

**FLEX
Polyclonal Rabbit
Anti-Human
Lambda Light Chains
Ready-to-Use
(Link)**

Code IR507

ENGLISH

Intended use	<p>For in vitro diagnostic use.</p> <p>FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Lambda Light Chains, Ready-to-Use, (Link), is intended for use in immunohistochemistry (IHC) together with Autostainer Link instruments. This antibody is useful for the identification of plasma cells and related lymphoid cells containing lambda 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.</p>
Summary and explanation	<p>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).</p> <p>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 diseases (7).</p> <p>Refer to <i>Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> 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.</p>
Reagent provided	Ready-to-use polyclonal rabbit antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L NaN ₃ .
Immunogen	Polyclonal light chains of type lambda isolated from a pool of normal human sera.
Specificity	<p>The antibody reacts with free lambda chains as well as lambda chains in intact immunoglobulin molecules. Traces of contaminating antibodies have been removed by solid-phase absorption with human plasma proteins.</p> <p>Specificity tests; staining with Coomassie Brilliant Blue:</p> <p><u>Double immunodiffusion:</u> No reaction with kappa or gamma chains is seen when using 15 µL of concentrated antibody against 15 µL of kappa IgG.</p> <p><u>Crossed immunoelectrophoresis:</u> Only lambda-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 urine from patients with tubular proteinuria.</p>
Precautions	<ol style="list-style-type: none"> For in vitro diagnostic use. For professional users. 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. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin. 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	<p>The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.</p> <p>Pre-treatment with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required using Dako PT Link. For details, please refer to the PT Link User Guide. Optimal results are obtained by pretreating tissues using EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8004).</p> <p><u>Paraffin-embedded sections:</u> Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using the 3-in-1 specimen preparation procedure for Dako PT Link. After staining the sections must be dehydrated, cleared and mounted using a permanent mounting method.</p> <p><u>Deparaffinized sections:</u> Pre-treatment of deparaffinized formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using Dako PT Link and following the same procedure as described for paraffin-embedded sections. After staining the slides should be mounted using an aqueous or a permanent mounting method.</p> <p>The tissue sections should not dry out during the treatment 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.</p>
Staining procedure	<p>The recommended visualization system is EnVision FLEX, High pH, (Link) (Code K8000). The staining steps and incubation times are pre-programmed into the Autostainer Leth ink software. The recommended reagent application volume is 1 x 200 µL or 2 x 150 µL per slide. Please refer to the proper Autostainer Link User Guide for detailed instructions on loading slides and reagents. If the protocols are not available on the used Autostainer platform, please contact Dako Technical Support. All incubation steps should be performed at room temperature.</p> <p>Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation methods, and should be determined by each individual laboratory. Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision FLEX Hematoxylin (Link) (Code K8008).</p> <p>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 include tonsil and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in "Performance characteristics". The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Rabbit (Link) (Code IR600).</p>
Staining interpretation	The cellular staining pattern for lambda light chains may be granular cytoplasmic and/or perinuclear, or may be observed as membranous.
Performance characteristics	<u>Normal tissues:</u> In normal tonsil, the antibody labels plasma cells, follicle centre cells and mantle zone cells providing a polyclonal pattern with a clear distinction between labeled and non-labeled cells. In tonsil, approximately 40-50% of the mantle zone B cells show weak to moderate membranous

staining, while immunoblasts and plasma cells in the germinal center show moderate to strong cytoplasmic staining. The B lymphocytes should not be 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-Lambda, and an indistinguishable pattern was obtained with Dako Anti-Kappa 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	<p>Pour utilisation diagnostique in vitro.</p> <p>L'anticorps FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Lambda Light Chains, Ready-to-Use (Link) est destiné à une utilisation en immunohistochimie (IHC) avec les instruments Autostainer Link. Cet anticorps facilite l'identification des cellules plasmatiques et des cellules lymphoïdes associées contenant des chaînes légères lambda, 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.</p>
Résumé et explication	<p>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).</p> <p>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 s'avère très utile pour la classification de ces maladies (7).</p> <p>Consulter le document <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (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.</p>
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 (NaN ₃).
Immunogène	Chaînes légères polyclonales de type lambda isolées à partir d'un pool d'échantillons de sérums humains sains.
Spécificité	<p>L'anticorps réagit avec les chaînes lambda libres ainsi que les chaînes lambda 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.</p> <p>Tests de spécificité ; coloration au Bleu de Coomassie :</p> <p>Immunodiffusion double : Aucune réaction avec les chaînes kappa ou gamma n'est constatée avec 15 µL d'anticorps concentré mis en présence de 15 µL d'IgG kappa.</p> <p>Immunoélectrophorèse croisée : Seuls des précipités liés aux chaînes lambda apparaissent lorsque 12,5 µL d'anticorps concentré par cm² de gel sont mis en présence de 2 µL de plasma humain ou de 2 µL d'un pool d'urines concentrées provenant de patients présentant une protéinurie tubulaire.</p>
Précautions d'emploi	<ol style="list-style-type: none">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	Conservé 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	<p>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 d'environ 4 µm.</p> <p>Le prétraitement avec une restauration d'épitope induite par la chaleur (HIER) est nécessaire à l'aide du Dako PT Link. Pour plus de détails, se référer au Guide d'utilisation du PT Link. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus à l'aide de la EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (réf. K8004).</p> <p>Coupes incluses en paraffine : Le prétraitement des coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine est recommandé à l'aide de la procédure 3 en 1 de préparation des échantillons pour Dako PT Link. Une fois la procédure de coloration terminée, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées selon une méthode de montage permanent.</p> <p>Coupes déparaffinées : Le prétraitement des coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine puis déparaffinées est recommandé à l'aide du Dako PT Link en suivant la même procédure que pour les coupes incluses en paraffine, déjà décrite. Après coloration, un montage aqueux ou permanent des lames est recommandé.</p> <p>Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissu sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser les lames FLEX IHC Microscope Slides (réf. K8020).</p>
Procédure de coloration	<p>Le système de visualisation recommandé est le système EnVision FLEX, High pH (Link) (réf. K8000). Les étapes de coloration et les temps d'incubation sont préprogrammés dans le logiciel Autostainer Link. Le volume de réactif recommandé devant être appliqué est le suivant : 1 x 200 µL ou 2 x 150 µL par lame. Se reporter au Guide d'utilisation de l'Autostainer Link correspondant pour plus de détails sur le chargement des lames et des réactifs. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur la plateforme Autostainer utilisée, contacter l'assistance technique Dako. Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante.</p> <p>Les conditions optimales peuvent varier en fonction de l'échantillon et des méthodes de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Il est recommandé d'effectuer une contre-coloration à l'aide d'hématoxyline EnVision FLEX Hematoxylin (Link) (réf. K8008).</p> <p>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 dans "Performances". Le réactif de contrôle négatif recommandé est le FLEX Negative Control, Rabbit, (Link) (réf. IR600).</p>
Interprétation de la coloration	Le motif de coloration cellulaire pour les chaînes légères lambda peut être cytoplasmique granulaire et/ou périmoléculaire, ou parfois membranaire.
Performances	<p>Tissus sains : Dans l'amygdale saine, l'anticorps marque les plasmocytes, les cellules centrofolliculaires et les cellules de la zone du manteau fournissant un schéma polyclonal avec une distinction claire entre les cellules marquées et non marquées. Dans l'amygdale, environ 40-50% des</p> <p>SSIR507CEEFG_01 p. 2/4</p>

lymphocytes B de la zone du manteau présentent une coloration membranaire faible à modérée, alors que les immunoblastes et les plasmocytes du centre germinatif présentent une coloration cytoplasmique 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.

Tissus anormaux : Dans les ganglions lymphatiques réactifs, l'Anti-Lambda de Dako a présenté un motif de coloration caractéristique, et l'Anti-Kappa 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).

DEUTSCH

Verwendungszweck	Zur In-vitro-Diagnostik. FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Lambda Light Chains, Ready-to-Use, (Link) ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) in Verbindung mit Autostainer Link-Geräten bestimmt. Dieser Antikörper dient zur Erkennung von Plasmazellen und verwandten Lymphoidzellen mit Lambda-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.
Zusammenfassung und Erklärung	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). 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 Polyclonalität 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). 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, Gewebevorbereitung, Färbeverfahren, Qualitätskontrolle, Fehlerbehandlung, Auswertung der Färbung, Allgemeine Beschränkungen.
Geliefertes Reagenz	Gebrauchsfertiger polyklonaler Kaninchen-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0.015 mol/L Na ₂ S ₂ O ₃ enthält.
Immunogen	Aus gepooltem normalem Humanserum isolierte polyklonale L-Ketten vom Typ Lambda.
Spezifität	Der Antikörper reagiert mit freien Lambda-Ketten sowie Lambda-Ketten in intakten Immunglobulin-Molekülen. Spuren von Verunreinigungen durch Antikörper wurden durch Festphasen-Absorption mit Humanplasmaproteinen entfernt. Spezifitätstests; Färbung mit Coomassie Brilliant Blue: <u>Doppel-Immendiffusion:</u> Bei Verwendung von 15 µL konzentriertem Antikörper gegen 15 µL Kappa-IgG ist keine Reaktion mit Kappa- oder Gamma-Ketten zu beobachten. <u>Gekreuzte Immunelektrophorese:</u> Bei 12.5 µL konzentriertem Antikörper pro Quadratcentimeter Geffläche gegen 2 µL Humanplasma oder 2 µL aus einem Pool von konzentriertem menschlichem Urin von Patienten mit tubulärer Proteinurie erscheinen Lambda-verwandte Präzipitate.
Vorsichtsmaßnahmen	1. Zur In-vitro-Diagnostik. 2. Für Fachpersonal. 3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (Na ₂ N ₂), 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	Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden. Es ist eine Vorbehandlung durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER-Verfahren) mit dem Dako PT Link erforderlich. Weitere Informationen hierzu siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Optimale Ergebnisse können durch Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8004) erzielt werden. <u>Paraffineingebettete Schnitte:</u> Die Vorbehandlung der formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitte mit dem 3-in-1-Gewebevorbereitungsverfahren für Dako PT Link wird empfohlen. Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und unter Verwendung eines permanenten Eindeckmediums auf Objektträger eingedeckt werden. <u>Entparaffinierte Schnitte:</u> Eine Vorbehandlung der entparaffinierten, formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitte mit Dako PT Link und nach demselben Verfahren, wie für die paraffineingebetteten Schnitte beschrieben, wird empfohlen. Nach Durchführung des Färbeverfahrens müssen die Objektträger unter Verwendung eines geeigneten permanenten Eindeckmediums eingedeckt werden. Während der Gewebevorbereitung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen. Für eine bessere Haftung der Gewebeschnitte an den Glas-Objektträgern werden FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen.
Färbeverfahren	Das empfohlene Detektionssystem ist EnVision FLEX, High pH (Link) (Code-Nr. K8000). Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Autostainer Link-Software vorprogrammiert. Das empfohlene Reagenzvolumen beträgt 1 x 200 µL oder 2 x 150 µL pro Objektträger. Detaillierte Anweisungen zum Laden der Objektträger und Reagenzien bitte dem Benutzerhandbuch zum Autostainer Link entnehmen. Wenn die Protokolle auf der verwendeten Autostainer-Plattform nicht verfügbar sind, bitte den technischen Kundendienst von Dako verständigen. Alle Inkubationsschritte sollten bei Raumtemperatur durchgeführt werden. Optimale Bedingungen können je nach Gewebe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision FLEX Hematoxylin (Link) (Code-Nr. K8008) ausgeführt werden. 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 Negative Control, Rabbit (Link) (Code-Nr. IR600).

Auswertung der Färbung

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

Leistungseigenschaften









Normalgewebe: In normalem Mandelgewebe markiert der Antikörper Plasmazellen, Follikelzentrumzellen und Mantelzonenzellen, wobei ein polyklonales Muster mit einem deutlichen Unterschied zwischen markierten und nicht markierten Zellen entsteht. Bei Mandelgewebe zeigen rund 40-50% der B-Zellen der Mantelzone eine schwache bis mäßige membranöse Färbung, wogegen Immunoblasten und Plasmazellen des Keimzentrums eine mäßige bis starke zytoplasmatische Färbung zeigen. Die B-Lymphozyten im Keimzentrum sollten negativ 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-Lambda ein charakteristisches Färbemuster und mit Dako Anti-Kappa 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/ Références/ Literatur

- 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, DiGiuseppe 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, Hořejší 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

 REF	Catalogue number Référence catalogue Bestellnummer	 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		Contains sufficient for <n> tests Contenu suffisant pour <n> tests Inhalt ausreichend für <n> Tests		Manufacturer Fabricant Hersteller
	Consult instructions for use Voir les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 LOT	Batch code Numéro de lot Chargenbezeichnung		

Revision 2017.05