

**Monoclonal Mouse
Anti-Human CD30
Clone Ber-H2****Code M0751****ENGLISH****Intended use**

For in vitro diagnostic use.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD30, Clone Ber-H2, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). Results aid in the classification of anaplastic large cell lymphoma (ALCL) (1). Differential classification is aided by the results from a panel of antibodies. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist. This antibody is intended to be used after the primary diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using nonimmunologic stains.

Synonym for antigen

Ki-1 antigen (1).

Summary and explanation

CD30 is a transmembrane cytokine receptor belonging to the tumor necrosis factor (TNF) receptor superfamily. Mature CD30 has a molecular mass of 120 kDa and is derived from a 90 kDa precursor protein (2). The extracellular domain of CD30 is homologous to that of TNF receptor superfamily members, whereas there is no homology in the cytoplasmic domain, suggesting major differences in signalling mechanisms (3). The intracellular part of CD30 possesses kinase activity, indicating that CD30 plays a role in regulating the function, differentiation and/or proliferation of normal lymphoid cells (2). A soluble 85 kDa form of CD30, sCD30, released from the membrane-bound molecule by proteolytic cleavage, can be detected in the sera of patients with CD30-expressing neoplasms (3, 4).

CD30 expression may be found on Hodgkin and Reed-Sternberg (H-RS) cells, anaplastic large cell lymphoma cells, and on activated B and T lymphocytes (2). In non-lymphoid tissues and neoplasms, CD30 expression has been reported in embryonal carcinomas, seminomas, decidual cells and mesotheliomas (5).

Refer to *Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: Principle of Procedure; Materials Required, Not Supplied; Storage; Specimen Preparation; Staining Procedure; Quality Control; Troubleshooting; Interpretation of Staining; General Limitations.

Reagent provided

Monoclonal mouse antibody provided in liquid form as cell culture supernatant dialysed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and containing 15 mmol/L Na₃N.

Clone: Ber-H2 (1). Isotype: IgG1, kappa.

Mouse IgG concentration: see label on vial.

The protein concentration between lots may vary without influencing the optimal dilution. The titer of each individual lot is compared and adjusted to a reference lot to ensure a consistent immunohistochemical staining performance from lot-to-lot.

Immunogen

Co cell line established from a patient with Hodgkin's disease of T-cell lineage (1, 6).

Specificity

The antibody was clustered as anti-CD30 at the Fourth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens held in Vienna in 1989 (7).

SDS-PAGE analysis of immunoprecipitates formed between lysate of ¹²⁵I-labeled COS cells transfected with cDNA encoding CD30 and the antibody shows reaction with a 120 kDa protein corresponding to CD30. Mock-transfected COS cells were negative. The epitope recognized by the antibody is located between amino acid residues 112 and 412 (8).

The antibody labels: Cell lines derived from Hodgkin's disease, L428, L540, L591, Co, Ho and KM-H2; HTLV-1 transfected T-cell lines, Hut-102 and MT-2; EBV-transformed B-cell lines (non-Burkitt), B95-8 (monkey), BJA-B and Cess; and the myeloid cell line, K 562 (1).

Precautions

1. For in vitro diagnostic use.
2. For professional users.
3. This product contains sodium azide (Na₃N), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
4. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
5. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
6. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation

Paraffin sections: The antibody can be used for labeling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Pre-treatment of deparaffinized tissues with heat-induced epitope retrieval is required. Optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, or 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0. Less optimal results are obtained with 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0. Pre-treatment of tissues with proteinase K was found inefficient. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure.

Frozen sections and cell preparations: The antibody can be used for labeling acetone-fixed frozen sections and cytospin preparations (1, 5). The user must validate the staining procedure.

Staining procedure

These are guidelines only. Optimal conditions may vary depending on specimen type and preparation method, and should be validated individually by each laboratory. The performance of this antibody should be established by the user when utilized with other manual staining systems or automated platforms.

Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human CD30, Code M0751, may be used at a dilution range of 1:20-1:40 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of Hodgkin's lymphomas or ALCL and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. The recommended negative control is Dako Mouse IgG1, Code X0931, diluted to the same mouse IgG concentration as the primary antibody. Unless the stability of the diluted antibody and negative control has been established in the actual staining procedure, it is recommended to dilute these reagents immediately before use, or dilute in Dako Antibody Diluent, Code S0809.

Quality control: Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens.

Visualization: Dako EnVision+/⁺HRP kits, e.g. Code K4005, are recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.

Product-specific limitations

A diffuse or finely granular cytoplasmic staining was observed in the endothelial cells in 21/33 cases of hemangioma, 4/10 cases of lymphangioma, 4/9 cases of mixed tumors with both components, and 6/10 cases of angioleiomyoma (9).

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display a membrane and/or a dot like cytoplasmic staining (1).

Performance characteristics

Normal tissues: In tonsil/lymph node sections, the antibody labels scattered large lymphoid cells localized around lymph follicles and at the margin of germinal centres. In paraffin sections, but not in frozen sections, a subpopulation of plasma cells is positive. In the thymus, only a few medullary thymocytes is labeled. In a large range of non-lymphoid tissues, no labeling with the antibody was observed with two exceptions, the cytoplasm of exocrine pancreatic cells was labeled diffusely in both frozen and paraffin-embedded sections, and the cytoplasm of a proportion of cerebral cortical neurons and Purkinje cells of the cerebellum were labeled in paraffin-embedded sections, but not frozen sections. The antibody did not react with any resting peripheral lymphocytes or monocytes (1).

Abnormal tissues: In paraffin-embedded sections of anaplastic large-cell lymphoma, the antibody strongly labeled all of 60 cases. No differences were observed in labeling between T-, B- or null-cell phenotypes. Likewise, all of 22 frozen sections of ALCL were labeled. In paraffin-embedded sections of Hodgkin's disease, 61/61 cases of nodular sclerosis, 53/53 cases of mixed cellularity, 8/10 cases of lymphocyte-depleted, and 4/13 cases of lymphocyte-predominance type were labeled by the antibody. In frozen sections, all of 108 tested cases were labeled (1). In non-Hodgkin's lymphomas, a weak staining of a subpopulation of tumor cells was seen in 11/11 cases of lymphomatoid papulosis, 62/93 cases of cutaneous-, pleomorphic-, angioimmunoblastic-, and lymphoepithelioid- T-cell lymphomas, and in 53/332 cases of chronic lymphocytic-, centrocytic-(small cleaved), centroblastic-centrocytic-, centroblastic-, and immunoblastic- B-cell lymphomas in frozen and paraffin-embedded sections, whereas a strong staining was seen in 20/67 cases of lymphoplasmacytoid/cytic- B-cell lymphomas (1). In non-lymphoid neoplasms, the antibody labeled tumor cells in 48/50 cases of pure embryonal carcinoma (EC), or EC components of germ cell tumors. In cases of mixed and pure germ cell tumors without EC components 0/27 was labeled. In activated mesothelium, 16/28 pleural and peritoneal effusions were labeled with the antibody, small foci of tumor cells in 2/8 mesotheliomas were also labeled (5). No labeling was observed in 8 cases of Kaposi's sarcoma and 8 cases of teleangiectatic granuloma (9).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human CD30, Clone Ber-H2, est destiné à être utilisé en immunohistochimie (IHC). Les résultats obtenus facilitent la classification des lymphomes anaplasiques à grandes cellules (LAGC) (1). La classification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié. Cet anticorps est destiné à être utilisé après un diagnostic primaire de tumeur par histopathologie traditionnelle utilisant des colorations non immunologiques.

Synonyme de l'antigène

Antigène Ki-1 (1).

Résumé et explication

Le CD30 est un récepteur transmembranaire de cytokine appartenant à la superfamille des récepteurs du facteur de nécrose tumorale (FNT). Le CD30 mature a une masse moléculaire de 120 kDa et est dérivé d'une protéine précurseur de 90 kDa (2). Le domaine extracellulaire du CD30 est homologue à celui des membres de la superfamille des récepteurs FNT, alors qu'il n'existe pas d'homologie dans le domaine cytoplasmique, indiquant des différences majeures dans les mécanismes de signalisation (3). La partie intracellulaire du CD30 possède une activité kinase, ce qui indique que le CD30 joue un rôle de régulation, de différenciation et/ou de prolifération des cellules lymphoïdes normales (2). Une forme soluble de 85 kDa du CD30, le sCD30, libérée par la molécule liée à la membrane par clivage protéolytique, peut être détectée dans le sérum des patients dont des néoplasmes expriment le CD30 (3, 4).

L'expression du CD30 peut être observée dans les cellules de Hodgkin et Reed-Sternberg (H-RS), dans les cellules des lymphomes anaplasiques à grandes cellules, et sur les lymphocytes B et T activés (2). Dans les néoplasmes et les tissus non lymphoïdes, l'expression du CD30 a été rapportée dans les carcinomes embryonnaires, les séminomes, les cellules déciduales et les mésothéliomes (5).

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du kit de détection pour les procédures IHC : Principe de la procédure, Matériel requis mais non fourni, Conservation, Préparation des échantillons, Procédure de coloration, Contrôle de qualité, Dépannage, Interprétation de la coloration, Limites générales.

Réactif fourni

Anticorps monoclonal de souris, fourni sous forme liquide en tant que surnageant de culture cellulaire, dialysé contre 0,05 mol/L de Tris-HCl à pH 7,2 et contenant 15 mmol/L d'azide de sodium (NaN₃).

Clone : Ber-H2 (1). **Isotype :** IgG1, kappa.

Concentration en IgG de souris : Voir l'étiquette sur le flacon.

La concentration en protéines peut varier d'un lot à l'autre sans que cela influence la dilution optimale. Le titre de chaque lot est comparé et ajusté par rapport à un lot de référence pour assurer des performances de coloration immunohistochimiques cohérentes d'un lot à l'autre.

Immunogène

Lignée cellulaire Co établie à partir d'une lignée de lymphocytes T de la maladie de Hodgkin (1, 6).

Spécificité

L'anticorps a été classifié comme un anti-CD30 au Fourth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (7) (Quatrième Conférence et Atelier International sur les antigènes de différenciation des leucocytes humains) qui se sont tenus à Vienne (Autriche) en 1989.

L'analyse par immunoblot PAGE en présence de SDS des immunoprécipités formés entre le lysat des cellules COS marquées à l'iode ¹²⁵I transfectées par l'ADNc codant pour le CD30 et l'anticorps présente une réaction à une protéine de 120 kDa correspondant au CD30. Les cellules COS faussement transfectées étaient négatives. L'épitope reconnu par l'anticorps est situé entre les résidus d'acides aminés 112 et 412 (8).

L'anticorps marque les lignées cellulaires dérivées de la maladie de Hodgkin, L428, L540, L591, Co, Ho et KM-H2 ; les lignées de lymphocytes T transfectées par HTLV-1, Hut-102 et MT-2 ; les lignées de lymphocytes B transformées par l'EBV (non Burkitt), B95-8 (singé), BJA-B et Cess, ainsi que la lignée de cellules myéloïdes K 562 (1).

Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
4. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau.
6. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.

Conservation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par des différences dans les procédures du laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons

Coupes en paraffine : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. Le prétraitement des tissus déparaffinés avec une restauration d'épitope induite par la chaleur est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus avec le produit Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, ou dans un tampon Tris à 10 mmol/L, EDTA à 1 mmol/L, à pH 9,0. Des résultats moins optimaux sont obtenus avec 10 mmol/L de tampon citrate, à pH 6,0. Le prétraitement des tissus par la protéinase K s'est révélé inefficace. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante.

Coupes congelées et préparations cellulaires : L'anticorps peut être utilisé pour marquer des coupes congelées, fixées à l'acétone et des préparations de cytospin (1, 5). L'utilisateur doit valider la procédure de coloration.

Procédure de coloration

Il ne s'agit là que de conseils. Les conditions optimales peuvent varier en fonction du type de prélèvement et de la méthode de préparation, et doivent être validées individuellement par chaque laboratoire. Les performances de cet anticorps doivent être établies par l'utilisateur lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuelle ou plates-formes automatisées.

Dilution: Le Monoclonal Mouse Anti-Human CD30, réf. M0751, peut être utilisé à une gamme de dilution de 1:20 à 1:40 lorsqu'il est appliqué sur des coupes de lymphomes hodgkiniens ou de LAGC fixées au formol et incluses en paraffine, en utilisant une restauration d'épitope induite par la chaleur de 20 minutes dans le produit Dako Target Retrieval solution, réf. S1700, et une incubation de 30 minutes avec l'anticorps primaire à température ambiante. Le contrôle négatif recommandé est le produit Dako Mouse IgG1, réf. X0931, dilué à la même concentration en IgG de souris que l'anticorps primaire. À moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif n'ait été établie dans la procédure de coloration en cours, il est recommandé de diluer ces réactifs immédiatement avant utilisation ou de les diluer avec le produit Dako Antibody Diluent, réf. S0809.

Contrôle de qualité: Les tissus de contrôle positif et négatif, ainsi que le réactif de contrôle négatif, doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients.

Visualisation: Il est recommandé d'utiliser les kits Dako EnVision+/HRP, réf. K4005. Suivre la procédure incluse dans le kit de visualisation sélectionnée.

Limitations spécifiques du produit

Une coloration diffuse ou granulaire à points fins a été observée dans les cellules endothéliales dans 21/33 cas d'hémangiome, 4/10 cas de lymphangiome, 4/9 cas de tumeurs mixtes à deux composants et 6/10 cas d'angioliomyome (9).

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration cytoplasmique en pointillés et/ou membranaire (1).

Performances

Tissus sains: Dans les coupes de tissus d'amygdale/de ganglions lymphatiques, l'anticorps marque les grandes cellules lymphoïdes disséminées situées autour des follicules lymphoïdes et en marge des centres germinatifs. Dans les coupes en paraffine, mais pas dans les coupes congelées, une sous-population de cellules plasmiques est positive. Dans le thymus, seuls quelques thymocytes médullaires sont marqués. Dans un grand nombre de tissus non lymphoïdes, aucun marquage par l'anticorps n'a été observé, à deux exceptions près, le cytoplasme des cellules pancréatiques exocrines a été marqué de manière diffuse à la fois dans les coupes congelées et incluses en paraffine, et le cytoplasme d'un certain pourcentage de neurones corticaux cérébraux et de cellules de Purkinje du cerveau a été marqué dans les coupes incluses en paraffine, mais pas dans les coupes congelées. L'anticorps n'a pas réagi aux monocytes ou aux lymphocytes périphériques au repos (1).

Tissus anormaux: Dans les coupes incluses en paraffine des lymphomes anaplasiques à grandes cellules, l'anticorps a fortement marqué chacun des 60 cas. Aucune différence de marquage n'a été observée entre les phénotypes de lymphocytes B, T ou de cellules nulles. De même, 22/22 coupes congelées de LAGC ont été marquées. Dans les coupes incluses en paraffine de la maladie de Hodgkin, 61/61 cas de sclérose nodulaire, 53/53 cas de cellularité mixte, 8/10 cas de déplétion lymphocytaire et 4/13 cas de type à prédominance lymphocytaire ont été marqués par l'anticorps. Dans les coupes congelées, 108/108 cas testés ont été marqués (1). Dans les lymphomes non hodgkiniens, une faible coloration d'une sous-population de cellules tumorales a été observée dans 11/11 cas de papulose lymphomatoïde, 62/93 cas de lymphomes à lymphocytes T cutanés, polymorphes, angio-immunoblastiques et lymphoépithélioïdes, et dans 53/332 cas de lymphomes à lymphocytes B lymphocytaires chroniques, centrocytiques (à petites cellules clivées), centroblastiques-centrocytiques, centroblastiques, et immunoblastiques dans des coupes congelées et incluses en paraffine, tandis qu'une forte coloration a été observée dans 20/67 cas de lymphomes à lymphocytes B lymphoplasmocytoides/lymphoplasmocytaires (1). Dans les néoplasmes non lymphoïdes, l'anticorps marque les cellules tumorales dans 48 cas sur 50 de carcinome embryonnaire pur, ou les éléments embryonnaires de tumeurs à cellules germinales. Dans les cas de tumeurs à cellules germinales mixtes et pures sans éléments embryonnaires, aucun cas n'a été marqué sur 27. Dans le mésothélium activé, 16 cas sur 28 d'épanchements pleuraux et péritonéaux ont été marqués par l'anticorps, ainsi que des petits foyers de cellules tumorales dans 2 mésothéliomes sur 8 (5). Aucune coloration n'a été observée sur 8 cas de sarcome de Kaposi et 8 cas de granulome télangiectasique (9).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD30, Clone Ber-H2 ist für die Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Die Ergebnisse tragen zur Klassifizierung von anaplastischen großzelligen Lymphomen (ALCL) bei (1). Die Differenzialklassifikation wird durch die Ergebnisse eines Antikörper-Panels unterstützt. Die klinische Auswertung einer eintretenden oder ausbleibenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden. Dieser Antikörper kommt nach der Primärdiagnose des Tumors durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung von nicht immunologischen Färbungen zum Einsatz.

Synonym für das Antigen

Ki-1 Antigen (1).

Zusammenfassung und Erklärung

CD30 ist ein transmembraner Zytokinrezeptor, der zur Tumor-Nekrose-Faktor-Superfamilie (TNF) gehört. Reifes CD30 hat ein Molekulargewicht von 120 kDa und wird auf ein Vorläuferprotein mit 90 kDa zurückgeführt (2). Die extrazelluläre Domäne von CD30 ist homolog mit der extrazellulären Domäne der Mitglieder der TNF-Rezeptor-Superfamilie, während bei der zytoplasmatischen Domäne keine Homologie vorliegt, was auf große Unterschiede in den Signalisierungsmechanismen hinweist (3). Der intrazelluläre Bereich von CD30 besitzt eine Kinaseaktivität. Dies bedeutet, dass CD30 eine Rolle bei der Regulierung der Funktion, Differenzierung und/oder Proliferation von gesunden lymphoiden Zellen spielt (2). Eine lösliche Form von CD30 mit 85 kDa, sCD30, die aus dem membrangebundenen Molekül durch proteolytische Spaltung freigesetzt wird, kann im Serum von Patienten mit CD30-exprimierenden Neoplasmen nachgewiesen werden (3, 4).

Die CD30-Expression kann auf Hodgkin- und Reed-Sternberg (H-RS)-Zellen, anaplastischen Großzell-Lymphomen und aktivierten B- und T-Zellen-Lymphozyten auftreten (2). In nicht-lymphoiden Geweben und Neoplasmen wurde die CD30-Expression in embryonalen Karzinomen, Seminomen, Dezidualzellen und Mesotheliomen berichtet (5).

Folgende Angaben bitte den *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: Verfahrensprinzipien, Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, Lagerung, Gewebepreparation, Färbeverfahren, Qualitätskontrolle, Fehlerbehandlung, Auswertung der Färbung, Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Monoklonale Mausantikörper in flüssiger Form als gegen 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 und 15 mmol/L Na₂S₂O₃ dialysierter Zellkulturüberstand.

Klon: Ber-H2 (1). **Isotyp:** IgG1, Kappa.

Konzentration von Maus-IgG: Siehe Behälteretikett.

Die Proteinkonzentration kann zwischen Chargen abweichen, ohne die optimale Verdünnung zu beeinflussen. Der Titer jeder Charge wird mit dem einer Referenzcharge verglichen und dieser angeglichen, um konstante immunhistochemische Färbegergebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.

Immunogen

Co-Zelllinie von einem Patienten mit Morbus Hodgkin der T-Zelllinie (1, 6).

Spezifität

Der Antikörper wurde beim Fourth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (4. Internationaler Workshop und Konferenz über menschliche Leukozyten-Differenzierungsantigene), der 1989 in Wien stattfand, als Anti-CD30 geclustert (7).

Eine SDS-PAGE-Analyse der Immunpräzipitate, die zwischen dem Lysat von ¹²⁵I-markierten COS-Zellen, die mit CD30-kodierender cDNA transfiziert wurden, und dem Antikörper gebildet wurden, zeigte eine Reaktion mit einem 120-kDa-Protein, das dem CD30-Protein entspricht. Scheintransfizierte COS-Zellen waren negativ. Das vom Antikörper erkannte Epitop liegt zwischen den Aminosäureresten 112 und 412 (8).

Der Antikörper markiert Folgendes: Zelllinien, die aus Morbus Hodgkin abgeleitet werden, L428, L540, L591, Co, Ho und KM-H2; HTLV-1-transfizierte T-Zelllinien, Hut-102 und MT-2; EBV-transformierte B-Zelllinien (Non-Burkitt), B95-8 (Affe), BJA-B und Cess sowie die myeloische Zelllinie, K 562 (1).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (Na₃N), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
4. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
5. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
6. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2-8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts.

Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientengewebeproben mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Anfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann, und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufzunehmen.

Gewebevorbereitung

Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Die Vorbehandlung des Gewebes durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung ist erforderlich. Optimale Resultate werden mit Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, oder 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0 erzielt. Weniger optimale Resultate werden mit 10 mmol/L Citratpuffer, pH 6.0, erzielt. Die Vorbehandlung der Gewebe mit Proteinase K erwies sich als wirkungslos. Während der Gewebevorbereitung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

Gefrierschnitte und Zellpräparate: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten und Cytospinpräparaten (1, 5). Das Färbeverfahren muss vom Anwender validiert werden.

Färbeverfahren

Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Bedingungen können je nach Gewebetyp und Vorbereitungsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Die Leistung dieses Antikörpers sollte vom Benutzer bei einem Einsatz mit anderen manuellen Färbesystemen oder automatisierten Systemen ermittelt werden.

Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human CD30, Code-Nr. M0751, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten von Hodgkin-Lymphomen oder ALCL und bei einer hitzeinduzierten Epitopdemaskierung von 20 Minuten in Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, und einer 30-minütigen Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur in einem Verdünnungsbereich zwischen 1:20 und 1:40 verwendet werden. Als Negativkontrolle wird Dako Mouse IgG1, Code-Nr. X0931, empfohlen, das auf dieselbe Konzentration an Maus-IgG wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Falls die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle für das verwendete Färbeverfahren nicht erwiesen ist, wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor der Verwendung bzw. in Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S0809, zu verdünnen.

Qualitätskontrolle: Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativkontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden.

Detektionssystem: Dako EnVision+/HRP Kits (z. B. Code-Nr. K4005) werden empfohlen. Das für das ausgewählte Detektionssystem beschriebene Verfahren befolgen.

Produktspezifische Beschränkungen

Eine diffuse oder fein granuläre, zytoplasmatische Färbung wurde in den Endothelzellen in 21/33 Fällen von Hämangiomen, 4/10 Fällen von Lymphangiomen, 4/9 Fällen von gemischten Tumoren mit beiden Komponenten und 6/10 Fällen von Angioleiomyomen beobachtet (9).

Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen eine membranöse und/oder punktförmige zytoplasmatische Färbung auf (1).

Leistungseigenschaften









Normale Gewebe: Bei Schnitten von Mandelgewebe und Lymphknoten markiert der Antikörper verstreute große lymphoide Zellen, die um die Lymphfollikel und am Saum der Keimzentren lokalisiert sind. Bei Paraffinschnitten, jedoch nicht in Gefrierschnitten, ist eine Subpopulation der Plasmazellen positiv. Im Thymus werden nur wenige medulläre Thymozyten markiert. Bei vielen nicht-lymphoiden Gewebetypen kam keine Markierung mit dem Antikörper zustande, mit zwei Ausnahmen: das Zytoplasma exokriner Pankreaszellen war sowohl in paraffineingebetteten als auch bei Gefrierschnitten diffus markiert und das Zytoplasma eines Teils der zerebralen Kortexneuronen sowie der Purkinje-Zellen des Kleinhirns zeigten bei paraffineingebetteten Schnitten eine Färbung, jedoch nicht bei Gefrierschnitten. Der Antikörper reagierte nicht mit ruhenden peripheren Lymphozyten oder Monozyten (1).

Anormale Gewebe: Alle 60 paraffineingebetteten Schnitte von anaplastischem Großzell-Lymphom wurden durch den Antikörper stark markiert. Zwischen T-, B- oder Null-Zell-Phänotypen konnten keine Unterschiede hinsichtlich der Markierung festgestellt werden. Gleichermaßen waren alle 22 Gefrierschnitte der ALCL markiert. Bei paraffineingebetteten Schnitten von Patienten mit Morbus Hodgkin wurden 61 von 61 Fälle mit nodulärer Sklerose, 53 von 53 gemischtzelligen Fälle, 8 von 10 Fälle der lymphozyten Form sowie 4 von 13 Fälle der lymphozytenprädominanten Form mit dem Antikörper markiert. Alle 108 untersuchten Gefrierschnitte wurden markiert (1). Bei Non-Hodgkin-Lymphomen war eine schwache Färbung einer Subpopulation der Tumorzellen in 11/11 Fällen von lymphomatoider Papulosis und in 62/93 Fällen von kutanen, pleomorphen, angioimmunoblastischen und lymphoepitheloiden T-Zell-Lymphomen feststellbar. 53/332 Fällen der chronisch lymphozytischen, zentrozytischen (small cleaved), zentroblastisch-zentrozytischen und immunoblastischen Form der B-Zell-Lymphome zeigten ebenfalls eine schwache Färbung sowohl bei paraffineingebetteten Schnitten als auch bei Gefrierschnitten, während 20/67 lymphoplasmazytoiden/zytischen B-Zell-Lymphomen stark markiert wurden (1). Bei nicht-lymphoiden Neoplasmen markierte der Antikörper Tumorzellen in 48 von 50 Fällen von reinem embryonalem Karzinom (EC) oder von EC-Komponenten von Keimzelltumoren. Bei gemischten und reinen Keimzelltumoren ohne EC-Komponenten fand in 0 von 27 Fällen eine Markierung statt. In aktiviertem Mesothel waren 16 von 28 Pleura- und Peritoneum-Exsudaten mit dem Antikörper markiert, ebenso waren kleine Tumorzellherde bei 2 von 8 Mesotheliomen markiert (5). In 8 Fällen von Kaposi-Sarkom und 8 Fällen von teleangiektatischem Granulom wurde keine Färbung beobachtet (9).

References/ Références/ Literatur

- Schwartz R, Gerdes J, Dürkop H, Falini B, Pileri S, Stein H. Ber-H2: A new anti-Ki-1 (CD30) monoclonal antibody directed at a formalin-resistant epitope. *Blood* 1989;74:1678-89.
- de Bruin PC, Gruss H-J, van der Valk P, Willemze R, Meijer CJLM. CD30 expression in normal and neoplastic lymphoid tissue: biological aspects and clinical implications [review]. *Leukemia* 1995;9:1620-7.
- Falini B, Pileri S, Pizzolo G, Dürkop H, Flenghi L, Stirpe F, et al. CD30 (Ki-1) molecule: A new cytokine receptor of the tumor necrosis factor receptor superfamily as a tool for diagnosis and immunotherapy [review]. *Blood* 1995;85:1-14.
- Stein H, Foss H-D, Dürkop H, Marafioti T, Delsol G, Pulford K, et al. CD30+ anaplastic large cell lymphoma: a review of its histopathologic, genetic, and clinical features [review]. *Blood* 2000;96:3681-95.
- Dürkop H, Foss H-D, Eitelbach F, Anagnostopoulos I, Latza U, Pileri S, et al. Expression of the CD30 antigen in non-lymphoid tissues and cells. *J Pathol* 2000;190:613-8.
- Drexler HG, Minowada J. Hodgkin's disease derived cell lines: a review [review]. *Hum Cell* 1992;5:42-53.
- Schwartz R, Stein H. A3. Cluster report: CD30. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H, et al., editors. *Leucocyte typing IV. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 4th International Workshop and Conference; 1989 Feb 21-25; Vienna, Austria.* Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1989. p. 419-22.
- Dürkop H, Latza U, Hummel M, Eitelbach F, Seed B, Stein H. Molecular cloning and expression of a new member of the nerve growth factor receptor family that is characteristic for Hodgkin's disease. *Cell* 1992;68:421-7.
- Rudolph P, Lappe T, Schmidt D. Expression of CD30 and nerve growth factor-receptor in neoplastic and reactive vascular lesions: an immunohistochemical study. *Histopathology* 1993;23:173-8.

Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

 REF	Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer	 2°C - 8°C Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Use by Utiliser avant Verwendbar bis
 IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	 LOT Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung	 Manufacturer Fabricant Hersteller
 i	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 EC REP Authorized representative in the European Community Représentant agréé dans la Communauté européenne Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft	



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com