

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human CD15
Klon Carb-3
Ready-to-Use
(Link)

Kód IR062

Určené použitie

Určené na diagnostické in vitro použitie.

Produkt FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD15, Klon Carb-3, Ready-to-Use, (Link), je určený na použitie v imunohistochemii spoločne s prístrojmi Autostainer Link. Táto protilátka je vhodná na identifikáciu zreých granulocytov, mononukleárných Hodgkinových buniek a Reed-Sternbergových buniek v Hodgkinovom lymfóme. (1). Klinická interpretácia ktoréhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie by mala byť doplnená morfológickou štúdiou pomocou správnych kontrol a mala by sa vyhodnotiť v kontexte klinického prejavu pacienta a iných diagnostických testov vykonávaných patológom.

Synonymá pre antigén

Lewis X (Le^x) antigen (2, 3), „3-fukosyl-N-acetylaktosamin [3-FL] (4), X-hapten (3, 5), štádiovlo-špecifický embryonálny antigén-1 [SSEA-1] (2, 3), lakto-N-fukopentóza III [LNFP III] (3)

Súhrn a vysvetlenie

CD15 je exprimovaný na Reed-Sternbergových bunkách pri Hodgkinovej chorobe a na rozličných typoch buniek, vrátane myeloidných a epitelových buniek (3-6). Protilátky k CD15 rozpoznávajú pentasacharidovú sekvenciu nachádzajúcu sa v lakto-N-fukopentóze III ceramide (tiež nazývaný X hapten Le^x), ktorý bol nájdený vo vyšších glykolipidoch a glykoproteínoch (2, 5).

V kapitolách *Všeobecné pokyny pre imunohistochemické farbenie* spoločnosti Dako alebo v návode k detekčnému systému pre IHC metódy nájdete tieto časti: 1) Princíp metódy, (2) Potrebné materiály, ktoré nie sú súčasťou dodávky, (3) Skladovanie, (4) Príprava vzorky, (5) Postup farbenia, (6) Kontrola kvality, (7) Odstraňovanie problémov, (8) Interpretácie zafarbenia, (9) Všeobecné obmedzenia.

Dodané činidlá

Ready-to-use monoklonálna myšacia protilátka, dodávaná v tekutej forme v pufri, ktorý obsahuje stabilizačný proteín a 0,015 mol/L NaN₃.

Klon: Carb-3 Izotyp: IgM, kappa

Imunogén

Afinitne izolovaný X-hapténový oligopeptidový fragment z buniek s myelomonocytickou leukémiou

Špecifickosť

V testoch Western blot s bunkovými lyzátmi HL60 značila protilátka veľký pruh s molekulovou hmotnosťou ~220 kDa, ktorý zodpovedá očakávanej molekulovej hmotnosti proteínu CD15 (7).

Preventívne opatrenia

1. Určené pre odborníkov.
2. Tento výrobok obsahuje azid sodný (NaN₃), ktorý je v čistej forme vysoko toxický. Aj keď koncentrácia azidu sodného vo výrobku nie je klasifikovaná ako nebezpečná, azid sodný môže reagovať s olovom a meďou v odpadovom potrubí a vytvárať vysoko explozívne azidy týchto kovov. Pri likvidácii splachujte dostatočným množstvom vody, aby nedochádzalo k usadzovaniu azidov kovov v potrubí.
3. Ako u každého výrobku biologického pôvodu je nutné dodržiavať riadne bezpečnostné opatrenia.
4. Používajte osobné ochranné prostriedky, aby nedošlo k zasiahnutiu očí alebo pokožky.
5. Nespotrebované roztoky je potrebné likvidovať v súlade s miestnymi a celoštátnymi predpismi.

Uskladnenie

Skladujte pri teplote 2–8 °C. Nepoužívajte po dátume expirácie uvedenom na fľaštičke. Ak sa činidlá skladujú za akýchkoľvek iných než tu uvedených podmienok, musí používateľ vykonať ich kontrolu. Neexistujú žiadne známky toho, že by tento výrobok nebol stabilný. Preto je nutné vykonávať pozitívne a negatívne kontroly súčasne so vzorkou pacienta. Ak spozorujete neočakávané zafarbenie, ktoré nie je možné vysvetliť zmenami laboratórnych postupov, a máte podozrenie, že sa ide o problém s protilátkou, obráťte sa na oddelenie technickej podpory spoločnosti Dako.

Príprava vzoriek vrátane potrebného materiálu, ktorý sa nedodáva

Protilátku možno používať na označovanie rezov tkanív zaliatých v parafíne a fixovaných vo formalíne. Vzorky tkaniva by mali byť narezané na rezy s hrúbkou približne 4 µm.

Požaduje sa predbežné spracovanie tepelne indukovaným odmaskovaním epitopu (HIER). Optimálne výsledky sa dosiahli predbežným spracovaním tkanív pomocou roztoku EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x) (Link) (kód K8000/K8004).

Deparafinované rezy: Odporúča sa predbežné spracovanie rezov tkanív zaliatých v parafíne a fixovaných vo formalíne, a to použitím Dako PT Link (kód PT100/PT101). Podrobnejšie informácie nájdete v používateľskej príručke k zariadeniu PT Link.

Postupujte podľa postupu predbežného spracovania, ktorý je uvedený v príbalovom letáku pre EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x) (Link) (kód K8000/K8004). Pre PT Link treba dodržať nasledovné

parametre: Teplota pri predbežnom ohriatí: 65 °C; teplota a čas odmaskovania epitopu: 97 °C po dobu 20 (±1) minút; schladzte na 65 °C. Prepláchnite rezy nariadeným roztokom EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x), (Link), ktorý má izbovú teplotu (kód K8000).

Rezy zaliate v parafíne: Použitím modifikovaného postupu môžu byť deparafinizácia a odmaskovanie epitopu vykonané v PT Link ako alternatívna príprava vzorky. Podrobnejšie pokyny nájdete v používateľskej príručke k zariadeniu PT Link. Po ukončení farbenia musia byť rezy dehydrované, očistené a namontované použitím permanentného upevňovacieho média.

Rezy tkanív nesmú počas spracovania alebo počas následného imunohistochemického farbenia vyschnúť. Za účelom lepšej príľnavosti rezov tkaniva k podložným sklíčkam sa odporúča použiť sklá Dako Silanized Slides (kód S3003).

Postup farbenia vrátane potrebného materiálu, ktorý sa nedodáva

Odporúčaný vizualizačný systém je EnVision™ FLEX, High pH (Link) (Kód K8000). V softvéri Autostainer Link sú vopred naprogramované farbiace a inkubačné časy. Podrobné pokyny o vkladaní sklíčok a činidiel nájdete v používateľskej príručke Autostainer Link. Ak nie sú dostupné protokoly v použítom prístroji Autostainer, obráťte sa na oddelenie technickej podpory spoločnosti Dako. Všetky inkubačné kroky treba vykonávať pri izbovej teplote.

Optimálne podmienky sa môžu líšiť v závislosti od vzorky a spôsobu prípravy a mali by byť každým laboratóriom stanovované samostatne. V prípade požiadavky patológa na odlišnú intenzitu farbenia sa obráťte na aplikačného špecialistu/špecialistu technického servisu, ktorý vám podá informácie o preprogramovaní protokolu. O dostačujúcej funkcii nastaveného protokolu sa presvedčte vyhodnotením a porovnaním vzoru farbenia so vzorom popísaným v časti „Charakteristiky účinnosti“.

Na kontrastné farbenie v hematoxilíne sa odporúča EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Link) (kód K8008). Odporúča sa bezvodné, permanentné upevňovacie médium.

Pozitívne a negatívne kontroly treba vykonávať súčasne s použitím rovnakého protokolu ako pri vzorkách pacienta. Tkanivo s obsahom pozitívnej kontrolnej vzorky by malo zahŕňať neutrofile, eozinofily a makrofágy zárodočného centra, pričom bunky/štruktúry by mali vykazovať pozitívnu reakciu pri všetkých vzorkách tak, ako je uvedená pre dané tkanivá v časti „Charakteristiky účinnosti“. Odporúčaná negatívna kontrolná reagentia je FLEX Negative Control, Mouse, (Link) (kód IR750).

Interpretácia zafarbenia

Vzor zafarbenia buniek je cytoplazmatický a/alebo membránový (1, 5).

Charakteristiky účinnosti

Normálne tkanivá:

Typ tkaniva (testovaný počet)	Pozitívne zafarbené prvky tkaniva
Nadoblička (3)	3/3 endokrinných buniek kôry nadobličiek (100 %), cytoplazmatické
Kostná dreň (3)	2/3 myeloidných buniek (100 %), cytoplazmatické 2/3 myeloidných buniek (100 %), cytoplazmatické
Prsníky (2)	2/2 buniek duktálneho epitelu (25–100 %), cytoplazmatické
Mozog/mozoček (3)	3/3 bielych hmôt, sivých hmôt (100 %), difúzne
Mozog/Cerebrum (3)	3/3 bielych hmôt, sivých hmôt (100 %), difúzne
Cervix (2)	0/2
Hrubé črevo (2)	1/2 buniek mukózneho žľazového epitelu (50 %), prerušované, apikálno-cytoplazmatické 1/2 buniek mukózneho epitelu (20 %), apikálno-cytoplazmatické
Pažerák (2)	2/2 buniek non-bazálneho skvamózneho epitelu (100 %), cytoplazmatické
Srdce (3)	0/3
Oblička (3)	3/3 kortikálnych tubulárnych epitelov (100 %), cytoplazmatický 2/3 kortikálnych a medulárnych endotelov (100 %), cytoplazmatický
Pečeň (3)	1/3 sinusoidálnych endotelov (40 %), cytoplazmatický
Plúca (3)	0/3
Mezoteliálne bunky (3)	2/3 mezoteliálnych endotelov (100 %), cytoplazmatické
Periférne nervy (3)	0/3
Vaječníky (3)	0/3
Pankreas (3)	2/3 acinózných buniek (25–50 %), cytoplazmatické
Prištítna telieska (3)	0/3
Hypofýza (3)	3/3 endokrinných buniek adenohypofýzy (75–100 %), cytoplazmatické 2/3 neuropil neurohypofýzy (75–100 %), difúzne
Prostata (2)	1/2 buniek glandulárneho epitelu (50 %), cytoplazmatická

Slinná žľaza (3)	1/3 buniek duktálneho epitelu (100 %), apikálno-cytoplazmatická 1/3 buniek glandulárneho epitelu (20 %), cytoplazmatická
Kostrové svalstvo (3)	0/3
Pokožka (3)	0/3
Tenké črevo (3)	1/3 buniek mukózneho epitelu (20 %), apikálno-cytoplazmatická
Slezina (3)	3/3 myeloidných buniek (100 %), cytoplazmatické
Žalúdok (3)	3/3 žalúdočných slizníc (100 %), cytoplazmatické
Semenníky (3)	0/3
Týmus (3)	2/3 hasselových teliesok (100 %), non-celulárne
Štítna žľaza (2)	0/2
Mandle (3)	2/3 buniek ležiaceho skvamózneho epitelu (50–100 %), cytoplazmatické
Maternica (2)	2/2 buniek glandulárneho epitelu (15–75 %), cytoplazmatické

Abnormálne tkanivá:

Autori Arbera a kol. oznámili, že protilátky proti CD15 vykazujú pozitívnu reakciu v 87 % Hodgkinovej choroby vrátane nodulárnej sklerózy, zmiešanej celularity a lymfocytovej deplécie, kde lymfocyty prednostne vykazujú nižší stupeň positivity (37 %). Medzi non-Hodgkinovými lymfómami, 13 % exprimuje CD15 vrátane 4,1 % B-buniek, 21 % T-buniek a 17 % nulových buniek. Expresia CD15 bola tiež preukázaná pri akútnej myeloidnej leukémii (65 %) a chronickej myelogenózne leukémii (96 % chronická fáza a 54 % akútna fáza). Relatívne nízky stupeň CD15 sa exprimuje pri lymfoblastickej leukémii (5,7 % celkovo), s dosiahnutou pozitivitou u 7,7 % bežných a prekursorových B-buniek, 0 % B-buniek, 7,7 % T-buniek a 17,3 null-buniek. Karcinómy pôvodom z rozličných orgánov sa tiež ukázali ako CD15 pozitívne (56 %), vrátane adenokarcinómov, karcinómov skvamóznych buniek a nediferencovaných veľkých a malých bunkových karcinómov (5).

Literatúra

1. Pileri SA, Ascani S, Leoncini L, Sabbatini E, Zinzani PL, Piccaluga PP, Pileri A, Jr., Giunti M, Falini B, Bolis GB, Stein H: Hodgkin's lymphoma: the pathologist's viewpoint, J Clin Pathol 2002, 55:162-176
2. Ball ED. CD15 cluster workshop report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, Ritz J, Shaw S, Silverstein R, Springer T, Tedder TF, Todd RF (eds). Leucocyte Typing V. White cell differentiation antigens. Oxford: Oxford Univ Press 1993;1:790-805
3. Kannagi R. CD15 Workshop Panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEGK, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, Moretta L, Okumura K, Shaw S, Springer TA, Sugamura K, Zola H (eds). Leucocyte Typing VI. White Cell Differentiation Antigens. Garland Publishing Inc. New York, 1998;348-51
4. Gocht A, Struckhoff G, Löhler J. Invited review. CD15-containing glycoconjugates in the central nervous system. Histol Histopathol 1996;11:1007-28
5. Arber DA, Weiss LM. CD15: a review. Applied Immunohistochem 1993;1(1):17-30
6. Kornstein MJ, Bonner H, Gee B, Cohen R, Brooks JJ. Leu M1 and S100 in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphomas. AJCP 1986;85(4):433-7
7. Unpublished (Dako)

REF Katalógové číslo	 Teplotné obmedzenie	IVD Lekársky nástroj na diagnostiku in vitro	 Dako North America, Inc. 6392 Via Real Carpinteria, California 93013 USA Tel 805 566 6655 Fax 805 566 6688 Technical Support 800 424 0021 Customer Service 800 235 5763	EC REP Dako Denmark A/S Produktionsvej 42 DK-2600 Glostrup Denmark Tel +45 4485 9500 Fax +45 4485 9595 www.dako.com
 Výrobca	LOT Číslo šarže	 Obsah postačuje na <n> testov		
 Použiť do	 Pozri návod na použitie	EC REP Úradne schválený splnomocnenec v rámci Európskeho spoločenstva		

PT0020/ Rev C

Vydanie 09/07