

**FLEX**  
**Monoclonal Mouse**  
**Anti-Human CD2**  
 Klon AB75  
**Ready-to-Use**  
 (Dako Omnis)

**Kód GA651**

**Použití** Pro diagnostiku in vitro.  
 FLEX Monoklonální myší antihumánní protilátka CD2, klon AB75, připravená k použití (Dako Omnis), je určena pro použití v imunohistochemii (IHC) společně s přístrojem Dako Omnis. Tato protilátka značí CD2-exprimující normální T-buňky a související novotvary. Výsledky pomáhají při klasifikaci prekurzorů T-buněčných lymfomů (1), periferních T-buněčných lymfomů (2) a anaplastických velkobuněčných lymfomů (3). Diferenční klasifikaci napomáhají výsledky z panelu protilátek. Klinickou interpretaci zbarvení nebo jeho nepřítomnosti je třeba doplnit morfoloogickým 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.

**Synonyma antigenu** T11 antigen, LFA-2 (antigen-2 související s funkcí leukocytů) (4, 5).

**Souhrn a výklad** Molekula CD2 je transmembránový glykoprotein o hmotnosti 50-55 kDa exprimovaný na naprosté většině thymocytů a téměř všech periferních T lymfocytů (4, 5). Na lidské molekule CD2 byly definovány tři funkčně důležité skupiny epitopů, nazvané T11<sub>1</sub>, T11<sub>2</sub> a T11<sub>3</sub> (CD2R). Funkce molekuly CD2 je dvojitá: adheze a aktivace. CD2 se váže na svůj kontra receptor CD58 (LFA-3), člen genové nadrodiny Ig. CD2 se váže na LFA-3 aktivované T buňky a může také zprostředkovávat thymocyt-thymickou adhezi epitelu. CD2 je jedním z antigenů omezujících se nejranější buněčné linie a objevuje se během T buněčné diferenciaci. CD2 je pan-T-buněčný antigen a je užitečný při identifikaci téměř všech normálních T lymfocytů. CD2 může být v některých neoplastických populacích T-buněk, zejména v lymfomech periferních T buněk, smazán. Bylo prokázáno, že protilátka CD2 značí thymocyty (95 %), zralé periferní T buňky (téměř všechny), NK buňky (80–90 %) a thymické B buňky (50 %) (4).

V kapitolách *General Instructions for Immunohistochemical Staining (Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení)* společnosti Dako nebo v návodu k detekčnímu systému pro IHC metody naleznete tyto části:  
 Princip metody, potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky, skladování, příprava vzorku, postup barvení, kontrola kvality, řešení problémů, interpretace zbarvení, obecná omezení.

**Dodávaná reagentie** Monoklonální myší protilátka připravená k použití se dodává v kapalné podobě v pufru s obsahem stabilizujícího proteinu a 0,015 mol/l azidu sodného.  
**Klon:** AB75. **Izotyp:** IgG1, kappa.

**Imunogen** Rekombinantní fuzní protein odpovídající externí doměně CD2 molekuly.

**Specifita** Protilátka v testech Western blotting lyzátů MOLT-4 značí CD2.

- Bezpečnostní opatření**
1. K diagnostice in vitro
  2. Určeno pro profesionální uživatele.
  3. Tento výrobek obsahuje azid sodný (NaN<sub>3</sub>), 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 správné postupy zacházení.
  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** Skladujte při teplotě 2–8 °C. Během skladování musí být víčko uzavřené. Nepoužívejte po datu expirace uvedeném na lahvičce. Aplikační stabilita je 80 hodin. Aplikační stabilitu sleduje software Dako Omnis. Pokud se reagentie skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Případná nestabilita výrobku se neprojevuje žádnými známkami. Proto je nutno provádět současně s testováním vzorků pacienta pozitivní a negativní kontroly. Pokud zpozorujete 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                 |   | Komentáře  |
|----------------------|---|--|
| Fixace/zalítí        | Fixováno ve formalínu, zalito v parafínu                            | Odstranění parafínu v přístroji  |
| Předběžné zpracování | EnVision FLEX, FLEX, High pH (kód GV804)                            | 30 min HIER  |
| Protilátka           | Ready-to-use  | 25minutová inkubace  |
| Negative Control     | FLEX Negative Control, Mouse (kód GA750)                            | 25minutová inkubace  |
| Vizualizace          | EnVision FLEX (kód GV800) + EnVision FLEX+ Mouse LINKER (kód GV821) | Blok: 3 min; Link: 10 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min                                       |
| Kontrastní barvivo   | Hematoxylin (kód GC808)   | 3minutová inkubace   |
| Kontrolní tkáň       | Mandle  | Cytoplazmatického a membránové barvení   |
| Skříčka              | FLEX IHC Microscope Slides (kód K8020)                              | Doporučeno kvůli lepší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům.                                   |
| Montáž               | Je vyžadována bezvodá permanentní montáž                            | Po barvení je třeba řezy dehydratovat, vyčistit a montovány za použití permanentní montážní metody |
| Vybavení             | Dako Omnis  | Činidla se dodávají v ampulkách určených pro příslušný přístroj                                    |

\*Uživatel se musí vždy seznámit s podrobnými pokyny k barvicímu postupu a s pokyny týkajícími se zacházení s produktem, které jsou uvedené v příbalové informaci.

**Příprava vzorku** **Parafinové řezy:** Protilátku lze používat ke značení řezů tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu. Vzorky tkání je nutno rozřezat na řezy o tloušťce 4 µm.

**Předběžné zpracování:** Je vyžadováno předběžné zpracování tkáňových řezů fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu tepelně indukovaným vyhledáváním epitopu (HIER). Doporučuje se předběžné zpracování tkání HIER pomocí naředěného roztoku EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), kód GV804. Odstranění parafínu, rehydratace a vyhledání cíle se

provádějí v přístroji Dako Omnis. Viz Základní uživatelská příručka Dako Omnis.

Přístroj Dako Omnis zajistí, aby tkáňové řezy během předběžného zpracování a následného imunohistochemického barvení nevyschly. Z důvodu vyšší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům se doporučuje používat podložní skla FLEX IHC Microscope Slides, kód K8020.

#### Postup barvení

**Program:** V softwaru přístroje Dako Omnis jsou předem naprogramovány kroky barvení a inkubační doby. Podrobné pokyny ke vkládání podložních skl a plnění činidel naleznete v Základní uživatelské příručce Dako Omnis. Pokud není v systému Dako Omnis připraven protokol, kontaktujte technickou podporu výrobce Dako. Všechny kroky inkubace se provádějí při teplotě 32 °C v přístroji Dako Omnis.

**Vizualizace:** Doporučený vizualizační systém je EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), kód GV800 v kombinaci s EnVision FLEX+ Mouse LINKER (Dako Omnis), kód GV821. Vizualizace se provádí v přístroji Dako Omnis.

**Kontrastní barvení:** Doporučené kontrastní barvivo je Hematoxylin (Dako Omnis), kód GC808. Kontrastní barvení se provádí v přístroji Dako Omnis.

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

**Kontrola kvality:** Tkáně pro pozitivní a negativní kontroly a také činidlo pro negativní kontrolu je nutno testovat vždy současně s použitím stejného protokolu jako vzorek pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat mandle a buňky/struktury musí zobrazovat vzor reakce, jak je stanoveno pro tuto tkáň v části „Charakteristiky účinnosti“. Doporučená reagentie pro negativní kontrolu je FLEX Universal Negative Control, Mouse (Dako Omnis), kód GA750.

#### Interpretace zbarvení

Buňky značené protilátkou zobrazují cytoplazmatické a membránové zbarvení.

#### Charakteristiky účinnosti









**Normální tkáně:** V mandlích vykazují izolované T-buňky v zárodečných centrech silnou barevnou reakci, zatímco T-buňky v T zóně vykazují středně silnou až silnou barevnou reakci.

**Abnormální tkáně:** Ve studii 75 pediatrických pacientů označila protilátka 24/58 případů anaplastických velkobuněčných lymfomů (2). V jiné studii bylo označeno 92/136 případů nespecifických lymfomů periferních T buněk a 7/8 případů lymfomů prekurzorových T-buněk (1).

#### Literatura

- Hyjek E, Chadburn A, Liu YF, Cesarman E et al. BCL-6 protein is expressed in precursor T-cell lymphoblastic lymphoma and in prenatal and postnatal thymus. Blood 2001;97:270-76.
- Went P, Agostinelli C, Gallamini A, Piccaluga PP et al. Marker expression in peripheral T-cell lymphoma: A proposed clinical-pathological prognostic score. J Clin Oncol 2006;24:2472-79.
- D'Amore SEG, Menin A, Bonoldi E, Bevilacqua P et al. Anaplastic large cell lymphomas: A study of 75 pediatric patients. Pediatr Devl Pathol 2007;10:181-91.
- Leong AS-Y, Cooper K and Leong FJW-M. CD2. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Greenwich Medical Media; 2003. p. 61-62.
- Moingeon P, Chang HC, Sayre PH, Clayton LK et al. The structural biology of CD2. Immunol Rev 1989;111:111-44.

#### Vysvětlivky k symbolům

|   |   |   |                                       |   |               |
|---|---|---|---------------------------------------|---|---------------|
|  REF | Katalogové číslo                              |  2 °C - 8 °C | Teplotní rozmezí od do                |  | Použitelné do |
|  IVD | In vitro diagnostický zdravotnický prostředek |  LOT         | Číslo šarže                           |  | Výrobce       |
|      | Viz návod k použití                           |  EC REP      | 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