

**Polyclonal Rabbit
Anti-Human
Kappa Light Chains
Code No. / Code/ Code-Nr. A 0191**

ENGLISH

Intended use

For in vitro diagnostic use.

Polyclonal Rabbit Anti-Human Kappa Light Chains, code No. A 0191, is intended for use in immunocyto-chemistry. The antibody is also well-suited for gel immunoprecipitation techniques, including immunofixation and immunoblotting (1).

In immunocytochemistry, the antibody labels plasma cells and related lymphoid cells containing kappa light chains, and it is a useful tool for the classification of patients with monoclonal gammopathies (2) and amyloidosis (3, 4). Additionally, the antibody may be used for distinguishing neoplastic monoclonal proliferation from reactive hyperplasia of B cells (5-7). Differential identification is aided by the results from a panel of antibodies.

Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a certified professional.

Introduction

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 (8).

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 (9). Diseases, such as 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 histopathological diagnosis of these diseases (4). Primary AL (amyloid light-chain) amyloidosis is also a plasma cell disorder where the demonstration of monotypic kappa or lambda light chain in the amyloid deposits is diagnostically important and separates this disease from AA amyloidosis where immunoglobulin light chain deposits do not occur (3).

Reagent provided

Purified immunoglobulin fraction of rabbit antiserum provided in liquid form. In 0.1 mol/L NaCl, 15 mmol/L NaNa₃.

Protein concentration g/L: See label on vial. **Antibody titre (SRI):** 600 mg/L (10).

As no international kappa reference preparation is available, a polyclonal kappa preparation (isolated from human IgG) has been used for the titre determination. The titre variation between different lots of A 0191 is less than 10%. This is achieved by adjusting the titre of each individual lot to match the titre of an antibody reference preparation kept at -80 °C.

Immunogen

Polyclonal immunoglobulin light chains of kappa type isolated from a pool of 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 antibody against 15 µL of lambda IgG.

Crossed immunoelectrophoresis: Only kappa-related precipitates appear when using 12.5 µL 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.

Cross-reaction with immunoglobulins from other species may occur. As demonstrated by immunocytochemistry, the antibody cross-reacts with immunoglobulins in dog, horse, pig and rat.

Precautions

1. For professional users.
2. 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.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. The product may be used in different techniques and in combination with different sample types and materials, therefore each individual laboratory should validate the test system applied.

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 user must verify the conditions. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, relevant controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected results are observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact our Technical Services.

IMMUNOCYTOCHEMISTRY

Specimen preparation

Paraffin sections: The antibody can be used for labelling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin or B5 (2). Pre-treatment of tissues with proteinase K or heat-induced epitope retrieval is recommended. For heat-induced epitope retrieval, optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, code No. S 1700, Dako Target Retrieval Solution, High pH, code No. S 3308, 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0, or 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunocytochemical staining procedure.

Frozen sections and cell preparations: The antibody can be used for labelling acetone-fixed, frozen sections (6).

Staining procedure

Dilution: Polyclonal Rabbit Anti-Human Kappa Light Chains, code No. A 0191, may be used at a dilution range of 1:1000-1:2000 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human tonsil and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation method, and should be determined by each individual laboratory. The recommended negative control is Dako Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), code No. X 0936, diluted to the same protein concentration as the primary antibody. Unless the stability in the actual test system has been established, it is recommended to dilute the product immediately before use or dilute in Dako Antibody Diluent, code No. S 0809.

Visualization: DAKO LSAB™+/HRP kit, code No. K 0679, and DAKO EnVision™+/HRP kits, code Nos. K 4008 and K 4010, are recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.

Automation: The antibody is well-suited for immunocytochemical staining using automated platforms, such as the Dako Autostainer

Performance characteristics

Cells labelled by the antibody display staining of the cell membrane and/or cytoplasm.

Normal tissues: In normal tonsil, the antibody labels plasma cells, follicle centre cells and mantle zone cells providing a polyclonal pattern with a clear distinction between positive and negative cells (4).

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 in this disorder (6). In plasmacytomas, the abnormal plasma cells were monotypic and either kappa or lambda-positive (5). Using frozen sections, all of 15 nodular lymphomas showed a striking predominance of one light chain type when labelled with Dako Anti-Kappa or Dako Anti-Lambda. Of 31 diffuse lymphomas, 23 had a majority of cells with monotypic light chains, in most cases similar to the nodular lymphomas. All of 16 diffuse large cell lymphomas also showed monotypic light chain labelling (6). 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 (7). In bone marrow aspirates from 66 patients with serum monoclonal gammopathies, the antibody was used to identify abnormal light chain ratios in 24 cases of gammopathy of undetermined significance, 23 cases of multiple myeloma, 5 cases of amyloidosis, 9 cases of macroglobulinaemia, 1 case of extramedullary plasmacytoma, 3 cases of renal disease, and 1 case of lymphoma. The predominant light chain labelled by the antibody in the biopsy correlated with the monoclonal light chain identified in the serum (2). In 23 cases of light chain deposition disease (LCDD), the antibody labelled renal specimens monotypically in 17 cases, while 5 cases were positive for lambda chains only (3).

IMMUNOFIXATION

Dilution guidelines

Antibody: Undiluted, 80 µL is usually sufficient. Sample: Human serum 1+3 or urine (protein concentration about 1 g/L). Sample volume: 5 µL. Plasma samples should not be used as the fibrinogen band may interfere with the interpretation.

FRANÇAIS

Intérêt

Pour diagnostic *in vitro*.

Polyclonal Rabbit Anti-Human Kappa Light Chains, code A 0191, sont destinées pour un usage en immunocytochimie. L'anticorps est aussi bien approprié pour les techniques d'immunoprécipitation sur gel, y compris l'immunofixation et l'immunoblot (1).

En immunocytochimie, l'anticorps marque les cellules plasmatisques et les cellules lymphoïdes apparentées contenant les chaînes légères kappa, et est un moyen utile pour la classification des patients atteints de gammopathies monoclonales (2) et d'amylose (3, 4). En outre, l'anticorps peut être utilisé pour distinguer une prolifération monoclonale néoplasique d'une hyperplasie réactive des cellules B (5-7). L'identification différentielle est assistée par les résultats d'une gamme d'anticorps. L'interprétation des résultats doit être entreprise par un professionnel certifié dans le contexte de l'histoire clinique du patient et autres examens diagnostics.

Introduction

Les immunoglobulines humaines se constituent fondamentalement de deux chaînes lourdes identiques (Mr environ 50 000) et de deux chaînes légères identiques (Mr environ 20 000). Les quatre chaînes sont liées les unes aux autres en covalence par des liaisons disulfures. Les chaînes légères sont soit kappa ou lambda. Les cinq immunoglobulines, IgA, IgD, IgE, IgG et IgM, diffèrent en relation aux chaînes lourdes, et l'IgA et IgM se présentent aussi sous formes polymériques (8).

Les cellules B individuelles expriment soit des chaînes légères kappa ou lambda, mais jamais les deux. Dans une population polyclonale, le rapport de chaînes légères kappa à lambda présentes dans les cellules B est de 2:1, et l'éventualité de mélange des types cellulaires portant des chaînes légères kappa et lambda suggère une polyclonie et une prolifération réactive ou non-néoplasique des cellules B (9). Les maladies telles que le myélome multiple et le lymphome des cellules B, sont caractérisées par la prolifération des cellules plasmatisques monoclonales et néoplasiques produisant un seul type de chaîne légère. Par conséquent, la démonstration de population cellulaire de chaîne légère limitée à kappa ou lambda est très utile dans le diagnostic histopathologique de ces maladies (4). L'amylose primaire AL (chaîne légère amyloïde) est aussi un trouble de cellules plasmatisques où la démonstration de chaîne légère monotypique kappa ou lambda dans les dépôts amyloïdes est diagnostiquement importante et sépare cette maladie des amyloses AA où les dépôts d'immunoglobulines à chaîne légère ne se présentent pas. (3).

Réactif fourni

Fraction de l'immunoglobuline purifiée de l'antisérum de lapin fourni à l'état liquide dans 0,1 mol/l NaCl, 15 mmol/l NaN₃.

Concentration protéinique q/l: Voir étiquette sur le flacon de l'échantillon. **Recherche d'anticorps irréguliers (SRI):** 600 mg/l (10).

Aucune préparation internationale de témoin kappa n'existe, par conséquent, une préparation de kappa polyclonale (isolée de l'IgG humain) a été utilisée pour la détermination du titre. Le taux de variation du titre de lots variés de A 0191 est inférieur à 10%, obtenu en ajustant le titre de chaque lot particulier afin d'apparier le titre de la préparation du témoin de l'anticorps, conservé à -80 °C.

Immunogène

Les chaînes légères de type kappa des immunoglobulines polyclonales, isolées du plasma humain.

Spécificité

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

Tests de spécificité : Marquage avec Bleu de Coomassie

Immunodiffusion double: Aucune réaction avec les chaînes lambda ou gamma n'a été révélée en utilisant 15 µl d'anticorps pour 15 µl d'IgG lambda.

Immuno-électrophorèse croisée: Les précipités kappa-équivalents apparaissent seulement en utilisant 12,5 µl d'anticorps par cm carré de surface du gel pour 2 µl de plasma humain ou 2 µl d'un pool d'urines concentrées des patients atteints de protéinurie tubulaire.

Une réaction croisée aux immunoglobulines des autres espèces peut se présenter. D'après l'immunocytochimie, l'anticorps montre une réaction aux immunoglobulines de chien, de cheval, de porc et de rat.

Précautions d'emploi

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. Aux concentrations du produit, bien qu'il ne soit pas classé comme étant nuisible, l'azide de sodium peut réagir avec la tuyauterie en plomb et en cuivre pour former des dépôts hautement explosifs d'azides métallisés. Lors de l'élimination du produit, laisser couler l'eau à flot pour éviter toute accumulation d'azide métallisé dans la tuyauterie.
3. Comme pour tout dérivé biologique dangereux à manipuler, une précision s'impose.
4. Ce produit peut être utilisé dans des techniques variées et en combinaison avec des échantillons et matériaux variés, par conséquent, chaque laboratoire particulier doit valider le système d'analyse choisi.

Stockage

Stocker entre 2-8°C. Ne pas utiliser après la date de péremption mentionnée sur le flacon de l'échantillon. Dans le cas où les réactifs sont conservés sous d'autres conditions que celles spécifiées, les conditions doivent être vérifiées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles doivent être opérés simultanément avec les échantillons du patient. En cas de résultats particuliers qui ne peuvent pas être expliqués par des changements de procédures de laboratoire et qu'un problème avec le produit est suspecté, contactez nos Services Techniques.

IMMUNOCYTOCHIMIE

Préparation de l'échantillon

Coupes en paraffine: L'anticorps peut être utilisé pour marquer les coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol ou B5 (2). Le prétraitement des tissus avec la protéinase K ou la restauration de l'épitope par la chaleur est requis. Des résultats optimaux peuvent être obtenus par desquamage Dako Target Retrieval Solution, code S 1700, Dako Target Retrieval Solution, pH Elevé, code S 3308, 10 mmol/l tampon citrate, pH 6,0, ou 10 mmol/l tampon Tris, 1 mmol/l EDTA, pH 9,0. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher pendant le traitement ou procédure d'immunomarquage immunocytochimique suivante.

Coupes congelées et préparations cellulaires: L'anticorps peut être utilisé pour marquer les coupes congelées fixées à l'acétone. (6).

Procédure d'immunomarquage

Dilution: Polyclonal Rabbit Anti-Human Kappa Light Chains, code A 0191, peut être dilué entre 1:1000 et 1:2000 pour une application sur coupes incluses en paraffine, fixées au formol de l'amygdale humaine pendant 20 minutes de desquamage de l'épitope par la chaleur dans 10 mmol/l tampon Tris, 1 mmol/l EDTA, pH 9,0, et 30 minutes d'incubation à température ambiante avec l'anticorps primaire. Les conditions optimales peuvent varier selon l'échantillon et la méthode de préparation et doivent être déterminées par chaque laboratoire particulier. Le contrôle négatif requis est Dako Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), code X 0936, dilué à la même concentration protéinique que l'anticorps primaire. A moins que la stabilité du système d'analyse ait été établie, il est recommandé de diluer le produit juste avant son usage ou de diluer dans Dako Antibody Diluent, code S 0809.

Révélation: DAKO LSAB™+/HRP kit, code K 0679, DAKO EnVision™+/HRP kits, codes K 4008 et K 4010, sont requis. Suivre la procédure incluse dans le kit de révélation choisi.

Automation: L'anticorps est bien approprié pour l'immunomarquage immunocytochimique utilisant des plate-formes automatisées, telles que Dako Autostainer

Performances

Les cellules marquées par l'anticorps révèlent un modèle de marquage cytoplasmique.

Tissus normaux: Dans l'amygdale normale, l'anticorps marque les plasmocytes, les cellules centrales folliculaires et les cellules à zone en mantelet fournissant un modèle polyclonal avec une distinction précise entre les cellules positives et négatives (4).

Tissus anormaux: Dans les ganglions lymphatiques réactifs, un modèle particulier de coloration a été démontré avec Dako Anti-Kappa, et un modèle indifférenciable a été obtenu avec Dako Anti-Lambda, démontrant clairement la polyclonie des cellules B de cette maladie (6). Dans les plasmacytomes, les plasmocytes anormaux étaient monotypiques et positifs soit à kappa ou lambda (5). Avec les coupes congelées, tous les 15 lymphomes nodulaires révélaient une prédominance frappante d'un type de chaîne légère lorsque marqués avec Dako Anti-Kappa or Dako Anti-Lambda. Des 31 lymphomes diffus, 23 avaient une majorité de cellules à chaînes légères monotypiques, dans la plupart des cas, identiques aux lymphomes nodulaires. Tous les 16 lymphomes diffus à grande cellule révélaient aussi un marquage de chaîne légère monotypique (6). Dans 113 cas de lymphomes non-Hodgkiniens des lymphocytes B fixés au formol, y compris plusieurs spécimens de biopsie à petit noyau de tissus extrêmement limités, l'expression de chaîne légère monotypique a été démontrée dans 91 (81%) des cas avec une spécificité de 100% à l'aide de Dako Anti-Kappa and Anti-Lambda (7). Dans les échantillons prélevés par aspiration de la moelle osseuse des 66 patients atteints de gammopathies à sérum monoclonal, l'anticorps était utilisé pour identifier les indices de chaîne légère anormale dans 24 cas de gammopathie de valeur indéterminée, 23 cas de myélomes multiples, 5 cas d'amylose, 9 cas de macroglobulinémie, 1 cas de plasmacytome extramedullaire, 3 cas de maladie rénale, et 1 cas de lymphome. La chaîne légère prédominante marquée par l'anticorps dans la biopsie correspond à la chaîne légère monoclonale identifiée dans le sérum (2). Dans 23 cas de maladie de déposition de chaîne légère (LCDD), l'anticorps marquait les échantillons rénaux monotypiquement dans 17 cas, alors que 5 cas étaient positifs aux chaînes lambda seulement (3).

IMMUNOFIXATION

Recommandations de dilution

Anticorps: Non dilué, 80 µl est généralement suffisant. Echantillon: Sérum humain 1+3 ou urine (concentration protéinique d'environ 1 g/l). Volume de l'échantillon: 5 µl. Les échantillons de plasma ne doivent pas être utilisés, vu que la bande fibrinogène peut interférer avec l'interprétation.

DEUTSCH

Zweckbestimmung

Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.

Polyclonal Rabbit Anti-Human Kappa Light Chains, Code-Nr. A 0191, sind für den immunzytochemischen Gebrauch bestimmt. Der Antikörper ist außerdem gut für Verfahren der Gelimmunpräzipitation, einschließlich von Immunfixation und Immunblotting geeignet (1).

In der Immunzytochemie markiert der Antikörper Plasmazellen und in Verbindung stehende Lymphoidzellen, die leichte Ketten vom Kappa-Typ enthalten und er hat sich für die Klassifizierung von Patienten mit monoklonalen Gammopathien (2) und Amyloidose als nützlich erwiesen (3, 4). Zudem kann der Antikörper dazu eingesetzt werden, eine neoplastische monoklonale Proliferation von einer reaktiven Hyperplasie der B-Zellen abzugrenzen (5-7). Die differentielle Identifizierung wird durch die mit einem Antikörper-Panel erhaltenen Resultate unterstützt.

Die Befunde müssen unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren von einem zertifizierten Facharzt interpretiert werden.

Einleitung

Grundlegend bestehen die Immunglobuline des Menschen aus zwei identischen schweren Ketten (M_r , circa 50 000) und zwei identischen leichten Ketten (M_r , circa 20 000). Durch Disulfidbrücken sind die vier Ketten kovalent verknüpft. Die Leichtketten (L-Ketten) sind entweder vom Kappa- oder vom Lambda-Typ. Hinsichtlich der Schwereketten (H-Ketten) unterscheiden sich die fünf Immunglobulinklassen IgA, IgD, IgE, IgG und IgM. Außerdem treten IgA und IgM auch in polymeren Formen auf (8).

Einzelne B-Zellen exprimieren entweder L-Ketten vom Kappa- oder Lambda-Typ, nie jedoch beide. In einer polyklonalen Population beträgt das Verhältnis der Kappa- zu den Lambda-tragenden B-Zellen 2:1 und das Auftreten einer Mischung von Kappa- und Lambda-L-Ketten tragenden Zelltypen legt Polyklonalität und eine reaktive oder nicht neoplastische Proliferation der B-Zellen nahe (9). Erkrankungen wie das multiple Myelom und B-Zell-Lymphom sind durch die Proliferation monoklonaler neoplastischer Plasmazellen gekennzeichnet, die lediglich einen L-Kettentyp produzieren. Folglich ist es für die histopathologische Diagnose dieser Erkrankungen sehr nützlich, eine Zellpopulation nachzuweisen, die in Bezug auf L-Ketten vom Kappa- oder Lambda-Typ restringiert ist (4). Ebenfalls zu den Plasmazellstörungen zählt die primäre AL-Amyloidose (Amyloid-Leichtketten = AL), bei der der Nachweis monotypischer L-Ketten vom Kappa- oder Lambda-Typ in Amyloidablagerungen erheblichen diagnostischen Stellenwert besitzt und diese Erkrankung von der AA-Amyloidose abgrenzt, bei der keine Ablagerungen von Immunglobulinleichtketten auftreten (3).

Geliefertes Reagenz

In flüssiger Form vorliegende gereinigte Immunglobulinfraktion des Kaninchen-Antiserums. In 0,1 mol/l NaCl, 15 mmol/l NaN₃.

Protein-Konzentration g/l: Siehe Produktetikett. **Antikörpertiter (SRL):** 600 mg/l (10).

Da kein internationales Kappa-Referenzpräparat zur Verfügung steht, wurde für die Titerbestimmung eine polyklonale Kappa-Zubereitung (aus humanem IgG isoliert) genutzt. Titervariationen zwischen verschiedenen Chargen von A 0191 betragen weniger als 10%. Dies wird durch Einstellen des Titors jeder einzelnen Charge auf die Übereinstimmung mit dem Titer einer bei -80 °C aufbewahrten Antikörper-Referenzzubereitung erreicht.

Immunogen

Aus einem Humanserum-Pool isolierte polyklonale Immunglobulinleichtketten vom Kappa-Typ.

Spezifität

Der Antikörper reagiert mit freien Kappa-L-Ketten ebenso wie mit Kappa-L-Ketten in intakten Immunglobulin-Molekülen. Durch die Festphasenabsorption mit humanen Plasmaproteinen wurden Spuren verunreinigender Antikörper entfernt.

Spezifitätstests: Anfärben mit Coomassie © Brillantblau:

Doppelte Immundiffusion: Bei Verwendung von 15 µl Antikörper gegen 15 µl Lambda-IgG wird keine Reaktion mit Ketten vom Lambda- oder Gamma-Typ festgestellt.

Kreuzimmunelektrophorese: Nur auf Kappa bezogene Präzipitate werden sichtbar, wenn 12,5 µl Antikörper je Quadratzentimeter Gelfläche gegen 2 µl Humanplasma oder 2 µl eines Pools konzentrierter Urinproben von Patienten mit tubulärer Proteinurie eingesetzt werden.

Es kann eine Kreuzreaktion mit Immunglobulinen anderer Spezies auftreten. Es wurde der immunzytochemische Nachweis erbracht, dass der Antikörper eine Kreuzreaktion mit Immunglobulinen von Hund, Pferd, Schwein und Ratte eingeht.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

1. Für geschultes Fachpersonal.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form hochtoxische chemische Verbindung. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natrium-Azid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metall-Azid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
3. Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden.
4. Das Produkt kann bei anderen Techniken und in Kombination mit unterschiedlichen Probenarten und Materialien eingesetzt werden. Folglich ist das spezifisch genutzte Testsystem vom jeweiligen Labor zu validieren.

Lagerung

Bei 2 – 8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Fläschchen angegebenen Verfallsdatum verwenden. Sollten die Reagenzien unter anderen Bedingungen als den beschriebenen aufbewahrt worden sein, so müssen diese vom Anwender verifiziert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produktes. Es sollten daher die relevanten Kontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden. Wenn unerwartete Resultate beobachtet werden, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden können und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist bitte Kontakt mit unserem technischen Kundendienst aufzunehmen.

IMMUNZYTOCHEMIE

Probenvorbereitung

Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten, in Formalin oder B5 fixierten histologischen Schnitten genutzt werden (2). Eine Vorbehandlung der Gewebe mit Proteinase K oder hitzeinduzierter Epitopdemaskierung wird empfohlen. Für die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung werden optimale Resultate erzielt mit Dako Target Retrieval Solution, pH 6,1, Code-Nr. S 1700, Dako Target Retrieval Solution, pH 9,9, Code-Nr. S 3308, 10 mmol/l Citratpuffer, pH 6,0, oder

10 mmol/l Trispufler, 1 mmol/l EDTA, pH 9,0. Während der Gewebeprebehandlung oder während der sich anschließenden immunzytochemischen Färbeprozedur dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

Gefrierschnitte und zytologische Präparate: Der Antikörper kann für die Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten verwendet werden (6).

Färbeprozedur

Verdünnung: Polyclonal Rabbit Anti-Human Kappa Light Chains, Code-Nr. A 0191 A 0425, kann bei einem Verdünnungsbereich von 1:1000-1:2000 eingesetzt werden, wenn es für formalinfixierte, paraffineingebettete Schnitte der humanen Tonsille genutzt wird und wenn 20 Minuten lang die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung in 10 mmol/l Tris-Puffer, 1 mmol/l EDTA, pH 9,0, gefolgt von 30 Minuten Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur, durchgeführt wird. Die optimalen Bedingungen schwanken je nach Probe und Methode der Probenvorbereitung und sollten von jedem einzelnen Labor bestimmt werden. Als Negativkontrolle wird Dako Rabbit Immunglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), Code-Nr. X 0936, empfohlen, das auf die gleiche Proteinkonzentration wie der primäre Antikörper verdünnt wird. Solange mit dem eigentlichen Testsystem die Stabilität des Reagenzes nicht sichergestellt ist, wird empfohlen, das Reagenz unmittelbar vor Gebrauch zu verdünnen oder die Verdünnung mit Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S 0809, vorzunehmen.

Visualisierung: Folgende Kits werden empfohlen: DAKO LSAB™+/HRP-Kit, Code-Nr. K 0679 und DAKO EnVision™+/HRP-Kits, Code-Nr. K 4008 und K 4010. Es ist dem Verfahren zu folgen, das in den Anleitungen des genutzten Kits für die Visualisierung erläutert wird.

Automatisierung: Der Antikörper ist gut für das immunzytochemische Färben unter Nutzung automatisierter Plattformen wie beispielsweise des „Autostainer“ von Dako geeignet.

Leistungseigenschaften

Durch den Antikörper markierte Zellen zeigen eine Färbung des Zytoplasmas und/oder der Zellmembran.

Normalgewebe: Bei der gesunden Tonsille markiert der Antikörper Plasmazellen, folliculäre Zentriolen und Mantelzonenzellen und erbringt ein polyklonales Muster mit klarer Unterscheidung zwischen positiven und negativen Zellen (4).

Anomales Gewebe: Bei reaktiven Lymphknoten wurde mit Dako Anti-Kappa ein charakteristisches Färbemuster aufgezeigt und mit Dako Anti-Lambda wurde ein nicht unterscheidbares Muster erhalten, was eindeutig die Polyklonalität der B-Zellen bei dieser Erkrankung verdeutlicht (6). Die abnormen Plasmazellen waren bei Plasmazytomen monotypisch und entweder Kappa- oder Lambda-positiv (5). Bei Nutzung von Gefrierschnitten zeigten alle 15 nodulären Lymphome eine beeindruckende Prädominanz eines Leichtkettentyps, wenn die Markierung mit Dako Anti-Kappa oder Dako Anti-Lambda vorgenommen wurde. Von 31 diffusen Lymphomen wiesen 23 eine Majorität von Zellen mit monotypischen L-Ketten auf, die in den meisten Fällen den nodulären Lymphomen ähnlich waren. Alle der 16 diffusen großzelligen Lymphome zeigten ebenfalls die Markierung der monotypischen L-Kette (6). Bei 113 Fällen des Formalin-fixierten B-Zell-Lymphoms vom Non-Hodgkin-Typ, einschließlich mehrerer kleiner Core-Biopsieproben mit extrem geringem Gewebematerial, demonstrierte die Nutzung von Dako Anti-Kappa und Anti-Lambda in 91 (81 %) Fällen mit 100%iger Spezifität die monotypische L-Ketten-Expression (7). Bei Knochenmarkaspiraten von 66 Patienten mit monoklonalen Gammopathien des Serums wurde der Antikörper für die Identifizierung normabweichender L-Kettenverhältnisse genutzt, und zwar bei 24 Fällen der Gammopathie „unbestimmter Bedeutung“ (MGUS), 23 Fällen des multiplen Myeloms, 5 Fällen der Amyloidosen, 9 Fällen der Makroglobulinämie, 1 Fall des extramedullären Plasmazytoms, 3 Fällen der Nierenerkrankung und 1 Lymphomfall. Die durch den Antikörper anhand der Biopsieprobe markierte vorherrschende L-Kette korrelierte mit der monoklonalen L-Kette, die im Serum identifiziert wurde (2). Bei 23 Fällen der Ablagerung von Immunglobulinleichtketten (light chain deposition disease, LCDD) markierte der Antikörper in 17 Fällen Nierenproben auf monotypische Weise, während 5 Fälle nur für Lambda-Ketten positiv waren (3).

IMMUNFIXATION









Richtwerte für die Verdünnung


Antikörper: Unverdünnt, 80 µl sind in der Regel ausreichend. Probe: Humanserum 1+3 oder Urin (Proteinkonzentration circa 1 g/l). Probenvolumen: 5 µl. Plasmaproben sollten nicht genutzt werden, da die Fibrinogenbande die Interpretation beeinträchtigen kann.

References/ Références/ Literatur

- Withold W, Reinauer H. An immunoblotting procedure following agarose gel electrophoresis for detection of Bence Jones proteinuria compared with immunofixation and quantitative light chain determination. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995;33:135-8.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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, DiGuseppe 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, Hořejši 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.
- Becker W. Determination of antisera titres using the single radial immunodiffusion method. Immunochem 1969;6:539-46.

Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

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