FLEX
Polyclonal Rabbit
Anti-Human
Lambda Light Chains
Ready-to-Use
(Dako Omnis)

N.º de catálogo GA507

Uso previsto

Para uso en diagnóstico in vitro.

FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Lambda Light Chains, Ready-to-Use (Dako Omnis), está indicado para su uso en inmunohistoquímica junto con el instrumento Dako Omnis. Este anticuerpo sirve para identificar células plasmáticas y células linfoides relacionadas que contienen cadenas livianas lambda y constituye una herramienta útil para la clasificación de pacientes con gammapatías monoclonales (2) y amiloidosis (3,4). Además, el anticuerpo puede utilizarse para distinguir la proliferación monoclonal neoplásica de la hiperplasia reactiva de células B (5-7). La interpretación de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las inmunoglobulinas humanas básicamente constan de dos cadenas pesadas idénticas (Mr de aproximadamente 50.000) y dos cadenas ligeras (Mr de aproximadamente 20.000). Las cuatro cadenas están unidas covalentemente por enlaces disulfuros. Las cadenas ligeras son kappa o lambda. Las cinco inmunoglobulinas, IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, difieren en las cadenas pesadas, y la IgA y la IgM también se presentan en formas poliméricas (8).

Las células B individuales expresan cadenas ligeras kappa o lambda, pero nunca ambas. En una población policlonal, la relación de kappa a lambda que expresan las células B es 2:1 y la manifestación de una mezcla de tipos de células que expresan cadenas ligeras kappa y lambda sugiere la policlonalidad y una proliferación reactiva o no neoplásica de células B (9). Las enfermedades, tales como mieloma múltiple y linfoma de células B, se caracterizan por la proliferación de células plasmáticas neoplásicas monoclonales que producen un solo tipo de cadena ligera. Así, resulta muy útil demostrar la población celular restringida a la cadena ligera kappa o lambda para el diagnóstico histopatológico de estas enfermedades (4). La amiloidosis primaria AL (cadena ligera amiloide) también es un trastorno de células plasmáticas en que la demostración de las cadenas ligeras kappa o lambda monotípicas en los depósitos amiloides es importante para el diagnóstico y separa esta enfermedad de la amiloidosis AA donde no se producen depósitos de cadenas ligeras de inmunoglobulina (3).

Consulte el documento de Dako *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica) o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ.

Reactivo suministrado

El anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso se suministra en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Inmunógeno

Cadenas livianas policlonales de tipo lambda aisladas de un pool de suero humano.

Especificidad

El anticuerpo reacciona con las cadenas lambda libres y con las cadenas lambda en moléculas de inmunoglobulina intactas. Las trazas de anticuerpos contaminantes se eliminaron mediante absorción de la fase sólida con proteínas plasmáticas humanas.

Pruebas de especificidad; tinción con Coomassie Brilliant Blue:

Doble inmunodifusión: No se observa ninguna reacción con cadenas kappa o gamma al utilizar 15 µl de anticuerpo concentrado frente a 15 µl de IgG kappa.

Inmunoelectroforesis cruzada: Solamente aparecen los precipitados relacionados con lambda cuando se utilizan 12,5 µl de anticuerpo concentrado por cm2 de área de gel frente a 2 µl de plasma humano o 2 µl de un pool de orinas concentradas de pacientes con proteinuria tubular.

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida sódica (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. A las concentraciones en las que está presente en el producto, aunque no se clasifican como peligrosas, la azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre, lo que formará acumulaciones de azidas metálicas muy explosivas. Tras desechar el producto, abra el grifo y deje que salga abundante agua para despejar las cañerías de cualquier acumulación de azidas.
3. Como con cualquier producto derivado de fuentes biológicas, deben utilizarse los procedimientos de manipulación apropiados.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución no utilizada debe desecharse de acuerdo a las normativas locales, nacionales y de la UE.

Dako Denmark A/S │ Produktionsvej 42 │ DK-2600 Glostrup │ Denmark │ Tel. +45 44 85 95 00 │ Fax +45 44 85 95 95 │ CVR No. 33 21 13 17

Almacenamiento

Debe almacenarse a 2-8 ℃. Durante el almacenamiento, el tapón debe estar cerrado. No debe utilizarse después de la fecha de caducidad que aparece impresa en el vial. La estabilidad en el equipo es de 80 horas. El software Dako Omnis controla la estabilidad restante en el equipo. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario debe comprobarlas. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad en este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. Si observa tinciones inesperadas que no puedan atribuirse a las variaciones en los procedimientos de laboratorio y se sospecha que existe un problema con el anticuerpo, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Dako.

Guía rápida

Paso		Comentarios
Fijación/inclusión	Fijación con formol, inclusión en parafina	Desparafinización en el equipo
Pretratamiento	EnVision™ FLEX, Low pH (n.º de catálogo GV805)	HIER de 30 min
Anticuerpo	Listo para su uso	Incubación de 12,5 min
Control negativo	FLEX Negative Control, Rabbit (n.º de catálogo GA600)	Incubación de 12,5 min
Visualización	EnVision™ FLEX (n.º de catálogo GV800)	Bloqueo: 3 min; polímero: 20 min; cromógeno: 5 min
Contratinción	Hematoxylin (n.º de catálogo GC808)	Incubación de 3 min
Tejido de control	Amígdala	Tinción citoplasmática y/o membranosa
Portaobjetos	FLEX IHC Microscope Slides (n.º de catálogo K8020)	Recomendado para aumentar la adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos de vidrio.
Montaje	Se requiere un medio de montaje no acuoso y permanente	Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.
Instrumentos	Dako Omnis	Los reactivos se suministran en los viales específicos del instrumento.

**El usuario siempre debe leer el prospecto del envase para ver las instrucciones del procedimiento de tinción y de manipulación del producto.*

Preparación de las muestras

Cortes de parafina: El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de 4 µm.

Pretratamiento: Se requiere el pretratamiento de cortes de tejido en parafina y fijados en formol con recuperación del epítopo inducida por calor (HIER). Se recomienda pretratar los tejidos con HIER utilizando una dilución de EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (Dako Omnis), n.º de catálogo GV805. La desparafinización, rehidratación y recuperación del objetivo se realizan en el instrumento Dako Omnis. Consulte el Manual básico del usuario de Dako Omnis.

Los cortes de tejidos no deben secarse durante el proceso de pretratamiento ni durante el posterior procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos de vidrio, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides, n.º de catálogo K8020.

Procedimiento de tinción

Programa: Los pasos de tinción y los tiempos de incubación se han preprogramado en el software Dako Omnis. Consulte el Manual básico del usuario de Dako Omnis para obtener instrucciones detalladas sobre la carga de portaobjetos y reactivos. Si todavía no están disponibles los protocolos para el sistema Dako Omnis, póngase en contacto con el servicio técnico de Dako. Todos los pasos de incubación se realizan a 32 ℃ en el instrumento Dako Omnis.

Visualización: El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Dako Omnis), n.º de catálogo GV800. La visualización se realiza en el instrumento Dako Omnis.

Nota: Utilice EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (Dako Omnis), n.º de catálogo GV805, para HIER.

Contratinción: La contratinción recomendada es Hematoxylin (Dako Omnis), n.º de catálogo GC808. La contratinción se realiza en el instrumento Dako Omnis.

Montaje: Después de la tinción en el instrumento Dako Omnis, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.

Controles: Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El tejido de control positivo debe incluir la amígdala y las células/estructuras deben mostrar patrones de reacción como se describe para este tejido en la sección "Características de resultados". El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Universal Negative Control, Rabbit (Dako Omnis), n.º de catálogo GA600.

Interpretación de la tinción

El patrón de tinción celular para cadenas ligeras lambda puede ser citoplasmático granular y/o perinuclear, o bien membranoso (10-12).

Características de resultados

Tejidos normales: En la amígdala normal, el anticuerpo marca las células plasmáticas, las células del centro folicular y las células de la zona del manto, lo que produce un patrón policlonal con una clara distinción entre las células positivas y las negativas. En la amígdala, aproximadamente el 40-50% de las células B de la zona del manto muestra una reacción a la tinción membranosa de débil a moderada, mientras que los inmunoblastos y las células plasmáticas en el centro germinal muestran una tinción citoplasmática de moderada a intensa. Los linfocitos B deben ser negativos o estar débilmente marcados en el centro germinal. Es posible observar alguna reacción de fondo en suero, tejido conectivo y células epiteliales.

Dako Denmark A/S │ Produktionsvej 42 │ DK-2600 Glostrup │ Denmark │ Tel. +45 44 85 95 00 │ Fax +45 44 85 95 95 │ CVR No. 33 21 13 17

Tejidos anormales: En los ganglios linfáticos reactivos, Dako Anti-Lambda demostró un patrón de tinción característico y Dako Anti-Kappa produjo un patrón indistinguible, lo que demuestra con claridad la policlonalidad de las células B en este trastorno (6). En los plasmacitomas, las células plasmáticas anormales eran monotípicas y positivas a kappa o a lambda (5). En 113 casos de linfomas no Hodgkin de células B fijadas en formol, incluidas varias pequeñas muestras de biopsia con aguja gruesa con tejidos extremadamente limitados, se demostró la expresión de la cadena ligera monotípica en 91 (81%) de los casos con un 100% de especificidad utilizando Dako Anti-Kappa y Anti-Lambda (7). En 23 casos de enfermedad por depósito de cadena ligera (LCDD), Dako Anti-Kappa marcó muestras renales en forma monotípica en 17 casos mientras que 5 casos resultaron positivos solo con Dako Anti-Lambda (3).

Referencias

1. Withold W, Reinauer H. An immunoblotting procedure following agarose gel electrophoresis for detection of Bence Jones proteinuria compared with immunofixationand quantitative light chain determination. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995;33:135-8.
2. Peterson LC, Brown BA, Crosson JT, Mladenovic J. Application of the immunoperoxidase technic to bone marrow trephine biopsies in the classification of patients with monoclonal gammopathies. Am J Clin Pathol 1986;85:688-93.
3. Strøm EH, Fogazzi GB, Banfi G, Pozzi C, Mihatsch MJ. Light chain deposition disease of the kidney. Morphological aspects in 24 patients. Virchows Arch 1994;425:271-80.
4. Jessup E. Antigen retrieval techniques for the demonstration of immunoglobulin light chains in formalin-fixed, paraffin-wax embedded sections. UK NEQAS immunocytochemistry news. Winter 1994/95; Issue 4:12-6.
5. Taylor CR, Burns J. The demonstration of plasma cells and other immunoglobulin-containing cells in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues using peroxidase-labelled antibody. J Clin Path 1974;27:14-20.
6. Harris NL, Poppema S, Data RE. Demonstration of immunoglobulin in malignant lymphomas. Use of an immunoperoxidase technic on frozen sections. Am J Clin Pathol 1982;78:14-21.
7. Marshall-Taylor CE, Cartun RW, Mandich D, DiGuiseppe JA. Immunohistochemical detection of immunoglobulin light chain expression in B-cell non-Hodgkin lymphomas using formalin-fixed, paraffin-embedded tissues and a heat-induced epitope retrieval technique. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2002;10:258-62.
8. Klein J, Hořejši V. Immunology. 2nd ed. Abingdon (UK): Blackwell Science Ltd; 1999. p. 226-7.
9. Leong ASY, Cooper K, Leong FJWA. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Oxford University Press; 1999. p. 218.
10. Norton AJ, Isaacson PG. Detailed phenotypic analysis of B-cell lymphoma using a panel of antibodies reactive in routinely fixed wax-embedded tissue. Amer J Pathol 1987; 128(2):225
11. Mann RB, Jaffe ES, Bernard CW. Malignant lymphomas – a conceptual understanding of morphologic diversity. Amer J Pathol 1979; 94(1):105
12. Pangalis GA, Nathwani BN, Rappaport H. Detection of cytoplasmic immunoglobulin in well-differentiated lymphoproliferative diseases by the immunoperoxidase method. Cancer 1980; 45:1334.

Explicación de símbolos

REF	Número de catálogo	2 °C 8 °C	Limitación de temperatura		Fabricante
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro	LOT	Código de lote		
	Consulte las instrucciones de uso		Fecha de caducidad		

Dako Denmark A/S │ Produktionsvej 42 │ DK-2600 Glostrup │ Denmark │ Tel. +45 44 85 95 00 │ Fax +45 44 85 95 95 │ CVR No. 33 21 13 17