

**Monoclonal Mouse  
Anti-Human CD4  
Clone 4B12**

**Kód M7310**

<b>Použití</b>	<p>K diagnostice in vitro.</p> <p>Protilátka Monoclonal Mouse Anti-Human CD4, Clone 4B12 je určena pro použití v imunohistochemii. Tato protilátka značí thymocyty a T-helper buňky (1), tato protilátka je užitečná při identifikaci anaplastických velkobuněčných lymfomů (2). Protilátky na CD4 mohou být také užitečné při identifikaci mycosis fungoides a nespecifikovaných periferních T-buněčných lymfomů (3–5). Klinickou interpretaci jakéhokoli zbarvení nebo jeho nepřítomnosti se musí doplnit morfologickými studii s využitím správných kontrol a je nutno ji vyhodnocovat v kontextu klinické anamnézy pacienta a jiných diagnostických vyšetření provedených kvalifikovaným patologem.</p>
<b>Souhrn a vysvětlení</b>	<p>CD4 je glykoprotein o hmotnosti 55 kDa s pěti externími doménami podobnými imunoglobulinu, transmembránovou doménou a vysoce konzervovanou intracelulární doménou. CD4 má funkci ko-receptoru při aktivaci antigenem indukovaných T buněk omezující se na MHC třídy II a může zvyšovat buněčnou adhezi (1). Molekula CD4 slouží také jako receptor pro lidskou imunodeficienci viru na T buňkách a monocitech/makrofázích (4).</p> <p>CD4 je exprimována během vývoje T-buněk, avšak není přítomná v nezralých thymocytech (3). Je exprimována v T-helper buňkách, asi v 80–90 % zralých thymocytech a 55–65 % zralých periferních T buněk. Je také přítomná na subsetu supresorových nebo cytotoxických T buněk. CD4 je rovněž exprimována na monocitech/makrofázích, Langerhansových buňkách a ostatních dendritických buňkách, není však exprimována na B buňkách (1).</p> <p>CD4 hraje důležitou roli v imunofenotypizaci reaktivních lymfocytů a lymfoproliferativních nemocí. Většina periferních T buněčných lymfomů je odvozena z helper T buněčného subsetu, takže většina post thymických T buněčných novotvarů je CD4 pozitivní (1).</p> <p>V kapitolách <i>Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení</i> společnosti Dako nebo v návodu k detekčnímu systému pro IHC metody naleznete tyto části: 1) Princip metody, 2) Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky, 3) Skladování, 4) Příprava vzorku, 5) Postup barvení, 6) Kontrola kvality, 7) Řešení problémů, 8) Interpretace zbarvení, 9) Obecná omezení.</p>
<b>Dodávaná činidla</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> 4B12. <u>Izotyp:</u> IgG1, kappa. <u>Koncentrace myší IgG1 v mg/L:</u> Viz štítek na lahvičce.</p> <p>Proteinová koncentrace mezi šaržemi se může lišit bez ohledu na optimální ředění. Titer každé konkrétní šarže je upraven, aby byla zajištěna srovnatelná účinnost imunohistologického zbarvení v rámci jednotlivých šarží s referenční šarží.</p>
<b>Imunogen</b>	<p>Rekombinantní protein odpovídající externí doméně molekuly CD4.</p>
<b>Bezpečnostní opatření</b>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Určeno pro profesionální uživatele.</li><li>2. Tento výrobek obsahuje azid sodný (NaN<sub>3</sub>), který je v čisté formě vysoce toxický. Přestože se koncentrace azidu sodného ve výrobku neklasifikuje jako nebezpečná, 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>3. Jako u každého výrobku biologického původu je nutno dodržovat řádná bezpečnostní opatření.</li><li>4. Používejte odpovídající osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky.</li><li>5. Nespotřebované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.</li></ol>
<b>Skladování</b>	<p>Składujte při 2 – 8 °C. Nepoužívejte po datu expirace vytištěném na lahvičce. Pokud se činidla skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Neexistují žádné známky toho, že by tyto produkty byly nestabilní. Proto je nutno provádět pozitivní a negativní kontroly současně s pacientovými vzorky. 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.</p>

**Příprava vzorku včetně potřebných materiálů, které nejsou součástí dodávky**

Parafinové řezy:

Protílátku lze používat ke značení řezů tkání zalitých v parafínu a fixovaných ve formalínu.

Je vyžadováno předběžné zpracování deparafinovaných\* tkáňových řezů tepelně indukovaným vyhledáváním epitopu (HIER). Optimálních výsledků bylo dosaženo předběžným zpracováním tkání pomocí Dako EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (kód K8004/K8014)..

Doporučuje se provádět předběžné zpracování deparafinovaných tkáňových řezů, fixovaných ve formalínu pomocí Dako PT Link (kódy PT100/PT101). Podrobné informace, viz uživatelská příručka k přístroji PT Link. Pro PT Link je třeba použít následující parametry: Teplota předehřívání: 65 °C; teplota a čas vyhledávání epitopu: 97 °C po dobu 20 (±1) minut; ochladit na 65 °C. Vyjmout stojany se s klíčky Autostainer z nádrže PT Link a ihned ponořit sklíčka do nádoby/nádrže (např. PT Link Rinse Station, kód PT109) obsahující naředěný roztok EnVision™ FLEX Wash Buffer (10X) (kód K8000/K8010) pokojové teploty. Sklíčka ponechat v pufru Wash Buffer po dobu 1 – 5 minut.

\*Řezy zalité v parafínu: Jako alternativu přípravy vzorků je možné provést deparafinaci a vyhledávání epitopu v přístroji PT Link pomocí modifikovaného postupu. Pokyny, viz uživatelská příručka k přístroji PT Link. Po provedení barvení se řezy musí dehydratovat, vyčistit a namontovat pomocí permanentního montážního média.

Tkáňové řezy nesmí během zpracování nebo během následného imunohistochemického barvení vyschnout. Z důvodu vyšší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům se doporučuje používat silanizovaná podložní skla Dako Silanized Slides (kód S3003).

Zmrazené řezy:

Protílátku lze používat ke značení zmrazených řezů fixovaných v acetonu.

**Postup barvení včetně potřebných materiálů, které nejsou součástí dodávky**

Ředění: Protílátku Monoclonal Mouse Anti-Human CD4, kód M7310 lze ředit v ředícím poměru 1:40 – 1:80 při použití na řezech předběžně zpracovaných, fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu, při inkubování v délce 20 minut při pokojové teplotě. Doporučuje se ředit protílátku v roztoku EnVision™ FLEX Antibody Diluent (kódy K8006/K8016), nebo Dako Antibody Diluent (kód S0809). Toto jsou pouze obecné pokyny. Optimální podmínky se mohou lišit v závislosti na vzorku a způsobu přípravy, a měly by být v každé laboratoři stanovovány samostatně. Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je Dako Negative Control, Mouse IgG1 (kód X0931), zředěné na stejnou koncentraci myší IgG jako primární protílátka. Pokud nebyla stanovena stabilita naředěné protílátky a negativní kontroly v stávajícím postupu barvení, doporučuje se naředit tato činidla bezprostředně před použitím. Pozitivní a negativní kontroly je třeba provádět současně s pacientovými vzorky.

Pozitivní a negativní kontroly je nutno provádět vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat mandle a játra a buňky/struktury musí ve všech pozitivních vzorcích zobrazovat vzor reakce, jak je stanoveno pro tuto tkáň v části „Charakteristiky účinnosti“.

Vizualizace: Doporučuje se EnVision™ FLEX, High pH, (kód K8000/K8010), pomocí 20minutové inkubace při pokojové teplotě. Dodržujte postup přiložený ke zvolenému vizualizačnímu systému.

Automatizace: Protílátka je vhodná pro imunohistochemické barvení pomocí automatických přístrojů, například na barvicích automatech Dako Autostainer, Autostainer Plus a Autostainer Link.

**Interpretace zabarvení**

Buňky značené protílátkou zobrazují membránové zabarvení.

**Charakteristiky účinnosti**








Normální tkáně: V mandlích vykazaly nabitě a izolované T-helper buňky středně silnou až silnou reakci barvení. V játrech vykazaly Kupfferovy a endoteliální buňky sinusoid slabou až středně silnou reakci barvení.

Abnormální tkáně: Protílátka označila 1/1 případů mucosis fungoides a 2/2 periferních T-buněčných lymfomů. Ve studii 75 pediatrických pacientů označila protílátka 22/51 případů anaplastických velkobuněčných lymfomů (2).

**References**

1. Leong A S-Y, Cooper K and Leong F J W-M eds. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology, second ed 2003. Greenwich Medical Media Ltd: p. 65-6.
2. D'Amore SEG, Menin A, Bonoldi E, Bevilacqua P, Cazzavilan S, Donofrio V, et al. Anaplastic large cell lymphomas: A study of 75 pediatric patients. *Pediatr Dev Pathol* 2007;10:181-91.
3. Dabbs DJ. Ed. Diagnostic Immunohistochemistry, second ed 2006 Elsevier Inc; p. 141-50.
4. Williamson SLH, Steward M, Milton I, Parr A, Piggott NH, Krajewski AS, et al. New monoclonal antibodies to the cell antigens CD4 and CD8. *Am J Pathol* 1998;152:1421-26.
5. Zettl A, Rüdiger T, Konrad M-A, Chott A, Simonitsch-Klupp I, Sonnen R, et al. Genomic profiling of peripheral T-cell lymphoma, unspecified, and anaplastic large T-cell lymphoma delineates novel recurrent chromosomal alterations. *Am J Pathol* 2004;164:1837-48.

**Vysvětlivky k symbolům**

 REF	Katalogové číslo	 2°C - 8°C	Teplotní rozmezí		Výrobce
 IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek	 LOT	Číslo šarže		
	Seznamte se s návodem k použití		Použitelné do		