



# GeneAb™ Rato Monoclonal Anti-Humano

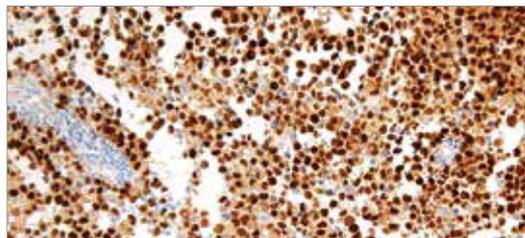
## Anticorpo Miogenina

**Clone:** IHC631

**Controle Positivo:** Rbdomiossarcoma

**Fonte:** Rato Monoclonal

**Localização:** Nucler



GeneAb™ Miogenina [IHC631] em Rbdomiossarcoma

### Informação do produto

REF	Descrição
IHC631-100	0.1 ml, Concentrada
IHC631-1	1 ml, Concentrada
IHC631-7	7 ml, Pré-diluído
IHC631-25	25 ml, Pré-diluído
IHC631-cS	20 µl, Concentrada Sample
IHC631-pS	1 ml, Pré-diluído Sample
IHC631-PC	3 Slides de controle positivo

## 1. Uso pretendido

Este anticorpo destina-se ao uso em diagnóstico in vitro (IVD). O anticorpo Miogenina [IHC631] destina-se a laboratórios qualificados para identificar qualitativamente, por microscopia óptica, a presença de antígenos associados em seções de tecido fixadas em formalina e embebidas em parafina (FFPE) usando métodos de teste imuno-histoquímico. A utilização deste anticorpo é indicada após diagnósticos diferenciais clínicos de doenças, como auxiliar na identificação de tecidos neoplásicos no contexto de anticorpos, história clínica do paciente e outros testes de diagnóstico avaliados por um patologista qualificado.

## 2. Resumo e explicação

A miogenina pertence a uma família de fatores de transcrição miogênicos, incluindo MyoD, Myf5 e MRF4, que são essenciais para o desenvolvimento muscular. A miogenina é encontrada estritamente em células de origem muscular esquelética e, portanto, é usada como biomarcador para tumores da linhagem muscular, incluindo Rbdomiossarcomas alveolares. A coloração anti-miogenina pode ocorrer no tumor de Wilms e marca os núcleos dos mioblastos no tecido muscular em desenvolvimento. Também é expressa em alguns leiomiiossarcomas.

## 3. Princípios e Procedimentos

A visualização do antígeno presente nas seções de tecido é realizada em um processo de coloração imuno-histoquímica de várias etapas, em conjunto com um sistema de detecção ligado à peroxidase de rábano (HRP) ou fosfatase alcalina (AP). A uma lâmina de tecido é aplicado um anticorpo secundário (ligado a um complexo enzimático) que se liga especificamente ao anticorpo primário. Em seguida, é adicionado um substrato cromogênico que reage com o complexo enzimático, resultando em uma reação colorimétrica no local do antígeno. Os resultados são interpretados usando um microscópio óptico.

## 4. Materiais e Métodos

Formato do produto	Diluição	Composição do tampão
Pré-diluído	Pronto para usar	Diluyente de anticorpo GenomeMe (Cat# IHC000)
Concentrada	1:50-1:200	Tampão Tris, pH 7,3 - 7,7, com 1% de BSA e <0,1% de Azida de Sódio

### Reconstituição, Mistura, Diluição e Titulação

O anticorpo Pré-diluído não requer qualquer mistura, diluição, reconstituição ou titulação; está pronto para uso e otimizado para coloração. Qualquer diluição adicional poderá afetar a qualidade do sinal de coloração ou a interação anticorpo-antígeno. O anticorpo concentrado requer diluição usando um Tampão Diluyente de Anticorpo na faixa de diluição de trabalho recomendada listada na tabela acima antes do uso.

## Armazenamento e Manuseio

Armazenar entre 2-8°C. Para garantir a estabilidade, coloque imediatamente o frasco no frigorífico após cada utilização. Quando armazenado corretamente, o anticorpo permanece estável até a data de validade indicada no rótulo. Os controles positivos e negativos devem ser analisados simultaneamente com amostras de tecido para permitir a identificação de quaisquer inadequações com o anticorpo ou reagentes. Se houver suspeita de problemas de estabilidade de anticorpos, entre em contato com o Atendimento ao Cliente GenomeMe em [info@genomeme.ca](mailto:info@genomeme.ca).

## Coleta de amostras e preparação para análise

Cada secção de tecido deve ser fixada com formalina tamponada neutra a 10%, cortada na espessura aplicável (4 µm) e colocada numa lâmina de vidro com carga positiva. A lâmina preparada deve então ser cozida durante um mínimo de 30 minutos num forno a 53-65°C (não exceda 24 horas).

**Nota:** A avaliação do desempenho foi demonstrada apenas em tecidos humanos. Podem ocorrer resultados variáveis devido ao tempo de fixação prolongado ou variações na preparação do tecido. Não utilize fixadores que contenham álcool, pois podem resultar na perda da atividade de coloração.

## Material necessário, mas não fornecido

Os seguintes materiais são necessários mas não são fornecidos:

- Sistema de detecção (ex.: kit de detecção de refino de polímero BOND ou kit de detecção DAB universal UltraView/OptiView)
- Cromógeno (ex.: kit de substrato DAB)
- Tampão de lavagem IHC e solução de bloqueio
- Hematoxilina ou outros reagentes de contracoloração
- Etanol ou álcool reagente, xileno ou substituto de xileno e meio de montagem
- Diluentes de anticorpos

## 5. Instruções de uso

### *Coloração automatizada com a plataforma Leica Biosystems Bond-MAX:*

Este anticorpo primário foi otimizado e validado usando o Leica Bond-MAX Fully Automated IHC & ISH Stainer aplicando o Protocolo IHC F. A recuperação de epitopo induzida por calor (HIER) é recomendada usando ER2 por 20-30 minutos. A faixa de diluição do concentrado de anticorpos é de 1:80-1:200.

### *Coloração automatizada com a plataforma Ventana BenchMark ULTRA:*

Este anticorpo primário foi otimizado e validado usando o sistema Ventana BenchMark ULTRA IHC/ISH. A faixa de diluição do concentrado de anticorpos é de 1:50-1:100. Os parâmetros de protocolo recomendados são os seguintes:

- Kit de detecção: UltraView DAB IHC
- Protocolo de pré-tratamento: CC1 32-64 minutos 100°C
- Anticorpo Primário: 32 minutos 36-37°C

Para todos os outros sistemas automatizados de coloração IHC, consulte o manual do usuário correspondente para obter instruções específicas.

### *Uso Manual:*

A seguir está um protocolo inicial recomendado que os usuários devem otimizar com base em seu kit e método de detecção específicos.

- Pré-tratamento:** Realize a recuperação de epitopos induzida por calor (HIER) em pH 9 com uma panela de pressão por 15-30 minutos.
- Bloqueio:** Para HRP, bloquear com solução bloqueadora de peroxidase por 10-15 minutos em temperatura ambiente. Se for utilizado um sistema diferente do HRP, será necessária uma solução de bloqueio alternativa.
- Anticorpo Primário:** Aplicar o anticorpo numa diluição de 1:50-1:100 e incubar durante 30-60 minutos à temperatura ambiente ou durante a noite a 4°C.
- Anticorpo Secundário:** Aplicar um anticorpo secundário conjugado com HRP apropriado por 20-30 minutos em temperatura ambiente. Se for utilizado um sistema diferente do HRP, será necessário um anticorpo secundário conjugado alternativo.
- Desenvolvimento de Substrato:** Aplicar e incubar com DAB por 5-10 minutos em temperatura ambiente.
- Contracoloração:** Contracoloração com hematoxilina por 0.5-5 minutos, conforme as instruções da hematoxilina utilizada. Enxaguar com água destilada e solução azulada por 30 segundos.
- Desidratar e aplicar a lamela

## 6. Procedimentos de Controle de Qualidade e Interpretação de Resultados

O processo de coloração imunohistoquímica resulta em reação colorimétrica no local do antígeno localizado pelo anticorpo primário. Um patologista qualificado deve interpretar os resultados da amostra de tecido somente após a análise dos tecidos de controle positivo e negativo. Recomenda-se incluir um conjunto de controles de tecido em cada execução de coloração para monitorar o desempenho de anticorpos, tecidos e reagentes. As seções de tecido podem conter elementos de coloração positivos e negativos. Nestes casos, e quando aplicável, estas seções podem servir tanto como controle tecidual positivo como negativo.

### Tecido de controle positivo

Um controle positivo de tecido deve ser processado da mesma maneira que a amostra e executado com cada condição de teste para fornecer controle de variáveis, como processamento, fixação e coloração do tecido. Deve funcionar para dar validade aos resultados das amostras obtidas e pode consistir em autópsia recente, biópsia ou tecido cirúrgico. Uma vez corado, o controle positivo de tecido deve ser analisado primeiro para garantir que o anticorpo e todos os reagentes estão funcionando conforme o esperado. A contracoloração resultará em uma coloração azul que pode variar de pálida a escura, dependendo da duração do tempo de incubação e da potência da hematoxilina. Caso não seja observada coloração positiva, o controle positivo de tecido deverá ser considerado inválido e os resultados obtidos com a amostra de tecido também deverão ser tratados como tal.

Controle Positivo de Tecido: Rbdomiossarcoma Tecidos

### Tecido de controle negativo

Algumas seções do tecido também podem funcionar como controle negativo interno devido à diversidade de elementos manchantes presentes. Isto, no entanto, deve primeiro ser confirmado pelo usuário. Os componentes do tecido que não mancham devem demonstrar ausência de coloração específica. Caso seja observada coloração específica, o controle negativo de tecido deve ser considerado inválido e os resultados obtidos com a amostra de tecido também devem ser tratados como tal.

Controle negativo de Tecido: Músculo esquelético e tumor estromal gastrointestinal (GIST) Tecidos

### Amostras de tecido

As amostras de tecido só devem ser analisadas depois que os tecidos de controle positivo e negativo forem considerados válidos. A coloração negativa indica que o antígeno não foi detectado no tecido, enquanto a coloração positiva representa a presença do antígeno. Uma seção de tecido corada com hematoxilina e eosina deve ser utilizada para analisar a morfologia do espécime de tecido e verificada por um patologista qualificado.

### Características de desempenho

Este anticorpo foi validado por imuno-histoquímica utilizando um microarranjo de tecido humano FFPE composto por diferentes tipos de tecidos normais e cancerosos. Coloração positiva foi observada em rbdmiossarcoma tecido. Nenhuma coloração foi observada em tecidos de músculo esquelético e tumor estromal gastrointestinal (GIST). Uma imagem representativa de coloração positiva é mostrada na página 1.

### Desempenho Analítico

A veracidade da medida, a precisão da medida, a repetibilidade e a reprodutibilidade do anticorpo, a especificidade analítica foram analisadas usando amostras de tecido de literatura publicada revisada por pares, conhecida por ser positiva ou negativa, e este estudo não encontrou resultados inesperados. O controle tecido positivo é tecidos de rbdmiossarcoma e o controle tecido negativo é tecidos de músculo esquelético e tumor estromal gastrointestinal (GIST).

### Desempenho Clínico

Os dados dos estudos de desempenho analítico utilizaram amostras obtidas de doadores e pacientes autorizados e demonstram que o desempenho do produto de anticorpos corresponde ao dos materiais de testes de diagnóstico de rotina estabelecidos e da literatura científica revisada por pares, validando seu desempenho no ambiente clínico.

## 7. Solução de problemas

1. Se as seções de tecido saírem da lâmina, isso pode ser causado por:
  - a) Os slides não têm carga positiva.
  - b) Tamponamento neutro inadequado da formalina utilizada no processo de fixação.
  - c) Uma seção de tecido grosso.
  - d) Secagem inadequada da seção de tecido antes da coloração.

2. Caso o controle positivo tecido apresente coloração negativa, isso pode ser devido a:

- a) Problema com o anticorpo primário ou um dos reagentes secundários.
- b) Coleta, fixação ou desparafinação inadequada da seção de tecido.
- c) Erros no processo de coloração IHC.

3. Se o controle positivo tecido apresentar coloração mais fraca do que o esperado, isso pode ser devido a condições de IHC abaixo do ideal, degradação parcial do anticorpo primário ou armazenamento inadequado de reagentes secundários. A análise dos tecidos de controle positivo e/ou negativo pode ajudar na determinação da causa.

Para obter assistência com todos os outros tipos de dúvidas, entre em contato com o Atendimento ao Cliente GenomeMe em [info@genomeme.ca](mailto:info@genomeme.ca).

## 8. Limitações

1. Este anticorpo destina-se apenas a diagnóstico in vitro (IVD) por pessoal qualificado em laboratórios.
2. Devido à variabilidade biológica inerente à expressão de determinados antígenos e procedimentos imuno-histoquímicos, controles positivos e negativos apropriados devem ser utilizados juntamente com a amostra de tecido. A coloração e a interpretação dos resultados devem ser realizadas num laboratório certificado e licenciado, sob a supervisão e responsabilidade de um patologista qualificado.
3. Este anticorpo, quando utilizado com os sistemas de detecção e reagentes apropriados, detecta antígeno(s) que permanecem intactos durante a fixação, processamento e seccionamento do tecido conforme descrito. Qualquer desvio destes procedimentos recomendados ou manuseio inadequado poderá comprometer a validade e/ou análise dos resultados. Não utilize fixadores que contenham álcool, pois podem resultar na perda da atividade de coloração.
4. A GenomeMe fornece anticorpos pré-diluídos em um formato pronto para uso e diluído de maneira ideal para uso conforme as instruções. Devido ao potencial de variação no processamento e fixação do tecido, pode ser necessário ajustar o tempo de incubação do anticorpo primário para diferentes espécimes de tecido.
5. A GenomeMe fornece anticorpos concentrados em um formato que requer diluição com GenomeMe Antibody Diluent. A utilização de um diluente diferente do especificado na bula deve ser validada pelo usuário para garantir a compatibilidade adequada com o anticorpo.
6. Os resultados da coloração da amostra de tecido também devem levar em consideração qualquer correlação clínica com o histórico médico do paciente e outras informações de diagnóstico. O usuário é responsável pela interpretação dos resultados dentro do contexto do paciente.
7. Quaisquer discrepâncias ou resultados inexplicáveis nas amostras de controle ou tecido podem ser relatadas ao Atendimento ao Cliente GenomeMe em [info@genomeme.ca](mailto:info@genomeme.ca) para obter assistência adicional. Consulte a seção Solução de Problemas para ver as causas comuns dos problemas.
8. Resultados falsos positivos podem ocorrer em amostras de tecido devido à possibilidade de ligação não imunológica de produtos de reação de substrato ou proteínas. Resultados falsos positivos também podem ocorrer dependendo do tipo de técnica de imunocoloração utilizada ou devido à atividade da pseudoperoxidase, peroxidase endógena ou biotina endógena.
9. Devido ao efeito de autoanticorpos ou anticorpos naturais, soros normais de uma fonte animal que sejam iguais aos anti-soros secundários podem resultar em resultados falsos negativos ou falsos positivos quando usados em etapas de bloqueio.
10. Pode ser observada coloração inespecífica com peroxidase de rábano ao utilizar tecidos contendo antígeno de superfície da hepatite B devido à infecção do paciente pelo vírus da hepatite B.

## 9. Advertências e precauções

1. Certifique-se de que são seguidos os procedimentos adequados de manuseio dos reagentes. Use sempre batas de laboratório, luvas descartáveis e outros equipamentos de proteção individual adequados ao manusear reagentes.
2. Não ingira nenhum anticorpo ou reagente. Evite o contato com os olhos e outras membranas mucosas. Caso ocorra algum contato, lave a área com água em abundância e siga os procedimentos laboratoriais para relatar a exposição.
3. Todos os tempos e temperaturas de incubação devem ser validados pelo usuário na primeira utilização. Eventuais condições de uso ou armazenamento diferentes das especificadas na bula também deverão ser validadas pelo

## 10. Referências

1. Zhu BL, et al. Chin Med J (Engl). 1994; 107:36-40. 2. Kock KF, et al. Forensic Sci Int. 1994; 65:113-9. 3. Horike K, et al. Jpn Circ J. 1991; 55:24-32.
1. Leader M, et al. Br J Cancer. 1989; 59:106-9. 5. Miller JB. J Cell Biol. 1990; 111:1149-59. 6. Wang NP, et al. Am J Pathol. 1995; 147:1799-810. 7. Cui S, et al. Pathol Int. 1999; 49:62-8. 8. Cessna MH, et al. Am J Surg Pathol. 2001; 25:1150-7. 9.

Furlong MA, et al. Mod Pathol. 2001; 14:595-603.  
10. Dias P, et al. Am J Pathol. 2000; 156:399-408.

## 11. Símbolos

GenomeMe utiliza os seguintes Símbolos e sinais além daqueles listados na norma ISO15223-1  Volume do Produto



GenomeMe Lab Inc., 1-3691 Viking Way, Richmond, BC V6V 2J5, Canada



Qarad EC-REP BV, Pas 257, 2440 Geel, Bélgica