

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
CD5
Klon 4C7
Pripravené na použitie
(Link)

Kód IR082

Určené použitie

Na diagnostické použitie *in vitro*.

Protilátka FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD5, klon 4C7, pripravená na použitie, (Link), je určená na použitie v oblasti imunohistochemie spolu s prístrojmi Autostainer Link. Protilátka označuje CD5-pozitívne bunky a môže byť užitočná na identifikáciu B- a T-bunkových zhubných nádorov, vrátane B-bunkovej chronickej lymfoidnej leukémie (B-CLL), B-bunkového lymfómu z malých lymfocytov (B-SLL), lymfómu z plášťových buniek (MCL) a T-bunkového lymfómu a leukémie (1-4). Klinická interpretácia ktoréhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencia by mala byť doplnená morfológickou štúdiou pomocou správnych kontrol a mal by ju vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a iných diagnostických testov kvalifikovaný patológ.

Synonymá

Leu-1, Ly-1, Tp67 (3,5).

Súhrn a vysvetlenie

CD5 je jednoreťazcový transmembránový glykoproteín s molekulovou hmotnosťou 67 kDa. Je to člen skupiny scavenger receptora bohatého na cysteín (SRCR) extracelulárnych štruktúr podobných doménam a je zapojený do transdukcie signálu (6). V normálnych bunkách je CD5 slabšie exprimovaný na väčšine nezrelých T-bunkových prekurzoroch, ktoré sú CD34 pozitívne, a intenzívnejšie exprimovaný na zrelosti T-lymfocytoch. Okrem toho je CD5 slabšie exprimovaný v subsele normálnych B-buniek (3). V neoplastických tkanivách je CD5 zistený na B-bunkách lymfoproliferatívnych ochorení, vrátane lymfómu z plášťových buniek (MCL) a B-bunkového lymfómu z malých lymfocytov/chronickej lymfocytickej leukémie (SLL/CLL) (1–4). Ostatné B-bunkové lymfómy, ako sú lymfómy marginálnej zóny, folikulárne, difúzne veľkobunkové a lymfoblastické typy, vykazujú malé alebo žiadne exprimovanie CD5 (1–4). Antigén CD5 je tiež zistený vo väčšine T-bunkových zhubných nádorov, vrátane 85 % T-bunkových akútnych lymfoblastických leukémií (ALL) (2,3). Ukázalo sa, že protilátky proti CD5 sú užitočnými nástrojmi na diagnózu a klasifikáciu B-bunkových a T-bunkových zhubných nádorov (1–4,7).

V kapitolách *Všeobecné pokyny pre imunohistochemické farbenie* spoločnosti Dako alebo v návode k detekčnému systému pre IHC metódy si prečítajte 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) Interpretácia zafarbenia, 9) Všeobecné obmedzenia.

Dodané činidlo

Monoklonálna mišia protilátka, pripravená na použitie, v kvapalnej forme v roztoku s obsahom stabilizačného proteínu a 0,015 mol/l azidu sodného.

Klon: 4C7 (4).

Izotyp: IgG1, kappa

Imunogén

Rekombinantný prokaryotický fúzoací proteín, ktorý korešponduje s extracelulárnou doménou molekuly CD5.

Špecifita

Ľudská molekula CD5, 67 kDa.

Bezpečnostné opatrenia

1. Pre profesionálnych používateľov.
2. Tento výrobok obsahuje azid sodný (NaN_3), ktorý je v čistej forme vysoko jedovatý. 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 výbušné azidy týchto kovov. Po zneškodnení vypláchnite veľkým množstvom vody, aby ste zabránili nahromadeniu kovových azidov v potrubíach.
3. Rovnako ako pri každom výrobku biologického pôvodu je nevyhnutné dodržiavať správne postupy pri manipulácii.
4. Používajte osobné ochranné prostriedky, aby nedošlo k zasiahnutiu očí alebo pokožky.
5. Nepoužitý roztok sa má zneškodniť podľa miestnych a štátnych predpisov.

Skladovanie

Skladovať pri teplote 2 – 8 °C. Nepoužívať po dátume expirácie uvedenom na fľaštičke. Ak sa činidlá skladujú za akýchkoľvek iných ako tu uvedených podmienok, musí používateľ dané podmienky preveriť. Neexistujú žiadne známky toho, že by tento výrobok nebol stabilný. Preto sa pozitívne a negatívne kontrolné vzorky majú stanovovať súčasne so vzorkami pacientov. Ak spozorujete neočakávané sfarbenie, ktoré sa nedá vysvetliť zmenami laboratórnych postupov, a existuje podozrenie na problém s touto protilátkou, obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Dako.

**Príprava vzoriek,
vrátane potrebného
materiálu, ktorý nie je
súčasťou dodávky**

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

Vyžaduje sa predbežné spracovanie teplom indukovaným vyhľadávaním epitopu (HIER) pomocou Dako PT Link (kód PT100/PT101). Podrobné informácie nájdete v používateľskej príručke k nádrži PT Link. Optimálne výsledky sa dosiahli predbežným spracovaním tkanív pomocou roztoku EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (kód K8000/K8004/K8023) počas 20 minút pri 97 °C a následným premývaním 5 minút v roztoku EnVision™ FLEX Wash Buffer (kód K8007).

Rezy zaliate v parafríne: Odporúča sa predbežné spracovanie formalínom fixovaných, tkanivových rezov zaliatých v parafríne použitím procedúry prípravy vzoriek 3 v 1 pomocou nádoby Dako PT Link. Postupujte podľa postupu predbežného spracovania, ktorý je uvedený v príbalovom letáku pre EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (kód K8000/K8004/K8023). Poznámka: Po farbení sa musia rezy dehydratovať, vyčistiť a pripevniť pomocou bezvodného permanentného média.

Rezy tkanív nesmú počas spracovania alebo počas nasledujúceho imunohistochemického farbenia vyschnúť. Z dôvodu vyššej príľnavosti rezov tkanív k podložným sklám sa odporúča používať silanizované podložné sklíčka Dako Silanized Slides (kód S3003).

**Postup farbenia,
vrátane potrebného
materiálu, ktorý nie je
súčasťou dodávky**

Odporúčaný vizualizačný systém je EnVision™ FLEX, High pH, (Link) (kód K8000/K8023). V softvéri Autostainer Link sú vopred naprogramované kroky farbenia a inkubačné lehoty. Odporúčaný objem pri aplikácii činidiel je 1 x 200 µl alebo 2 x 150 µl na sklíčko. Podrobné pokyny o vkladaní sklíčok a činidiel nájdete v používateľskej príručke k zariadeniu Autostainer Link. Ak platforma softvéru Autostainer neobsahuje požadované protokoly, obráťte sa na oddelenie technickej podpory spoločnosti Dako. Inštalčný súbor na aktualizáciu softvéru DakoLink s protokolom a informácií o reagentii pre Anti-CD5, klon 4C7, pre softvér Autostainer Link možno nájsť na www.dako.com/Installer. Všetky kroky inkubácie by sa mali vykonávať pri izbovej teplote.

Optimálne podmienky sa môžu líšiť v závislosti od vzorky a spôsobu prípravy a malo by ich stanovovať každé laboratórium samostatne. Ak hodnotiaci patológ vyžaduje odlišnú intenzitu farbenia, inkubačné lehoty a výber systému EnVision™ FLEX Visualization System sa môžu upraviť. Obráťte sa na aplikačného špecialistu alebo špecialistu z oblasti technického servisu spoločnosti Dako, ktorý vám poskytne informácie o preprogramovaní protokolu. O dostačujúcej účinnosti nastaveného protokolu sa presvedčte vyhodnotením a porovnaním vzoru farbenia so vzorom opísaným v časti Charakteristiky účinnosti.

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

Odporúča sa pozitívne a negatívne kontroly vykonávať súčasne použitím rovnakého protokolu ako pri vzorkách pacienta. Tkanivo s obsahom pozitívnej kontrolnej vzorky by malo obsahovať mandle, pričom bunky/štruktúry by mali vykazovať pozitívnu reakciu pri všetkých vzorkách, tak ako je opísaná pre dané tkanivá v časti Charakteristiky účinnosti. Odporúčané činidlo na negatívnu kontrolu je FLEX Negative Control, Mouse, (Link) (kód IR750).

**Interpretácia
zafarbenia**

Vzor zafarbenia buniek je membránový a/alebo cytoplazmatický.

**Charakteristiky
účinnosti**

Normálne tkanivá: V normálnych tkanivách označuje protílátka membránu a niekedy cytoplazmu lymfocytov v rozmanitosti tkanivových typov, ako sú T-bunky parakortexu a rozptýlené bunky zárodočného centra v mandli (4). Protílátka označuje aj epitely z rôznych tkanív vrátane epitelu prsníka a apokrinných a hlbokých dermálnych ekkrinných žliaz v koži (8 – 10).

Abnormálne tkanivá: Pri B-bunkových malých lymfoproliferatívnych ochoreniach označila protílátka väčšinu malých lymfocytových lymfómov/leukémií a lymfómov plášťových buniek (1,2,4,7,11). Iné B-bunkové non-Hodgkinove lymfómy boli väčšinou nereaktívne, vrátane lymfómov marginálnej zóny, bunkových lymfómov folikulárných center, ifúzných lymfómov z veľkých buniek, malých nerozseknutých a lymfoblastických lymfómov (1,2,4,7). Protílátka označila T-bunkový non-Hodgkinov lymfoblastický lymfóm, anaplastický veľkobunkový lymfóm a non-Hodgkinov lymfóm neurčené inak (2). Bol označený aj veľký počet nehematopoetických neoplaziem ako karcinómy prsníka (54/86), cholangiokarcinómy (12/14), karcinómy hrubého čreva (5/10), karcinómy pľúc (2/21), pankreatické karcinómy (6/13), karcinómy prostaty (4/18) a karcinómy týmusu (7/7) (9, 10, 12).

Referencie

1. Diaz de Leon E, Alkan S, Huang JC, Hsi ED. Usefulness of an immunohistochemical panel in paraffin-embedded tissues for the differentiation of B-cell non-Hodgkin's lymphomas of small lymphocytes. Mod Pathol 1998;11:1046-51.
2. Dorfman DM, Shahsafaei A. Usefulness of a new CD5 antibody for the diagnosis of T-cell and B-cell lymphoproliferative disorders in paraffin sections. Mod Pathol 1997;10:859-63.
3. Arber DA, Weiss LM. CD5 a review. Appl Immunohistochem 1995;3:1-22.
4. Watson P, Wood KM, Lodge A, McIntosh GG, Milton I, Piggott NH, et al. Monoclonal antibodies recognizing CD5, CD10 and CD23 in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue: production and assessment of their value in the diagnosis of small B-cell lymphoma. Histopath 2000;36:145-50.
5. Lozano F, Calvo J, Roca A, Places L, Simarro M. TC6 CD5 workshop panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, et al., editors. Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. Proceedings of the Sixth international workshop and conference; 1996 Nov 10-14; Kobe, Japan. New York, London: Garland Publishing Inc.; 1997. p. 1112-3.
6. Lozano F, Calvo J, Roca A, Places L, Simarro M. TC6 CD5 workshop panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, et al., editors. Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. Proceedings of the Sixth international workshop and conference; 1996 Nov 10-14; Kobe, Japan. New York, London: Garland Publishing Inc.; 1997. p. 56-8.

7. Kaufmann O, Flath B, Spath-Schwalbe E, Possinger K, Dietel M. Immunohistochemical detection of CD5 with monoclonal antibody 4C7 on paraffin sections. Am J Clin Pathol 1997; 108:669-73.
8. Bogner PN, Su LD, Fullen DR. Cluster designation 5 staining of normal and non-lymphoid neoplastic skin. J Cutan Pathol 2005;32:50-4.
9. Tateyama H, Eimoto T, Tada T, Hattori H, Murase T, Takino H. Immunoreactivity of a new CD5 antibody with normal epithelium and malignant tumors including thymic carcinoma. Am J Clin Pathol 1999;111:235-40.
10. Walsh R, Peston D, Shousha S. Comparison of immunoperoxidase staining of 3 different types of CD5 antibodies in a spectrum of breast lesions. Arch Pathol Lab Med 2001;125:781-4.
11. Rossi S, Laurino L, Furlanetto A, Chinellato S, Orvieto E, Canal F, et al. Rabbit monoclonal antibodies: a comparative study between a novel category of immunoreagents and the corresponding mouse monoclonal antibodies. Am J Clin Pathol 2005;124:1-8.
12. Chu PG, Arber DA, Weiss LM. Expression of T/NK-cell and plasma cell antigens in nonhematopoietic epithelioid neoplasms. In immunohistochemical study of 447 cases. Am J Clin Pathol 2003;120:64-70.

 REF	Katalógové číslo	 Teplo	Teplotné obmedzenie	 Pozri	Pozri návod na použitie
 Výrobca		 LOT	Číslo šarže	 Použiť	do
 EC REP	Úradne schválený splnomocnenec v rámci Európskeho spoločenstva		 IVD	Lekársky nástroj na diagnostiku in vitro	

PT0039/Rev C



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

Vydanie 05/11