactivos. Además, asegúrese de que el protocolo tenga suficientes pasos de lavado para eliminar el exceso de reactivos una vez completados los pasos de incubación.

Referencias:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Los anticuerpos Ultraline son desarrollados únicamente por Biocare Medical LLC y no implican la aprobación ni el respaldo de los anticuerpos de Biocare por parte de Ventana Medical Systems, Inc o Roche. Biocare, Ventana y Roche no están afiliados, asociados ni relacionados de ninguna manera. Ventana®, BenchMark®, ultraView y OptiView son marcas comerciales de Roche.

Los anticuerpos de la serie Q son desarrollados únicamente por Biocare Medical LLC y no implican la aprobación ni el respaldo de los anticuerpos Biocare por parte de Leica Biosystems. Biocare y Leica Biosystems no están afiliados, asociados ni relacionados de ninguna manera. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX y BOND-III son marcas comerciales de Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Swedish

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Avsedd användning:
För *in vitro* Diagnostisk användning
SOX10 (M) [BC34] är en monoklonal musantikropp som är avsedd för professionell laboratorieanvändning efter att den initiala diagnosen av tumör har ställts med konventionell histopatologi med användning av icke-immunologiska histokemiska färger, i kvalitativ identifiering av SOX10 protein genom immunhistokemi (IHC) i formalinfixerade paraffininbäddade (FFPE) mänskliga vävnader. Den kliniska tolkningen av eventuell färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska studier med lämpliga kontroller och bör utvärderas inom ramen för patientens kliniska historia och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog som ett hjälpmedel för att göra andra kliniska bestämningar.

Sammanfattning och förklaring:
Transkriptionsfaktorn SRY-relaterade HMG-Box-genen 10 (SOX10) spelar en viktig roll i utvecklingen av neural crest, perifert nervsystem och melanocytiska celler.[15-17] SOX10 uttrycks brett i normala mänskliga vävnader inklusive melanocyter och bröstvävnad. SOX10 är också en viktig markör vid maligna tumörer som melanom, bröstkarcinom, gliom och godartade tumörer som schwannom.[17-20] Ännu viktigare, SOX10 har visat sig uttryckas i 97-100 % av desmoplastiska och spindelcellsmelanom och har också visat sig uttryckas i 100 % av nevi.[15] Spindelcells- och desmoplastiska melanom är sällsynta varianter av invasivt kutant melanom, med en årlig incidens på cirka 2 per 100 000.[21] Majoriteten av oligodendrogliom och en stor andel av astrocytom och dåligt differentierade glioblastom har också visat sig uttrycka SOX10.[17,19]

U.S. Patent 9 816 997 och patentsökta.

Procedurprincip:
Denna antikroppsprodukt kan användas som den primära antikroppen vid immunhistokemitestning av formalinfixerade, paraffininbäddade vävnadssnitt. I allmänhet immunhistokemiska (IHC) färgningstekniker möjliggör visualisering av antigener via sekventiell applicering av en specifik antikropp mot antigenet (primär antikropp), en sekundär antikropp mot den primära antikroppen (valfri länkantikropp/sond), ett enzymkomplex och ett kromogent substrat med mellanliggande tvättsteg. Den enzymatiska aktiveringen av kromogenen resulterar i en synlig reaktionsprodukt vid antigenstället. Provet kan sedan motfärgas och locket glider. Resultaten tolkas med hjälp av ett ljus mikroskop och hjälp vid differentialdiagnostik av patofysiologiska processer, som kan eller kanske inte är associerad med ett visst antigen.

Material och metoder:

Reagens som tillhandahålls:
Värdkälla: Mus monoklonal
Arters reaktivitet: Mänsklig; andra arter inte testade.
Klona: BC34
Isotyp: IgGl
Proteinkoncentration: Kontakta Biocares tekniska support för specifik Ig-koncentration.
Specificitet: SOX10
Cellulär lokalisering: Kärn
Metod: Affinitetsrenad mus monoklonal.

Rekonstitution, blandning, spädning, titrering:
Förspädd antikroppsreagens är optimalt utspädd för användning med nedanstående färgningsplattformar. Ytterligare utspädning kan resultera i förlust av antigenfärgning. Användaren måste validera alla sådana ändringar. Skillnader i vävnadsbearbetning och tekniska procedurer i användarens laboratorium kan ge betydande variationer i resultat som kräver regelbunden utförande av interna kontroller (se avsnittet Kvalitetskontroll).
Koncentrerat reagens kräver spädning enligt tabellen ovan.

Kända applikationer:
Immunhistokemi (formalinfixerade paraffininbäddade vävnader)

Levereras som:
Bufferad koksaltlösning, pH 6,1–7,4, innehållande en proteinbärare och mindre än 0,1 % natriumazidkonserveringsmedel. Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information.

Material och reagens som behövs men inte tillhandahålls:
Objektglas positivt laddade.
Positiva och negativa vävnadskontroller
Desert Chamber (eller liknande torkugn)
Xylen eller xylenersättning
Etanol eller reagens alkohol
Decloaking Chamber (tryckkokare)
Avjoniserat eller destillerat vatten
Tvättbuffert
Förbehandlingsreagens
Peroxidasblock
Proteinblock (valfritt)
Detektionssond och polymer
Negativa kontrollreagenser
Kromogener
Hematoxylin (motfärgning)
Blånande reagens
Monteringsmedium
Täckglas
Ljusmikroskop (40-400X förstoring)
Automatiserad Slide Staining Platform

Konfigurationer av antikroppsprodukten är tillgängliga för användning på de instrument som anges i tabellen ovan.

Lagring och stabilitet:
Förvara vid 2ºC till 8ºC. Produkten är stabil till det utgångsdatum som är tryckt på injektionsflaskans etikett när den förvaras under dessa förhållanden. Använd inte efter utgångsdatum. Förvaring under alla andra förhållanden än de angivna måste verifieras. Utspädda reagenser bör användas omedelbart; förvara eventuellt kvarvarande reagens vid 2ºC till 8ºC. Stabiliteten för användarens utspädda reagens har inte fastställts av Biocare.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Positiva och negativa kontroller bör köras samtidigt med alla patientprover. Om oväntad färgning observeras som inte kan förklaras av variationer i laboratorieprocedurer och ett problem med antikroppen misstänks, kontakta Biocares tekniska support på 1-800-542-2002 eller via den tekniska supportinformationen på biocare.net.

Provförberedelse:
Vävnader fixerade i formalin är lämpliga för användning före paraffininbäddning. Ossös vävnad bör avkalkas före vävnadsbearbetning för att underlätta vävnadsskärning och förhindra skador på mikrotombladen.[1,2]

Korrekt fixerade och inbäddade vävnader som uttrycker det specificerade antigenmålet bör förvaras på en sval plats. Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) från 1988 kräver i 42 CFR §493.1259(b) att "Laboratoriet måste behålla färgade objektglas minst tio år från datumet för undersöka och behålla provblocken minst två år från datumet för undersökningen."[3]

Behandling av vävnader före färgning:
Utför Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) enligt rekommenderat protokoll nedan. Rutinmässig användning av HIER före IHC har visat sig minimera inkonsekvens och standardisera färgning.[4,5]

Varning och försiktighetsåtgärder:
1. Denna antikropp innehåller mindre än 0,1 % natriumazid. Koncentrationer mindre än 0,1 % är inte rapporterbara farliga material enligt U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication och EG-direktiv 91/155/EC. Natriumazid (NaN_3) som används som konserveringsmedel är giftigt vid förtäring. Natriumazid kan reagera med bly- och kopparrör för att bilda högexplosiva metallazider. Vid kassering, spola med stora volymer vatten för att förhindra aziduppbyggnad i rörledningar. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)[6]
2. Prover, före och efter fixering, och allt material som exponeras för dem ska hanteras som om de skulle kunna överföra infektion och kasseras med lämpliga försiktighetsåtgärder. Pipettera aldrig reagens genom munnen och undvik att komma i kontakt med huden och slemhinnorna med reagenser och prover. Om reagenser eller prover kommer i kontakt med känsliga områden, tvätta med rikliga mängder vatten.[7]
3. Mikrobiell kontaminering av reagenser kan resultera i en ökning av ospecifik färgning.
4. Andra inkubationstider eller temperaturer än de angivna kan ge felaktiga resultat. Användaren måste validera alla sådana ändringar.
5. Använd inte reagens efter det utgångsdatum som är tryckt på flaskan.
6. Förutspädd antikroppsreagens är optimalt utspädd för användning. Ytterligare utspädning kan resultera i förlust av antigenfärgning.
7. Spädning av koncentrerad antikroppsreagens måste valideras före användning. Alla spädningsmedel som inte rekommenderas specifikt måste också valideras för kompatibilitet och stabilitet.
8. Kassera alla använda reagenser och alla andra kontaminerade engångsmaterial enligt procedurer för smittsamt eller potentiellt smittsamt avfall. Det är varje laboratoriums ansvar att hantera fast och flytande avfall i enlighet med deras natur och grad av farlighet och att behandla och kassera det (eller låta behandla och kassera dem) i enlighet med tillämpliga bestämmelser.
9. Följ lokala avfallsföreskrifter för din plats tillsammans med rekommendationerna i säkerhetsdatabladet för att fastställa säker kassering av denna produkt
10. Säkerhetsdatabladet är tillgängligt på begäran och finns på http://biocare.net.
11. För att rapportera misstänkta allvarliga incidenter relaterade till denna enhet, kontakta den lokala Biocare-representanten och den behöriga myndigheten i den medlemsstat eller det land där användaren är etablerad.

Användningsinstruktioner:
Rekommenderade färgningsprotokoll för SOX10 [BC34]:

IntelliPATH FLX och manuell användning:

API3099 och IPI3099 för intelliPATH FLX och manuell användning, har standardiserats med MACH 4 detektionssystem. Använd TBS för tvättsteg.	
Peroxidblock:	Blockera för 5 minuter med Peroxidazed 1
Förbehandling:	Utför värmeåtervinning med Diva Decloaker. Se Diva Decloakers datablad för specifika instruktioner.
Proteinblock (valfritt):	Inkubera i 5-10 minuter vid RT med Background Punisher.
Primär antikropp:	Inkubera i 30 minuter vid RT.
Upptäckt:	Sond: Inkubera i 10 minuter vid RT med en sekundär sond.
	Polymer: Inkubera i 10-20 minuter vid RT med en tertiär polymer.
Kromogen:	Inkubera i 5 minuter vid RT med Biocares DAB - ELLER- Inkubera i 5-7 minuter vid RT med Warp Red.
Motfärgning:	Motfärga med hematoxylin. Skölj med avjoniserat vatten. Applicera Tacha's Blueing Solution i 1 minut. Skölj med avjoniserat vatten.
IPI3099 är avsedd för användning med intelliPATH FLX. Se användarmanualen för specifika instruktioner för användning. När du använder intelliPATH FLX kan peroxidblockering med intelliPATH FLX peroxidasblockerande reagens (IPB5000) utföras efter värmeåtervinning.	

ONCORE Pro Automated Slide Staining System:

OPAI3099 är avsedd för användning med ONCORE Pro. Se användarmanualen för specifika instruktioner för användning. Protokollparametrar i Protocol Editor bör programmeras enligt följande:		
Alternativ för kromogenfärgning	**BADDA**	**Röd**
Protokollnamn:	SOX10	SOX10 APP
Protokollmall (beskrivning):	Specialmall (ONCORE Pro-Tect-detektion krävs)	Ms AP-mall 1
Avvaxning (DS-buffertalternativ):	DS2-50	DS2-50
Antigenåtervinning (AR-alternativ):	AR1, högt pH; 103°C	AR1, högt pH; 103°C
Blockeringsalternativ:	Buffert	Buffert
Reagensnamn, tid, temp.:	SOX10, 59 min., 37°C	SOX10, 59 min., 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099 är avsedd för användning med BenchMark ULTRA. Se användarmanualen för specifika instruktioner för användning. Rekommenderade protokollparametrar är följande:	
Mall/detektion:	ultraView DAB
Förbehandlingsprotokoll:	CC1 Standard
Peroxidas:	N/A
Primär antikropp:	32 minuter, 37°C
Mall/detektion:	OptiView DAB IHC
Förbehandlingsprotokoll:	CC1 32 minuter
Peroxidas:	Preprimär peroxidashämmare

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands
IVD CE
TP v6 (11/02/2023)
Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Primär antikropp:	16 minuter, 36°C

Q-serien – För Leica BOND-III:

ALI3099 är avsedd att användas med Leica BOND-III. Se användarmanualen för specifika instruktioner för användning. Rekommenderade protokollparametrar är följande:

Alternativ för kromogenfärgning	**BADDA**	**Röd**
Protokollnamn:	IHC-protokoll F	IHC-protokoll J
Upptäckt:	Bond Polymer Refine	Bond Polymer Refine Red
HÄR:	20 min med ER2	20 min med ER2
Peroxidblock:	5 min	
Markör (primär antikropp):	15 min	15 min
Post Primär:	8 min	
Polymer:	8 min	
Post Primär AP:		20 min
Polymer AP:		30 minuter
Mixed Chromogen Refine:	10 minuter	10 min + 5 min
Hematoxylin:	5 min	5 min

Kvalitetskontroll:
Se CLSI kvalitetsstandarder för design och implementering av immunhistokemianalyser; Godkänd guideline-andra upplagan (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011[8]

Positiv vävnadskontroll: Melanom
Externt positivt kontrollmaterial bör vara färska prover fixerade, bearbetade och inbäddade så snart som möjligt på samma sätt som patientprovet/patienterna. Positiva vävnadskontroller tyder på korrekt preparerade vävnader och korrekta färgningstekniker. En positiv extern vävnadskontroll för varje uppsättning testbetingelser bör inkluderas i varje färgningskörning.

De vävnader som används för de externa positiva kontrollmaterialen bör väljas från patientprover med välkarakteriserade låga nivåer av den positiva målaktiviteten som ger svag positiv färgning. Den låga nivån av positivitet för externa positiva kontroller är utformad för att säkerställa upptäckt av subtila förändringar i den primära antikroppens känslighet från instabilitet eller problem med IHC-metoden. Kommersiellt tillgängliga vävnadskontrollobjektglas eller prover som bearbetats annorlunda än patientproven/patienterna validerar endast reagensprestanda och verifierar inte vävnadsberedning.

Kända positiva vävnadskontroller bör endast användas för att övervaka korrekt prestanda hos bearbetade vävnader och testreagens, snarare än som ett hjälpmedel för att formulera en specifik diagnos av patientprover. Om de positiva vävnadskontrollerna inte visar positiv färgning, bör resultaten med testproverna anses ogiltiga.

Negativ vävnadskontroll:
Använd en negativ vävnadskontroll (känd för *vara SOX10* negativ) fixerad, bearbetad och inbäddad på ett sätt som är identiskt med patientprovet/patientproverna med varje färgningskörning för att verifiera specificiteten hos den primära IHC-antikroppen för demonstration av målantigenet och för att ge en indikation på specifik bakgrundsfärgning (falsk positiv färgning). Också mångfalden av olika celltyper som finns i de flesta vävnadssnitt kan användas av laboratoriet som interna negativa kontrollplatser för att verifiera IHC:s prestanda specifikationer. Typer och källor för prover som kan användas för negativ vävnad kontrollerna listas i avsnittet Prestandaegenskaper.

Om specifik färgning (falsk positiv färgning) inträffar i den negativa vävnadskontrollen, bör resultaten med patientproverna anses ogiltiga.

Ospecifik negativ reagenskontroll:
Använd en ospecifik negativ reagenskontroll i stället för den primära antikroppen med en sektion av varje patientprov för att utvärdera ospecifik färgning och
möjliggör bättre tolkning av specifik färgning på antigenstället. Helst innehåller en negativ reagenskontroll en SOX10 IgG1-antikropp framställd från vävnadskultursupernatant på samma sätt som den primära antikroppen men uppvisar ingen specifik reaktivitet med mänskliga vävnader i samma matris/lösning som Biocare antikropp. Späd en negativ kontrollantikropp mot samma immunglobulin- eller proteinkoncentration som den utspädda primära antikropp med användning av identiskt utspädningsmedel. Om fetalt kalvserum hålls kvar i den rena antikroppen efter bearbetning, fetalt kalvserum i en proteinkoncentration som motsvarar den utspädda primär antikropp i samma spädningsmedel är också lämplig för användning. (Se medföljande reagens). Enbart utspädningsmedel kan användas som ett mindre önskvärt alternativ till de tidigare beskrivna negativa reagenskontrollerna. Inkubationstiden för den negativa reagenskontrollen bör motsvara den för den primära antikroppen.

När paneler med flera antikroppar används på seriella snitt, kan de negativt färgande områdena på ett objektglas fungera som en negativ/ickespecifik bindningsbakgrundskontroll för andra antikroppar. För att differentiera endogen enzymaktivitet eller ospecifik bindning av enzymer från specifik immunreaktivitet, kan ytterligare patientvävnader färgas uteslutande med substrat-kromogen eller enzymkomplex (PAP, avidin-biotin, streptavidin) respektive substrat-kromogen.

Analysverifiering:
Innan en antikropp eller färgningssystem används i ett diagnostiskt förfarande, bör användaren verifiera antikroppens specificitet genom att testa den på en serie interna vävnader med kända immunhistokemiska prestandaegenskaper som representerar kända positiva och negativa vävnader. Se kvalitetskontrollprocedurerna som tidigare beskrivits i detta avsnitt av produktbilagan och till kvalitetskontrollrekommendationerna i CAP Certification Program[9] för immunhistokemi och/eller NCCLS IHC-riktlinje[10]). Dessa kvalitetskontrollprocedurer bör upprepas för varje nytt antikroppsparti, eller närhelst det sker en förändring i analysparametrarna. Vävnader listade i avsnittet Prestandaegenskaper är lämpliga för analysverifiering.

Felsökning:
Följ de antikroppsspecifika protokollrekommendationerna enligt det medföljande databladet. Om atypiska resultat uppstår, kontakta Biocares tekniska support på 1-800-542-2002.

Tolkning av färgning:

Positiv vävnadskontroll:
Den positiva vävnadskontrollen färgad med indikerad antikropp bör undersökas först för att säkerställa att alla reagenser fungerar korrekt. Lämplig färgning av målceller (som indikerat ovan) indikerar positiv reaktivitet. Om de positiva vävnadskontrollerna inte visar positiv färgning, bör alla resultat med testproverna anses ogiltiga.

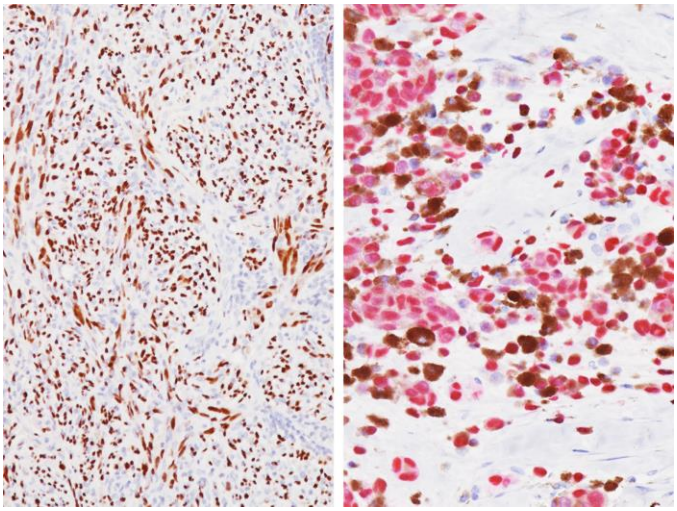
Färgen på reaktionsprodukten kan variera beroende på använda substratkromogener. Se substratets bipacksedel för förväntade

färgreaktioner. Vidare kan metakromasi observeras i variationer av färgningsmetoden.[11]
När en motfärgning används, beroende på inkubationslängden och styrkan hos den använda motfärgningen, kommer motfärgning att resultera i en färgning av cellkärnorna. Överdriven eller ofullständig motfärgning kan äventyra korrekt tolkning av resultaten. Se protokoll för rekommenderad motfärgning.

Negativ vävnadskontroll:
Den negativa vävnadskontrollen bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen för att verifiera specificiteten för märkningen av målantigenet med den primära antikroppen. Frånvaron av specifik färgning i den negativa vävnadskontrollen bekräftar avsaknaden av antikroppskorsreaktivitet mot celler/cellulära komponenter. Om specifik färgning (falsk positiv färgning) inträffar i den negativa externa vävnadskontrollen, bör resultaten med patientprovet anses ogiltiga.

Ospecifik färgning, om sådan finns, har vanligtvis ett diffust utseende. Sporadisk färgning av bindväv kan också observeras i snitt från alltför formalinfixerade vävnader. Använd intakta celler för tolkning av färgningsresultat. Nekrotiska eller degenererade celler färgas ofta ospecifikt.

Patientvävnad:
Undersök patientprover färgade med indikerad antikropp sista. Positiv färgningsintensitet bör bedömas inom ramen för eventuell ospecifik bakgrundsfärgning av den negativa reagenskontrollen. Som med alla immunhistokemiska tester betyder ett negativt resultat att antigenet inte upptäcktes, inte att antigenet saknades i cellerna/vävnaden som analyserades. Använd vid behov en panel av antikroppar för att identifiera falsknegativa reaktioner.



(Vänster) Spindelcellsmelanom (DAB); (Höger) Pigmenterat melanom (snabbt rött).

Se Sammanfattning och förklaring, begränsningar och prestandaegenskaper för specifik information om indikerad antikroppsimmunreaktivitet.

Begränsningar:

Allmänna begränsningar:
1. För *in vitro* diagnostisk användning
2. Denna produkt är endast avsedd för professionellt bruk: Immunhistokemi är en diagnostisk process i flera steg som består av specialiserad utbildning i val av lämpliga reagenser; vävnadsval, fixering och bearbetning; förberedelse av IHC-objektglaset; och tolkning av färgningsresultaten.
3. Vävnadsfärgning är beroende av hantering och bearbetning av vävnaden före färgning. Felaktig fixering, frysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, sektionering eller kontaminering med andra vävnader eller vätskor kan ge artefakter, antikroppsfångning eller falskt negativa resultat. Inkonsekventa resultat kan bero på variationer i fixerings- och inbäddningsmetoder, eller på inneboende oregelbundenheter i vävnaden.[12]
4. Överdriven eller ofullständig motfärgning kan äventyra korrekt tolkning av resultaten.
5. Den kliniska tolkningen av positiv eller negativ färgning bör utvärderas mot bakgrund av klinisk presentation, morfologi och andra histopatologiska kriterier. Den kliniska tolkningen av positiv eller negativ färgning bör kompletteras med morfologiska studier med korrekta positiva och negativa interna och externa kontroller samt andra diagnostiska tester. Det är en kvalificerad patolog som är bekant med korrekt användning av IHC-antikroppar, reagens och metoder som ansvarar för att tolka alla steg som används för att förbereda och tolka det slutliga IHC-preparatet.
6. Den optimala antikroppsspädningen och protokollen för en specifik tillämpning kan variera. Dessa inkluderar, men är inte begränsade till, fixering, värmeåtervinningsmetod, inkubationstider, vävnadssnitttjocklek och detektionskit som används. På grund av den överlägsna känsligheten hos dessa unika reagenser är de rekommenderade inkubationstiderna och titrarna som anges inte tillämpliga på andra detektionssystem, eftersom resultaten kan variera. Databladets rekommendationer och protokoll är baserade på exklusiv användning av Biocare-produkter. Ytterst är det utredarens ansvar att fastställa optimala förhållanden.
7. Denna produkt är inte avsedd för användning i flödescytometri. Prestandaegenskaper har inte fastställts för flödescytometri.
8. Vävnader från personer infekterade med hepatit B-virus och som innehåller hepatit B-ytantigen (HBsAg) kan uppvisa ospecifik färgning med pepparrotsperoxidas.[13]
9. Reagenser kan uppvisa oväntade reaktioner i tidigare otestade vävnader. Möjligheten för oväntade reaktioner även i testade vävnadsgrupper kan inte helt elimineras på grund av biologisk variation av antigenuttryck i neoplasmer eller andra patologiska vävnader.[14] Kontakta Biocares tekniska support på 1-800-542-2002, eller via den tekniska supportinformationen på biocare.net, med dokumenterade oväntade reaktioner.
10. Normala/icke-immuna sera från samma djurkälla som sekundära antisera som används i blockeringssteg kan orsaka falsknegativa eller falskt positiva resultat på grund av autoantikroppar eller naturliga antikroppar.
11. Falskt positiva resultat kan ses på grund av icke-immunologisk bindning av proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan också orsakas av pseudoperoxidasaktivitet (erytrocyter), endogen peroxidasaktivitet (cytokrom C) eller endogent biotin (t.ex. lever, bröst, hjärna, njure) beroende på vilken typ av immunfärgning som används.[12]

Produktspecifika begränsningar:
Inga produktspecifika begränsningar noterade.

Prestandaegenskaper:
Sensitivitet, specificitet och korsreaktivitet sammanfattas i tabellerna 1 respektive 2.

Immunreaktivitet:
Följande positiva och negativa immunreaktiviteter har visats i tabellerna 1 och 2 nedan.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Swedish

Listan nedan är inte uttömmande men karakteriserar de typer av immunreaktiviteter som observerats med den angivna antikroppen.

Analytisk prestanda:
Färgningstester för sensitivitet och specificitet utfördes och resultaten listas nedan.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Swedish

BIOCARE MEDICAL

Känslighet och specificitet:

Bord 1: Sensitivitet och specificitet bestämdes genom att testa formalinfixerade, paraffininbäddade sjuka vävnader.

Vävnad	Positiva fall	Totalt ärenden
Melanom (hud)	73	87 (83,9 %)
Metastaserande melanom	19	19 (100 %)
Spindelcells melanom	28	29 (96,6 %)
Desmoplastiskt melanom	3	3 (100 %)
Blandade funktioner av desmoplast/spindelcell	2	2 (100 %)
Epiteloid melanom	2	2 (100 %)
Sarkomatoid melanom	2	2 (100 %)
Plasmacytoid melanom	2	2 (100 %)
Ballongcells melanom	1	1 (100 %)
Rhabdoid melanom	20	20 (100 %)
Godartad Nevus (Various)	28	28 (100 %)
Schwannom (neurilemmom)	73	87 (83,9 %)

Tabell 2: Vävnadskorsreaktivitet bestämdes genom att testa formalinfixerade, paraffininbäddade normala vävnader.

Vävnad	Positiva fall	Totalt ärenden
Stora hjärnan	4	6*
Lilla hjärnan	2	3*
Binjuren	0	3
Äggstock	0	3
Bukspottkörteln	0	3
Sköldkörteln	0	3
Paratyreoidea	0	3
Testis	0	3
Ben	0	3
Mjälte	0	3
Tonsill	0	3
Bräss	0	3
Benmärg	0	3
Lunga	0	3
Hjärta	0	3
Matstrupe	0	3
Hypofys	0	3
Bröst	2	3*
Mage	0	3
Tunntarm	0	3
Kolon	0	3
Lever	0	3
Spottkörtel	2	3*
Njure	0	3
Prostata	0	3
Livmoder	0	3
Livmoderhalsen	0	3
Skelettmuskel	0	3
Hud	3	3*
Perifer nerv	2	3*
Lunga	0	3
Struphuvud	0	3
Blåsa	0	3
Placenta	0	3
Mesothelium	0	3

*Hjärnhjärna och lillhjärna: oligodendrocyter och vissa astrocyter; bröst: myoepitelceller; spottkörtel: myoepitelceller; hud: melanocyter; perifer nerv: Schwann-celler.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Felsökning:

1. Ingen färgning av några objektglas – Kontrollera att lämplig positiv kontrollvävnad, antikroppar och detektionsprodukter har använts.
2. Svag färgning av alla objektglas – Kontrollera att lämplig positiv kontrollvävnad, antikroppar och detektionsprodukter har använts.
3. Överdriven bakgrund av alla objektglas – Det kan finnas höga nivåer av endogent biotin (om du använder biotinbaserade detektionsprodukter), endogen HRP-aktivitet som omvandlar kromogen till färgad slutprodukt (använd peroxidasblock) eller överskott av icke-specifik proteininteraktion (använd ett protein block, såsom serum- eller kaseinbaserad blockeringslösning).
4. Vävnadssektioner tvättar bort objektglasen under inkubationen – Kontrollera objektglasen för att säkerställa att de är positivt laddade.
5. Specifik färgning för mörk – Kontrollera protokollet för att avgöra om korrekt antikroppstiter applicerades på objektglaset, samt korrekta inkubationstider för alla reagenser. Se dessutom till att protokollet har tillräckligt med tvättsteg för att ta bort överflödigt reagens efter att inkubationsstegen har slutförts.

Referenser:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline-antikroppar utvecklas enbart av Biocare Medical LLC och innebär inte godkännande eller godkännande av Biocare-antikroppar av Ventana Medical Systems, Inc eller Roche. Biocare, Ventana och Roche är inte anslutna, associerade eller relaterade på något sätt. Ventana®, BenchMark®, ultraView och OptiView är varumärken som tillhör Roche.

Antikroppar i Q-serien utvecklas enbart av Biocare Medical LLC och innebär inte godkännande eller godkännande av Biocare-antikroppar av Leica Biosystems. Biocare och Leica Biosystems är inte anslutna, associerade eller relaterade på något sätt. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX och BOND-III är varumärken som tillhör Leica Biosystems.

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Turkish

BIOCARE MEDICAL

Available Product Formats				
Format	**Catalog Number**	**Description**	**Dilution**	**Diluent**
Concentrate	ACI 3099 A, C	0.1, 0.5, 1.0 mL	1:100	Renoir Red
Predilute	API 3099 AA, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A
intelliPATH FLX	IPI 3099 G10	10 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3099 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series– For Leica BOND-III	ALI 3099 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine – For BenchMark	AVI 3099 G, H	6.0, 25 mL	Ready-to-use	N/A

Kullanım amacı:
İçin *laboratuvar ortamında* Tanısal Kullanım
SOX10 (M) [BC34], SOX10'un niteliksel tanımlanmasında immünolojik olmayan histokimyasal boyalar kullanılarak geleneksel histopatoloji ile tümörün ilk tanısı konulduktan sonra profesyonel laboratuvar kullanımı için tasarlanmış bir fare monoklonal antikorudur. formalinle sabitlenmiş parafine gömülü (FFPE) insan dokularında immünohistokimya (IHC) ile protein. Herhangi bir lekelenmenin veya yokluğunun klinik yorumu, uygun kontrollerin kullanıldığı morfolojik çalışmalarla tamamlanmalı ve hastanın klinik geçmişi ve diğer klinik tespitlerin yapılmasına yardımcı olmak üzere kalifiye bir patolog tarafından diğer tanısal testler bağlamında değerlendirilmelidir.

Özet ve Açıklama:
Transkripsiyon faktörü SRY ile ilişkili HMG-Box geni 10 (SOX10), nöral kret, periferik sinir sistemi ve melanositik hücre gelişiminde önemli bir rol oynar.[15-17] SOX10, melanositler ve meme dokusu da dahil olmak üzere normal insan dokularında yaygın olarak eksprese edilir. SOX10 ayrıca melanom, meme karsinomu, gliomalar gibi kötü huylu tümörlerde ve schwannomlar gibi iyi huylu tümörlerde de önemli bir belirteçtir.[17-20] Daha da önemlisi, SOX10'un desmoplastik ve iğ hücreli melanomlarda %97-100 oranında eksprese edildiği ve ayrıca nevuslarda %100 oranında eksprese edildiği gösterilmiştir.[15] İğsi hücreli ve desmoplastik melanomlar, yıllık insidans oranı yaklaşık 100.000'de 2 olan, invazif kutanöz melanomun nadir görülen varyantlarıdır.[21] Oligodendrogliomaların çoğunluğunun ve astrositom ile az farklılaşmış glioblastomaların büyük bir yüzdesinin de SOX10'u eksprese ettiği gösterilmiştir.[17,19]

ABD Patenti 9,816,997 ve beklemede olan patentler.

Prosedür Prensibi:
Bu antikor ürünü, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülmüş doku kesitlerinin immünohistokimya testlerinde birincil antikor olarak kullanılabilir. Genel olarak immünhistokimyasal (IHC) boyama teknikleri, bir ardışık uygulama yoluyla antijenlerin görselleştirilmesine izin verir antijene spesifik antikor (birincil antikor), birincil antikora ikincil bir antikor (isteğe bağlı bağlantı antikoru/prob), bir enzim kompleksi ve araya giren yıkama adımlarına sahip bir kromojenik substrat. Kromojenin enzimatik aktivasyonu, antijen bölgesinde görünür bir reaksiyon ürünü ile sonuçlanır. Numune daha sonra zıt boyanabilir ve kapak kaydırılabilir. Sonuçlar bir ışık kullanılarak yorumlanır olabilecek veya patofizyolojik süreçlerin ayırıcı tanısında yardımcı olabilir. belirli bir antijenle ilişkili olmayabilir.

Malzemeler ve yöntemler:

Sağlanan Reaktifler:
Ana Bilgisayar Kaynağı: Fare monoklonal
Türlerin Reaktivitesi: İnsan; diğer türler test edilmemiştir.
Klon: BC34
İzotip: IgG1
Protein Konsantrasyonu: Spesifik Ig konsantrasyonu için Biocare'in Teknik Desteğiyle iletişime geçin.
özgüllük: SOX10
Hücresel Yerelleştirme: Nükleer
Yöntem: Afinite ile saflaştırılmış fare monoklonal.

Sulandırma, Karıştırma, Seyreltme, Titrasyon:
Önceden seyreltilmiş antikor reaktifi, aşağıdaki boyama platformlarıyla kullanım için optimum şekilde seyreltilir. Daha fazla seyreltme, antijen boyamasının kaybına neden olabilir. Kullanıcının bu tür değişiklikleri doğrulaması gerekir. Kullanıcının laboratuvarındaki doku işleme ve teknik prosedürlerdeki farklılıklar, kurum içi kontrollerin düzenli olarak gerçekleştirilmesini gerektiren sonuçlarda önemli değişkenliklere neden olabilir (bkz. Kalite Kontrol bölümü).
Konsantre reaktifin yukarıdaki tabloda belirtildiği gibi seyreltilmesi gerekir.

Bilinen Uygulamalar:
İmmünohistokimya (formalinle sabitlenmiş parafine gömülü dokular)

Şu Şekilde Sağlanır:
Tamponlu salin solüsyonu, pH 6,1 - 7,4, protein taşıyıcı ve %0,1'den az sodyum azid koruyucu içerir. Ek ayrıntılar için Güvenlik Veri Sayfasına bakın.

Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler ve Reaktifler:
Mikroskop pozitif yüklü kayar.
Pozitif ve negatif doku kontrolleri
Çöl Odası (veya benzeri Kurutma fırını)
Ksilen veya ksilen ikamesi
Etanol veya reaktif alkol
Gizlenme Odası (Düdüklü tencere)
Deiyonize veya damıtılmış su
Yıkama tamponu
Ön arıtma reaktifleri
Peroksidaz bloğu
Protein bloğu (isteğe bağlı)
Algılama probu ve polimer
Negatif kontrol reaktifleri
Kromojenler
Hematoksilen (karşı boya)
Mavileştirme reaktifi
Montaj ortamı
Lamel camı
Işık Mikroskobu (40-400X büyütme)
Otomatik Slayt Boyama Platformu

Antikor ürününün konfigürasyonları yukarıdaki tabloda belirtilen cihazlarda kullanım için mevcuttur.

Depolama ve Stabilite:
2°C ile 8°C arasında saklayın. Ürün, bu koşullar altında saklandığında flakon etiketi üzerinde yazılı olan son kullanma tarihine kadar stabildir. Son kullanma tarihinden sonra kullanmayınız. Belirtilenlerin dışındaki koşullar altında depolama doğrulanmalıdır. Seyreltilmiş reaktifler derhal kullanılmalıdır; kalan reaktifi 2°C ila 8°C'de saklayın. Kullanıcı tarafından seyreltilen reaktifin stabilitesi Biocare tarafından belirlenmemiştir.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands
IVD CE

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Turkish

BIOCARE MEDICAL

Pozitif ve negatif kontroller tüm hasta örnekleriyle aynı anda çalıştırılmalıdır. Laboratuvar prosedürlerindeki değişikliklerle açıklanamayan beklenmedik bir lekelenme gözlemlenirse ve antikorla ilgili bir sorundan şüpheleniliyorsa, 1-800-542-2002 numaralı telefondan veya biocare.net adresinde sağlanan teknik destek bilgileri aracılığıyla Biocare Teknik Desteğiyle iletişime geçin.

Numune hazırlama:
Formalinde sabitlenen dokular parafine gömülmeden önce kullanıma uygundur. Doku kesmeyi kolaylaştırmak ve mikrotom bıçaklarının zarar görmesini önlemek için doku işlemeden önce kemik dokuların kireçten arındırılması gerekir.[1,2]

Belirtilen antijen hedefini ifade eden uygun şekilde sabitlenmiş ve gömülmüş dokular serin bir yerde saklanmalıdır. 1988 tarihli Klinik Laboratuvar İyileştirme Yasası (CLIA), 42 CFR'de §493.1259(b) uyarınca "Laboratuvar boyalı slaytları, alındığı tarihten itibaren en az on yıl saklamalıdır. numune bloklarını inceleme tarihinden itibaren en az iki yıl boyunca saklayın.[3]

Dokuların Boyama Öncesi Tedavisi:
Aşağıda önerilen protokole göre Isı Kaynaklı Epitop Alma (HIER) işlemini gerçekleştirin. HIER'in IHC'den önce rutin kullanımının tutarsızlığı en aza indirdiği ve boyamayı standartlaştırdığı gösterilmiştir.[4,5]

Uyarı ve Önlemler:
1. Bu antikor %0,1'den az sodyum azit içerir. %0,1'in altındaki konsantrasyonlar, ABD 29 CFR 1910.1200, OSHA Tehlike iletişimi ve EC Direktifi 91/155/EC'ye göre raporlanması gereken tehlikeli maddeler değildir. Sodyum azid (NaN_3) koruyucu olarak kullanıldığında yutulması halinde toksiktir. Sodyum azit, kurşun ve bakır tesisatlarla reaksiyona girerek son derece patlayıcı metal azitler oluşturabilir. İmha edildikten sonra, tesisatta azit birikmesini önlemek için bol miktarda suyla yıkayın. (Hastalık Kontrol Merkezi, 1976, Ulusal Mesleki Güvenlik ve Sağlık Enstitüsü, 1976)[6]
2. Tespitten önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm materyaller, enfeksiyon bulaştırabilecekmiş gibi kullanılmalı ve uygun önlemler alınarak imha edilmelidir. Reaktifleri asla ağız yoluyla pipetlemeyin ve reaktiflerin ve numunelerin cilt ve mukoza zarlarına temasından kaçının. Reaktifler veya numuneler hassas alanlarla temas ederse bol miktarda suyla yıkayın.[7]
3. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonu spesifik olmayan boyamanın artmasına neden olabilir.
4. Belirtilenlerin dışındaki inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlar verebilir. Kullanıcının bu tür değişiklikleri doğrulaması gerekir.
5. Reaktifi şişenin üzerinde yazılı olan son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
6. Önceden seyreltilmiş antikor reaktifi kullanım için en uygun şekilde seyreltilir. Daha fazla seyreltme, antijen boyamasının kaybına neden olabilir.
7. Konsantre antikor reaktifinin seyreltilmesi kullanımdan önce doğrulanmalıdır. Özel olarak önerilmeyen herhangi bir seyrelticinin de uyumluluk ve stabilite açısından doğrulanması gerekir.
8. Enfeksiyöz veya potansiyel olarak enfeksiyöz atık prosedürlerini izleyerek kullanılmış tüm reaktifleri ve diğer kontamine tek kullanımlık malzemeleri atın. Katı ve sıvı atıkların doğasına ve tehlike derecesine göre işlenmesi ve ilgili düzenlemelere uygun olarak arıtılması ve imha edilmesi (veya arıtılıp bertaraf edilmesi) her laboratuvarın sorumluluğundadır.
9. Bu ürünün güvenli bir şekilde imha edilmesini belirlemek için, bulunduğunuz yerdeki yerel imha yönetmeliklerine ve Güvenlik Veri Sayfasındaki önerilere uyun.
10. SDS talep üzerine sağlanır ve http://biocare.net adresinde bulunur.
11. Bu cihazla ilgili şüphelenilen ciddi olayları bildirmek için yerel Biocare temsilcisiyle ve kullanıcının yerleşik olduğu Üye Devletin veya Ülkenin yetkili makamıyla iletişime geçin.

Kullanım için talimatlar:
SOX10 [BC34] için Önerilen Boyama Protokolleri:

IntelliPATH FLX ve manuel kullanım:

intelliPATH FLX ve manuel kullanım için API3099 ve IPI3099, MACH 4 ile standartlaştırılmıştır tespit sistemi. Adımları yıkamak için TBS kullanın.	
Peroksit Bloğu:	Şunun için engelle: Peroksidazlanmış 1 ile 5 dakika
Ön arıtma:	Diva Decloaker'ı kullanarak ısı alımını gerçekleştirin. Özel talimatlar için Diva Decloaker veri sayfasına bakın.
Protein Bloğu (İsteğe Bağlı):	Arkaplan Punisher ile oda sıcaklığında 5-10 dakika inkübe edin.
Birincil Antikor:	Oda sıcaklığında 30 dakika boyunca inkübe edin.
Tespit etme:	Prob: İkincil bir probla oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edin.
	Polimer: Üçüncül bir polimer ile oda sıcaklığında 10-20 dakika inkübe edin.
Kromojen:	Biocare'in DAB -OR- ile oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edin. Warp Red ile oda sıcaklığında 5-7 dakika inkübe edin.
Karşı boyama:	Hematoksilen ile karşıt boyama. Deiyonize su ile durulayın. Tacha'nın Bluing Solüsyonunu 1 dakika boyunca uygulayın. Deiyonize su ile durulayın.
IPI3099'un intelliPATH FLX ile kullanılması amaçlanmıştır. Özel kullanım talimatları için Kullanım Kılavuzuna bakın. intelliPATH FLX kullanıldığında, ısı geri kazanımının ardından intelliPATH FLX Peroksidaz Bloklama Reaktifi (IPB5000) ile peroksit bloğu gerçekleştirilebilir.	

ONCORE Pro Otomatik Slayt Boyama Sistemi:

OPAI3099'un ONCORE Pro ile kullanılması amaçlanmıştır. Özel kullanım talimatları için Kullanım Kılavuzuna bakın. Protokol Düzenleyicideki protokol parametreleri aşağıdaki gibi programlanmalıdır:		
Kromojen Boyama Seçeneği	**DAB**	**Kırmızı**
Protokol Adı:	SOX10	SOX10 uygulaması
Protokol Şablonu (Açıklama):	Özel Şablon (ONCORE Pro-Tect Tespiti Gereklidir)	Bayan AP Şablonu 1
Mum giderme (DS Tampon Seçeneği):	DS2-50	DS2-50
Antijen Alma (AR Seçeneği):	AR1, yüksek pH; 103°C	AR1, yüksek pH; 103°C
Bloke Seçeneği:	Tampon	Tampon
Reaktif Adı, Zamanı, Sıcaklığı:	SOX10, 59 dakika, 37°C	SOX10, 59 dakika, 37°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3099, BenchMark ULTRA ile kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Özel kullanım talimatları için Kullanım Kılavuzuna bakın. Önerilen protokol parametreleri aşağıdaki gibidir:	
Şablon/Algılama:	ultraView DAB
Ön Tedavi Protokolü:	CC1 Standardı
Peroksidaz:	Yok
Birincil Antikor:	32 dakika, 37°C
Şablon/Algılama:	OptiView DAB IHC
Ön Tedavi Protokolü:	CC1 32 dakika
Peroksidaz:	Ön Birincil Peroksidaz İnhibitörü
Birincil Antikor:	16 dakika, 36°C

SOX10 (M)

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Turkish

Q Serisi – Leica BOND-III için:

ALI3099'un Leica BOND-III ile kullanılması amaçlanmıştır. Özel kullanım talimatları için Kullanım Kılavuzuna bakın. Önerilen protokol parametreleri aşağıdaki gibidir:		
Kromojen Boyama Seçeneği	**DAB**	**Kırmızı**
Protokol Adı:	IHC Protokolü F	IHC Protokolü J
Tespit etme:	Bond Polimer Rafinasyonu	Bond Polimer Rafine Kırmızı
BURADA:	ER2 ile 20 dakika	ER2 ile 20 dakika
Peroksit Bloğu:	5 dakika	
İşaretleyici (Birincil Antikor):	15 dakika	15 dakika
Birincil Sonrası:	8 dakika	
Polimer:	8 dakika	
Birincil Sonrası AP:		20 Dakika
Polimer AP:		30 dk
Karışık Kromojen Rafinasyonu:	10 dk	10 dk + 5 dk
Hematoksilen:	5 dakika	5 dakika

Kalite kontrol:
İmmünohistokimya Testlerinin Tasarımı ve Uygulanmasına ilişkin CLSI Kalite Standartlarına bakın; Onaylanmış Kılavuz-İkinci Baskı (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ABD (www.clsi.org). 2011[8]

Pozitif Doku Kontrolü: Melanom
Harici Pozitif kontrol malzemeleri, hasta numunesi/numuneleri ile aynı şekilde mümkün olan en kısa sürede sabitlenmiş, işlenmiş ve gömülmüş taze numunelerden oluşmalıdır. Pozitif doku kontrolleri, doğru hazırlanmış dokuların ve uygun boyama tekniklerinin göstergesidir. Her boyama işlemine, her test koşulu seti için bir pozitif dış doku kontrolü dahil edilmelidir.

Harici pozitif kontrol materyalleri için kullanılan dokular, zayıf pozitif boyama veren, iyi karakterize edilmiş düşük pozitif hedef aktivitesi seviyelerine sahip hasta numunelerinden seçilmelidir. Harici pozitif kontroller için düşük pozitiflik düzeyi, birincil antikor duyarlılığında istikrarsızlıktan veya IHC metodolojisindeki sorunlardan kaynaklanan hafif değişikliklerin tespit edilmesini sağlamak için tasarlanmıştır. Ticari olarak temin edilebilen doku kontrol slaytları veya hasta numunesinden/numunelerinden farklı şekilde işlenmiş numuneler yalnızca reaktif performansını doğrular ve doku hazırlığını doğrulamaz.

Bilinen pozitif doku kontrolleri, hasta örneklerine yönelik spesifik bir teşhisin formüle edilmesine yardımcı olmak yerine, yalnızca işlenmiş dokuların ve test reaktiflerinin doğru performansını izlemek için kullanılmalıdır. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyama göstermezse test örnekleriyle elde edilen sonuçlar geçersiz sayılmalıdır.

Negatif Doku Kontrolü:
Negatif bir doku kontrolü kullanın (bilindiği gibi) *SOX10 o*l IHC birincil antikorunun spesifikliğini doğrulamak için her boyama işleminde hasta numunesi/numuneleri ile aynı şekilde sabitlenir, işlenir ve gömülür. hedef antijenin gösterilmesi ve spesifik arka plan boyamasının bir göstergesinin sağlanması (yanlış pozitif boyama). Ayrıca çoğu doku kesitinde mevcut olan farklı hücre tiplerinin çeşitliliği, IHC'nin performansını doğrulamak için laboratuvarcı tarafından dahili negatif kontrol alanları olarak kullanılacaktır özellikler. Negatif doku için kullanılabilecek örnek türleri ve kaynakları kontroller Performans Özellikleri bölümünde listelenmiştir.

Negatif doku kontrolünde spesifik boyama (yanlış pozitif boyama) meydana gelirse hasta numuneleriyle elde edilen sonuçlar geçersiz sayılmalıdır.

Spesifik Olmayan Negatif Reaktif Kontrolü:
Spesifik olmayan boyamayı değerlendirmek için her hasta örneğinin bir bölümü ile birincil antikor yerine spesifik olmayan bir negatif reaktif kontrolü kullanın ve
antijen bölgesindeki spesifik boyamanın daha iyi yorumlanmasına izin verir. İdeal olarak bir negatif reaktif kontrolü, birincil antikorla aynı şekilde doku kültürü süpernatanından üretilen bir SOX10 IgG1 antikoru içerir ancak aynı matris/çözelti içinde insan dokularıyla hiçbir spesifik reaktivite sergilemez. Biocare antikoru. Negatif kontrol antikorunu, seyreltilmiş primer ile aynı immünoglobulin veya protein konsantrasyonuna seyreltin Aynı seyreltici kullanılarak antikor. Fetal buzağı serumu işlemden sonra saf antikorda kalırsa, seyreltilmiş seruma eşdeğer bir protein konsantrasyonunda fetal dana serumu Aynı seyreltici deki birincil antikor da kullanıma uygundur. (Sağlanan reaktife bakın). Tek başına seyreltici, daha önce açıklanan negatif reaktif kontrollerine daha az tercih edilen bir alternatif olarak kullanılabilir. Negatif reaktif kontrolüne yönelik kuluçka süresi, birincil antikorunkine karşılık gelmelidir.

Seri bölümlerde birkaç antikordan oluşan paneller kullanıldığında, bir slaydın negatif boyama alanları, diğer antikorlar için negatif/spesifik olmayan bağlanma arka planı kontrolü görevi görebilir. Endojen enzim aktivitesini veya enzimlerin spesifik olmayan bağlanmasını spesifik immünoreaktiviteden ayırt etmek için, ilave hasta dokuları sırasıyla substrat-kromojen veya enzim kompleksleri (PAP, avidin-biyotin, streptavidin) ve substrat-kromojen ile özel olarak boyanabilir.

Test Doğrulaması:
Bir antikorun veya boyama sisteminin bir teşhis prosedüründe ilk kullanımından önce kullanıcı, antikoru bilinen pozitif ve negatif dokuları temsil eden bilinen immünohistokimyasal performans özelliklerine sahip bir dizi kurum içi doku üzerinde test ederek antikorun özgüllüğünü doğrulamalıdır. Ürün ekinin bu bölümünde daha önce özetlenen kalite kontrol prosedürlerine ve CAP Sertifikasyon Programının kalite kontrol tavsiyelerine bakın.[9] İmmünohistokimya ve/veya NCCLS IHC kılavuzu için[10]). Bu kalite kontrol prosedürleri her yeni antikor lotu için veya test parametrelerinde her değişiklik olduğunda tekrarlanmalıdır. Performans Özellikleri Bölümünde listelenen dokular test doğrulaması için uygundur.

Sorun giderme:
Sağlanan veri sayfasına göre antikora özel protokol önerilerini izleyin. Tipik olmayan sonuçlar ortaya çıkarsa 1-800-542-2002 numaralı telefondan Biocare Teknik Desteğiyle iletişime geçin.

Boyamanın Yorumlanması:

Pozitif Doku Kontrolü:
Belirtilen antikorla boyanmış pozitif doku kontrolü, tüm reaktiflerin düzgün çalıştığından emin olmak için ilk önce incelenmelidir. Hedef hücrelerin uygun şekilde boyanması (yukarıda belirtildiği gibi) pozitif reaktivitenin göstergesidir. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyama göstermezse test numuneleriyle elde edilen sonuçlar geçersiz sayılmalıdır.

Reaksiyon ürününün rengi, kullanılan substrat kromojenlerine bağlı olarak değişebilir. Beklenen renk reaksiyonları için alt tabaka paketindeki eklere bakın. Ayrıca boyama yönteminin varyasyonlarında metakromazi gözlemlenebilir.[11]
Bir karşıt boyama kullanıldığında, kuluçka süresine ve kullanılan karşıt boyamanın gücüne bağlı olarak karşıt boyama, hücre çekirdeklerinin renklenmesine neden olacaktır. Aşırı veya eksik karşı boyama, sonuçların doğru şekilde yorumlanmasını tehlikeye atabilir. Önerilen karşı boyama için protokol(ler)e bakın.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

SOX10 (M)

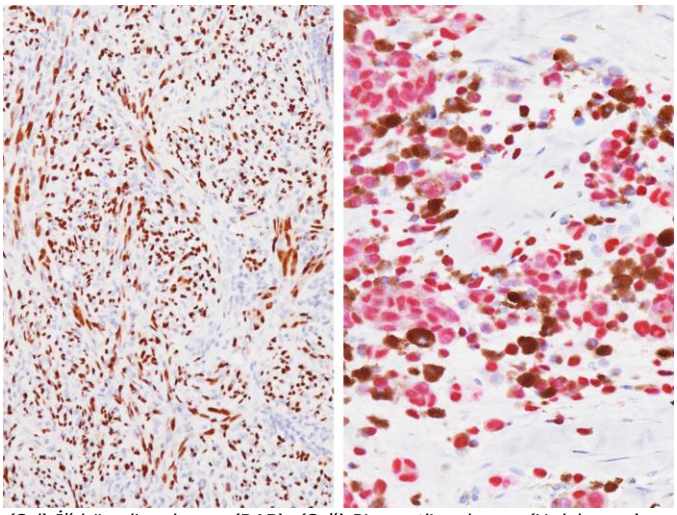
Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3099-061324
Turkish

BIOCARE MEDICAL

Negatif Doku Kontrolü:
Hedef antijenin birincil antikor tarafından etiketlenmesinin özgüllüğünü doğrulamak için pozitif doku kontrolünden sonra negatif doku kontrolü incelenmelidir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyamanın olmaması, hücrelere/hücresel bileşenlere karşı antikor çapraz reaktivitesinin olmadığını doğrular. Negatif dış doku kontrolünde spesifik boyama (yanlış pozitif boyama) meydana gelirse hasta numunesiyle elde edilen sonuçlar geçersiz sayılmalıdır.

Spesifik olmayan boyama, mevcutsa genellikle yaygın bir görünüme sahiptir. Aşırı formalinle fikse edilmiş dokulardan alınan kesitlerde ara sıra bağ dokusunda lekelenme de gözlemlenebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için sağlam hücreleri kullanın. Nekrotik veya dejenere hücreler sıklıkla spesifik olmayan bir şekilde boyanır.

Hasta Dokusu:
Belirtilen antikorla boyanmış hasta numunelerini inceleyin son. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün spesifik olmayan arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir immünohistokimyasal testte olduğu gibi, negatif sonuç, antijenin test edilen hücrelerde/dokuda bulunmadığı anlamına değil, antijenin tespit edilmediği anlamına gelir. Gerekirse yanlış negatif reaksiyonları tanımlamak için bir antikor paneli kullanın.



(Sol) İğ hücreli melanom (DAB); (Sağ) Pigmentli melanom (Hızlı kırmızı).

Belirtilen antikor immünoreaktivitesi ile ilgili spesifik bilgiler için Özet ve Açıklama, Sınırlamalar ve Performans Özellikleri'ne bakın.

Sınırlamalar:

Genel Sınırlamalar:
1. İçin *laboratuvar ortamında* teşhis Kullanımı
2. Bu ürün yalnızca profesyonel kullanım içindir: İmmünohistokimya, uygun reaktiflerin seçiminde özel eğitimden oluşan çok adımlı bir teşhis sürecidir; doku seçimi, fiksasyonu ve işlenmesi; IHC slaytının hazırlanması; ve boyama sonuçlarının yorumlanması.
3. Doku boyaması, boyamadan önce dokunun işlenmesine ve işlenmesine bağlıdır. Uygunsuz sabitleme, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer doku veya sıvılarla kontaminasyon; artefaktlara, antikor tuzağına veya yanlış negatif sonuçlara neden olabilir. Tutarsız sonuçlar, sabitleme ve gömme yöntemlerindeki farklılıklara veya doku içindeki doğal düzensizliklere bağlı olabilir.[12]
4. Aşırı veya eksik karşı boyama, sonuçların doğru şekilde yorumlanmasını tehlikeye atabilir.
5. Herhangi bir pozitif veya negatif boyamanın klinik yorumu, klinik sunum, morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler kapsamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir pozitif veya negatif boyamanın klinik yorumu, uygun pozitif ve negatif iç ve dış kontrollerin yanı sıra diğer teşhis testlerinin kullanıldığı morfolojik çalışmalarla tamamlanmalıdır. Nihai IHC hazırlığını hazırlamak ve yorumlamak için kullanılan tüm adımları yorumlamak, IHC antikorlarının, reaktiflerinin ve yöntemlerinin doğru kullanımına aşina olan nitelikli bir patologun sorumluluğundadır.
6. Belirli bir uygulama için optimum antikor seyreltmesi ve protokolleri farklılık gösterebilir. Bunlar arasında, bunlarla sınırlı olmamak üzere, fiksasyon, ısı geri alma yöntemi, inkübasyon süreleri, doku kesiti kalınlığı ve kullanılan tespit kiti yer alır. Bu benzersiz reaktiflerin üstün hassasiyeti nedeniyle, önerilen inkübasyon süreleri ve listelenen titreler, sonuçlar farklılık gösterebileceğinden diğer tespit sistemleri için geçerli değildir. Veri sayfası önerileri ve protokolleri Biocare ürünlerinin özel kullanımına dayanmaktadır. Sonuçta optimal koşulları belirlemek araştırmacının sorumluluğundadır.
7. Bu ürünün akış sitometrisinde kullanılması amaçlanmamıştır. Akış sitometrisi için performans özellikleri belirlenmemiştir.
8. Hepatit B virüsü ile enfekte olmuş ve hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) içeren kişilerden alınan dokular, yaban turpu peroksidazıyla spesifik olmayan boyama sergileyebilir.[13]
9. Reaktifler daha önce test edilmemiş dokularda beklenmeyen reaksiyonlar gösterebilir. Test edilen doku gruplarında bile beklenmeyen reaksiyonların olasılığı, neoplazmalarda veya diğer patolojik dokularda antijen ekspresyonunun biyolojik değişkenliği nedeniyle tamamen ortadan kaldırılamaz.[14] 1-800-542-2002 numaralı telefondan veya biocare.net'te sağlanan teknik destek bilgileri aracılığıyla, belgelenmiş beklenmedik reaksiyon(lar)la birlikte Biocare'in Teknik Desteğiyle iletişime geçin.
10. Bloklama adımlarında kullanılan ikincil antiserumlarla aynı hayvan kaynağından alınan normal/immün olmayan serumlar, otoantikorlar veya doğal antikorlar nedeniyle yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir.
11. Proteinlerin veya substrat reaksiyon ürünlerinin immünolojik olmayan bağlanması nedeniyle yanlış pozitif sonuçlar görülebilir. Ayrıca kullanılan immün boyanın türüne bağlı olarak yalancı peroksidaz aktivitesi (eritrositler), endojen peroksidaz aktivitesi (sitokrom C) veya endojen biyotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) nedeniyle de kaynaklanabilir.[12]

Ürüne Özel Sınırlamalar:
Ürüne özel sınırlamalar belirtilmemiştir.

Performans Özellikleri:
Duyarlılık, özgüllük ve çapraz reaktivite sırasıyla Tablo 1 ve 2'de özetlenmiştir.

İmmünoreaktivite:
Aşağıdaki pozitif ve negatif immünoreaktiviteler aşağıdaki Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Aşağıda verilen liste kapsamlı değildir ancak belirtilen antikorla gözlemlenen immünoreaktivite türlerini karakterize eder.

Analitik Performans:
Duyarlılık ve özgüllük için boyama testleri yapılmıştır ve sonuçlar aşağıda listelenmiştir.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE
TP v6 (11/02/2023)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

BIOCARE MEDICAL

Duyarlılık ve Özgüllük:

Tablo 1: Duyarlılık ve özgüllük, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülmüş hastalıklı dokuların test edilmesiyle belirlendi.

Doku	Olumlu Durumlar	Toplam Vakalar
Melanom (Kutanöz)	73	87 (%83,9)
Metastatik melanom	19	19 (%100)
İğ hücreli melanom	28	29 (%96,6)
Desmoplastik melanom	3	3 (%100)
Desmoplastik/İş mili hücresi karma özellikleri	2	2 (%100)
Epiteloid melanom	2	2 (%100)
Sarkomatoid melanom	2	2 (%100)
Plazmasitoid melanom	2	2 (%100)
Balon hücreli melanom	1	1 (%100)
Rabdoid melanom	20	20 (%100)
Benign Nevus (Çeşitli)	28	28 (%100)
Schwannoma (nörilemmoma)	73	87 (%83,9)

Tablo 2: Doku çapraz reaktivitesi formalinle sabitlenmiş, parafine gömülmüş normal dokuların test edilmesiyle belirlendi.

Doku	Olumlu Durumlar	Toplam Vakalar
Beyin	4	6*
Beyincik	2	3*
Adrenal	0	3
Yumurtalık	0	3
Pankreas	0	3
Tiroid	0	3
Paratiroid	0	3
Testis	0	3
Kemik	0	3
Dalak	0	3
Bademcik	0	3
Timus	0	3
Kemik iliği	0	3
Akciğer	0	3
Kalp	0	3
Yemek borusu	0	3
Hipofiz	0	3
Göğüs	2	3*
Karın	0	3
İnce bağırsak	0	3
Kolon	0	3
Karaciğer	0	3
Tükürük bezi	2	3*
Böbrek	0	3
Prostat	0	3
Rahim	0	3
Serviks	0	3
İskelet kası	0	3
Deri	3	3*
Periferik sinir	2	3*
Akciğer	0	3
gırtlak	0	3
Mesane	0	3
Plasenta	0	3
Mezotelyum	0	3

*Beyin ve beyincik: oligodendrositler ve bazı astrositler; meme: miyoepitelyal hücreler; tükürük bezi: miyoepitelyal hücreler; cilt: melanositler; periferik sinir: Schwann hücreleri.

Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

EC REP EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

IVD CE

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Sorun giderme:

1. Hiçbir slaytta lekelenme yok – Uygun pozitif kontrol dokusunun, antikorun ve tespit ürünlerinin kullanıldığını belirlemek için kontrol edin.
2. Tüm slaytların zayıf boyanması – Uygun pozitif kontrol dokusunun, antikorun ve tespit ürünlerinin kullanıldığını belirlemek için kontrol edin.
3. Tüm slaytların aşırı arka planı – Yüksek seviyelerde endojen biyotin (biyotin bazlı tespit ürünleri kullanılıyorsa), kromojeni renkli son ürüne dönüştüren endojen HRP aktivitesi (peroksidaz bloğu kullanın) veya aşırı spesifik olmayan protein etkileşimi (bir protein kullanın) olabilir serum veya kazein bazlı bloke etme solüsyonu gibi blokaj).
4. Doku bölümleri inkübasyon sırasında slaytları yıkar – Pozitif yüklü olduklarından emin olmak için slaytları kontrol edin.
5. Spesifik boyama çok koyu – Slayda uygun antikor titresinin uygulanıp uygulanmadığını ve ayrıca tüm reaktifler için uygun inkübasyon sürelerini belirlemek için protokolü kontrol edin. Ek olarak, kuluçka adımları tamamlandıktan sonra fazla reaktifleri çıkarmak için protokolün yeterli yıkama adımına sahip olduğundan emin olun.

Referanslar:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. 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.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. 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.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Mohamed A, et al. SOX10 Expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Dec; 21(6):506-10.
16. Pusch C, et al. The SOX10/Sox10 gene from human and mouse: sequence, expression, and transactivation by the encoded HMG domain transcription factor. Hum Genet. 1998 Aug; 103(2):115-23.
17. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. Oncogene. 2003 May 19; 22(20):3024-34.
18. Bondurand N, et al. Expression of the SOX10 gene during human development. FEBS Lett. 1998 Aug 7; 432(3):168-72.
19. Bannykh SI, et al. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):115-27.
20. Britsch S, et al. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev. 2001 Jan 1; 15(1):66-78.
21. Feng Z, et al. Incidence and survival of desmoplastic melanoma in the United States, 1992–2007. J Cutan Pathol. 2011 Aug; 38(8):616-24.

Ultraline antikorlar yalnızca Biocare Medical LLC tarafından geliştirilmiştir ve Biocare antikorlarının Ventana Medical Systems, Inc veya Roche tarafından onaylandığı veya onaylandığı anlamına gelmez. Biocare, Ventana ve Roche'un hiçbir şekilde bağlı, ilişkili veya ilişkili değildir. Ventana®, BenchMark®, ultraView ve OptiView Roche'un ticari markalarıdır.

Q Serisi antikorlar yalnızca Biocare Medical LLC tarafından geliştirilmiştir ve Biocare antikorlarının Leica Biosystems tarafından onaylandığı veya onaylandığı anlamına gelmez. Biocare ve Leica Biosystems'in hiçbir şekilde bağlantılı, ilişkili veya ilişkili değildir. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX ve BOND-III, Leica Biosystems'in ticari markalarıdır.