

**FLEX**  
**Monoclonal Mouse**  
**Anti-Human CD10**  
 Klon 56C6  
**Ready-to-Use**  
 (Dako Omnis)

**Kód GA648**

**Použití** Pro diagnostiku in vitro.  
 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD10, Clone 56C6, Ready-to-Use (Dako Omnis) je určen pro použití v imunohistochemii (IHC) společně s přístrojem Dako Omnis. Výsledky napomáhají při klasifikaci Burkittova lymfomu (1, 2), folikulárního lymfomu (1, 3, 4), s výjimkou stupně III (5), akutní lymfoblastické leukémie prekurzorových B buněk (1, 2), renálního karcinomu – typu z jasných buněk (6, 7). 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.

**Synonyma antigenu** Běžný antigen akutní lymfocytické leukémie (CALLA), neutrální endopeptidáza, enkefalináza, neprilysin (7-9).

**Souhrn a výklad** CD10 je protein o molekulové hmotnosti 90-100 kDa náležející do rodiny transmembránových metaloproteáz typu II, která také zahrnuje antigeny leucocytů CD13 a CD26 a aminopeptidázu A. Tento gen kódující CD10 je lokalizován na chromozomu 3. CD10 je zinek dependentní enzym a předpokládá se, že down-reguluje celulární odpověď na hormony peptidu (8, 9). Na lymfoidních buňkách je CD10 exprimován na nezralých T a B prekurzorových buňkách, avšak není přítomný na zralých buňkách. CD10 je však opakovaně exprimován na proliferačních B buňkách a zralých neutrofilech (8-10). V lymfoidních maligních nádorech může být CD10 exprimován v akutní lymfoblastické leukémii (ALL) pocházející z prekurzorových B buněk, může být však pozorován i v části T-buněčných ALL (1, 2). Dále může být tento antigen exprimován v difúzním lymfomu velkých B buněk (DLBCL) (1, 10) a méně často v lymfomu pláštových buněk (3).  
 V příručce *General Instructions for Immunohistochemical Staining (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, Příprava vzorku, Postup barvení, Kontrola kvality, Řešení problémů, Interpretace zbarvení, Obecná omezení.

**Dodávaná reagencie** 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:** 56C6. **Izotyp:** IgG1.

**Imunogen** Rekombinantní fuzní protein odpovídající externí doméně CD10 glykoproteinu.

**Specifická** V testech Western blotting s placentálními buněčnými lyzáty označila protilátka pruh o velikosti 93 kDa odpovídající CD10 (11).

- Bezpečnostní opatření**
1. Pro diagnostiku 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 mědi 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. Nespotřebované 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 280 hodin. Zbývající aplikační stabilitu sleduje software Dako Omnis. Pokud se reagencie 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 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		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	12,5minutová inkubace
Negative Control	FLEX Negative Control, Mouse (kód GA750)	12,5minutová 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, játra	Membránové barvení
Sklička	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 fezy 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 technické služby 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:** Tkáň pro pozitivní a negativní kontroly a také činidlo pro negativní kontrolu je nutno testovat vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat játra a mandle a buňky/struktury musí zobrazovat vzhled reakce, jak je stanoveno pro tuto tkáň v části „Charakteristiky účinnosti“. Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je FLEX Universal Negative Control, Mouse (Dako Omnis), kód GA750.

#### Interpretace zbarvení

Buňky značené protilátkou zobrazují membránové zbarvení.

#### Charakteristiky účinnosti









**Normální tkáň:** V játrech vykazaly žlučové kanálky středně silnou až silnou reakci barvení. V mandli vykazaly B buňky zárodečných center slabou až středně silnou barevnou reakci. Protilátka označila kmenové buňky v kostní dřeni, subset nezralých B buněk v kostní dřeni a neutrofilů (8, 9, 11). Protilátka rovněž označila renální glomerulární a tubulární buňky, zárodečná centra v lamina propria tlustého střeva, kartáčových okrajů enterocytů v tenkém střevu, kartáčovém okraji žlučnickového epitelu, intersticiální stromální buňky plic, Schwannovy nervové buňky, interfascikulární stromální buňky v příčné a podélně pruhovaném svalu, fibroblasty, syncytiální trofoblasty a cytotrofoblasty placenty, prostatický glandulární epitel a prostatickou tekutinu, stromální buňky v endometriu a myoepiteliální buňky prsu (6, 7, 9, 11).

**Abnormální tkáň:** Protilátka označila 3/3 a 2/3 případů Burkittova lymfomu a také 4/5 a 30/33 případů akutní lymfoblastické leukémie prekurzorových B buněk (B-ALL) (1, 2). Protilátka označila 22/28, 12/15, 9/10 a 10/11 folikulárních lymfomů (1, 3, 4, 11) a 12/15 folikulárních lymfomů stupně I, zatímco v 5/6 případech folikulárních lymfomů stupně III nebylo pozorováno žádné, nebo pouze slabé značení (5). Protilátka dále označila 41/46 případů karcinomů renálních buněk (6) a všechny metastatické karcinomy renálních jasných buněk (7). Dále byly ve 2/5 případech označeny akutní lymfoblastické leukémie prekurzorových T buněk (T-ALL) (6) a v 11/11 případech difúzní lymfomy velkých B-buněk (10).

#### Literatura

1. Kaufmann O, Flath B, Späth-Schwalbe, Possinger K and Dietel M. Immunohistochemical detection of CD10 with monoclonal antibody 56C6 on paraffin sections. Am J Clin Pathol 1999;11:117-22.
2. Chu PG, Chang KL, Weiss LM and Arber DA. Immunohistochemical detection of CD10 in paraffin sections of hematopoietic neoplasms. App Imm & Mol Morphol. 2000;8:257-62
3. Chen CC, Raikow RB, Sonmez-Alpan E and Swerdlow S. Classification of small B-cell lymphoid neoplasms using a paraffin section immunohistochemical panel. App Imm & Mol Morphol 2000;8:1-11.
4. Lorscheid RB, Shay-Seymore D, Moore J, Banks PM, Hasserjian RP, Sandlund JT and Behm FG. Clinicopathologic analysis of follicular lymphoma occurring in children. Blood 2002;99:1959-64.
5. Esho C, Perkins S, Kampalath B, Shidham, Juckett M, and Chang C-C. Decreased CD10 expression in grade III and in interfollicular infiltrates of follicular lymphomas. Am J Clin Pathol 2001; 115:862-7
6. Chu P and Arber DA. Paraffin section detection of CD10 in 505 nonhematopoietic neoplasms. Frequent expression in renal cell carcinoma and endometrial stromal sarcoma. Am J Clin Pathol 2000;113:374-82.
7. Ordi J, Romagosa C, Tavassoli FA, Nogales F, Palacin A, Condom E, et al. CD10 expression in epithelial tissue and tumors of the gynecologic tract. A useful marker in the diagnosis of mesonephric, trophoblastic, and clear cell tumors. Am J Surg Pathol 2003;27:178-86.
8. Béné MC, Faure GC and the GEIL (Group D'Etude Immunologique des Leucémies). CD10 in acute leukemias. Haematologica 1997;82:205-10.
9. Leong AS-Y, Cooper K and Leong FJW-M. CD10. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Greenwich medical media; 2003. p. 77-78.
10. Le Gouill S, Talmant P, Touzeau C, Moreau A, Garand R, Juge-Morineau N, et al. The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with t(14:18) and 8q24/c-MYC rearrangement. The hematology journal 2007;92:1335-42
11. McIntosh GG, Lodge AJ, Watson P, Hall AG, Wood K, Anderson JJ et al. NCL-CD10-270: A new monoclonal antibody recognizing CD10 in paraffin-embedded tissue. Am J Pathol 1999;154:77-82.

#### 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