

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

Code GA506

ENGLISH

Intended use

For in vitro diagnostic use.

FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Kappa Light Chains, Ready-to-Use (Dako Omnis), is intended for use in immunohistochemistry (IHC) together with the Dako Omnis instrument. This antibody is useful for the identification of plasma cells and related lymphoid cells containing kappa light chains, and it is a useful aid for the classification of monoclonal gammopathies (1) and neoplastic monoclonal proliferation (2-4). 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 histochemical stains.

Summary and explanation

The human immunoglobulins basically consist of two identical heavy chains (Mr about 50 000) and two identical light chains (Mr about 20 000). The four chains are covalently linked together by disulphide bonds. The light chains are either kappa or lambda. The five immunoglobulins, IgA, IgD, IgE, IgG and IgM, differ regarding the heavy chains, and IgA and IgM also occur in polymeric forms (5).

Individual B cells express either kappa or lambda light chains, but never both. In a polyclonal population the ratio of kappa to lambda bearing B cells is 2:1, and the occurrence of a mixture of kappa and lambda light chain-bearing cell types suggests polyclonality and a reactive or non-neoplastic proliferation of B cells (6). Multiple myeloma and B-cell lymphoma are characterized by the proliferation of monoclonal neoplastic plasma cells producing only one type of light chain. Thus, the demonstration of a kappa or lambda light chain-restricted cell population is very useful in the classification of these (7).

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

Ready-to-use polyclonal rabbit antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide.

Immunogen

Polyclonal light chains of type kappa isolated from pooled human sera.

Specificity

The antibody reacts with free kappa chains as well as kappa chains in intact immunoglobulin molecules. Traces of contaminating antibodies have been removed by solid-phase absorption with human plasma proteins.

Specificity tests; staining with Coomassie Brilliant Blue:

Double immunodiffusion: No reaction with lambda or gamma chains is seen when using 15 µL of concentrated antibody against 15 µL of lambda IgG.

Crossed immunoelectrophoresis: Only kappa-related precipitates appear when using 12.5 µL concentrated antibody per square cm gel area against 2 µL human plasma or 2 µL of a pool of concentrated urines from patients with tubular proteinuria.

Precautions

1. For in vitro diagnostic use.
2. For professional users.
3. This product contains sodium azide (NaN₃), 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. During storage the cap should be closed. Do not use after expiration date stamped on vial. Onboard stability is 375 hours. Onboard time is tracked by the Dako Omnis software. 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.

Staining protocol overview*

Step		Comments
Fixation/embedding	Formalin-fixed, paraffin-embedded	Onboard deparaffinization
Pre-treatment	EnVision FLEX, High pH (Code GV804)	30 min HIER
Antibody	Ready-to-use	15 min incubation
Negative Control	FLEX Negative Control, Rabbit (Code GA600)	15 min incubation
Visualization	EnVision FLEX (Code GV800)	Block: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Counterstain	Hematoxylin (Code GC808)	3 min incubation
Control Tissue	Tonsil	Cytoplasmic and/or membranous staining
Slides	FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020)	Recommended for greater adherence of tissue sections to glass slides
Mounting	Non-aqueous, permanent mounting required	After staining, the sections must be dehydrated, cleared and mounted using a permanent mounting method
Instrumentation	Dako Omnis	Reagents are provided in instrument-specific vials

*The user must always read the package insert for detailed instructions of the staining procedure and handling of the product.

Specimen preparation

Paraffin sections: The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of 4 µm.

Pre-treatment: Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required. Pretreating tissues with HIER using diluted EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), Code GV804, is recommended. Deparaffinization, rehydration and target retrieval are performed onboard Dako Omnis. Please refer to Dako Omnis Basic User Guide.

Dako Omnis ensures that the tissue sections do not dry out during the pre-treatment process or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides, Code K8020 is recommended.

Staining procedure

Program: The staining steps and incubation times are pre-programmed into the Dako Omnis software. Please refer to the Dako Omnis Basic User Guide for detailed instructions on loading slides and reagents. If the protocols are not available in the Dako Omnis system, please contact Dako

P02241EFG_02/GA506 p. 1/4

Technical Support. All incubation steps are performed at 32 °C onboard Dako Omnis.

Visualization: The recommended visualization system is EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), Code GV800. The visualization is performed onboard Dako Omnis.

Counterstaining: The recommended counterstain is Hematoxylin (Dako Omnis), Code GC808. The counterstaining is performed onboard Dako Omnis.

Mounting: After staining onboard Dako Omnis the sections must be dehydrated, cleared and mounted using a permanent mounting method.

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. The positive control tissue should include tonsil and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in the "Performance characteristics" section. The recommended negative control reagent is FLEX Universal Negative Control, Rabbit (Dako Omnis), Code GA600.

Staining interpretation

The cellular staining pattern for anti-kappa may be granular cytoplasmic and/or perinuclear or may be observed as membranous.

Performance characteristics

Normal tissues: Anti-kappa has been demonstrated to react in formalin-fixed, normal tonsils and reactive lymph nodes with kappa light chains in the cytoplasm of plasma cells, with follicle center blasts and small lymphocytes in the follicular mantle. While predominant cellular staining occurred in the perinuclear space of labeled cells, a strong cytoplasmic dot of labeling in centroblasts and extrafollicular B immunoblasts was seen external to the perinuclear spaces. Networks of follicle dendritic reticulum cells showed surface staining (1). Langerhans' cells, while having similar morphology to the dendritic reticulum cells, are not labeled for kappa or lambda light chains. Non-labeled tissues for kappa staining include muscle, epithelium, and nerve. In tonsil, approximately 50-60% of the mantle zone B cells show a weak to moderate membranous staining, while immunoblasts and plasma cells in the germinal center should also show moderate to strong cytoplasmic staining. The B lymphocytes should be non-labeled or only weakly labeled in the germinal center. Some background reaction in serum, connective tissue and epithelial cells may be observed.

Abnormal tissues: In reactive lymph nodes, a characteristic staining pattern was demonstrated with Dako Anti-Kappa, and an indistinguishable pattern was obtained with Dako Anti-Lambda clearly demonstrating the polyclonality of the B cells (3). In plasmacytomas, the abnormal plasma cells were monotypic and either kappa or lambda-labeled (2). In 113 cases of formalin-fixed B-cell non-Hodgkin lymphoma, including several small core biopsy specimens with extremely limited tissue, monotypic light chain expression was demonstrated in 91 (81%) of the cases with a 100% specificity using Dako Anti-Kappa and Anti-Lambda (4).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Kappa Light Chains, Ready-to-Use (Dako Omnis) est destiné à une utilisation en immunohistochimie (IHC) avec l'appareil Dako Omnis. Cet anticorps facilite l'identification des cellules plasmatisques et des cellules lymphoïdes associées contenant des chaînes légères kappa, et s'avère utile pour la classification des gammopathies monoclonales (1) et de la prolifération monoclonale néoplasique (2-4). 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 histochimiques non immunologiques.

Résumé et explication

La structure de base des immunoglobulines humaines comprend deux chaînes lourdes identiques (poids moléculaire d'environ 50 000) et deux chaînes légères identiques (poids moléculaire d'environ 20 000). Ces quatre chaînes sont liées entre elles par des liaisons covalentes grâce à des ponts disulfures. Il existe deux types de chaînes légères : kappa ou lambda. Les cinq classes d'immunoglobulines, IgA, IgD, IgE, IgG et IgM, se différencient par leurs chaînes lourdes. Les IgA et IgM sont aussi présentes sous forme polymérique (5).

Les lymphocytes B expriment chacun soit les chaînes légères kappa soit les chaînes légères lambda mais jamais les deux ensemble. Dans une population polyclonale, le rapport entre le nombre de lymphocytes B portant des chaînes kappa et le nombre de lymphocytes B portant des chaînes lambda est de 2:1. La présence d'un mélange de types cellulaires portant des chaînes légères kappa et lambda suggère une polyclonalité et une prolifération réactive ou non néoplasique des lymphocytes B (6). Le myélome multiple et le lymphome à lymphocytes B sont caractérisés par la prolifération de plasmocytes néoplasiques monoclonaux produisant un seul type de chaîne légère. Ainsi, la preuve d'une population cellulaire exprimant seulement une chaîne légère kappa ou lambda est très utile pour la classification de ces maladies (7).

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du système 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 polyclonal de lapin prêt à l'emploi, fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.

Immunogène

Chaînes légères polyclonales de type kappa isolées à partir d'un pool de sérums humains.

Spécificité

L'anticorps réagit avec les chaînes kappa libres et avec les chaînes kappa présentes dans les molécules d'immunoglobulines intactes. Les traces d'anticorps contaminants ont été éliminées par absorption à l'état solide en utilisant des protéines de plasma humain.

Tests de spécificité ; coloration au Bleu de Coomassie :

Immunodiffusion double : Aucune réaction avec les chaînes lambda ou gamma n'est constatée avec 15 µL d'anticorps concentré mis en présence de 15 µL d'IgG lambda.

Immunoelectrophorèse croisée : Seuls des précipités liés aux chaînes kappa apparaissent lorsque 12,5 µL d'anticorps concentré par cm² de gel sont mis en présence de 2 µL de plasma humain ou 2 µL d'un pool d'urines concentrées provenant de patients présentant une protéinurie tubulaire.

Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. 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, respecter les procédures de manipulation appropriées.
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

Conservé entre 2 et 8 °C. Pendant la conservation, le bouchon doit être fermé. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. La stabilité sur l'appareil est de 375 heures. Le temps passé dans l'appareil est suivi par le logiciel Dako Omnis. 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.

Vue d'ensemble du protocole de coloration*

Étape		Commentaires
Fixation/inclusion	Fixation au formol, inclusion en paraffine	Déparaffinage intégré
Prétraitement	EnVision FLEX, High pH (réf. GV804)	HIER de 30 minutes
Anticorps	Prêt à l'emploi	Incubation de 15 min
Contrôle négatif	FLEX Negative Control, Rabbit (réf. GA600)	Incubation de 15 min
Visualisation	EnVision FLEX (réf. GV800)	Bloc : 3 min ; Polymère : 20 min ; Chromogène : 5 min
Contre-coloration	Hematoxylin (réf. GC808)	Incubation de 3 min
Tissu de contrôle	Amygdale	Coloration cytoplasmique et/ou membranaire
Lames	FLEX IHC Microscope Slides (réf. K8020)	Recommandées pour une meilleure adhérence des coupes de tissus aux lames de verre
Montage	Milieu de montage permanent non aqueux requis	Une fois la procédure de coloration terminée, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées selon une méthode de montage permanent
Appareillage	Dako Omnis	Les réactifs sont fournis dans des flacons propres à l'appareil

*L'utilisateur doit toujours lire la notice pour obtenir des instructions détaillées sur la procédure de coloration et sur la manipulation du produit.

P02241EFG_02/GA506 p. 2/4

Préparation des échantillons	<p>Coupes en paraffine : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons tissulaires doit être de 4 µm.</p> <p>Prétraitement : Le prétraitement des coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine par restauration d'épitope induite par la chaleur (HIER) est nécessaire. Il est recommandé de prétraiter les tissus par la méthode HIER à l'aide de la solution diluée EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), réf. GV804. Le déparaffinage, la réhydratation et la restauration des cibles sont effectués sur l'appareil Dako Omnis. Se reporter au Guide d'utilisation de base du Dako Omnis.</p> <p>Le Dako Omnis s'assure que les coupes de tissus ne sèchent pas lors du prétraitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes tissulaires sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser les lames FLEX IHC Microscope Slides (réf. K8020).</p>
Procédure de coloration	<p>Programme : Les étapes de coloration et les temps d'incubation sont préprogrammés dans le logiciel Dako Omnis. Se reporter au Guide d'utilisation de base du Dako Omnis pour des instructions détaillées sur le chargement des lames et des réactifs. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur le système Dako Omnis, contacter l'assistance technique Dako. Toutes les étapes d'incubation sont effectuées à 32 °C sur l'appareil Dako Omnis.</p> <p>Visualisation : Le système de visualisation recommandé est le système EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), réf. GV800. La visualisation est effectuée sur l'appareil Dako Omnis.</p> <p>Contre-coloration : Le contre-colorant recommandé est le produit Hematoxylin (Dako Omnis), réf. GC808. La contre-coloration est effectuée sur l'appareil Dako Omnis.</p> <p>Montage : Après la coloration sur l'appareil Dako Omnis, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées à l'aide d'une méthode de montage permanent.</p> <p>Contrôle de qualité : Les tissus de contrôle positifs et négatifs, ainsi que le réactif de contrôle négatif, doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients. Le tissu de contrôle positif doit comprendre l'amygdale et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction tels que ceux décrits pour ce tissu à la section "Performances". Le réactif de contrôle négatif recommandé est le FLEX Universal Negative Control, Rabbit (Dako Omnis), réf. GA600.</p>
Interprétation de la coloration	Le motif de coloration cellulaire pour l'anti-kappa peut être cytoplasmique granulaire et/ou périmoléculaire, ou parfois membranaire.
Performances	<p>Tissus sains : Il s'avère que l'anti-kappa dans les amygdales saines et les ganglions lymphatiques réactifs fixés au formol réagit aux chaînes légères kappa dans le cytoplasme des plasmocytes, aux centroblastes folliculaires et aux petits lymphocytes du manteau folliculaire. Alors qu'une coloration cellulaire prédominante se produit dans l'espace périmoléculaire des cellules marquées, un marquage cytoplasmique important dans les centroblastes et les immunoblastes B extrafolliculaires est observé en dehors des espaces périmoléculaires. Des réseaux de cellules dendritiques réticulaires folliculaires présentent une coloration de surface (1). Bien qu'ayant une morphologie similaire aux cellules réticulaires dendritiques, les îlots de Langerhans ne sont pas marqués pour les chaînes légères kappa ou lambda. Les tissus non marqués à la coloration à l'anti-kappa sont notamment le muscle, l'épithélium et le nerf. Dans l'amygdale, environ 50-60% des lymphocytes B de la zone du manteau présentent une coloration membranaire faible à modérée, alors que la coloration des immunoblastes et des plasmocytes du centre germinatif est cytoplasmique et modérée à forte. Les lymphocytes B ne sont pas marqués ou sont seulement faiblement marqués dans le centre germinatif. On peut éventuellement observer une coloration du bruit de fond du sérum, du tissu conjonctif et des cellules épithéliales.</p> <p>Tissus anormaux : Dans les ganglions lymphatiques réactifs, l'Anti-Kappa de Dako a présenté un motif de coloration caractéristique, et l'Anti-Lambda de Dako a révélé un schéma non reconnaissable démontrant clairement la polyclonalité des lymphocytes B (3). Dans les plasmocytomes, les plasmocytes anormaux étaient d'un seul type, marqués aux chaînes kappa ou lambda (2). Dans 113 cas de lymphomes non hodgkiniens à lymphocytes B fixés au formol, dont plusieurs petits échantillons de microbiopsie contenant très peu de tissu, une expression monotypique des chaînes légères a été mise en évidence dans 91 cas (81%), avec une spécificité de 100%, à l'aide des anticorps Dako Anti-Kappa et Anti-Lambda (4).</p>

DEUTSCH

Verwendungszweck	<p>Zur In-vitro-Diagnostik.</p> <p>FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Kappa Light Chains, Ready-to-Use (Dako Omnis) ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) in Verbindung mit dem Dako Omnis Gerät bestimmt. Dieser Antikörper dient zur Erkennung von Plasmazellen und verwandten Lymphoidzellen mit Kappa-L-Ketten und unterstützt die Klassifizierung von monoklonalen Gammopathien (1) und neoplastischer monoklonaler Proliferation (2-4). 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 histochemischen Färbungen zum Einsatz.</p>
Zusammenfassung und Erklärung	<p>Die menschlichen Immunglobuline bestehen im Prinzip aus zwei identischen H-Ketten (Mr ca. 50 000) und zwei identischen L-Ketten (Mr ca. 20 000). Die vier Ketten sind über Disulfidbindungen kovalent miteinander verbunden. Bei den L-Ketten handelt es sich entweder um Ketten des Kappa- oder des Lambda-Typs. Die fünf Immunglobuline IgA, IgD, IgE, IgG und IgM unterscheiden sich hinsichtlich der H-Ketten, und IgA und IgM treten auch in polymeren Formen auf (5).</p> <p>Einzelne B-Zellen exprimieren entweder Kappa- oder Lambda-L-Ketten, jedoch niemals beide Typen. Bei polyklonalen Populationen beträgt das Verhältnis von B-Zellen mit Kappa-L-Ketten zu solchen mit Lambda-L-Ketten 2:1, und eine Mischung aus Zelltypen mit Kappa- und Lambda-L-Ketten lässt auf Polyklonalität und eine reaktive oder nicht neoplastische Proliferation von B-Zellen schließen (6). Für multiple Myelome und B-Zelllymphome ist eine Proliferation von monoklonalen neoplastischen Plasmazellen, die nur einen L-Ketten-Typ produzieren, charakteristisch. Daher ist die Demonstration einer auf Kappa- oder Lambda-L-Ketten beschränkten Zellpopulation bei der Klassifizierung dieser Erkrankungen von großem Nutzen (7).</p> <p>Folgende Angaben bitte den <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (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.</p>
Geliefertes Reagenz	Gebrauchsfertiger polyklonaler Kaninchen-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0.015 mol/L Natriumazid enthält.
Immunogen	Aus gepooltem Humanserum isolierte polyklonale L-Ketten vom Typ Kappa.
Spezifität	<p>Der Antikörper reagiert mit freien Kappa-Ketten sowie Kappa-Ketten in intakten Immunglobulin-Molekülen. Spuren von Verunreinigungen durch Antikörper wurden durch Festphasen-Absorption mit Humanplasmaproteinen entfernt.</p> <p>Spezifitätstests; Färbung mit Coomassie Brilliant Blue:</p> <p>Doppel-Immundefusion: Bei Verwendung von 15 µL konzentrierter Antikörper gegen 15 µL Lambda-IgG ist keine Reaktion mit Lambda- oder Gamma-Ketten zu beobachten.</p> <p>Gekreuzte Immunelektrophorese: Bei 12.5 µL konzentriertem Antikörper pro Quadratzentimeter Gelfläche gegen 2 µL Humanplasma oder 2 µL aus einem Pool von konzentriertem menschlichem Urin von Patienten mit tubulärer Proteinurie erscheinen nur Kappa-verwandte Präzipitate.</p>
Vorsichtsmaßnahmen	<ol style="list-style-type: none"> 1. Zur In-vitro-Diagnostik. 2. Für Fachpersonal. 3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), 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. Während der Lagerung ist der Deckel geschlossen zu halten. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Die Stabilität im Gerät beträgt 375 Stunden. Die Zeitdauer im Gerät wird durch die Dako Omnis Software erfasst. 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.

Übersicht über die Färbeprotokolle*

Schritt		Anmerkungen
Fixierung/Einbettung	Fixiert in Formalin, eingebettet in Paraffin	Entparaffinierung im Gerät
Vorbehandlung	EnVision FLEX, High pH (Code-Nr. GV804)	30 min HIER
Antikörper	Gebrauchsfertig	15 min Inkubation
Negativkontrolle	FLEX Negative Control, Rabbit (Code-Nr. GA600)	15 min Inkubation
Detektionssystem	EnVision FLEX (Code-Nr. GV800)	Block: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Gegenfärbung	Hematoxylin (Code-Nr. GC808)	3 min Inkubation
Kontrollgewebe	Mandeln	Zytoplasmatische und/oder membranöse Färbung
Objekträger	FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020)	Empfohlen zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjekträgern
Eindeckung	Nichtwässriges, permanentes Eindeckmedium erforderlich	Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und unter Verwendung eines permanenten Eindeckmediums auf den Objekträger aufgebracht werden
Geräte	Dako Omnis	Reagenzien werden in gerätespezifischen Fläschchen geliefert

* Der Anwender muss stets die Packungsbeilage lesen, um sich über die detaillierten Anweisungen für das Färbeverfahren und die Handhabung des Produkts zu informieren.

Gewebevorbereitung

Paraffinschnitte: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

Vorbehandlung: Es ist eine Vorbehandlung der formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitte durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER) erforderlich. Die HIER-Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), Code-Nr. GV804, wird empfohlen. Entparaffinierung, Rehydrierung und Demaskierung werden im Dako Omnis Gerät selbst durchgeführt. Weitere Informationen finden Sie im Dako Omnis Benutzerhandbuch.

Dako Omnis gewährleistet, dass die Gewebeschnitte während der Vorbehandlungsprozedur und während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Für eine bessere Haftung der Gewebeschnitte an den Glas-Objekträgern werden FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen.

Färbeverfahren

Programm: Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Dako Omnis Software vorprogrammiert. Detaillierte Anweisungen zum Laden der Objekträger und Reagenzien bitte dem Benutzerhandbuch zu Dako Omnis entnehmen. Wenn die Protokolle im Dako Omnis System nicht verfügbar sind, an den technischen Kundendienst von Dako wenden. Alle Inkubationsschritte sind bei 32 °C im Dako Omnis Gerät durchzuführen.

Detektionssystem: Das empfohlene Detektionssystem ist EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), Code-Nr. GV800. Die Detektion wird im Dako Omnis Gerät durchgeführt.

Gegenfärbung: Die empfohlene Gegenfärbung ist Hematoxylin (Dako Omnis), Code-Nr. GC808. Die Gegenfärbung wird im Dako Omnis Gerät durchgeführt.

Eindecken: Nach dem Färben im Dako Omnis Gerät müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und mit einer permanenten Eindeckmethode auf den Objekträger aufgebracht werden.

Qualitätskontrolle: Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativkontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden. Das Positivkontrollgewebe sollte Mandelgewebe enthalten, und die Zellen/Strukturen sollten die für dieses Gewebe im Abschnitt „Leistungseigenschaften“ beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativkontrollreagenz ist FLEX Universal Negative Control, Rabbit (Dako Omnis), Code-Nr. GA600.

Auswertung der Färbung

Das zelluläre Färbemuster für Anti-Kappa kann granulär zytoplasmatisch und/oder perinuklear sein; auch ein membranöses Muster wird beschrieben.

Leistungseigenschaften








Normalgewebe: Anti-Kappa hat in formalinfixiertem, gesundem Mandelgewebe und reaktiven Lymphknoten nachweislich mit Kappa-L-Ketten im Zytoplasma von Plasmazellen, sowie mit Blasten im Zentrum und kleinen Lymphozyten im Follikelmantel reagiert. Während die vorherrschende zelluläre Färbung im perinuklearen Raum markierter Zellen auftrat, war ein starker zytoplasmatischer Punkt als Markierung bei Zentroblasten und extrafollikulären B-Immunoblasten außerhalb der perinuklearen Räume zu beobachten. Netzwerke follikulärer dendritischer Retikulumzellen wiesen eine Oberflächenfärbung auf (1). Langerhans'sche Zellen werden trotz ihrer den dendritischen Retikulumzellen ähnlichen Morphologie für Kappa- bzw. Lambda-L-Ketten nicht markiert. Muskel-, Epithel- und Nervengewebe werden nicht Kappa-markiert. Bei Mandelgewebe zeigen rund 50-60% der B-Zellen der Mantelzone eine schwache bis mäßige membranöse Färbung, wogegen Immunoblasten und Plasmazellen des Keimzentrums auch eine mäßige bis starke zytoplasmatische Färbung zeigen sollten. Die B-Lymphozyten im Keimzentrum sollten nicht oder nur schwach markiert werden. Zudem kann eine gewisse Hintergrundreaktion in Serum, Bindegewebe und Epithel-Zellen auftreten.

Anormale Gewebe: In reaktiven Lymphknoten wurde mit Dako Anti-Kappa ein charakteristisches Färbemuster und mit Dako Anti-Lambda ein nicht unterscheidbares Muster erzielt, wodurch die Polyklonalität der B-Zellen klar belegt wird (3). Bei Plasmazytomen waren die anormalen Plasmazellen monotypisch und entweder Kappa- oder Lambda-markiert (2). Unter 113 Fällen formalinfixierter B-Zellen von Non-Hodgkin-Lymphomen, einschließlich mehrerer Core-Biopsieproben mit sehr wenig Gewebe, wurde in 91 Fällen (81%) bei Verwendung von Dako Anti-Kappa und Anti-Lambda mit 100%iger Spezifität eine monotypische L-Ketten-Expression nachgewiesen (4).

References/ Bibliographie/ Literaturnachweis

- 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.
- 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.
- 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.
- Marshall-Taylor CE, Cartun RW, Mandich D, DiGuiseppa 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.
- Klein J, Hofejši V. Immunology. 2nd ed. Abingdon (UK): Blackwell Science Ltd; 1999. p. 226-7.
- Leong ASY, Cooper K, Leong FJWA. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Oxford University Press; 1999. p. 218.
- 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.

Explanation of symbols/ Explication des symboles/ Erläuterung der Symbole

	Catalogue number Référence catalogue Bestellnummer	 2°C - 8°C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Manufacturer Fabricant Hersteller
	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum		Batch code Code du lot Chargenbezeichnung		
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten		Use by Utiliser avant Verwendbar bis		