

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

**Kód GA786**

<b>Použití</b>	<p>Pro diagnostiku in vitro.</p> <p>FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD10, Clone DAK-CD10, Ready-to-Use (Dako Omnis), je určen pro použití při kvalitativním imunohistochemickém (IHC) testování společně s přístrojem Dako Omnis. Tato protilátka značí buňky exprimující CD10- ve tkáních fixovaných ve formalínu a zalitých v parafrínu (FFPE). Výsledky pomáhají při klasifikaci Burkittova lymfomu, folikulárního lymfomu, lymfomu z difúzních velkých B-buněk a renálního karcinomu – jasný buněčný typ. Diferenční klasifikaci napomáhají výsledky z panelu protilátek. Klinickou interpretaci zbarvení nebo jeho nepřítomnosti je třeba doplnit morfoloickým 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 tumoru provedené konvenční histopatologií za použití neimunologických histochemických zbarvení.</p>
<b>Synonyma antigenu</b>	Běžný antigen akutní lymfocytické leukémie (CALLA), neutrální endopeptidáza, enkefalináza, neprilysin <sup>1-3</sup> .
<b>Shrnutí a vysvětlení</b>	<p>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<sup>2,3</sup>. 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 proliferujících B buňkách a zralých neutrofilech<sup>2-4</sup>. U lymfoidních novotvarů byla exprese CD10 pozorována u různých typů leukemií a lymfomů<sup>4-7</sup>.</p> <p>V naší 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, Příprava vzorku, Postup barvení, Kontrola kvality, Řešení problémů, Interpretace zbarvení, Obecná omezení.</p>
<b>Dodávaná reagensie</b>	<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> DAK-CD10. <u>Izotyp:</u> IgG1.</p>
<b>Imunogen</b>	Syntetický peptid v extracelulární doméně lidského CD10.
<b>Specifita</b>	V testech Western blot s buněčnými lyzáty Raji značila protilátka velký pruh o molekulové hmotnosti 90–100 kDa odpovídající očekávané molekulové hmotnosti CD10.
<b>Bezpečnostní opatření</b>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. K diagnostice in vitro</li><li>2. Určeno pro profesionální uživatele.</li><li>3. Pouze na předpis.</li><li>4. 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.</li><li>5. Jako u každého výrobku biologického původu je při manipulaci nutno dodržovat řádná bezpečnostní opatření.</li><li>6. Používejte osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky.</li><li>7. Nespotřebované roztoky je nutno likvidovat jako chemický/biologický odpad v souladu s místními, oblastními, národními a mezinárodními předpisy.</li><li>8. Bezpečnostní datové listy jsou dostupné na stránkách <a href="http://www.agilent.com">www.agilent.com</a> nebo na vyžádání.</li></ol>
<b>Uchovávání</b>	<p>Skladujte při teplotě 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 reagensie 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 patologickou podporu společnosti Agilent.</p>

**Šablona protokolu  
barvení\***

Krok	Reagencie	Protokol
Odparafinování	Clearify (kód GC810)	Výchozí
Předběžné zpracování	EnVision FLEX, FLEX, High pH (kód GV804)	30minutové tepelně indukované vyhledávání epitopu
Primární protilátka	Ready-to-Use (kód GA786)	20minutová inkubace
Reagencie pro negativní kontrolu	FLEX Negative Control, Mouse (kód GA750)	20minutová inkubace
Vizualizace	EnVision FLEX (kód GV800)	Blok: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Barvení pozadí	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	Játra, tonsila	Membránové, ale rovněž 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:** Protilátku lze používat k 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. Chcete-li zachovat antigenicitu, měly by se tkáňové řezy umístěné na sklíčka obarvit do 8 týdnů od provedení řezů, pokud jsou uchovávány v temnu při teplotě 2–8 °C (preferováno) nebo při pokojové teplotě do 25 °C. Teplota při skladování nebo manipulaci by nikdy neměla překročit 25 °C, a to v žádném okamžiku po umístění na sklíčka, aby se zajistila integrita a antigenicita tkáně.

**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* na webu [www.agilent.com](http://www.agilent.com). Podrobné pokyny ke vkládání podložních skel 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.

**Předpůsobení:** 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, High pH (50x) (Dako Omnis), kód GV804.

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

**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 permanentní montážní metody.

**Kontrola kvality**

Positivní 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 játra a mandle a 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 barvení**

Buněčný barvicí vzor je převážně membránový, ale rovněž cytoplazmatický.

**Charakteristiky účinnosti**

**Normální tkáně:** V játrech vykázaly žlučové kanálky středně silnou až silnou reakci barvení. V mandli vykázaly B buňky zárodečných center slabou až středně silnou barevnou reakci.

Typ tkáně (počet testovaných)	Označené prvky tkáně	Typ tkáně (počet testovaných)	Označené prvky tkáně
Brzlík (3)	3/3 Lymfocytové buňky v kůře a prodloužené míše (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 10 %)	Mozek (3)	0/3
Děloha (3)	3/3 Endometriální stromální buňky (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 100 %)	Nadledvina (3)	3/3 Vnější kortikální zóna (slabé až středně silné zbarvení, membránové, 1–10 %)
	3/3 Intersticiální myofibroblastické buňky (velmi slabé / téměř žádné zbarvení až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 10–20 %)	Nerv periferní (3)	3/3 Periferní nervy primární Schwannovy buňky a perineurální obal (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 80 %)
Děložní hrdlo (3)	3/3 Cervikální endometrium (slabé až středně silné zbarvení, cytoplazma, 100 %)	Pankreas (3)	3/3 Buňky duktálního epitelu v exokrinní tkáni (slabé až středně silné zbarvení, membránové, 1 %)
	3/3 Myometrium (velmi slabé / téměř žádné zbarvení až středně silné zbarvení, cytoplazmatické, 10–11 %)	Plíce (3)	3/3 Intersticiální a alveolární makrofágy, alveolární buňky výstelkového epitelu, intersticiální buňky endotelu (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 100 %)

Typ tkáně (počet testovaných)	Označené prvky tkáně	Typ tkáně (počet testovaných)	Označené prvky tkáně
Hypofýza (3)	1/3 Glandulární buňky (slabé až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 1 %)	Prostata (3)	3/3 Glandulární epitel (slabé až středně silné zbarvení až po silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 100 %)
	1/3 Meningeální ependymální buňky (slabé až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 20 %)		3/3 Stromální buňky (velmi slabé / téměř žádné zbarvení až středně silné zbarvení, cytoplazmatické, 50 %)
	2/3 Adenohypofýza (velmi slabé / téměř žádné zbarvení až středně silné zbarvení, cytoplazmatické, 80 %)	Prs (3)	3/3 Myoepiteliální buňky (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 100 %)
	2/3 Neurohypofýza (velmi slabé / téměř žádné zbarvení až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 90%)		3/3 Duktální/glandulární buňky (velmi slabé / téměř žádné zbarvení až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 5–10 %)
Játra (3)	3/3 Žlučové kanálky (silné zbarvení, membránové, 100 %)		3/3 Intersticiální myofibroblastické buňky (slabé až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 10–50 %)
	3/3 Buňky lemující sinusoidy (velmi slabé / téměř žádné zbarvení až středně silné zbarvení, membránové, 10–90 %)	Příštítná tělíska (3)	0/3
Jícen (3)	3/3 Superficiální mukózní stromální buňky (slabé až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 10–20 %)	Slezina (3)	3/3 Primární červené, ale také bílé dřeňové makrofágy, včetně rozptýlených lymfocytových buněk (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 20 %)
Kosterní sval (3)	0/3	Slinná žláza (3)	0/3
Kostní dřev (3)	1/3 Lymfocyty a makrofágy (velmi slabé / téměř žádné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, <5 %)	Srdce (3)	0/3
Kůže (3)	3/3 Buňky mazových žláz (slabé až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 90 %)	Štítná žláza (3)	1/3 Folikulární buňky (velmi slabé / téměř žádné zbarvení, 1 %)
Ledvina (3)	3/3 proximální kanálky Glomeruly včetně buněk epitelu a Bowmanova vřetku (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 100 %)	Tenké střevo (3)	3/3 Superficiální a glandulární buňky epitelu krypt (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 100 %)
	3/3 Sběrné kanálky (velmi slabé / téměř žádné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 90 %)	Tlusté střevo (3)	2/3 Superficiální mukózní stromální buňky (slabé až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 10–20 %)
Malý mozek (3)	3/3 Subgranulární vrstva (velmi slabé / téměř žádné zbarvení, cytoplazmatické, 40–100%)		2/3 Lymfoidní folikulární zárodečné centrum (slabé až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 80–90 %)
Mandle (3)	3/3 Folikuly, převážně B-buňky (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 100 %)	Vaječník (3)	3/3 Mezoteliální buňky a submezoteliální stroma, makrofágy slabé až středně silné zbarvení, cytoplazmatické, 10 %)
	3/3 Stromální myofibroblastické buňky (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 70 %)	Varlata (3)	0/3
Mezotel (3)	3/3 Buňky mezotelu (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 10 %)	Žaludek (3)	1/3 Superficiální mukózní stromální buňky (slabé až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 20 %)
	3/3 Tuková tkáň a periferní nervy (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 90 %)	Žaludek (3)	1/3 Foveolární superficiální buňky (buňky (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 50 %)









## Abnormální tkáně:

Typ tkáně (počet testovaných)	Označené prvky tkáně	Typ tkáně (počet testovaných)	Označené prvky tkáně
Hepatocelulární karcinom (3)	3/3 Nádorové buňky (slabé až středně silné až silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 1–100 %)	Rakovina plic (3)	3/3 Nádorové buňky (slabé až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 5–20 %)
Karcinoid (3)	0/3	Rakovina prostaty (3)	3/3 Nádorové buňky (velmi slabé / téměř žádné zbarvení až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 50–60 %)
Karcinom renálních buněk (3)	3/3 Nádorové buňky (slabé až středně silné až silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 5–100 %)	Rakovina prsu (3)	2/3 Nádorové buňky (velmi slabé / téměř žádné zbarvení až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 1–10 %)
Leiomyom (3)	1/3 Nádorové buňky (velmi slabé / téměř žádné zbarvení, cytoplazmatické, 90 %)	Rakovina štítné žlázy (3)	1/3 Nádorové buňky (silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 75 %)
Lymfom (3)	0/3	Rakovina tlustého střeva (3)	3/3 Nádorové buňky (slabé až středně silné až silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 5–30 %)
Melanom (3)	3/3 Nádorové buňky (velmi slabé / téměř žádné zbarvení až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 20–75 %)	Rakovina vaječníků (3)	2/3 Nádorové buňky (slabé až středně silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 1–20 %)
Nediferencovaný karcinom (3)	1/3 Nádorové buňky (silné zbarvení, membránové, 95 %)	Rakovina žaludku (3)	0/3
Rakovina pankreatu (3)	1/3 Nádorové buňky (silné zbarvení, membránové, 50 %)	Sarkom (3)	2/3 Nádorové buňky (slabé až středně silné až silné zbarvení, membránové a cytoplazmatické, 50–80 %)

## Literatura

- Ordi J, Romagosa C, Tavassoli FA 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.
- Béné MC, Faure GC and Group D'Etude Immunologique des Leucémies. CD10 in acute leukemias. Haematologica 1997;82:205-10.
- Leong AS-Y, Cooper K, Leong FJW-M. CD10. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Greenwich medical media; 2003. p. 77-78.
- Le Gouill S, Talmant P, Touzeau C 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
- Kaufmann O, Flath B, Späth-Schwalbe et al. Immunohistochemical detection of CD10 with monoclonal antibody 56C6 on paraffin sections. Am J Clin Pathol 1999;11:117-22.
- Chu PG, Chang KL, Weiss LM et al. Immunohistochemical detection of CD10 in paraffin sections of hematopoietic neoplasms. App Imm & Mol Morphol. 2000;8:257-62
- Chen CC, Raikow RB, Sonmez-Alpan E et al. Classification of small B-cell lymphoid neoplasms using a paraffin section immunohistochemical panel. App Imm & Mol Morphol 2000;8:1-11.

## Vysvětlivky k symbolům

 Katalogové číslo	 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 2021.02