

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human CD30
Klon Ber-H2
Ready-to-Use
(Dako Omnis)

Kód GA602

Použití	<p>Pro diagnostiku in vitro.</p> <p>FLEX Monoklonální myší antihumánní protilátka CD30, klon Ber-H2, připravená k použití (Dako Omnis), je určena pro použití v imunohistochemii (IHC) společně s přístrojem Dako Omnis. Tato protilátka značí buňky exprimující CD30 ve tkáních fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu (FFPE). Výsledky napomáhají při klasifikaci anaplastického velkobuněčného lymfomu (ALCL) a Hodgkinovy nemoci (1, 2). Diferenční klasifikaci napomáhají výsledky z panelu protilátek. Klinickou interpretaci zbarvení nebo jeho nepřítomnosti je třeba doplnit morfologickým vyšetřením s využitím patřičných kontrol a vyhodnotit s přihlédnutím k pacientově klinické anamnéze a k dalším diagnostickým testům provedeným kvalifikovaným patologem. Tato protilátka je určena k použití po primární diagnóze nádoru provedené konvenční histopatologií za použití neimunologických histochemických zbarvení.</p>
Synonyma antigenu	Ki-1 antigen (1).
Souhrn a výklad	<p>CD30 je transmembránový cytokinový receptor náležící k nadřazenému rodu receptorů faktoru nekrozy nádoru (TNF). Zralá CD30 má molekulovou hmotnost 120 kDa a je odvozena od prekurzoru proteinu s molekulovou hmotností 90 kDa (2). Mimobuněčná doména CD30 je homologická s doménou členů nadřazeného rodu receptorů TNF, zatímco cytoplazmatická doména nevykazuje žádnou homologii, a z uvedeného důvodu dochází k zásadním rozdílům v signalizačních mechanismech (3). Vnitrobuněčná část CD30 nevykazuje aktivitu kinázy, což znamená, že CD30 hraje důležitou roli v oblasti fungování, diferenciace nebo proliferace normálních lymfatických buněk (2). Rozpustná forma CD30, sCD30 s molekulovou hmotností 85 kDa, uvolněná z buňky navázané na molekulu v důsledku proteolytického štěpení, byla detekována v séru pacientů s novotvary s výskytem CD30 (3, 4). CD30 lze nalézt v Hodgkinových a Reed-Sternbergových (H-RS) buňkách, anaplastických velkobuněčných lymfomických buňkách a v aktivovaných lymfocytech B a T (2). V nelymfatických tkáních a novotvarech byla CD30 hlášena v embryonálních karcinomech, seminomech, deciduálních buňkách a v mezoteliomu (5).</p> <p>V příručce <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení) společnosti Dako nebo v návodu k systému detekce pro IHC metody naleznete informace týkající se těchto témat: Princip metody, potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky, skladování, přípravu vzorku, postup barvení, kontrola kvality, řešení problémů, interpretace zbarvení, obecná omezení.</p>
Dodávaná reagencie	<p>Monoklonální myší protilátka připravená k použití se dodává v kapalné podobě v pufru s obsahem stabilizujícího proteinu a 0,015 mol/l azidu sodného.</p> <p><u>Klon:</u> Ber-H2 (1) <u>Izotyp:</u> IgG1, kappa.</p>
Imunogen	Buněčná linie CO získaná od pacienta s Hodgkinovou nemocí T-buněčných kmenů (1, 6).
Specifita	Látka Anti-Human CD30, klon Ber-H2 byla vytvořena seskupením jako anti-CD30 na 4. mezinárodní konferenci pro diferenciaci antigenů lidských leukocytů (7). Analýza SDS-PAGE imunousazenin vytvořených mezi lyzátem 125I-označených buněk COS transfekovaných s cDNA, která kóduje CD30, a protilátkou vykazuje reakci s proteinem s molekulovou hmotností 120 kDa, což koresponduje s CD30. Transfekované buňky COS byly negativní. Epitop rozpoznávaný protilátkou se nachází mezi aminokyselinovými zbytky 112 a 412 (8). Tato protilátka značí: buněčné řady derivované z Hodgkinova onemocnění, L428, L540, L591, Co, Ho a KM-H2; HTLV-1 transfekované buněčné řady T, Hut-102 a MT-2; EBV-transformované buněčné řady B (ne Burkittovy), BJA-B a Cess a řadu myeloidních buněk, K 562 (1).
Bezpečnostní opatření	<ol style="list-style-type: none">1. Pro diagnostiku in vitro.2. Určeno pro profesionální uživatele.3. Tento výrobek obsahuje azid sodný (NaN₃), který je v čisté formě vysoce toxický. Koncentrace azidu sodného v produktu není sice klasifikována jako nebezpečná, nicméně sloučenina může reagovat s olovem a mědí v odpadním potrubí a vytvářet vysoce explozivní azidy těchto kovů. Při likvidaci splachujte dostatečným množstvím vody, aby nedocházelo k usazování azidů kovů v potrubí.4. Jako u každého výrobku biologického původu je nutno dodržovat řádná bezpečnostní opatření.5. Používejte odpovídající osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky.6. Nespotebované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.
Uchovávání	Uchovávejte při 2–8 °C. Během skladování musí být víčko uzavřené. Nepoužívejte po datu expirace uvedeném na lahvičce. Aplikační stabilita je 375 hodin. Aplikační stabilitu sleduje software Dako Omnis. Pokud se činidla skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Případná nestabilita výrobku by se neprojevila žádnými známkami. Proto je nutno provádět současně s testováním vzorků pacienta pozitivní a negativní kontroly. Pokud pozorujete neočekávané zbarvení, které nelze vysvětlit změnami laboratorních postupů, a máte podezření, že se jedná o problém s protilátkou, obraťte se na technickou podporu společnosti Dako.

Šablona protokolu
barvení*

Krok	Reagencie	Protokol
Deparafinizace	Clearify™ (kód GC810)	Výchozí
Předběžné zpracování	EnVision FLEX, Low pH (kód GV805)	30minutové tepelně indukované vyhledávání epitopu
Primární protilátka	Ready-to-Use (kód GA602)	10minutová inkubace
Činidlo pro negativní kontrolu	FLEX Negative Control, Mouse (kód GA750)	10minutová inkubace
Vizualizace	EnVision FLEX (kód GV800)	Blok: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Kontrastní barvivo	Hematoxylin (kód GC808)	3minutová inkubace
Montáž	Je vyžadována bezvodá permanentní montáž	Po vyjmutí nutno dehydratovat, vyčistit a namontovat
Kontrola kvality	Tkáň	Barvicí vzor
Kontrolní tkáň	Mandle	Membránové a/nebo tečkované cytoplazmatické zbarvení

*Uživatel se musí vždy seznámit s používanými činidly, která jsou uvedena v příbalové informaci, a vyhledat si podrobnosti v uživatelských příručkách Dako Omnis.

Příprava vzorku

Parafinové řezy: Protílátku lze používat ke značení řezů tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu. Vzorky tkání je nutno rozřezat na řezy o tloušťce 4 µm. Z důvodu vyšší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům se doporučuje používat podložní skla FLEX IHC Microscope Slides, kód K8020.

Postup barvení

Odstranění parafínu, vyhledání cíle, imunohistochemické barvení a kontrastní barvení se provádějí v přístroji Dako Omnis. V softwaru přístroje Dako Omnis jsou předem naprogramovány kroky barvení a inkubační doby. Pokud není v systému Dako Omnis připraven protokol, lze jej stáhnout ze stránky *Dako Omnis Protocol Update* (Aktualizace protokolu Dako Omnis) na webu www.agilent.com. Podrobné pokyny ke vkládání podložních sklů a plnění činidel naleznete v Základní uživatelské příručce Dako Omnis.

Přístroj Dako Omnis zajistí, aby tkáňové řezy během předběžného zpracování a následného imunohistochemického barvení nevyschly.

Předběžné zpracování: Odstranění parafínu z tkáňových řezů FFPE se provádí pomocí roztoku Clearify™, kód GC810. Doporučuje se vyhledávání cíle s tepelně indukovaným vyhledáváním epitopu (HIER) pomocí naředěného roztoku EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (Dako Omnis), kód GV805.

Vizualizace: Doporučený vizualizační systém je EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), kód GV800.

Poznámka: Pro HIER použijte EnVision FLEX Target Retrieval Solution, **Low pH** (50x) (Dako Omnis), kód GV805.

Kontrastní barvení: Doporučené kontrastní barvivo je Hematoxylin (Dako Omnis), kód GC808.

Montáž: Po provedení barvení v přístroji Dako Omnis se řezy musí dehydratovat, vyčistit a namontovat pomocí metody permanentní montáže.

Kontrola kvality

Pozitivní a negativní kontroly a také činidlo pro negativní kontrolu je nutno provádět vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat buňky mandlí a tyto buňky/struktury musí zobrazovat vzor reakce, jak je stanoveno pro tuto tkáň v části „Charakteristiky účinnosti“. Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Omnis), kód GA750.

Interpretace zbarvení

Buněčný barvicí vzor je membránový a/nebo tečkovaný cytoplazmatický.

Charakteristiky účinnosti

Normální tkáně: V mandlích vykazaly aktivované perifolikulární lymfocyty střední až silné membránové a/nebo tečkované cytoplazmatické zbarvení.

Reaktivita normální tkáně (9).

Typ tkáně (počet testovaných)	Pozitivní prvky tkáně	Typ tkáně (počet testovaných)	Pozitivní prvky tkáně
Brzlík (3)	3/3 Buňky s morfologií lymfocytů (<5 %)	Periferní nervy (3)	0/3
Děloha (3)	0/3	Plicce (3)	0/3
Děložní hrdlo (3)	0/3	Prostata (3)	0/3
Hypofýza (3)	0/3	Prs (3)	0/3
Játra (3)	0/3	Příštítná tělíska (3)	0/3
Jícen (3)	3/3 Buňky s morfologií lymfocytů (<5 %)	Slezina (3)	1/3 Buňky v zárodečném centru a červené pulpě (<5 %)
Kosterní sval (3)	0/3	Slinná žláza (3)	3/3 Buňky s morfologií lymfocytů (<1%–<5%)
Kostní dřeň (3)	0/3	Srdce (3)	0/3
Kůže (3)	0/3	Štítná žláza (3)	0/3
Ledvina (3)	0/3	Tenké střevo (3)	3/3 Buňky s morfologií lymfocytů (<5 %)
Mandle (3)	3/3 Lymfocyty v zárodečných centrech a několika perifolikulárních lymfocytech (<5 %)	Tračník (3)	3/3 Buňky s morfologií lymfocytů (<1 %)
Mozek, malý mozek (3)	0/3	Vaječník (3)	0/3
Mozek, velký mozek (3)	0/3	Varlata (3)	3/3 Buňky v intersticiální pojivové tkáni 1/3 Endoteliální buňky v rete testis

Nadledvina (3)	2/3 Glandulární buňky (<5 %)	Výstelkové buňky (hrudní stěna, břišní stěna, perikard, povrch gastrointestinální soustavy, vzorky srdce a/nebo plic) (3)	3/3 Mezoteliální buňky (<10 %–<50 %)
Pankreas (3)	0/3	Žaludek (3)	3/3 Buňky s morfologií lymfocytů (<5 %)









Abnormální tkáně: V parafínových řezech anaplastického velkobuněčného lymfomu protilátka výrazně zbarvila všech 60 případů. Nebyly pozorovány žádné rozdíly ve značení mezi fenotypy T, B nebo nulových buněk. V parafínových řezech Hodgkinovy nemoci bylo 61/61 případů nodulární sklerózy, 53/53 případů smíšené buněčnosti, 8/10 případů typu s vyčerpanými lymfocyty a 4/13 případů typu s převládajícími lymfocyty označených protilátkou. V rámci non-Hodgkinových lymfomů bylo slabé zbarvení subpopulace nádorových buněk viditelné v 11/11 případech lymfatické papulózy, u 62/93 případů kožních-, polymorfních, angioimunoblastických a lymfoepitelových lymfomů buněk T, a u 53/332 případů chronických lymfocytických, centrocytických (s malým štěpením), centroblastických–centrocytických, centroblastických a imunoblastických lymfomů buňky B v parafínu zalitých řezech, zatímco silné zbarvení bylo viditelné ve 20/67 případech lymfoplasmocytoidických/cytických lymfomů buňky B (1). V nelymfatických novotvarech tato protilátka označila nádorové buňky ve 48/50 případech čistých embryonálních karcinomů (EC) nebo EC součástí nádorů zárodečných buněk. V případech nádorů smíšených a čistých zárodečných buněk bez EC bylo označených 0/27 případů. V aktivním mezotelu bylo 16/28 pleurálních a peritoneálních efúzí označeno touto protilátkou, malá ohniska nádorových buněk ve 2/8 případech mezoteliomů byla taktéž označena (5). Žádné značení nebylo zpozorováno v 8 případech Kaposiho sarkomu a v 8 případech teleangiektatického granulomu (10).

Difúze jemného zrnitého cytoplazmatického zbarvení byla pozorována v endoteliálních buňkách v 21/33 případech hemangiomu, 4/10 případů lymfangiomu, 4/9 případů smíšených nádorů s oběma komponenty a v 6/10 případech angioleiomyomu (9).

Literatura

- Schwarting R, Gerdes J, Dürkop H, Falini B, Pileri S, Stein H. Ber-H2: A new anti-Ki-1 (CD30) monoclonal antibody directed at a formol-resistant epitope. *Blood* 1989;74:1678-89.
- de Bruin PC, Gruss H-J, van der Valk P, Willemze R, Meijer CJLM. CD30 expression in normal and neoplastic lymphoid tissue: biological aspects and clinical implications [review]. *Leukemia* 1995;9:1620-7.
- Falini B, Pileri S, Pizzolo G, Dürkop H, Flenghi L, Stirpe F, et al. CD30 (Ki-1) molecule: A new cytokine receptor of the tumor necrosis factor receptor superfamily as a tool for diagnosis and immunotherapy [review]. *Blood* 1995;85:1-14.
- Stein H, Foss H-D, Dürkop H, Marafioti T, Delsol G, Pulford K, et al. CD30+ anaplastic large cell lymphoma: a review of its histopathologic, genetic, and clinical features [review]. *Blood* 2000;96:3681-95.
- Dürkop H, Foss H-D, Eitelbach F, Anagnostopoulos I, Latza U, Pileri S, et al. Expression of the CD30 antigen in non-lymphoid tissues and cells. *J Pathol* 2000;190:613-8.
- Drexler HG, Minowada J. Hodgkin's disease derived cell lines: a review [review]. *Hum Cell* 1992;5:42-53.
- Schwarting R, Stein H. A3. Cluster report: CD30. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H, et al., editors. *Leucocyte typing IV. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 4th International Workshop and Conference; 1989 Feb 21-25; Vienna, Austria.* Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1989. p. 419-22.
- Dürkop H, Latza U, Hummel M, Eitelbach F, Seed B, Stein H. Molecular cloning and expression of a new member of the nerve growth factor receptor family that is characteristic for Hodgkin's disease. *Cell* 1992;68:421-7.
- Dako in-house test. Report D42907.
- Rudolph P, Lappe T, Schmidt D. Expression of CD30 and nerve growth factor-receptor in neoplastic and reactive vascular lesions: an immunohistochemical study. *Histopathology* 1993;23:173-8.

Vysvětlivky k symbolům

 Katalogové číslo	 2°C – 8°C Teplotní rozmezí od do	 Použitelné do
 In vitro diagnostický zdravotnický prostředek	 Číslo šarže	 Výrobce
 Viz návod k použití	 Autorizovaný zástupce v Evropské unii	



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com

Revize 2020.11