

# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Kappa Light Chain

**Product Code: NCL-L-KAP-581**

Leica Biosystems Newcastle Ltd  
Balliol Business Park  
Benton Lane  
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW  
United Kingdom  
☎ +44 191 215 4242



[EN](#) [FR](#) [IT](#) [DE](#) [ES](#) [PT](#) [SV](#) [EL](#) [DA](#) [NL](#)  
[NO](#) [TR](#) [BG](#) [HU](#) [RO](#) [RU](#) [PL](#) [SL](#) [CS](#) [SK](#)

## Instructions for Use

Please read before using this product.

## Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

## Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

## Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

## Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

## Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

## Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

## Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

## Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

## Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

## Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

## Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

## Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

## Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

## Instruțiuni de utilizare

Citiți aceste instruțiuni înainte de a utiliza produsul.

## Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

## Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

## Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

## Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

## Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

## Check the integrity of the packaging before use.

Vérifier que le conditionnement est en bon état avant l'emploi.

Prima dell'uso, controllare l'integrità della confezione.

Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo. Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning. Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.



# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Kappa Light Chain

## Product Code: NCL-L-KAP-581

### Intended Use

For in vitro diagnostic use.

NCL-L-KAP-581 is intended for the qualitative identification by light microscopy of kappa light chain molecules in paraffin sections. 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.

### Principle of Procedure

Immunohistochemical (IHC) staining techniques allow for the visualization of antigens via the sequential application of a specific antibody to the antigen (primary antibody), a secondary antibody to the primary antibody and an enzyme complex with a chromogenic substrate with interposed washing steps. The enzymatic activation of the chromogen results in a visible reaction product at the antigen site. The specimen may then be counterstained and coverslipped. Results are interpreted using a light microscope and aid in the differential diagnosis of pathophysiological processes, which may or may not be associated with a particular antigen.

### Clone

CH15

### Immunogen

Prokaryotic recombinant protein corresponding to 106 amino acids of the human kappa light chain molecule.

### Specificity

Human kappa light chain

### Reagent Composition

NCL-L-KAP-581 is a liquid tissue culture supernatant containing 15 mM sodium azide as a preservative.

### Ig Class

IgG1

### Total Protein Concentration Total Protein

1.0–8.0. g/L. Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

### Antibody Concentration

Greater than or equal to 125 mg/L as determined by ELISA. Refer to vial label for batch specific Ig concentration.

### Recommendations On Use

Immunohistochemistry on paraffin sections.

Enzyme Induced Epitope Retrieval (EIER). Please follow the instructions for use in Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Suggested dilution: 1:200 for 30 minutes at 25 °C. This is provided as a guide and users should determine their own optimal working dilutions.

Visualisation. Please follow the instructions for use in the Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) or RE7290-K (50 tests).

### Storage and Stability

Store at 2–8 °C. Do not freeze. Return to 2–8 °C immediately after use. Do not use after expiration date indicated on the vial label.

Storage conditions other than those specified above must be verified by the user.

### Specimen Preparation

The recommended fixative is 10% neutral-buffered formalin for paraffin-embedded tissue sections.

### Warnings and Precautions

This reagent has been prepared from the supernatant of cell culture. As it is a biological product, reasonable care should be taken when handling it.

The molarity of sodium azide in this reagent is 15 mM. A Material Safety Data Sheet (MSDS) is available upon request for sodium azide. Consult federal, state or local regulations for disposal of any potentially toxic components.

Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them, should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions.† Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents and specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.

Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.

Incubation times or temperatures, other than those specified, may give erroneous results. Any such changes must be validated by the user.

### Quality Control

Differences in tissue processing and technical procedures in the user's laboratory may produce significant variability in results, necessitating regular performance of in-house controls in addition to the following procedures.

Controls should be fresh autopsy/biopsy/surgical specimens, formalin-fixed, processed and paraffin wax-embedded as soon as possible in the same manner as the patient sample(s).

## Positive Tissue Control

Used to indicate correctly prepared tissues and proper staining techniques.

One positive tissue control should be included for each set of test conditions in each staining run.

A tissue with weak positive staining is more suitable than a tissue with strong positive staining for optimal quality control and to detect minor levels of reagent degradation.<sup>2</sup>

Recommended positive control tissue is tonsil.

If the positive tissue control fails to demonstrate positive staining, results with the test specimens should be considered invalid.

## Negative Tissue Control

Should be examined after the positive tissue control to verify the specificity of the labeling of the target antigen by the primary antibody. Recommended negative control tissue is follicular cells of the thyroid.

Alternatively, the variety of different cell types present in most tissue sections frequently offers negative control sites, but this should be verified by the user.

Non-specific staining, if present, usually has a diffuse appearance. Sporadic staining of connective tissue may also be observed in sections from excessively formalin-fixed tissues. Use intact cells for interpretation of staining results. Necrotic or degenerated cells often stain non-specifically.<sup>3</sup> False-positive results may be seen due to non-immunological binding of proteins or substrate reaction products. They may also be caused by endogenous enzymes such as pseudoperoxidase (erythrocytes), endogenous peroxidase (cytochrome C), or endogenous biotin (eg. liver, breast, brain, kidney) depending on the type of immunostain used. To differentiate endogenous enzyme activity or non-specific binding of enzymes from specific immunoreactivity, additional patient tissues may be stained exclusively with substrate chromogen or enzyme complexes (avidin-biotin, streptavidin, labeled polymer) and substrate-chromogen, respectively. If specific staining occurs in the negative tissue control, results with the patient specimens should be considered invalid.

## Negative Reagent Control

Use a non-specific negative reagent control in place of the primary antibody with a section of each patient specimen to evaluate non-specific staining and allow better interpretation of specific staining at the antigen site.

## Patient Tissue

Examine patient specimens stained with NCL-L-KAP-581 last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any non-specific background staining of the negative reagent control. As with any immunohistochemical test, a negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells/tissue assayed. If necessary, use a panel of antibodies to identify false-negative reactions.

## Results Expected

### Normal Tissues

Clone CH15 detected the kappa light chain protein in the cytoplasm and on the membrane of plasma cells. In addition to plasma cells in tissues, where present, the kappa light chain protein was also detected in a variety of tissues including colon (epithelium), small bowel (epithelium), cerebellum (glial cells), kidney (tubules, glomeruli), adrenal gland, pancreas (acini, ducts), lung (alveolar cells, macrophages), liver (hepatocytes), stomach (epithelium), esophagus (epithelium), spleen (plasma cells), ovary (stroma), cervix (epithelium), uterus (endometrial stroma), testis (tubules, Leydig cells), prostate (acini, stroma), thymus, breast (ductal epithelium), pituitary gland, bone marrow, appendix (mesothelium), skeletal muscle, heart, umbilical cord (mesothelium) and tonsil (germinal centers, plasma cells, mantle zone lymphocytes). (Total number of cases stained= 50).

### Abnormal Tissues

Clone CH15 detected the kappa light chain protein in 53/67 hematological malignancies evaluated, including 13/13 diffuse large B cell lymphomas, 11/12 Hodgkin's lymphomas, 7/7 follicular lymphomas, 5/6 unspecified B cell lymphomas, 4/6 mantle cell lymphomas, 3/6 peripheral T cell lymphomas, 2/3 acute lymphocytic leukemias, 2/2 anaplastic large cell lymphomas, 2/2 MALTomas, 1/1 Burkitt's lymphoma, 1/1 angioimmunoblastic T cell lymphoma, 1/1 NK/T cell lymphoma, 1/1 unspecified malignant lymphoblastic lymphoma, 0/3 unspecified T cell lymphoma, 0/2 unspecified lymphoma and 0/1 unspecified non-Hodgkin's lymphoma. Except for infiltrating lymphocytes, the kappa light chain was also detected in 57/62 non-lymphoid malignancies including 6/6 ovarian tumors, 6/6 lung tumors, 6/6 sarcomas, 4/4 breast tumors, 4/4 neuroendocrine tumors, 4/4 kidney tumors, 3/3 liver tumors, 3/3 bladder tumors, 3/3 adrenal tumors, 3/3 endometrial tumors, 1/3 germ cell tumors, 2/2 pancreatic tumors, 2/2 squamous cell carcinomas, 2/2 thyroid tumors, 2/2 prostate tumors, 1/1 colon tumor, 1/1 small bowel tumor, 1/1 stomach tumor, 1/1 neural tumor, 1/1 skin tumor and 1/1 abnormal prostate. No staining was detected in melanomas (0/2) and thymus tumor (0/1). (Total number of cases stained =129).

**NCL-L-KAP-581 is recommended for the detection of human kappa light chain protein in normal and neoplastic tissues, as an adjunct to conventional histopathology using non-immunologic histochemical stains.**

## General Limitations

Immunohistochemistry is a multistep diagnostic process that consists of specialized training in the selection of the appropriate reagents; tissue selection, fixation, and processing; preparation of the IHC slide; and interpretation of the staining results.

Tissue staining is dependent on the handling and processing of the tissue prior to staining. Improper fixation, freezing, thawing, washing, drying, heating, sectioning or contamination with other tissues or fluids may produce artifacts, antibody trapping, or false negative results. Inconsistent results may be due to variations in fixation and embedding methods, or to inherent irregularities within the tissue.<sup>4</sup> Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results.

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.

Antibodies from Leica Biosystems Newcastle Ltd are for use, as indicated, on either frozen or paraffin-embedded sections with specific fixation requirements. Unexpected antigen expression may occur, especially in neoplasms. The clinical interpretation of any stained tissue section must include morphological analysis and the evaluation of appropriate controls.

## **Bibliography - General**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. *Journal of Molecular Recognition*. 2002; 15:248–259.

## **Amendments to Previous Issue**

Not Applicable

## **Date of Issue**

14 November 2018

# Novocastra™ Anticorps Monoclonal liquide de Souris

## Kappa Light Chain

### Référence du Produit: NCL-L-KAP-581

#### Utilisation Prévue

*Diagnostic in vitro.*

Le NCL-L-KAP-581 est destiné à l'identification qualitative, par microscopie optique, des molécules de la chaîne légère kappa sur des coupes en paraffine. L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques.

#### Principe de la Procédure

Les techniques de marquage immunohistochimique (IHC) permettent la visualisation des antigènes via l'application séquentielle d'un anticorps spécifique sur un antigène (anticorps primaire), d'un anticorps secondaire sur l'anticorps primaire et d'un complexe enzymatique comportant un substrat chromogène, avec des étapes de lavage intercalées. L'activation enzymatique du chromogène se traduit par la présence d'un produit de réaction visible au niveau du site de l'antigène. Le spécimen peut ensuite faire l'objet d'une coloration de contraste et être placé sous une lamelle. Les résultats sont interprétés à l'aide d'un microscope optique et participent au diagnostic différentiel des processus physiopathologiques, susceptibles, ou non, d'être associés à un antigène particulier.

#### Clone

CH15

#### Immunogène

Protéine procaryote recombinante correspondant à 106 acides aminés de la molécule de la chaîne légère kappa.

#### Spécificité

Chaîne légère kappa humaine

#### Composition du Réactif

Le NCL-L-KAP-581 est un surnageant de culture tissulaire liquide contenant une solution d'azide de sodium 15 mM comme conservateur.

#### Classe d'Ig

IgG1

#### Concentration Totale en Protéines Total Protein

1.0–8.0 g/L. La concentration totale en protéines, spécifique du lot, figure sur l'étiquette du flacon.

#### Concentration en Anticorps

Supérieure ou égale à 125 mg/L, déterminée par la méthode ELISA. La concentration totale en Ig, spécifique du lot, figure sur l'étiquette du flacon.

#### Recommandations d'utilisation

Immunohistochimie sur coupes en paraffine.

Restauration d'épitope induite par des enzymes (EIER). Veuillez respecter le mode d'emploi de Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Dilution préconisée: 1:200 durant 30 minutes à 25 °C. Ceci n'est donné qu'à titre indicatif et les utilisateurs doivent déterminer leurs propres dilutions de travail optimales.

Révélation. Veuillez respecter le mode d'emploi de Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) ou RE7290-K (50 tests).

#### Conservation et Stabilité

Conserver à 2–8 °C. Ne pas congeler. Remettre immédiatement à 2–8 °C après utilisation. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du récipient. Les conditions de conservation autres que celles qui sont spécifiées ci-dessus doivent faire l'objet d'une vérification par l'utilisateur.

#### Préparation des Spécimens

Le fixateur recommandé est le formol à 10%, tamponné, neutre, pour coupes tissulaires incluses en paraffine.

#### Mises en Garde et Précautions

Ce réactif a été préparé à partir du surnageant d'une culture cellulaire. Du fait de sa nature de produit biologique, sa manipulation doit faire l'objet du plus grand soin.

Dans ce réactif, la molarité de l'azide de sodium est de 15 mM. Une fiche toxicologique (MSDS) relative à l'azide de sodium est disponible sur demande.

Consulter les réglementations nationales, régionales ou locales en vigueur relatives à l'élimination de tous les éléments potentiellement toxiques.

Les spécimens, avant et après fixation, ainsi que toutes les matières ayant été en contact avec eux, doivent être manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et être éliminés en respectant les précautions appropriées<sup>1</sup>. Ne jamais pipeter les réactifs avec la bouche et éviter tout contact des réactifs et des spécimens avec la peau et les membranes muqueuses. Rincer avec de grandes quantités d'eau en cas de contact des réactifs ou des spécimens avec des zones sensibles. Consulter un médecin.

Minimiser la contamination microbienne des réactifs sinon un accroissement du marquage non spécifique est susceptible de se produire. Des durées et des températures d'incubation différentes de celles qui ont été spécifiées sont susceptibles de conduire à des résultats erronés. Toutes les modifications doivent être validées par l'utilisateur.

## **Contrôle de Qualité**

Des différences de traitement des tissus et de procédures techniques du laboratoire de l'utilisateur sont susceptibles de conduire à une variabilité significative des résultats, ce qui rend nécessaire la mise en œuvre de contrôles en interne en plus des procédures suivantes.

Les contrôles doivent être des spécimens frais provenant d'autopsies, de biopsies ou d'interventions chirurgicales, fixés au formol, traités et inclus en cire de paraffine dès que possible, de la même façon que le(s) échantillon(s) de patient.

## **Tissu de Contrôle Positif**

Il est utilisé pour indiquer que les tissus ont été préparés correctement et que les techniques de marquage étaient appropriées.

Un contrôle tissulaire positif doit être inclus dans toute opération de marquage pour chaque ensemble de conditions d'analyse.

Un tissu présentant un marquage faiblement positif est plus adapté à un contrôle de qualité optimal qu'un tissu présentant un marquage fortement positif et il permet de détecter de moindres niveaux de dégradation du réactif.<sup>2</sup>

Le tissu de contrôle positif recommandé est amygdalé.

Si le tissu de contrôle positif ne présente pas de marquage positif, les résultats des spécimens analysés doivent être considérés comme invalides.

## **Tissu de Contrôle Négatif**

Il doit être examiné après le tissu de contrôle positif afin de vérifier la spécificité du marquage de l'antigène cible par l'anticorps primaire.

Le tissu folliculaire de la thyroïde constitue le tissu de contrôle négatif recommandé.

Sinon, la diversité des types cellulaires présents dans la plupart des tissus permet de disposer fréquemment de sites de contrôle négatif, mais ils doivent être vérifiés par l'utilisateur.

Si'il est présent, le marquage non spécifique prend habituellement une apparence diffuse. Un marquage sporadique du tissu conjonctif peut également être observé sur des coupes de tissus qui ont été fixées par un excès de formol. Utiliser des cellules intactes pour l'interprétation des résultats du marquage. Les cellules nécrotiques ou dégénérées sont souvent marquées de façon non spécifique.<sup>3</sup> Des résultats faussement positifs peuvent être observés en raison d'une liaison non immunologique à des protéines ou à des produits de réaction du substrat. Ils peuvent également être provoqués par des enzymes endogènes comme la pseudoperoxydase (érythrocytes), la peroxydase endogène (cytochrome C), ou la biotine endogène (foie, sein, cerveau, rein, par exemple) selon le type d'immunomarquage utilisé. Pour différencier l'activité des enzymes endogènes ou la liaison non spécifique d'enzymes de l'immunoréactivité spécifique, des tissus supplémentaires du patient peuvent être marqués exclusivement avec le substrat chromogène ou par des complexes enzymatiques (avidine-biotine, streptavidine, polymère marqué) et le substrat chromogène respectivement. Si un marquage spécifique se produit dans le tissu de contrôle négatif, les résultats des spécimens du patient doivent être considérés comme invalides.

## **Réactif de Contrôle Négatif**

Utiliser un réactif de contrôle négatif non spécifique à la place de l'anticorps primaire avec une coupe de chaque spécimen du patient afin d'évaluer le marquage non spécifique et de permettre une meilleure interprétation du marquage spécifique au niveau du site antigénique.

## **Tissu du Patient**

Examiner les échantillons du patient marqués au NCL-L-KAP-581 en dernier lieu. L'intensité du marquage positif doit être évaluée à la lumière du bruit de fond du marquage non spécifique du réactif de contrôle négatif. Comme pour toutes les analyses immunohistochimiques, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté mais ne signifie pas qu'il est absent des cellules/tissus testés. Si nécessaire, employer un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

## **Résultats Attendus**

### Tissus normaux

Le clone CH15 a détecté la protéine de la chaîne légère kappa dans le cytoplasme et sur la membrane des cellules plasmatiques. Outre sa présence éventuelle dans les cellules plasmatiques dans les tissus, la protéine de la chaîne légère kappa a été détectée dans divers tissus dont le côlon (épithélium), l'intestin grêle (épithélium), le cerveau (cellules gliales), les reins (tubules, glomérules), les glandes surrénales, le pancréas (acini, canaux), les poumons (cellules alvéolaires, macrophages), le foie (hépatocytes), l'estomac (épithélium), l'œsophage (épithélium), la rate (cellules plasmatiques), les ovaires (stroma), le col de l'utérus (épithélium), l'utérus (stroma de l'endomètre), les testicules (tubules, cellules de Leydig), la prostate (acini, stroma), le thymus, les seins (épithélium ductal), l'hypophyse, la moelle osseuse, l'appendice (mésothélium), le muscle squelettique, le cœur, le cordon ombilical (mésothélium) et les amygdales (centres germinatifs, cellules plasmatiques, lymphocytes de la zone du manteau). (Nombre total de cas marqués = 50).

## Tissus tumoraux

Le clone CH15 a détecté la protéine de chaîne légère kappa dans les affections hématologiques malignes évaluées (53/67), dont des lymphomes à grandes cellules B diffusées (13/13), des lymphomes de Hodgkin (11/12), des lymphomes folliculaires (7/7), des lymphomes à cellules B non spécifiées (5/6), des lymphomes des cellules du manteau (4/6), des lymphomes des cellules T périphériques (3/6), des leucémies lymphocytaires aiguës (2/3), des lymphomes à grandes cellules anaplasiques (2/2), des MALTomes (2/2), des lymphomes de Burkitt (1/1), des lymphomes angioimmunoblastiques à cellules T (1/1), des lymphomes à cellules NK/T (1/1), des lymphomes lymphoblastiques malins non spécifiés (1/1), des lymphomes à cellules T non spécifiés (0/3), des lymphomes non spécifiés (0/2) et des lymphomes non-Hodgkin non spécifiés (0/1). Sauf pour les lymphocytes infiltrants, la chaîne légère kappa a également été détectée dans des affections malignes non-lymphoïdes (57/62) dont des tumeurs des ovaires (6/6), des tumeurs des poumons (6/6), des sarcomes (6/6), des tumeurs du sein (4/4), des tumeurs neuroendocrines (4/4), des tumeurs du rein (4/4), des tumeurs du foie (3/3), des tumeurs de la vessie (3/3), des tumeurs des glandes surrénales (3/3), des tumeurs de l'endomètre (3/3), des tumeurs des cellules germinales (1/3), des tumeurs du pancréas (2/2), des carcinomes des cellules squameuses (2/2), des tumeurs de la thyroïde (2/2), des tumeurs de la prostate (2/2), des tumeurs du côlon (1/1), des tumeurs de l'intestin grêle (1/1), des tumeurs de l'estomac (1/1), des tumeurs neurales (1/1), des tumeurs de la peau (1/1) et des tumeurs de la prostate anormale (1/1). Aucun marquage n'a été détecté dans les mélanomes (0/2) et les tumeurs du thymus (0/1). (Nombre total de cas marqués = 129).

**Le NCL-L-KAP-581 est recommandé pour la détection de la chaîne légère kappa humaine dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément à l'histopathologie traditionnelle utilisant des marqueurs histochimiques non immunologiques.**

## **Limites Générales**

L'immunohistochimie est un processus diagnostique constitué de plusieurs étapes qui nécessite une formation spécialisée relative au choix des réactifs appropriés ; au choix, à la fixation et au traitement des tissus ; à la préparation des lames IHC ; et à l'interprétation des résultats du marquage.

Le marquage des tissus dépend de leur manipulation et de leur traitement avant le marquage. Une fixation, une congélation, une décongélation, un lavage, un séchage, un chauffage, une coupe, incorrects ou une contamination par d'autres tissus ou d'autres liquides sont susceptibles de conduire à la production d'artefacts, au piégeage de l'anticorps ou à des résultats faussement négatifs. Des variations dans les méthodes de fixation et d'inclusion, ainsi que des irrégularités propres au tissu, peuvent conduire à des résultats incohérents.<sup>4</sup>

Une coloration de contraste excessive ou incomplète peut gêner l'interprétation correcte des résultats.

L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques.

Les anticorps de Leica Biosystems Newcastle Ltd sont destinés, selon les besoins, à être utilisés sur des coupes incluses en paraffine ou des coupes congelées, et conformément à des exigences particulières en matière de fixation. Une expression antigénique inattendue est susceptible de se produire, en particulier au niveau des néoplasmes. L'interprétation clinique de toute coupe tissulaire marquée doit comporter une analyse morphologique et l'évaluation des contrôles appropriés.

## **Bibliographie Générale**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F, Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248-259.

## **Amendements Apportés à la Version Précédente**

Non applicable.

## **Date de Publication**

14 novembre 2018



# Novocastra™ Anticorpo Monoclonale Murino Liquido

## Kappa Light Chain

### Codice Del Prodotto: NCL-L-KAP-581

#### Uso Previsto

Per uso diagnostico in vitro.

NCL-L-KAP-581 è destinato all'identificazione qualitativa in microscopia ottica delle molecole della catena leggera kappa in sezioni incluse in paraffina. L'interpretazione clinica di ogni colorazione o della sua assenza va integrata da studi morfologici che utilizzino i controlli appropriati e deve essere valutata da un patologo qualificato, nel contesto della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate.

#### Principio Della Procedura

Le tecniche di colorazione immunostochimica (IHC) consentono la visualizzazione degli antigeni mediante l'applicazione sequenziale di un anticorpo specifico per l'antigene (anticorpo primario), di un anticorpo secondario che lega l'anticorpo primario e di un complesso enzimatico con un substrato cromogeno; l'applicazione dei tre reagenti è intervallata da fasi di lavaggio. L'attivazione enzimatica del cromogeno produce una reazione visibile in corrispondenza del sito antigenico. Il campione biologico può, quindi, essere controcolorato e montato. I risultati vengono interpretati mediante un microscopio ottico e sono utili nella diagnosi differenziale di processi fisiopatologici, che possono essere più o meno associati ad un particolare antigene.

#### Clone

CH15

#### Immunogeno

Proteina ricombinante procariotica corrispondente a 106 aminoacidi della molecola della catena leggera kappa umana.

#### Specificità

Catena leggera kappa umana.

#### Composizione Del Reagente

NCL-L-KAP-581 è un supernatante liquido di coltura tissutale, contenente 15 mM di sodio azide come conservante.

#### Classe Ig

IgG1

#### Concentrazione Proteica Totale

Total Protein

1,0–8,0 g/L. Consultare l'etichetta del flacone per la concentrazione proteica totale specifica del lotto.

#### Concentrazione Anticorpale

Superiore o uguale a 125 mg/L, come determinato mediante test ELISA. Consultare l'etichetta del flacone per la concentrazione di Ig specifica del lotto.

#### Raccomandazioni Per L'uso

Immunostochimica su sezioni incluse in paraffina.

Smascheramento antigenico enzimatico (EIER). Si prega di seguire le istruzioni per l'uso fornite in Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Diluizione raccomandata: 1:200 per 30 minuti a 25 °C. Queste raccomandazioni costituiscono delle semplici linee guida; spetta al singolo utente stabilire le diluizioni di lavoro ottimali.

Rivelazione. Si prega di seguire le istruzioni per l'uso fornite in Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) o RE7290-K (50 tests).

#### Conservazione E Stabilità

Conservare a 2–8 °C. Non congelare. Immediatamente dopo l'uso, raffreddare di nuovo a 2–8 °C. Non usare dopo la data di scadenza, indicata sull'etichetta del flacone. Condizioni di conservazione diverse da quelle sopra specificate vanno verificate dall'utente.

#### Preparazione Del Campione Biologico

Il fissativo raccomandato è la formalina tamponata neutra al 10% per sezioni tissutali incluse in paraffina.

#### Avvertenze E Precauzioni

Questo reagente è stato preparato dal supernatante di coltura cellulare. Trattandosi di un prodotto biologico, va maneggiato con cautela.

La molarità della sodio azide nel reagente corrisponde a 15 mM. Su richiesta, è disponibile una scheda dei dati di sicurezza del materiale (MSDS) per la sodio azide.

Fare riferimento alla normativa federale, statale o locale per lo smaltimento dei componenti potenzialmente tossici.

Prima e dopo la fissazione, i campioni biologici e tutti i materiali ad essi esposti vanno trattati come potenzialmente infettanti e smaltiti con le appropriate precauzioni. Non pipettare i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni biologici con la pelle e con le mucose. Se i reagenti o i campioni biologici vengono a contatto con zone sensibili, sciacquare abbondantemente le parti interessate. Consultare il medico.

Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti, allo scopo di evitare un aumento di colorazione aspecifica.

Tempi o temperature d'incubazione diversi da quelli specificati possono condurre a risultati non veritieri. Tali variazioni devono essere convalidate dall'utente.

## Controllo Qualità

Differenze nella processazione del tessuto e nelle tecniche in uso presso il laboratorio dell'utente possono produrre una discrepanza significativa nei risultati, rendendo necessaria la regolare esecuzione di controlli interni, in aggiunta alle procedure descritte di seguito.

I controlli devono essere costituiti da campioni biologici freschi autoptici/bioptici/chirurgici e devono essere il più rapidamente possibile fissati in formalina, processati ed inclusi in paraffina, allo stesso modo dei campioni biologici ottenuti dal paziente.

## Controllo Positivo Del Tessuto

È usato per indicare tessuti correttamente preparati e tecniche di colorazione appropriate.

Per ogni gruppo di condizioni del test e ogni volta che viene eseguita la colorazione, deve essere incluso un controllo positivo del tessuto.

Un tessuto a debole colorazione positiva è più adatto di uno a colorazione positiva intensa per un ottimale controllo qualità e per mettere in evidenza anche minimi livelli di degradazione del reagente.<sup>2</sup>

Il tessuto raccomandato per il controllo positivo è tonsilla.

Se il controllo positivo del tessuto non dimostra colorazione positiva, i risultati con i campioni biologici del test vanno considerati non validi.

## Controllo Negativo Del Tessuto

Va esaminato dopo il controllo positivo, per verificare la specificità nei confronti dell'antigene bersaglio da parte dell'anticorpo primario.

Il tessuto raccomandato per il controllo negativo è cellule follicolari della tiroide.

In alternativa, la varietà dei tipi cellulari presenti nella maggior parte delle sezioni tissutali offre spesso siti di controllo negativo, ma questo va verificato dall'utente.

La colorazione aspecifica, se presente, assume di solito aspetto diffuso. La colorazione sporadica del tessuto connettivo può anche manifestarsi in seguito ad iperfissazione di sezioni di tessuto in formalina. Per l'interpretazione dei risultati della colorazione, usare cellule intatte. Le cellule necrotiche o degenerate si colorano spesso in maniera aspecifica<sup>3</sup>. Si possono osservare risultati falsamente positivi, dovuti a legame non immunologico delle proteine o a prodotti di reazione del substrato. Tali falsi positivi possono essere anche causati da enzimi endogeni quali la pseudoperossidasi (eritrociti), la perossidasi endogena (citocromo C) o la biotina endogena (es. fegato, mammella, cervello, rene), a seconda del tipo di immunocolorazione usato. Per differenziare l'attività enzimatica endogena o il legame enzimatico aspecifico dall'immunoreattività specifica, possono essere colorati ulteriori tessuti del paziente esclusivamente con substrato cromogeno o con complessi enzimatici (avidina-biotina, streptavidina, polimero marcato) e substrato cromogeno. Se nel controllo negativo del tessuto compare una colorazione specifica, i risultati sui campioni biologici ottenuti dal paziente devono essere considerati non validi.

## Controllo Negativo Del Reagente

Usare un controllo negativo aspecifico del reagente in luogo dell'anticorpo primario, con una sezione di ogni campione biologico del paziente, per valutare la colorazione aspecifica e per consentire una migliore interpretazione della colorazione specifica in corrispondenza del sito antigenico.

## Tessuto Del Paziente

Successivamente, esaminare i campioni biologici del paziente colorati con NCL-L-KAP-581. L'intensità della colorazione positiva va analizzata nel contesto di qualsiasi colorazione aspecifica di fondo del controllo negativo del reagente. Come per tutti gli altri test immunostochimici, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato determinato, ma non necessariamente che fosse assente dalle cellule o dal tessuto esaminato. Se necessario, usare un pannello di anticorpi per identificare reazioni falsamente negative.

## Risultati Attesi

### Tessuti normali

Il clone CH15 ha rilevato la presenza della proteina della catena leggera kappa nel citoplasma e sulla membrana delle plasmacellule. Oltre alle plasmacellule nei tessuti, ove presenti, la proteina della catena leggera kappa è stata anche rilevata in una varietà di tessuti, inclusi colon (epitelio), intestino tenue (epitelio), cervelletto (cellule gliali), rene (tubuli, glomeruli), ghiandola surrenale, pancreas (acini, dotti), polmone (cellule alveolari, macrofagi), fegato (epatociti), stomaco (epitelio), esofago (epitelio), milza (plasmacellule), ovaio (stroma), cervice uterina (epitelio), utero (stroma endometriale), testicolo (tubuli, cellule di Leydig), prostata (acini, stroma), timo, mammella (epitelio duttale), ipofisi, midollo osseo, appendice (mesotelio), muscolo scheletrico, cuore, cordone ombelicale (mesotelio) e tonsilla (centri germinali, plasmacellule, linfociti della zona mantellare). (Numero totale di casi colorati = 50).

### Tessuti tumorali

Il clone CH15 ha rilevato la presenza della proteina della catena leggera kappa in 53/67 malignità ematologiche valutate, inclusi 13/13 linfomi diffusi a grandi cellule B, 11/12 linfomi di Hodgkin, 7/7 linfomi follicolari, 5/6 linfomi a cellule B non specificati, 4/6 linfomi della zona mantellare, 3/6 linfomi periferici a cellule T, 2/3 leucemie linfocitiche acute, 2/2 linfomi anaplastici a grandi cellule, 2/2 maltomi, 1/1 linfoma di Burkitt, 1/1 linfoma angioimmunoblastico a cellule T, 1/1 linfoma a cellule NK/T, 1/1 linfoma linfoblastico maligno non specificato, 0/3 linfomi a cellule T non specificati, 0/2 linfomi non specificati e 0/1 linfoma non Hodgkin non specificato. Fatta eccezione per i linfociti infiltranti, la catena leggera kappa è stata inoltre rilevata in 57/62 malignità non linfoidi inclusi 6/6 tumori ovarici, 6/6 tumori polmonari, 6/6 sarcomi, 4/4 tumori della mammella, 4/4 tumori neuroendocrini, 4/4 tumori renali, 3/3 tumori epatici, 3/3 tumori della vescica, 3/3 tumori surrenali, 3/3 tumori endometriali, 1/3 tumori a cellule germinali, 2/2 tumori pancreatici, 2/2 carcinomi a cellule squamose, 2/2 tumori della tiroide, 2/2 tumori della prostata, 1/1 tumore del colon, 1/1 tumore dell'intestino tenue, 1/1 tumore dello stomaco, 1/1 tumore neurale, 1/1 tumore della pelle e 1/1 prostata anomala. Nessuna colorazione è stata rilevata nei melanomi (0/2) e nei tumori del timo (0/1). (Numero totale di casi colorati = 129).

**L'uso di NCL-L-KAP-581 è consigliato per il rilevamento della catena leggera kappa umana in tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale di colorazioni istochimiche non immunologiche.**

## Limitazioni Generali

L'immunocistochemica è un procedimento diagnostico a più passi (multistep) che richiede un'esperienza specifica nella selezione dei reagenti appropriati, nella selezione, fissazione e processazione dei tessuti, nella preparazione di vetrini IHC e nell'interpretazione dei risultati della colorazione.

La colorazione del tessuto dipende dalle modalità di manipolazione e di processazione del tessuto stesso, adottate prima della colorazione. La fissazione, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'asciugatura, il riscaldamento o la sezione condotti in modo non corretto, o la contaminazione con altri tessuti o liquidi, possono produrre artefatti, intrappolamento (trapping) anticorpale o risultati falsi negativi. Risultati incompatibili possono essere dovuti a modifiche dei metodi di fissazione e di inclusione o ad irregolarità intrinseche al tessuto.<sup>4</sup>

Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati.

L'interpretazione clinica di ogni colorazione o della sua assenza va integrata da studi morfologici che utilizzino i controlli appropriati e deve essere valutata da un patologo qualificato, nel contesto della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate.

Gli anticorpi di Leica Biosystems Newcastle Ltd. sono destinati all'uso, quando indicato, su sezioni congelate o incluse in paraffina, con specifici requisiti di fissazione. Un'espressione antigenica inattesa può manifestarsi in particolare nelle neoplasie. L'interpretazione clinica di ogni sezione tissutale colorata deve includere l'analisi morfologica e la valutazione dei controlli appropriati.

## Riferimenti Bibliografici Di Base

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

## Modifiche Alla Pubblicazione Precedente

Non applicabile.

## Data Di Pubblicazione

14 novembre 2018

# Novocastra™ Flüssiger Monoklonaler Maus-Antikörper Kappa Light Chain Produkt-Nr.: NCL-L-KAP-581

## Verwendungszweck

Für *in-vitro*-Diagnostik.

NCL-L-KAP-581 ist für den qualitativen Nachweis von Kappa-Leichtkettenmolekülen in Paraffinschnitten mittels Lichtmikroskopie gedacht. Die klinische Bewertung einer vorliegenden bzw. fehlenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

## Verfahrensgrundlage

Immunhistochemische (IHC) Färbetechniken gestatten die optische Darstellung von Antigenen mittels sequentieller Anwendung eines spezifischen Antikörpers zum Antigen (primärer Antikörper), eines sekundären Antikörpers zum primären Antikörper und eines Enzymkomplexes mit einem chromogenen Substrat, jeweils getrennt durch dazwischen liegende Waschschrte. Die enzymatische Aktivierung des Chromogens führt zu einem sichtbaren Reaktionsprodukt am Ort des Antigens. Die Probe kann dann gegengefärbt und mit einem Deckglas versehen werden. Die Ergebnisse werden mithilfe eines Lichtmikroskops interpretiert und unterstützen die Differentialdiagnose pathophysiologischer Prozesse, die mit einem bestimmten Antigen assoziiert sein könnten.

## Klon

CH15

## Immunogen

Prokaryotisches rekombinantes Protein, das 106 Aminosäuren des humanen Kappa-Leichtkettenmoleküls entspricht.

## Spezifität

Humane Kappa-Leichtketten

## Reagenzzusammensetzung

NCL-L-KAP-581 ist ein flüssiger Gewebekulturüberstand, der 15 mmol/l Natriumazid als Konservierungsmittel enthält.

## Ig-Klasse

IgG1

## Gesamtproteinkonzentration Total Protein

1,0–8,0 g/L. Siehe Angaben auf dem Produktetikett bezüglich der chargenspezifischen Gesamtproteinkonzentration.

## Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 125 mg/L laut ELISA-Bestimmung. Hinsichtlich der chargenspezifischen Ig-Konzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

## Gebrauchsempfehlungen

Immunhistochemie in Paraffinschnitten

Enzyminduzierte Epitopdemaskierung (EIER): Bitte Gebrauchsanweisung für Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K befolgen.

Empfohlene Verdünnung: 1:200 über einen Zeitraum von 30 Minuten bei 25 °C. Dies ist nur eine Empfehlung, und die Benutzer sollten ihre eigenen optimalen Arbeitsverdünnungen bestimmen.

Visualisierung Bitte Gebrauchsanweisung für Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 Tests), RE7150-K (500 Tests), RE7140-K (250 Tests) oder RE7290-K (50 Tests) befolgen.

## Lagerung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Nicht einfrieren. Nach Gebrauch sofort wieder bei 2–8 °C lagern. Nach Ablauf des Verfallsdatums (auf dem Behälteretikett) darf das Produkt nicht mehr verwendet werden. Lagerbedingungen, die von den oben genannten Bedingungen abweichen, müssen vom Benutzer verifiziert werden.

## Probenvorbereitung

Für paraffineingebettete Gewebeschnitte ist das empfohlene Fixativ 10% neutral gepuffertes Formalin.

## Warnhinweise und Sicherheitsmaßnahmen

Dieses Reagenz wurde aus Zellkulturüberstand zubereitet. Das Reagenz ist ein biologisches Produkt und sollte mit entsprechender Vorsicht gehandhabt werden.

Die Molarität des Natriumazids in diesem Reagenz beträgt 15 mmol/l. Ein Sicherheitsdatenblatt (MSDS) für Natriumazid ist auf Anfrage erhältlich.

Die entsprechenden nationalen und lokalen Bestimmungen und Vorschriften zur Entsorgung potentiell giftiger Komponenten sind einzuhalten.

Vor und nach der Fixierung sind die Proben sowie alle Materialien, die mit ihnen in Kontakt gekommen sind, als potentiell infektiös zu behandeln und daher mit entsprechender Vorsicht zu entsorgen.<sup>1</sup> Reagenzien dürfen niemals mit dem Mund pipettiert werden, und jeglicher Kontakt der Reagenzien und Proben mit Haut und Schleimhäuten ist zu vermeiden. Falls Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt gekommen sind, müssen diese mit reichlich Wasser gespült werden. Ärztlichen Rat einholen. Die mikrobielle Verunreinigung von Reagenzien ist zu minimieren, da ansonsten eine erhöhte unspezifische Färbung auftreten kann. Falls die spezifizierten Inkubationszeiten oder –temperaturen nicht eingehalten werden, kann es zu fehlerhaften Ergebnissen kommen. Jegliche Abweichungen von den angegebenen Werten müssen vom Benutzer verifiziert werden.

### **Qualitätskontrolle**

Unterschiede bei der Gewebeparbeitung und den technischen Verfahren im Labor des Benutzers können zu signifikanten Schwankungen bei den Ergebnissen führen. Daher ist es wichtig, zusätzlich zu den folgenden Verfahren regelmäßige laborinterne Kontrollen durchzuführen.

Die Kontrollen sollten mit frischen Autopsie-/Biopsie-/chirurgischen Proben vorgenommen werden, die so bald wie möglich und auf dieselbe Weise wie die Patientenprobe(n) in Formalin fixiert, behandelt und in Paraffin eingebettet worden sind.

### **Positive Gewebekontrolle**

Zeigt korrekt vorbereitete Gewebe und korrekte Färbetechniken an.

In jedem Färbelauf sollte für jeden Satz Testbedingungen eine positive Gewebekontrolle durchgeführt werden.

Gewebe mit schwach positiver Färbung ist für die optimale Qualitätskontrolle und den Nachweis kleiner Minderungen in der Reagenzleistung besser geeignet als ein Gewebe mit stark positiver Färbung.<sup>2</sup>

Für die positive Gewebekontrolle wird Tonsillen.

Falls das positive Kontrollgewebe keine positive Färbung nachweisen kann, sollten die mit den Testproben erzielten Ergebnisse als ungültig betrachtet werden.

### **Negative Gewebekontrolle**

Die negative Gewebekontrolle sollte nach der positiven Gewebekontrolle erfolgen, um die Spezifität der Zielantigenmarkierung durch den primären Antikörper zu verifizieren.

Für die negative Gewebekontrolle wird Follikuläre Thyroidzellen empfohlen.

Alternativ bietet die Vielfalt unterschiedlicher Zelltypen, die in den meisten Gewebeschnitten vorliegen, häufig Stellen für eine negative Kontrolle. Jedoch sollte dies vom Benutzer verifiziert werden.

Liegt eine unspezifische Färbung vor, hat diese gewöhnlich ein diffuses Erscheinungsbild. Eine sporadische Färbung des Bindegewebes kann ebenfalls in Schnitten von übermäßig formalinfixierten Geweben beobachtet werden. Zur Bewertung der Färberegebnisse intakte Zellen verwenden. Nekrotische oder degenerierte Zellen werden oft unspezifisch gefärbt.<sup>3</sup> Falsch-positive Ergebnisse können aufgrund einer nichtimmunologischen Bindung von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten beobachtet werden. In Abhängigkeit von der Art der verwendeten Immunfärbung können solche Ergebnisse auch durch endogene Enzyme wie Pseudoperoxidase (Erythrozyten), endogene Peroxidase (Zytochrom C) oder endogenes Biotin (beispielsweise Leber, Mamma, Gehirn, Niere) hervorgerufen werden. Um eine endogene Enzymaktivität bzw. eine unspezifische Enzymbindung von einer spezifischen Immunreaktivität zu unterscheiden, können zusätzliche Patientengewebe ausschließlich mit Substratchromogen bzw. mit Enzymkomplexen (Avidin-Biotin, Streptavidin, markiertes Polymer) plus Substratchromogen gefärbt werden. Falls im negativen Kontrollgewebe eine spezifische Färbung auftritt, sollten die Ergebnisse mit den Patientenproben als ungültig betrachtet werden.

### **Negative Reagenzkontrolle**

Zur Beurteilung einer unspezifischen Färbung und zur besseren Bewertung einer spezifischen Färbung an der Antigenstelle ist mit einem Schnitt jedes Patientenpräparates anstelle des primären Antikörpers eine unspezifische negative Reagenzkontrolle zu verwenden.

### **Patientengewebe**

Die mit NCL-L-KAP-581 gefärbten Patientenproben müssen zuletzt untersucht werden. Eine positive Färbeintensität ist im Kontext einer unspezifischen Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle zu bewerten. Wie bei jedem immunhistochemischen Test bedeutet ein negatives Ergebnis, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde. Ein negatives Ergebnis bedeutet jedoch nicht notwendigerweise, dass das Antigen in den getesteten Zellen / im getesteten Gewebe nicht vorlag. Bei Bedarf sollte zur Identifizierung falsch-negativer Reaktionen eine Gruppe von Antikörpern verwendet werden.

### **Erwartete Ergebnisse**

#### Normale Gewebe

Klon CH15 wies das Kappa-Leichtkettenprotein im Zytoplasma und auf der Membran von Plasmazellen nach. Außer in Plasmazellen von Geweben wurde das Kappa-Leichtkettenprotein gleichzeitig auch in einer Reihe von Geweben einschließlich von Kolon (Epithel), Dünndarm (Epithel), Cerebellum (Gliazellen), Niere (Tubuli, Glomeruli), Nebenniere, Pankreas (Acini, Gänge), Lunge (Alveolarzellen, Makrophagen), Leber (Hepatozyten), Magen (Epithel), Ösophagus (Epithel), Milz (Plasmazellen), Ovarium (Stroma), Zervix (Epithel), Uterus (Endometrialstroma), Testis (Tubuli, Leydig-Zellen), Prostata (Acini, Stroma), Thymus, Mamma (Gangepithelzellen), Hypophyse, Knochenmark, Appendix (Mesotheil), Skelettmuskel, Herz, Nabelschnur (Mesotheil) und Tonsillen (Keimzentren, Plasmazellen, Mantelzonen-Lymphozyten) nachgewiesen. (Gesamtzahl der gefärbten Fälle = 50.)

#### Tumorgewebe

Klon CH15 wies das Kappa-Leichtkettenprotein bei 53/67 untersuchten hämatologischen malignen Tumoren nach, einschließlich von 13/13 diffusen großen B-Zellen-Lymphomen, 11/12 Hodgkin-Lymphomen, 7/7 follikulären Lymphomen, 5/6 unspezifischen B-Zellen-Lymphomen, 4/6 Mantelzelllymphomen, 3/6 peripheren T-Zellen-Lymphomen, 2/3 akuten lymphatischen Leukämien, 2/2 anaplastischen großzelligen Lymphomen, 2/2 MALTomen, 1/1 Burkitt-Lymphom, 1/1 angioimmunoblastischem T-Zellen-Lymphom, 1/1 NK/T-Zellen-Lymphom, 1/1 unspezifizierten malignen lymphoblastischen Lymphoms, 0/3 unspezifizierten T-Zellen-Lymphomen, 0/2 unspezifizierten Lymphomen und 0/1 unspezifizierten Nicht-Hodgkin-Lymphom.

Mit Ausnahme infiltrierender Lymphozyten wurde das Kappa-Leichtkettenprotein auch bei 57/62) nicht lymphoiden malignen Tumoren, einschließlich 6/6 Ovarialtumoren, 6/6 Lungentumoren, 6/6 Sarkomen, 4/4 Mammatumoren, 4/4 neuroendokrinen Tumoren, 4/4 Nierentumoren, 3/3 Lebertumoren, 3/3 Blasen Tumoren, 3/3 Nebennierentumoren, 3/3 Endometriumtumoren, 1/3 Keimzelltumoren, 2/2 Pankreastumoren, 2/2 Plattenzellkarzinomen, 2/2 Thyroidtumoren, 2/2 Prostatatumoren, 1/1 Kolontumor, 1/1 Dünndarmtumor, 1/1 Magentumor, 1/1 Nerventumor, 1/1 Hauttumor und 1/1 abnormen Prostata nachgewiesen. Bei Melanomen (0/2) und Thymustumoren (0/1) wurde keine Färbung beobachtet. (Gesamtzahl der gefärbten Fälle = 129.)

**NCL-L-KAP-581 wird für den Nachweis von humanem Kappa-Leichtketten-Protein in normalem und neoplastischem Gewebe als zusätzliches Hilfsmittel zur herkömmlichen Histopathologie unter Verwendung nicht-immunologischer histochemischer Färbemittel empfohlen.**

### **Allgemeine Beschränkungen**

Die Immunhistochemie ist ein mehrstufiger diagnostischer Prozess, der eine spezialisierte Ausbildung auf den folgenden Gebieten erfordert: Auswahl der entsprechenden Reagenzien; Gewebeauswahl, -fixierung und -verarbeitung; Vorbereitung des IHC-Objektträgers sowie Bewertung der Färbegergebnisse.

Die Gewebefärbung hängt von der Handhabung und Verarbeitung des Gewebes vor dem Färben ab. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erwärmen, Schneiden oder eine Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Antikörper-Trapping oder falsch-negativen Ergebnissen führen. Abweichende Ergebnisse können aufgrund von Unterschieden bei der Fixierung und Einbettung oder intrinsischen Unregelmäßigkeiten im Gewebe selbst entstehen.<sup>4</sup>

Eine exzessive oder unvollständige Gegenfärbung kann die korrekte Bewertung von Ergebnissen gefährden.

Die klinische Bewertung einer vorliegenden bzw. fehlenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Antikörper von Leica Biosystems Newcastle Ltd sind wie angegeben für die Verwendung entweder auf gefrorenen oder in Paraffin eingebetteten Schnitten mit spezifischen Fixierungsanforderungen bestimmt. Es kann insbesondere bei Neoplasmen zu einer unerwarteten Antigenexpression kommen. Die klinische Bewertung eines gefärbten Gewebeschnitts muss eine morphologische Analyse und die Auswertung der entsprechenden Kontrollen einschließen.

### **Literatur - Allgemein**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramslund P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

### **Änderungen zur vorhergehenden Ausgabe**

Keine.

### **Ausgabedatum**

14 November 2018

# Novocastra™ Anticuerpos Monoclonal líquidos de Ratón

## Kappa Light Chain

### Código De Producto: NCL-L-KAP-581

#### Indicaciones De Uso

*Para uso diagnóstico in vitro.*

El NCL-L-KAP-581 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de cadena liviana kappa. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

#### Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

#### Clon

CH15

#### Inmunógeno

Proteína recombinante procarciática correspondiente a 106 aminoácidos de la molécula de cadena liviana kappa humana.

#### Especificidad

Cadena liviana kappa humana.

#### Composición Del Reactivo

NCL-L-KAP-581 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como conservante.

#### Clase de Ig

IgG1

#### Concentración Total De Proteína Total Protein

1.0–8.0 g/L. Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

#### Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 125 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

#### Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

Recuperación de epitopos inducida por enzimas (EIER). Por favor, siga las instrucciones de uso de Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Dilución sugerida: 1:200 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Visualización. Por favor, siga las instrucciones de uso de Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) o RE7290-K (50 tests).

#### Almacenamiento Y Estabilidad

Almácelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

#### Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

#### Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

La molaridad de la azida sódica en este reactivo es 15 mM. Si la solicita, existe una hoja de información sobre la seguridad del material (MSDS) azida sódica a su disposición.

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.<sup>1</sup> No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

## Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

## Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.<sup>2</sup>

El tejido de control positivo recomendado es amígdala.

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

## Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es células foliculares de tiroides.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.<sup>3</sup> También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

## Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

## Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-KAP-581 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

## Resultados esperados

### Tejidos normales

El clon CH15 detectó la proteína cadena liviana lambda en el citoplasma y sobre la membrana de las células plasmáticas. Además de las células plasmáticas en tejidos, cuando estaban presentes, se detectó también la cadena liviana kappa en diversos tejidos, entre ellos en el colon (epitelio), intestino delgado (epitelio), cerebelo (células gliales), riñón (túbulos, glomérulos), glándula suprarrenal, páncreas (acinos, conductos), pulmón (células alveolares, macrófagos), hígado (hepatocitos), estómago (epitelio), esófago (epitelio), bazo (células plasmáticas), ovario (estroma), cuello uterino (epitelio), útero (estroma del endometrio), testículos (túbulos, células de Leydig), próstata (acinos, estroma), timo, mama (epitelio de conductos), hipófisis, médula ósea, apéndice (mesotelio), músculo esquelético, corazón, cordón umbilical (mesotelio) y amígdala (centros germinales, células plasmáticas, linfocitos de la zona del manto). (Número total de casos teñidos = 50)



## Tejidos tumorales

El clon CH15 detectó la proteína de la cadena liviana kappa en 53 de 67 enfermedades malignas hematológicas evaluadas, incluidos 13 de 13 linfomas difusos de células B grandes, 11 de 12 linfomas de Hodgkin, 7 de 7 linfomas foliculares, 5 de 6 linfomas de células B no especificadas, 4 de 6 linfomas de células del manto, 3 de 6 linfomas periféricos de células T, 2 de 3 leucemias linfocíticas agudas, 2 de 2 linfomas anaplásicos de células grandes, 2 de 2 maltomas, 1 de 1 linfoma de Burkitt, 1 de 1 linfoma angioinmunoblástico de células T, 1 de 1 linfoma de células NK/T, 1 de 1 linfoma linfoblástico maligno no especificado, 0 de 3 linfomas no especificados de célula T, 0 de 2 linfomas no especificados y 0 de 1 linfoma no Hodgkin no especificado. Aparte de los linfocitos de infiltración, se detectó también la cadena kappa liviana en 57 de 62 enfermedades malignas no linfoides, incluidos 6 de 6 tumores de ovario, 6 de 6 tumores pulmonares, 6 de 6 sarcomas, 4 de 4 tumores de mama, 4 de 4 tumores neuroendocrinos, 4 de 4 tumores renales, 3 de 3 tumores de hígado, 3 de 3 tumores de vejiga, 3 de 3 tumores de suprarrenal, 3 de 3 tumores de endometrio, 1 de 3 tumores de células germinales, 2 de 2 tumores pancreáticos, 2 de 2 carcinomas de células escamosas, 2 de 2 tumores de tiroides, 2 de 2 tumores de próstata, 1 de 1 tumor de colon, 1 de 1 tumor de intestino delgado, 1 de 1 tumor de estómago, 1 de 1 tumor neural, 1 de 1 tumor de la piel y 1 de 1 próstata anormal. No se detectó tinción en melanomas (0 de 2) ni tumores de timo (0 de 1). (Número total de casos teñidos = 129)

**El NCL-L-KAP-581 está recomendado para la detección de la proteína cadena ligera kappa humana en tejidos normales y neoplásicos, como complemento de la histopatología tradicional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.**

## **Limitaciones Generales**

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.<sup>4</sup>

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

## **Bibliografía - General**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

## **Correcciones A La Publicación Anterior**

No aplicable.

## **Fecha De Publicación**

14 de noviembre de 2018

# Novocastra™ Anticorpo Monoclonal líquido de Ratinho

## Kappa Light Chain

### Código Do Produto: NCL-L-KAP-581

#### Utilização prevista

*Para utilização em diagnósticos in vitro.*

NCL-L-KAP-581 destina-se a ser utilizado na identificação qualitativa de moléculas da cadeia leve kappa por microscopia óptica em cortes de inclusões em parafina. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

#### Princípio Do Procedimento

As técnicas de coloração imunohistoquímica (IHC) permitem que se faça a visualização de antígenos por meio da aplicação sequencial de um anticorpo específico do antígeno (o anticorpo primário), de um anticorpo secundário ao anticorpo primário, e de um complexo enzimático com um substrato cromogénico e etapas de lavagem de permeio. A activação enzimática do cromogénio resulta num produto de reacção visível no local do antígeno. A amostra pode então ser contrastada e coberta com uma lamela. Os resultados são interpretados por meio de um microscópio óptico, e ajudam a formular o diagnóstico diferencial dos processos fisiopatológicos, os quais podem ou não estar associados a antígenos específicos.

#### Clone

CH15

#### Imunogénio

Proteína recombinante procarciótica que corresponde a 106 aminoácidos da molécula da cadeia leve kappa humana.

#### Especificidade

Cadeia leve kappa humana

#### Composição Do Reagente

NCL-L-KAP-581 é o sobrenadante líquido da cultura de um tecido contendo 15 mM de azida de sódio como produto conservante.

#### Classe De Ig

IgG1

#### Concentração Total De Proteína Total Protein

1,0–8,0 g/L. Consultar a etiqueta da ampola para determinar a concentração total de proteína do lote específico.

#### Concentração De Anticorpo

Maior que ou igual a 125 mg/L, conforme determinado por ELISA. Consultar a etiqueta da ampola para determinar a concentração de Ig do lote específico.

#### Recomendações Sobre A Utilização

Imunohistoquímica em cortes de inclusões em parafina.

Recuperação de epítomos induzida por enzimas (EIER). Queira seguir as instruções de utilização de Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Diluição sugerida: 1:200 durante 30 minutos a 25 °C. Esta recomendação serve apenas de orientação e os utilizadores devem determinar as suas diluições óptimas de trabalho.

Visualização. Queira seguir as instruções de utilização de Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) ou RE7290-K (50 tests).

#### Armazenamento E Estabilidade

Armazenar a 2–8 °C. Não congelar. Retornar à temperatura de 2–8 °C imediatamente após a utilização. Não utilizar após o prazo de validade indicado no rótulo do recipiente. As condições de armazenamento que diferirem das que se encontram especificadas acima devem ser verificadas pelo utilizador.

#### Preparação Das Amostras

O fixador recomendado é formol tamponado neutro a 10% para secções de tecido envolvidas em parafina.

#### Avisos E Precauções

Este reagente foi preparado a partir do sobrenadante de cultura celular. Visto ser um produto biológico, deve ser manuseado com o devido cuidado.

A molaridade da azida de sódio neste reagente é de 15 mM. Encontra-se disponível, mediante pedido, uma folha de dados de segurança de materiais (MSDS) sobre a azida de sódio.

Consultar a legislação aplicável em relação ao descarte de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.

As amostras, antes e depois da sua fixação, bem como todos os materiais expostos às mesmas, devem ser manipulados como se tivessem a capacidade de transmitir infecções e devem ser descartados com as devidas precauções.\* Não pipetar nunca os reagentes com a boca e evitar o contacto entre a pele e membranas mucosas e os reagentes e amostras. Caso os reagentes ou amostras entrem em contacto com áreas sensíveis, lavar com grandes quantidades de água. Consultar um médico.

Minimizar a contaminação microbiana dos reagentes para evitar a possibilidade do aumento da coloração não específica.

Os períodos de incubação ou temperaturas diferentes dos que foram especificados poderão dar azo a resultados errados. Todas as alterações desse tipo devem ser validadas pelo utilizador.

## Controlo Da Qualidade

As diferenças entre os diferentes métodos e técnicas de processamento de tecidos no laboratório do utilizador podem causar uma grande variabilidade de resultados, requerendo a realização frequente de controlos internos suplementares aos procedimentos que se seguem.

Os controlos devem ser amostras de autópsia/biopsia/cirurgia frescas, fixadas em formol, processadas e envolvidas em cera parafínica logo que possível, da mesma maneira que a(s) amostra(s) do(s) doente(s).

## Controlo De Tecido Positivo

Usado para assinalar os tecidos correctamente preparados e as técnicas de coloração indicadas.

Cada conjunto de condições de testes, em cada processo de coloração, deve incluir um controlo de tecido positivo.

Os tecidos com uma coloração positiva fraca são mais indicados do que os têm uma coloração positiva forte para proporcionarem um controlo de qualidade óptimo, bem como para detectar níveis reduzidos de degradação dos reagentes.<sup>2</sup>

O tecido de controlo positivo recomendado é a amígdala.

Se o controlo de tecido positivo não demonstrar uma coloração positiva, os resultados obtidos com as amostras de testes devem ser considerados inválidos.

## Controlo De Tecido Negativo

Este deve ser examinado depois do controlo de tecido positivo para verificar a especificidade da marcação do antígeno objectivado pelo anticorpo primário.

O controlo de tecido negativo recomendado é o células foliculares da tiróide.

Alternativamente, a variedade de diferentes tipos de células presentes na maioria das secções de tecidos oferece muitas vezes locais de controlo negativo, mas isto deve ser verificado pelo utilizador.

A coloração não específica, caso ocorra, tem geralmente um aspecto difuso. A coloração esporádica do tecido conjuntivo pode também ter lugar em secções de tecido excessivamente fixado em formol. Devem utilizar-se células intactas para a interpretação dos resultados da coloração. As células necróticas ou degeneradas causam muitas vezes uma coloração não específica.<sup>3</sup> Podem verificar-se resultados positivos falsos devido à ligação não imunológica de proteínas ou de produtos da reacção do substrato. Esses resultados podem também ser causados por enzimas endógenas tais como a pseudoperoxidase (eritrócitos), a peroxidase endógena (citocromo C), ou a biotina endógena (ex. no fígado, mama, cérebro ou rim) dependendo do tipo de imunocoloração utilizado. Para diferenciar entre a actividade das enzimas endógenas e as ligações não específicas de enzimas de imunoreactividade específica, podem colorir-se tecidos adicionais dos doentes exclusivamente com substrato cromogénio ou com complexos de enzimas (avidina-biotina, estreptavidina, polímero marcado) e substrato-cromogénio, respectivamente. Se ocorrer a coloração específica no controlo de tecido negativo, os resultados dos testes feitos com as amostras do doente devem ser considerados inválidos.

## Controlo De Reagente Negativo

Utilizar um controlo de reagente negativo não específico em vez do anticorpo primário com uma secção de cada amostra de doente para avaliar a coloração não específica e permitir uma melhor interpretação da coloração específica no local do antígeno.

## Tecido Do Doente

Examinar as amostras do doente coloridas com NCL-L-KAP-581 em último lugar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada dentro do contexto de qualquer coloração não específica de fundo do controlo de reagente negativo. Tal como com qualquer teste imunohistoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno se encontrava ausente das células ou tecido analisados. Se necessário, deve utilizar-se um painel de anticorpos para identificar reacções falso-negativas.

## Resultados Previstos

### Tecidos normais

O clone CH15 detectou a proteína da cadeia leve kappa no citoplasma e na membrana de células plasmáticas. Além da presença possível de células plasmáticas em tecidos, a proteína da cadeia leve kappa também foi detectada em diversos tecidos incluindo o cólon (epitélio), intestino delgado (epitélio), cerebelo (células gliais), rim (túbulos, glomérulos), glândula supra-renal, pâncreas (ácinos, canaliculos), pulmão (células alveolares, macrófagos), fígado (hepatócitos), estômago (epitélio), esófago (epitélio), baço (células plasmáticas), ovário (estroma), colo uterino (epitélio), útero (estroma endometrial), testículo (túbulos, células de Leydig), próstata (ácinos, estroma), timo, mama (epitélio dos canaliculos), hipófise, medula óssea, apêndice (mesotélio), músculo esquelético, coração, cordão umbilical (mesotélio) e amígdala (centros germinais, células plasmáticas, linfócitos da zona do manto). (Número total de casos com coloração detectada = 50).

### Tecidos tumorais

O clone CH15 detectou a proteína da cadeia leve kappa em 53/67 neoplasias hematológicas malignas avaliadas, incluindo 13/13 linfomas difusos de grandes células B, 11/12 linfomas de Hodgkin, 7/7 linfomas foliculares, 5/6 linfomas de células B não especificados, 4/6 linfomas de células do manto, 3/6 linfomas de células T periféricas, 2/3 leucemias linfocíticas agudas, 2/2 linfomas anaplásicos de células grandes, 2/2 MALTomas, 1/1 linfoma de Burkitt, 1/1 linfoma angioimunoblástico de células T, 1/1 linfoma de células T NK, 1/1 linfoma linfoblástico maligno não especificado, 0/3 linfomas de células T não especificados, 0/2 linfomas não especificados e 0/1 linfoma não Hodgkin não especificado. Com excepção dos linfócitos infiltrantes, a cadeia leve kappa também foi detectada em 57/62 neoplasias malignas não linfóides incluindo 6/6 tumores do ovário, 6/6 tumores pulmonares, 6/6 sarcomas, 4/4 tumores da mama, 4/4 tumores neuroendócrinos, 4/4 tumores renais, 3/3 tumores hepáticos, 3/3 tumores da bexiga, 3/3 tumores da supra-renal, 3/3 tumores endometriais, 1/3 tumores de células germinais, 2/2 tumores pancreáticos, 2/2 carcinomas de células pavimentosas, 2/2 tumores da tiróide, 2/2 tumores da próstata, 1/1 tumor do cólon, 1/1 tumor do intestino delgado, 1/1 tumor gástrico, 1/1 tumor neural, 1/1 tumor da pele e 1/1 próstata anormal. Não se detectou nenhuma coloração em melanomas (0/2) e em tumores do timo (0/1). (Número total de casos com coloração detectada = 129).

**O NCL-L-KAP-581 é recomendado para a detecção da proteína humana da cadeia leve kappa em tecidos normais e neoplásicos, como auxiliar da histopatologia convencional, através da utilização de corantes histoquímicos não imunológicos.**

### **Limitações Gerais**

A imunohistoquímica é um processo diagnóstico em múltiplas etapas que consta de: uma formação especializada na selecção dos reagentes apropriados, selecção, fixação e processamento de tecidos, preparação das lâminas de IHQ e interpretação dos resultados das colorações.

A coloração de tecidos depende do seu manuseamento e processamento antes da sua coloração. A fixação, congelação, descongelação, lavagem, secagem, aquecimento ou corte incorrectos das amostras, ou a sua contaminação com outros tecidos ou fluidos, podem produzir artefactos, retenção de anticorpos, ou resultados falso-negativos. Os resultados inconsistentes podem dever-se a variações nos métodos de fixação e envolvimento ou a irregularidades inerentes ao tecido.<sup>4</sup>

Uma contrastação excessiva ou incompleta pode comprometer a correcta interpretação dos resultados.

A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

Os anticorpos da Leica Biosystems Newcastle Ltd destinam-se a serem utilizados, conforme indicado, em secções de tecido ou congeladas ou envolvidas em parafina, com requisitos de fixação específicos. Pode ocorrer uma expressão inesperada de antígeno, especialmente em neoplasmas. A interpretação clínica de qualquer secção de tecido colorido deverá incluir a análise morfológica e a avaliação de controlos apropriados.

### **Bibliografia - Geral**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

### **Emendas Da Edição Anterior**

Não aplicável.

### **Data De Emissão**

14 de Novembro de 2018

# Novocastra™ Flytande Monoklonal Musantikropp

## Kappa Light Chain

### Produktkod: NCL-L-KAP-581

#### **Avsedd Användning**

*För in vitro diagnostisk användning.*

NCL-L-KAP-581 är avsedd för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av humana lätt kappakedja-molekyler i paraffinsnitt. Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patolg inom ramen för patientens kliniska anamnes och andra diagnostiska tester.

#### **Metodens Princip**

Immunhistokemiska (IHC) färgningstekniker tillåter visualisering av antigener genom sekvenstillämpning av en specifik antikropp till antigenet (primär antikropp), en sekundär antikropp till den primära antikroppen och ett enzymkomplex med ett kromogent substrat med inlagda tvättsteg. Den enzymatiska aktiveringen av kromogenet resulterar i en synlig reaktionsprodukt på antigenområdet. Proverna kan då kontrastfärgas och förses med täckglas. Resultaten tolkas med ljusmikroskop och bidrar till differentialdiagnosen av patofysiologiska processer som eventuellt kan associeras till ett särskilt antigen.

#### **Klon**

CH15

#### **Immunogen**

Prokaryotiskt rekombinant protein som motsvarar 106 aminosyror i den humana lätt kappakedja-molekylen.

#### **Specifitet**

Human lätt kappakedja

#### **Reagensinnehåll**

NCL-L-KAP-581 är en flytande supernatant från vävnadsodling som innehåller 15 mM natriumazid som konserveringsmedel.

#### **Ig-klass**

IgG1

#### **Total Proteinkoncentration** Total Protein

1.0–8.0 g/L. Se flaskans etikett för total specifik proteinkoncentration för satsen.

#### **Antikropps-koncentration**

Större än eller lika med 125 mg/L fastställt genom ELISA. Se flaskans etikett för specifik Ig-koncentration för satsen.

#### **Rekommendationer Vid Användning**

Immunhistokemi på paraffinsnitt.

Enzyminducerad epitopativering (EIER). Vänligen följ instruktionerna för användning i Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Föreslagen spädning: 1:200 i 30 minuter vid 25 °C. Detta är endast en riktlinje och användare bör själva fastställa den optimala bruksspädningen.

Visualisering Vänligen följ instruktionerna för användning i Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) or RE7290-K (50 tests).

#### **Förvaring Och Stabilitet**

Förvara vid 2–8 °C. Frys ej. Återgå till 2–8 °C direkt efter användning. Använd ej efter det utgångsdatum som anges på flaskans etikett. Förvaringsförhållanden som skiljer sig från de ovannämnda måste kontrolleras av användaren.

#### **Preparation Av Prov**

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffininbäddade vävnadssnitt är 10% neutralbuffrat formalin.

#### **Varningar Och Försiktighetsåtgärder**

Reagenset har förberetts från supernatanten av vävnadsodlingar. Eftersom det är en biologisk produkt bör skälig försiktighet iaktas vid hantering.

Natriumazidens molaritet i reagenset är 15 mM. Varuinformationsblad (MSDS) för natriumazid finns att få på begäran.

För kassering av potentiellt toxiska komponenter hänvisas till nationella eller lokala bestämmelser.

Före och efter fixering bör prover och alla material som har varit utsatta för dem hanteras som om det finns risk för att de kan överföra infektioner och kasseras med iakttagande av försiktighet. Pipettera aldrig reagenser med munnen och se till att huden och slemhinorna inte kommer i kontakt med reagens och prover. Om reagens eller prover kommer i kontakt med känsliga områden, tvätta med rikliga mängder vatten. Rådgör med läkare.

Minimera mikrobisk kontaminering av reagens annars kan en ökning av ospecifik färgning ske.

Inkubationstider eller temperaturer som skiljer sig från dem som specificeras kan ge felaktiga resultat. Alla sådana förändringar måste kontrolleras av användaren.

## Kvalitetskontroll

Skilnader i vävnadsbehandling och tekniska metoder i användarens laboratorium kan ge stor variation i resultaten vilket kan göra det nödvändigt att genomföra regelbundna interna kontroller utöver följande metoder.

Kontroller bör vara färiska obduktions-/biopsi-/kirurgi prover som snarast möjligt formalinfixeras, bearbetas och paraffinbäddas på samma sätt som patientprover.

## Positiv Vävnadskontroll

Används för att ange korrekt förberedda vävnader och rätt färgningstekniker.

En positiv vävnadskontroll bör ingå i varje uppsättning av testförhållanden vid varje färgningskörning.

En vävnad med svag positiv färgning är mer lämplig för optimal kvalitetskontroll och för att upptäcka låga nivåer av reagensdegradering än en vävnad med stark positiv färgning.<sup>2</sup>

Tonsill rekommenderas som positiv kontrollvävnad.

Om den positiva vävnadskontrollen inte uppvisar positiv färgning bör resultat med testproverna anses vara ogiltiga.

## Negativ Vävnadskontroll

Bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen för att fastställa specificiteten för märkningen av målantigenet med den primära antikroppen.

Follikelceller i sköldkörteln rekommenderades som negativ kontrollvävnad.

Alternativt ger ofta en mängd olika celltyper som finns i de flesta vävnadssnitt negativa kontrollområden men detta bör kontrolleras av användaren.

Ospecifik färgning, om det förekommer, har ofta ett diffust utseende. Sporadisk färgning av bindväv kan också observeras i snitt från överflödigt formalinfixerade vävnader. Använd intakta celler för tolkning av färgningsresultat. Nekrotiska eller degenererade celler färgar ofta ospecifikt.<sup>3</sup> Falskt positiva resultat kan uppstå p.g.a. icke-immunologisk bindning av proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan också orsakas av endogena enzymer som pseudoperoxidas (erythrocyter), endogent peroxid (cytokrom C) eller endogent biotin (t.ex. lever, bröst, hjärna, njure) beroende på typ av immunfärgning som används. För att skilja endogen enzymaktivitet eller ospecifik enzymbindning från specifik immunreaktivitet kan ytterligare patientvävnader färgas exklusivt med respektive substratkromogen eller enzymkomplex (avidin-biotin, streptavidin, märkt polymer) och substrat-kromogen. Om specifik färgning sker i den negativa vävnadskontrollen bör resultat med patientprover anses vara ogiltiga.

## Negativ Reagenskontroll

Använd en ospecifik negativ reagenskontroll istället för den primära antikroppen med ett snitt från varje patientprov för att utvärdera ospecifik färgning och tillåta bättre tolkning av specifik färgning på antigenområdet.

## Patientvävnad

Undersök patientprover färgade med NCL-L-KAP-581 sist. Positiv färgningsintensitet bör utvärderas inom ramen för all ospecifik bakgrunds-färgning av den negativa reagenskontrollen. Som vid alla immunhistokemiska tester betyder ett negativt resultat att antigenet inte upptäcktes och inte att det inte förekom i de analyserade cellerna/vävnaderna. Använd vid behov en antikroppspanel för att identifiera falskt negativa reaktioner.

## Förväntade Resultat

### Normal vävnad

Klon CH15 detekterade lätt kappakedja-proteinet i cytoplasman och på membranet hos plasmaceller. Förutom i plasmaceller i vävnader, i förekommande fall, detekterades lätt kappakedja-proteinet också i en mängd vävnader inklusive kolon (epitel), tunntarm (epitel), cerebellum (glacieller), njurtubuli (tubuli, glomeruli), binjura, bukspottsörtel (acini, körtelgångar), lunga (alveolarceller, makrofager), lever (hepatocyter), magsäck (epitel), matstrupe (epitel, mjälte (plasmaceller), äggstock (stroma), cervix (epitel), livmoder (endometrial stroma), testikel (tubuli, Leydigceller), prostata (acini, stroma), tymus, bröst (körtelgångsepitel), hypofys, benmärg, appendix (mesotel), skelettmuskel, hjärta, navelsträng (mesotel) och tonsill (germinalcentra, plasmaceller, mantelzonlymfocyter). (Totalt antal fall som färgats = 50).

### Tumörvävnader

Klon CH15 detekterade lätt kappakedja-proteinet i 53/67 utvärderade hematologiska maligniteter, inklusive 13/13 diffusa storcelliga B-cellslymfom, 11/12 Hodgkins lymfom, 7/7 follikulära lymfom, 5/6 ospecificerade B-cellslymfom, 4/6 mantelcellslymfom, 3/6 perifer T-cellslymfom, 2/3 akuta lymfocytiska leukemier, 2/2 anaplastiska storcelliga lymfom, 2/2 MALTomas, 1/1 Burkitts lymfom, 1/1 angioimmunoblastiskt T-cellslymfom, 1/1 NK/T-cellslymfom, 1/1 ospecificerat malignt lymfoblastiskt lymfom, 0/3 ospecificerat T-cellslymfom, 0/2 ospecificerat lymfom och 0/1 ospecificerat icke-Hodgkins lymfom. Förutom i infiltrerande lymfocyter detekterades lätt kappakedja-proteinet också i 57/62 icke-lymfoida maligniteter, inklusive 6/6 äggstockstumörer, 6/6 lungtumörer, 6/6 sarkom, 4/4 brösttumörer, 4/4 neuroendokrina tumörer, 4/4 njurtumörer, 3/3 levertumörer, 3/3 urinblåsetumörer, 3/3 bijuretumörer, 3/3 endometriala tumörer, 1/3 germinalcellstumörer, 2/2 tumörer i bukspottsörteln, 2/2 skvamosa cellkarcinomer, 2/2 sköldkörteltumörer, 2/2 prostatatumörer, 1/1 kolontumör, 1/1 tunntarmstumör, 1/1 magsäckstumör, 1/1 nervtumör, 1/1 hudtumör och 1/1 onormal prostata. Ingen färgning upptäcktes i melanom (0/2) och tymustumörer (0/1). (Totalt antal fall som färgats = 129).

**NCL-L-KAP-581 rekommenderas för detektering av humant kappa lättkedje-protein i normal eller neoplastisk vävnad, som tillägg till konventionell histopatologi med användande av icke-immunologiska histokemiska färgstoffer.**

## Allmänna Begränsningar

Immunhistokemi är en diagnostisk process i flera steg som kräver specialiserad utbildning i urvalet av lämpliga reagens, val av vävnad, fixering och bearbetning, förberedelse av IHC-objektglaset samt tolkning av färgningsresultaten.

Vävnadsfärgning påverkas av hantering och bearbetning av vävnaden före färgningen. Felaktig fixering, nedfrysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, snittning eller kontaminering av andra vävnader eller vätskor kan framställa artefakter, infångande av antikroppar eller falskt negativa resultat. Motsägelsefulla resultat kan bero på variationer av fixerings- och inbäddningsmetoder eller på naturliga oregelbundenheter i vävnaden.<sup>4</sup>

Överflödig eller ofullständig kontrastfärgning kan försvåra en korrekt tolkning av resultatet.

Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patolog inom ramen för patientens kliniska anamnes och andra diagnostiska tester.

Antikroppar från Leica Biosystems Newcastle Ltd är till för användning så som anges på antingen frysta eller paraffinbäddade snitt med specifika fixeringskrav. Öväntat antigenuttryck kan ske, speciellt i neoplasmer. Morfologisk analys och utvärdering av lämpliga kontroller måste ingå i den kliniska tolkningen av alla färgade vävnadssnitt.

### **Bibliografi - Allmän**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

### **Rättelser Av Tidigare Utgivning**

Gäller inte.

### **Utgivningsdatum**

14 november 2018

# Novocastra™ Υγρό μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού

## Kappa Light Chain

### Κωδικός είδους: NCL-L-KAP-581

#### Χρήση Για Την Οποία Προορίζεται

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Ο προσδιορισμός του NCL-L-KAP-581 είναι ο ποιοτικός προσδιορισμός με μικροσκοπήση ορατού φωτός των μορίων της ελαφράς αλυσού Κάπα σε παρασκευάσματα παραφίνης. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

#### Αρχή Της Διαδικασίας

Οι τεχνικές ανοσοϊστοχημικής (IHC) χρώσης επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής ενός ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωτογενές αντίσωμα), ενός δευτεροταγούς αντισώματος στο πρωτογενές αντίσωμα και ενός ενζυμικού συμπλόκου με χρωμογόνο υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα βήματα πλύσης. Η ενζυμική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός ορατού προϊόντος αντίδρασης στη θέση του αντιγόνου. Το δείγμα μπορεί κατόπιν να υποβληθεί σε αντίχρωση και να καλυφθεί με καλυπτρίδα. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται με χρήση μικροσκοπίου φωτός και βοηθούν στη διαφορική διάγνωση παθοφυσιολογικών εξεργασιών, οι οποίες ενδέχεται ή όχι να σχετίζονται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

#### Κλώνος

CH15

#### Ανοσογόνο

Προκαρυστική ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη ανταποκρινόμενη σε 106 αμινοξέα του ανθρώπινου μορίου της ελαφράς αλυσού Κάπα.

#### Ειδιότητα

Ανθρώπινος ελαφρά αλυσος Κάπα

#### Σύνθεση Αντιδραστήριου

Το NCL-L-KAP-581 είναι ένα υγρό υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας που περιέχει 15 mM αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

#### Τάξη Ig

IgG1

#### Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Total Protein

1.0–8.0 g/L. Για την ολική συγκέντρωση πρωτεΐνης που είναι ειδική για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

#### Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 125 mg/L, όπως προσδιορίζεται με ELISA. Για τη συγκέντρωση Ig που είναι ειδική για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

#### Συστάσεις Για Τη Χρήση

Ανοσοϊστοχημεία σε παρασκευάσματα παραφίνης.

Ανάκτηση Επίσπου με Ενζυμική Επαγωγή (EIER). Παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες για τη χρήση στο Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Προτεινόμενη διάλυση: 1:200 επί 30 λεπτά στους 25 °C. Παρέχεται ως οδηγός και οι χρήστες θα πρέπει να καθορίζουν τις δικές τους διαλύσεις εργασίας.

Απεικόνιση. Παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες για τη χρήση στο Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) ή στο RE7290-K (50 tests).

#### Φύλαξη Και Σταθερότητα

Φυλάσσετε στους 2–8 °C. Μην καταψύχετε. Επαναφέρετε στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση. Μη χρησιμοποιείτε μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου. Τυχόν συνθήκες φύλαξης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από το χρήστη.

#### Παρασκευή Δείγματος

Το συνιστάμενο μονομοριακό είναι ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμόλης 10% για τομές ιστού εγκλεισμένες σε παραφίνη.

#### Προειδοποιήσεις Και Προφυλάξεις

Το αντιδραστήριο αυτό έχει παρασκευαστεί από το υπερκείμενο κυτταροκαλλιέργειας. Επειδή είναι βιολογικό προϊόν, θα πρέπει να δίνεται εύλογη προσοχή κατά το χειρισμό του.

Η μοριακότητα του αζιδίου του νατρίου στο αντιδραστήριο αυτό είναι 15 mM. Κατόπιν αιτήματος, διατίθεται ένα δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού (MSDS) για το αζίδιο του νατρίου.

Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για απόρριψη τυχόν δυνητικών τοξικών συστατικών.

Ο χειρισμός δειγμάτων, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, καθώς και όλων των υλικών που έχουν εκτεθεί σε αυτά, θα πρέπει να γίνεται ως εάν ήταν δυνητικά μετάδοσης λοίμωξης και η απόρριψή τους να πραγματοποιείται λαμβάνοντας τις σωστές προφυλάξεις.<sup>1</sup> Μην αναρροφάτε ποτέ με πιπέτα αντιδραστήρια με το στόμα και αποφυγείτε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια και δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με αφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.

Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διότι ενδέχεται να συμβεί αύξηση μη ειδικής χρώσης.

Χρόνοι ή θερμοκρασίες επώασης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Τυχόν τέτοιες μεταβολές πρέπει να επικυρώνονται από το χρήστη.



## Ποιοτικός Έλεγχος

Τυχόν διαφορές στην επεξεργασία των ιστών και τις τεχνικές διαδικασίες στο εργαστήριο του χρήστη ενδέχεται να προκαλέσουν σημαντική μεταβλητότητα στα αποτελέσματα, καθιστώντας αναγκαία την τακτική εκτέλεση εσωτερικών ελέγχων επιπλέον των ακόλουθων διαδικασιών.

Οι μάρτυρες θα πρέπει να είναι φρέσκα δείγματα νεκροψιας/βιοψίας/χειρουργικά δείγματα, τα οποία είναι μονιμοποιημένα σε φορμόλη, επεξεργασμένα και εγκλεισμένα σε κηρό παραφίνης, το συντομότερο δυνατό με τον ίδιο τρόπο με το(α) δείγμα(τα) του ασθενούς.

## Θετικός Μάρτυρας Ιστού

Χρησιμοποιείται για να υποδεικνύει σωστά παρασκευασμένους ιστούς και σωστές τεχνικές χρώσης.

Θα πρέπει να περιλαμβάνεται ένας θετικός μάρτυρας ιστού για κάθε σύνολο συνθηκών εξέτασης σε κάθε εκτέλεση χρώσης.

Ένας ιστός με ασθενή θετική χρώση είναι πιο κατάλληλος από έναν ιστό με ισχυρή εξική χρώση για βέλτιστο έλεγχο ποιότητας και για την ανίχνευση πολύ μικρών επιπέδων τυχόν αποδόμησης των αντιδραστηρίων.<sup>2</sup>

Συνιστώμενος ιστός θετικού μάρτυρα είναι Αμυγδαλές.

Εάν ο θετικός μάρτυρας ιστού δεν παρουσιάζει θετική χρώση, τα αποτελέσματα με τα δείγματα της εξέτασης θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

## Αρνητικός Μάρτυρας Ιστού

Θα πρέπει να εξετάζεται μετά τον θετικό μάρτυρα ιστού για την επαλήθευση της ειδικότητας της επισήμανσης του αντιγόνου-στόχου από το πρωτοταγές αντίσωμα.

Συνιστώμενος ιστός αρνητικού μάρτυρα είναι θυλακώδη κύτταρα θυρεοειδούς.

Εναλλακτικά, η ποικιλία διαφόρων κυτταρικών τύπων που υπάρχουν στις περισσότερες τομές ιστών παρέχει συχνά θέσεις αρνητικού μάρτυρα, αλλά αυτό πρέπει να επαληθεύεται από το χρήστη.

Μη ειδική χρώση, εάν υπάρχει, έχει συνήθως διάχυτη εμφάνιση. Ενδέχεται επίσης να παρατηρηθεί σποραδική χρώση του συνδεδεμένου ιστού σε τομές από ιστούς που έχουν μονιμοποιηθεί με υπερβολική ποσότητα φορμόλης. Χρησιμοποιείτε άθικτα κύτταρα για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης. Νεκρωτικά ή εκφυλισμένα κύτταρα παρουσιάζουν συχνά μη ειδική χρώση.<sup>3</sup> Ενδέχεται να παρατηρηθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω μη ανοσολογικής δέσμησης των πρωτεϊνών ή των προϊόντων αντίδρασης του υποστρώματος. Ενδέχεται επίσης να προκληθούν από ενδογενή ένζυμα, όπως η ψευδοπυροξείδωση (ερυθροκύτταρα), η ενδογενής υπεροξειδάση (κυτάρωμα C) ή η ενδογενής βιτίνη (π.χ. ήπαρ, μαστός, εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο ανοσοχρώσης που χρησιμοποιείται. Για τη διαφοροποίηση της ενδογενούς ενζυμικής δραστηριότητας ή της μη ειδικής δέσμησης των ενζύμων από ειδική ανοσοαντιδραστικότητα, είναι δυνατό να χρωματιστούν αποκλειστικά επιπλέον ιστού ασθενούς με χρωμόγιο υποστρώματος ή ενζυμικά σύμπλοκα (αβιδίνη-βιτίνη, στρεπταβιδίνη, σημασμένο πολυμερές) και υπόστρωμα-χρωμόγιο, αντίστοιχα. Εάν παρουσιαστεί ειδική χρώση στον αρνητικό μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα με τα δείγματα ασθενούς θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

## Αρνητικός Μάρτυρας Αντιδραστήριου

Χρησιμοποιείτε έναν μη ειδικό αρνητικό μάρτυρα αντιδραστήριου αντί του πρωτοταγούς αντισώματος με μια τομή κάθε δείγματος ασθενούς για την αξιολόγηση μη ειδικής χρώσης και για να επιτρέπεται καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στη θέση του αντιγόνου.

## Ιστός Ασθενούς

Εξετάστε τελευταία τα δείγματα ασθενούς που έχουν χρωματιστεί με το NCL-L-KAP-581. Η ένταση της χρώσης πρέπει να είναι εκτιμάται στα πλαίσια τυχόν μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού μάρτυρα αντιδραστήριου. Όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε ανοσοϊστοχημική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύτηκε, όχι ότι το αντιγόνο δεν υπήρχε στα κύτταρα/στον ιστό που εξετάστηκε. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια σειρά αντισωμάτων για την αναγνώριση ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

## Αναμενόμενα Αποτελέσματα

### Φυσιολογικοί Ιστοί

Ο κλώνος CH15 ανίχνευσε την πρωτεϊνική ελαφρά άλυσος Κάπα στο κυτταροπλάσμα και στη μεμβράνη των πλασμακυττάρων. Επί πλέον της παρουσίας της στα πλασμακυττάρων των ιστών, η πρωτεϊνική ελαφρά άλυσος Κάπα ανιχνεύθηκε επίσης σε μια ποικιλία ιστών που συμπεριλαμβάνει πλάγινο έμβρυο (επιθήλιο), λεπτό έντερο (επιθήλιο), παρεγκεφαλίδα (νευρογλοιακά κύτταρα), νεφρός (σουληνάρια, σπειράματα), επινεφρίδια, πάγκρεας (λοβία, πόροι), πνεύμονας (κυψελιδικά κύτταρα, μακροφάγα), ήπαρ (ηπατοκύτταρα), στόμαχος (επιθήλιο), οισοφάγος (επιθήλιο), σπλήν (πλασμακυττάρων), ωσθήκη (βασική στοιβάδα), τράχηλος (επιθήλιο), μήτρα (ενδομητρία βασική στοιβάδα), όρχις (σουληνάρια, κύτταρα Leydig), προστάτης (κυψέλες, βασική στοιβάδα), θύμος αδένας, μαστός (πορώδες επιθήλιο), υπόφυση, μυελός των οστών, σκυμφοειδής απόφυση (μεσοθήλιο), σκελετικός μύς, καρδιά, ομφάλιος λώρος (μεσοθήλιο) και αμυγδαλή (βλαστικά κέντρα, πλασμακυττάρων, λεμφοκύτταρα ζώνης μέσου χιτών). (Συνολικός αριθμός περιστατικών υποβλήθέντων σε χρώση = 50).

### Καρκινικοί Ιστοί

Ο κλώνος CH15 ανίχνευσε την πρωτεϊνική ελαφρά άλυσος Κάπα σε 53/67 αιματολογικές κακοήθειες που εξετάστηκαν, συμπεριλαμβανομένων 13/13 διάχυτο Β μεγαλοκυτταρικό λέμφωμα, 11/12 λεμφώματα Hodgkin, 7/7 θηλακώδη λεμφώματα, 5/6 μη ειδικό Β κυτταρικό λέμφωμα, 4/6 λεμφώματα καλυπτήριων κυττάρων, 3/6 λεμφώματα περιφερικών Τ λεμφοκυττάρων, 2/3 οξείες λεμφοκυτταρικές λευχαιμίες, 2/2 αναπλαστικά μεγαλοκυτταρικά λεμφώματα, 2/2 MALTώματα, 1/1 λέμφωμα Burkitt, 1/1 αγγειοανοσοβλαστικό Τ λεμφοκυτταρικό λέμφωμα, 1/1 NK/T-λεμφοκυτταρικό λέμφωμα, 1/1 μη ειδικό κακόηθες λεμφοβλαστικό λέμφωμα, 0/3 μη-ειδικό Τ-λεμφοκυτταρικό λέμφωμα, 0/2 μη ειδικό λέμφωμα και 0/1 μη ειδικό μη-Hodgkin λέμφωμα. Εκτός από τα διηθητικά λεμφοκύτταρα, η ελαφρά άλυσος Κάπα ανιχνεύθηκε επίσης σε 57/62 μη-εμφυσιδείς κακοήθειες συμπεριλαμβανομένων 6/6 όγκους ωσθήκης, 6/6 όγκους πνεύμονος, 6/6 σαρκώματα, 4/4 όγκους μαστού, 4/4 νευροενδοκρινικούς όγκους, 4/4 όγκους νεφρού, 3/3 όγκους ήπατος, 3/3 όγκους ουροδόχου κύστεως, 3/3 όγκους επινεφριδίων, 3/3 όγκους ενδομητρίου, 1/3 όγκους σπερματικών κυττάρων, 2/2 όγκους παγκρέατος, 2/2 καρκινώματα πλακώδους επιθηλίου, 2/2 όγκους θυρεοειδούς, 2/2 όγκους προστάτη, 1/1 όγκος παχέος εντέρου, 1/1 όγκος λεπτού εντέρου, 1/1 όγκος στομάχου, 1/1 νευρικός όγκος, 1/1 δερματικός όγκος και 1/1 ανώμαλος προστάτης. Δεν ανιχνεύθηκε χρώση στα μελανώματα (0/2) και σε όγκους του θύμου αδένος (0/1). (Συνολικός αριθμός περιστατικών που υποβλήθηκαν σε χρώση = 129).

**Το NCL-L-KAP-581 συνιστάται για την ανίχνευση της ανθρώπινης πρωτεΐνης ελαφριάς αλυσίδας κ σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς, ως συμπλήρωμα της συμβατικής ιστοπαθολογίας χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές χρώσεις.**

## Γενικοί Περιορισμοί

Η ανοσοϊστοχημεία είναι μια πειραματική διεργασία πολλαπλών βημάτων, η οποία αποτελείται από ειδικευμένη εκπαίδευση στην επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων, επιλογή ιστού, μονιμοποίηση και επεξεργασία, προετοιμασία της πλάκας IHC και ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης.

Η χρώση του ιστού εξαρτάται από το χειρισμό και την επεξεργασία του ιστού πριν από τη χρώση. Τυχόν εσφαλμένη μονιμοποίηση, κατάψυξη, απόψυξη, πλύση, στέγνωμα, θέρμανση, τομή ή μόλυνση με άλλους ιστούς ή υγρά ενδέχεται να παράγει μορφώματα, παγίδευση αντισώματος ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Τυχόν ασυνεπή αποτελέσματα ενδέχεται να οφείλονται σε παραλλαγές των μεθόδων μονιμοποίησης και εγκλεισμού ή σε εγγενείς ανωμαλίες εντός του ιστού.<sup>4</sup>

Τυχόν υπερβολική ή ατελής αντίχρωση ενδέχεται να διακυβεύσει τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

Τα αντισώματα που παρέχονται από την Leica Biosystems Newcastle Ltd προορίζονται για χρήση, όπως υποδεικνύεται, είτε σε κατεψυγμένες είτε σε εγκλεισμένες σε παραφίνη τομές, με ειδικές απαιτήσεις μονιμοποίησης. Ενδέχεται να παρουσιαστεί μη αναμενόμενη έκφραση αντιγόνου, ειδικά σε νεοπλασμάτα. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρωματισμένης τομής ιστού πρέπει να περιλαμβάνει μορφολογική ανάλυση και την αξιολόγηση των κατάλληλων μαρτύρων.

## **Βιβλιογραφία - Γενική**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. *Journal of Molecular Recognition*. 2002; 15:248–259.

## **Τροποποιήσεις Στην Προηγούμενη Έκδοση**

Δεν έχει εφαρμογή

## **Ημερομηνία Έκδοσης**

14 Νοεμβρίου 2018

# Novocastra™ Væskeformigt Monoklonalt Museantistof

## Kappa Light Chain

### Produktkode: NCL-L-KAP-581

#### Tilsigtet Anvendelse

*Til in vitro diagnostisk anvendelse.*

NCL-L-KAP-581 er beregnet til kvalitativ identifikation af kappa letkædemolekyler i paraffinsektioner ved lysmikroskopi. Klinisk fortolkning af farvning eller mangel derpå skal suppleres med morfologiske undersøgelser under anvendelse af passende kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog.

#### Procedureprincip

Immunhistokemiske (IHC) farvningsteknikker muliggør visualisering af antigener via sekventiel tilsætning af et specifikt antistof mod antigenet (primært antistof), et sekundært antistof mod det primære antistof og et enzym kompleksbundet til et kromogent substrat med indskudte vasketrin. Den enzymatiske aktivering af kromogenet resulterer i et synligt reaktionsprodukt på antigenstedet. Prøven kan derefter kontrastfarves og dækkes med et dækglas. Resultaterne fortolkes ved anvendelse af et lysmikroskop og medvirker til differential diagnose af patofysiologiske processer, som muligvis kan være associeret med et bestemt antigen.

#### Klon

CH15

#### Immunogen

Prokaryot rekombinant protein svarende til 106 aminosyrer fra det humane kappa letkædemolekyle.

#### Specifitet

Human kappa letkæde

#### Reagenssammensætning

NCL-L-KAP-581 er en flydende vævskultursupernatant indeholdende 15 mM natriumazid som konserveringsmiddel.

#### Ig-klasse

IgG1

#### Totalproteinkoncentration

Total Protein

1.0–8.0 g/L. Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik totalproteinkoncentration.

#### Antistofkoncentration

Større end eller lig med 125 mg/L som bestemt ved ELISA. Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik Ig-koncentration.

#### Anbefalinger Vedrørende Anvendelse

Immunhistokemi på paraffinsnit.

Enzyminduceret epitopgenfinding (EIER). Følg venligst vejledningen i Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Foreslået fortynding: 1:200 ved 30 minutter ved 25 °C. Disse retningslinjer er vejledende, og brugeren bør selv bestemme egne optimale brugsopløsninger.

Visualisering. Følg venligst vejledningen i Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) eller RE7290-K (50 tests).

#### Opbevaring Og Holdbarhed

Opbevares ved 2–8 °C. Må ikke fryses. Sættes tilbage til 2–8 °C umiddelbart efter brug. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen angivet på hætteflaskens etikette. Andre opbevaringsbetingelser end de ovenfor angivne skal verificeres af brugeren.

#### Prøveklargøring

Det anbefalede fiksativ er 10% neutralbufferjusteret formalin til paraffinindstøbte vævssnit.

#### Advarsler Og Forholdsregler

Dette reagens er fremstillet ud fra supernatanten af en cellekultur. Da det er et biologisk produkt, skal der tages fornuftige sikkerhedsforanstaltninger ved dets håndtering.

Molariteten af natriumazid i dette reagens er 15 mM. Der kan efter anmodning leveres et datablad for materialesikkerhed (MSDS) for natriumazid.

Konsulter landsdækkende og lokale love og regler vedrørende bortskaffelse af alle potentielt toksiske komponenter.

Prøver skal før og efter fiksering, lige som alle materialer eksponeret mod prøverne, håndteres som potentielt smittefarlige og bortskaffes under iagttagelse af passende forholdsregler<sup>1</sup>. Pipetter aldrig reagenser med munden og undgå, at reagenser og prøver kommer i kontakt med huden eller slimhinder. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal der skylles efter med rigelige mængder vand. Søg læge.

Minimer mikrobiel kontaminering af reagenserne, da der ellers kan forekomme øget uspecifik farvning.

Inkubationstider eller -temperaturer andre end de specificerede kan give fejlagtige resultater. Alle sådanne ændringer skal valideres af brugeren.

## Kvalitetskontrol

Forskelle i behandlingen af væv og forskelle i tekniske procedurer i brugerens laboratorium kan frembringe betydeligt varierende resultater og nødvendiggøre regelmæssig udførelse af kontroller på stedet ud over nedenstående procedurer.

Kontrollerne skal være friske autopsier/biopsier/kirurgiske prøver fikseret i formalin og behandlet og indstøbt i paraffin så hurtigt som muligt på samme måde som patientprøver.

## Positiv Vævskontrol

Anvendes til påvisning af, at vævet er fremstillet korrekt, og at der er anvendt korrekte farvningsteknikker.

Der bør inkluderes en positiv vævskontrol for hvert sæt testbetingelser i hver farvekørsel.

Svagt positivt farvet væv er mere egnet end kraftigt positivt farvet væv til optimal kvalitetskontrol og påvisning af små niveauer af reagensnedbrydning.<sup>2</sup>

Anbefalet positivt kontrolvæv er tonsil.

Hvis den positive vævskontrol ikke udviser positiv farvning, skal resultater af testprøverne kasseres.

## Negativ Vævskontrol

Skal undersøges efter den positive vævskontrol for at sikre, at det primære antistof mærker målantigenet specifikt.

Det anbefalede negative kontrolvæv er follikelceller i thyreoidea.

Alternativt frembyder de mange forskellige celletyper, der er til stede i de fleste vævssnit, ofte negative kontrolsteder, men dette skal verificeres af brugeren.

Uspecifik farvning har, hvis til stede, ofte et diffus udseende. Sporadisk farvning af bindevæv kan ligeledes observeres i vævssnit af væv, der er fikseret for kraftigt i formalin. Anvend intakte celler til fortolkning af farvningsresultaterne. Nekrotiske eller degenererede celler farves ofte mere uspecifikt.<sup>3</sup> Der kan eventuelt ses falske positive resultater, der skyldes non-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter. Dette kan ligeledes skyldes endogene enzymer, såsom pseudoperoxidase (erythrocytter), endogen peroxidase (cytochrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) afhængigt af den anvendte type immunfarve. For at differentiere mellem endogen enzymaktivitet eller uspecifik enzymbinding og specifik immunreaktivitet kan yderligere patientvæv eventuelt farves udelukkende med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, mærket polymer) og substratkromogen. Hvis der optræder specifik farvning i den negative vævskontrol, skal resultaterne af patientprøverne kasseres.

## Negativ Reagenskontrol

Anvend en uspecifik negativ reagenskontrol i stedet for det primære antistof på et vævssnit af hver patientprøve for at vurdere uspecifik farvning og muligvis bedre fortolkning af specifik farvning på antigenstedet.

## Patientvæv

Eksaminer patientprøver farvet med NCL-L-KAP-581 sidst. Intensiteten af positiv farvning bør vurderes i sammenhæng med eventuel uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. Som med alle immunhistokemiske tests betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev påvist. Ikke at antigenet var fraværende i de analyserede celler eller det analyserede væv. Om nødvendigt anvendes et panel af antistoffer til identifikation af falske negative reaktioner.

## Forventede Resultater

### Normalt væv

Klon CH15 detekterede kappa letkædeproteinet i cytoplasmaet og på membranen af plasmaceller. Udover plasmaceller i væv, hvor de forekommer, blev kappa-letkædeproteinet ligeledes detekteret i en række forskelligt væv inklusive colon (epitel), tyndtarm (epitel), cerebellum (glia-celler), nyre (tubuli, glomeruli), binyrkekirtel, pankreas (acini, gange), lunge (alveolære celler, makrofager), lever (hepatocytter), mave (epitel), esophagus (epitel), milt (plasmaceller), ovarie (stroma), cervix (epitel), uterus (endometrie stroma), testis (tubuli, Leydigs celler), prostata (acini, stroma), thymus, bryst (gangepitel), hypofyse, knoglemarv, appendix (mesotel), skeletmuskel, hjerte, navlestreng (mesotel) og tonsil (germinalcentre, plasmaceller, mantlezone-lymfocytter). (Antal farvede tilfælde i alt = 50).

### Tumorvæv

Klon CH15 detekterede kappa letkædeproteinet i 53/67 evaluerede hæmatologiske maligniteter, inklusive 13/13 diffuse store B-cellelymfomer, 11/12 Hodgkins lymfomer, 7/7 follikellymfomer, 5/6 uspecificerede B-cellelymfomer, 4/6 mantlecelle-lymfomer, 3/6 perifer T-cellelymfomer, 2/3 akutte lymfocytleukæmier, 2/2 anaplastiske storcellede lymfomer, 2/2 MALTomas, 1/1 Burkitt-lymfom, 1/1 angioimmunoblastisk T-cellelymfom, 1/1 NK/T-cellelymfom, 1/1 uspecificeret malignt lymfoblastisk lymfom, 0/3 uspecificeret T-cellelymfom, 0/2 uspecificeret lymfom og 0/1 uspecificeret non-Hodgkins lymfom. Bortset fra infiltrering af lymfocytter blev kappa-letkæde ligeledes detekteret i 57/62 non-lymfoide maligniteter inklusive 6/6 ovarietumorer, 6/6 lungetumorer, 6/6 sarkomer, 4/4 brysttumorer, 4/4 neuroendokrine tumorer, 4/4 nyretumorer, 3/3 levertumorer, 3/3 blæretumorer, 3/3 adrenale tumorer, 3/3 endometrietumorer, 1/3 kimmelceller, 2/2 pankreastumorer, 2/2 pladecellecarcinomer, 2/2 thyreoidea tumorer, 2/2 prostatatumorer, 1/1 kolontumor, 1/1 tumor i tyndtarm, 1/1 mavetumor, 1/1 nervetumor, 1/1 hudtumor og 1/1 unormal prostata. Der blev ikke detekteret farvning i melanomer (0/2) og thymustumorer (0/1). (Antal farvede tilfælde i alt = 129).

**NCL-L-KAP-581 anbefales til påvisning af humant kappa let kæde-protein i normale og neoplastiske væv, som et hjælpemiddel til traditionel histopatologi ved brug af ikke-immunologiske histokemiske farvninger.**

## Generelle Begrænsninger

Immunhistokemi er en diagnostisk proces bestående af mange trin, der omfatter specialiseret uddannelse i valg af passende reagenser, vævsselektion, -fiksering og -behandling samt fremstilling af IHC-objektglas og fortolkning af farvningsresultaterne.

Vævsfarvning er afhængig af håndteringen og behandlingen af vævet inden farvning. Forkert fiksering, frysnings, optøning, vask, tørring, opvarmning, sektionering eller kontaminering med andet væv eller andre væsker kan frembringe artefakter, indfangning af antistof eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variationer i fikserings- og indstøbningsmetoder eller irregulart indeholdt i vævet.<sup>4</sup>

For kraftig eller ukomplet kontrastfarvning kan gøre korrekt fortolkning af resultaterne vanskelig.

Klinisk fortolkning af farvning eller mangel derpå skal suppleres med morfologiske undersøgelser under anvendelse af passende kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog. Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd er som angivet beregnet til anvendelse på enten frosne eller paraffinindstøbte vævssnit med specifikke krav til fiksering. Der kan forekomme uventet antigenekspresion, navnlig i neoplasmer. Den kliniske fortolkning af alle farvede vævssnit skal indbefatte morfologisk analyse og evaluering af passende kontroller.

### **Bibliografi - Generelt**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. *Journal of Molecular Recognition*. 2002; 15:248–259.

### **Rettelser Til Tidligere Udgave**

Ingen rettelser.

### **Udgivelsesdato**

14 november 2018

# Novocastra™ vloeibaar monoklonaal muisantilichaam

## Kappa Light Chain

Productcode: NCL-L-KAP-581

### Beoogd gebruik

Voor gebruik bij in-vitrodiagnostiek

NCL-L-KAP-581 is bedoeld voor de kwalitatieve identificatie, door middel van lichtmicroscopie, van kappa lichte keten-moleculen in paraffinecoupes. De klinische interpretatie van elke kleuring of het ontbreken hiervan moet worden aangevuld door morfologische studies met de juiste controles en moet binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests worden geëvalueerd door een bevoegd patholoog.

### Principe van de procedure

Immunohistochemische (IHC) kleuringstechnieken maken het mogelijk om antigenen te visualiseren via de sequentiële toepassing van een specifiek antilichaam op het antigeen (primair antilichaam), een secundair antilichaam op het primaire antilichaam en een enzymcomplex met een chromogeen substraat met ingevoegde wasstappen. De enzymatische activering van het chromogeen resulteert in een zichtbaar reactieproduct op de antigeenplaats. Het monster kan dan worden tegengekleurd en met een dekglasje worden bedekt. De resultaten worden geïnterpreteerd met behulp van een lichtmicroscopie en helpen bij de differentiële diagnose van pathofysiologische processen, die al dan niet met een bepaald antigeen kunnen worden geassocieerd.

### Kloon

CH15

### Immunogeen

Prokaryotisch recombinant eiwit dat overeenkomt met 106 aminozuren van het humane kappa lichte keten-molecuul.

### Specificiteit

Humane kappa lichte keten

### Reagenssamenstelling

NCL-L-KAP-581 is a liquid tissue culture supernatant containing sodium azide as a preservative.

### Ig-klasse

IgG1

### Totale eiwitconcentratie

Total Protein

1,0-8,0 Zie het etiket van de flacon voor de totale eiwitconcentratie van de partij.

### Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 125 mg/L zoals bepaald door ELISA. Zie het flaconlabel voor specifieke Ig-concentratie van de partij.

### Aanbevelingen voor het gebruik

Immunohistochemie op paraffinecoupes.

Door enzymen geïnduceerde epitooopversterking (EIER: Enzyme Induced Epitope Retrieval): Volg de aanwijzingen voor gebruik in Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Vorgestelde verdunning: 1:200 gedurende 30 minuten bij 25°C. Dit is een richtsnoer en gebruikers moeten zelf de voor hen optimale werkverdunding bepalen.

Visualisatie. Volg de instructies voor gebruik in de Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) of RE7290-K (50 tests).

### Opslag en stabiliteit

Bewaar bij 2–8°C. Niet invriezen. Direct na gebruik weer bij 2–8°C opslaan. Niet gebruiken na de vervaldatum die op het etiket van de flacon staat. Andere dan de hierboven genoemde opslagcondities moeten door de gebruiker worden geverifieerd.

### Monsterpreparatie

Het aanbevolen fixatief is 10% neutraal gebufferde formaline voor in paraffine ingebedde weefselcoupes.

### Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Dit reagens is bereid uit het supernatant van celkweek. Aangezien dit een biologisch product is, moet redelijke voorzichtigheid worden betracht bij het hanteren ervan.

De molariteit van natriumazide in dit reagens is 15 mM. Er is op verzoek een veiligheidsinformatieblad (VIB) beschikbaar voor natriumazide.

Raadpleeg de nationale, regionale en plaatselijke voorschriften voor het afvoeren van potentieel giftige componenten.

Specimens, zowel voor als na de fixatie, en alle materialen die eraan worden blootgesteld, moeten worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en met inachtneming van de juiste voorzorgsmaatregelen worden afgevoerd.<sup>1</sup> Pipetteer reagentia nooit met de mond en vermijd dat de huid en slijmvliezen in aanraking komen met reagentia en specimens. Indien reagentia of monsters in aanraking komen met gevoelige gebieden, moet u deze wassen met een overvloedige hoeveelheid water. Raadpleeg een arts.

Minimaliseer de kans op microbiële contaminatie van reagentia omdat hierdoor de niet-specifieke kleuring kan toenemen.

Andere incubatietijden of temperaturen dan hierin vermeld, kunnen onjuiste resultaten opleveren. Dergelijke wijzigingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

## Kwaliteitscontrole

Verschillen in weefselbewerking en technische procedures in het laboratorium van de gebruiker kunnen tot aanzienlijke variabiliteit in de resultaten leiden, waardoor het nodig is om regelmatig interne controles uit te voeren in aanvulling op de volgende procedures.

Controles zijn verse autopsie-/biopsie-/chirurgische monsters die zo snel mogelijk en op dezelfde manier als het monster of de monsters van de patiënt zijn gefixeerd in formaline, bewerkt en ingebed in paraffinewas.

## Positieve weefselcontrole

Wordt gebruikt om aan te geven dat weefsels correct geprepareerd zijn en dat passende kleuringstechnieken zijn gebruikt.

Voor elke testvoorwaarden in elke kleuringsrun moet één positieve weefselcontrole worden opgenomen.

Voor optimale kwaliteitscontrole en detectie van lichte degeneratie van het reagens is een weefsel met zwakke positieve kleuring meer geschikt dan een weefsel met sterke positieve kleuring.<sup>2</sup>

Aanbevolen positief controleweefsel is tonsil.

Als de positieve weefselcontrole geen positieve kleuring vertoont, moeten de resultaten die met testmonsters zijn verkregen als ongeldig worden beschouwd.

## Negatieve weefselcontrole

De negatieve weefselcontrole moet na de positieve weefselcontrole worden onderzocht om de specificiteit van de labeling van het doelantigeen door het primaire antilichaam te verifiëren.

Aanbevolen negatief controleweefsel zijn folliculaire cellen van de schildklier.

Aan de andere kant levert de verscheidenheid aan diverse celtypen die in de meeste weefselcoupes aanwezig zijn, vaak negatieve controlelocaties op, maar dit moet wel worden geverifieerd door de gebruiker.

Niet-specifieke kleuring, indien aanwezig, ziet er doorgaans diffuus uit. Een sporadische kleuring van bindweefsel kan ook worden waargenomen in coupes van bovenmatig in formaline gefixeerde weefsels. Gebruik intacte cellen voor het interpreteren van kleuringresultaten. Necrotische of gedegenererde cellen kleuren vaak niet-specifiek.<sup>3</sup> Fout-positieve resultaten kunnen optreden als gevolg van niet-immunologische binding van eiwitten of substraatreactieproducten. Ze kunnen ook worden veroorzaakt door endogene enzymen zoals pseudoperoxidase (erythrocyten), endogene peroxidase (cytochroom c) of endogene biotine (bv. lever, borst, hersenen, nier), afhankelijk van het gebruikte type immunokleuring. Om activiteit van endogene enzymen of niet-specifieke binding van enzymen te onderscheiden van specifieke immunoreactiviteit, kunnen aanvullende patiëntweefsels worden gekleurd met respectievelijk uitsluitend substraatchromogeen of enzymcomplexen (avidine-biotine, streptavidine, gelabeld polymeer) en substraatchromogeen. Als er specifieke kleuring optreedt in de negatieve weefselcontrole, moeten resultaten met de patiëntmonsters als ongeldig worden beschouwd.

## Negatieve reagenscontrole

Gebruik een niet-specifieke negatieve reagenscontrole van het primaire antilichaam met een coupe van elk patiëntspecimen om niet-specifieke kleuring te evalueren en specifieke kleuring op de antigenelocatie beter te kunnen interpreteren.

## Patiëntweefsel

Onderzoek de patiëntmonsters die met NCL-L-KAP-581 zijn gekleurd als laatste. De intensiteit van de positieve kleuring moet worden geëvalueerd binnen de context van niet-specifieke achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Zoals bij elke immunohistochemische test betekent een negatief resultaat dat het antigeen niet is gedetecteerd. Het betekent niet dat het antigeen afwezig was in de onderzochte cellen of het onderzochte weefsel. Gebruik zo nodig een panel antilichamen om fout-negatieve reacties te identificeren.

## Verwachte resultaten

### Normale weefsels

Kloon CH15 detecteerde het kappa licht keten-eiwit in het cytoplasma en op het membraan van plasmacellen. Naast plasmacellen in weefsels, waar aanwezig, werd het kappa licht keten-eiwit ook gedetecteerd in verschillende weefsels inclusief dikke darm (epitheel), dunne darm (epitheel), cerebellum (kiemcellen), nier (tubuli, glomeruli), bijnier, pancreas (acini, gangen), longen (alveolaire cellen, macrofagen), lever (hepatocyten), maag (epitheel), slokdarm (epitheel), milt (plasmacellen), eierstokken (stroma), cervix (epitheel), baarmoeder (endometrische stroma), testis (tubuli, Leydig-cellen), prostaat (acini, stroma), thymus, borst (ductaal epitheel), hypofyse, beenmerg, appendix (mesothelium), skeletspieren, hart, navelstreng (mesothelium) en tonsil (kiemcentra, plasmacellen, mantelzone lymfocyten). (Totaal aantal gevallen dat werd gekleurd = 50).

### Afwijkende weefsels

Kloon CH15 detecteerde het kappa licht keten-eiwit in 53/67 geëvalueerde hematologische maligniteiten, inclusief 13/13 diffuse grootcellige B-cellymomen, 11/12 Hodgkin-lymfomen, 7/7 folliculaire lymfomen, 5/6 ongespecificeerde B-cellymomen, 4/6 mantelcellilymomen, 3/6 perifere T-cellymomen, 2/3 acute lymfatische leukemieën, 2/2 anaplastische grootcellige lymfomen, 2/2 MALTomas, 1/1 Burkitt-lymfomen, 1/1 angioimmunoblastische T-cellymomen, 1/1 NK/T-cellymomen 1/1 ongespecificeerde kwaadaardige lymfoblastisch lymfomen, 0/3 ongespecificeerde T-cellymomen, 0/2 ongespecificeerde lymfom en 0/1 ongespecificeerde niet-Hodgkin-lymfom. Uitgezonderd infiltrerende lymfocyten werd de kappa lichte keten ook waargenomen in 57/62 niet-lymfoïde maligniteiten inclusief 6/6 eierstoktumoren, 6/6 longtumoren, 6/6 sarcomen, 4/4 borsttumoren, 4/4 neuro-endocriene tumoren, 4/4 niertumoren, 3/3 levertumoren, 3/3 blaastumoren, 3/3 bijnier tumoren, 3/3 endometrische tumoren, 1/3 geslachtsceltumoren, 2/2 pancreastumoren, 2/2 plaveiselcelcarcinomen, 2/2 schildkliertumoren, 2/2 prostaatumoren, 1/1 dikke darmtumoren, 1/1 dunne darmtumoren, 1/1 maagtumoren, 1/1 neurale tumoren, 1/1 huidtumoren en 1/1 afwijkende prostaat. Er werd geen kleuring waargenomen in melanomen (0/2) en thymustumoren (0/1). (Totaal aantal gekleurde monsters = 129).

**NCL-L-KAP-581 wordt aanbevolen voor het detecteren van humaan kappa licht chain-eiwit in normale en neoplastische weefsels, als aanvulling op conventionele histopathologie waarbij niet-immunologische histochemische kleuringen worden gebruikt.**

## Algemene beperkingen

Immunohistochemie (IHC) is een diagnostisch meerstapsproces waarvoor een gespecialiseerde opleiding nodig is in het kiezen van de juiste reagentia, het selecteren, fixeren en bewerken van weefsel, het prepareren van IHC-objectglasjes en het interpreteren van de kleuringresultaten.

Weefselkleuring is afhankelijk van de manier waarop het weefsel vóór de kleuring wordt behandeld en bewerkt. Verkeerd fixeren, invriezen, ontdooien, wassen, drogen, verwarmen, snijden, of contaminatie met andere weefsels of vloeistoffen kan tot artefacten, insluiting van antilichamen of fout-negatieve resultaten leiden. Inconsistente resultaten kunnen te wijten zijn aan variaties in de fixatie- en inbeddingsmethodes, of aan intrinsieke onregelmatigheden in het weefsel.<sup>4</sup>

Een te sterke of onvolledige tegenkleuring kan een juiste interpretatie van de resultaten bemoeilijken of onmogelijk maken.

De klinische interpretatie van elke kleuring of het ontbreken hiervan moet worden aangevuld door morfologische studies met de juiste controles en moet binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests worden geëvalueerd door een bevoegd patholoog.

Antilichamen van Leica Biosystems Newcastle Ltd zijn bedoeld voor gebruik, zoals aangegeven, op bevroren of in paraffine ingebedde coupes die een specifieke fixatie vereisen. Er kan onverwachte antigeenexpressie optreden, met name bij neoplasmata. De klinische interpretatie van gekleurde weefselcoupes moet een morfologische analyse en de evaluatie van overeenkomstige controles bevatten.

### **Literatuurlijst – algemeen**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

### **Aanpassingen ten opzichte van de vorige uitgave**

Niet van toepassing

### **Datum uitgave**

14 november 2018



# Novocastra™ flytende murint monoklonalt antistoff

## Kappa Light Chain

### Produktkode: NCL-L-KAP-581

#### Tiltent bruk

Til in vitro-diagnostisk bruk.

NCL-L-KAP-581 skal brukes til kvalitativ identifikasjon av kappalyskjede-molekyler i parafinsnitt ved lysmikroskopering. Den kliniske tolkningen av en farging eller uteblitt farging skal suppleres av morfologiske studier ved bruk av riktige kontroller og skal evalueres av en kvalifisert patolog innenfor sammenhengen av pasientens kliniske historie og andre diagnostiske tester.

#### Prinsipp for prosedyren

Teknikker for immunhistokjemisk (IHC) farging muliggjør visualisering av antigener via sekvensiell applikasjon av et spesifikt antistoff på antigenet (primært antistoff), et sekundært antistoff på det primære antistoffet og et enzymkompleks med et kromogen substrat med mellomliggende vasketrinn. Den enzymatiske aktiveringen av kromogenet resulterer i et synlig reaksjonsprodukt på antigenstedet. Prøven kan deretter kontrastfarges og påføres dekkglass. Resultatene tolkes ved hjelp av lysmikroskop og bidrar til differensialdiagnosen for patofysiologiske prosesser, som kan være tilknyttet et spesielt antigen eller ikke.

#### Klon

CH15

#### Immunogen

Prokaryotisk rekombinant protein tilsvarende 106 aminosyrer av det humane kappalyskjede-molekylet.

#### Spesifisitet

Human kappalyskjede

#### Reagenssammensetning

NCL-L-KAP-581 er en flytende vevskultursupernatant som inneholder natriumazid som konserveringsmiddel.

#### Ig-klasse

IgG1

#### Totalproteinkonsentrasjon Total Protein

1,0–8,0 g/l. Se etiketten på hetteglasset for partispesifikk totalproteinkonsentrasjon.

#### Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 125 mg/l som fastslått av ELISA. Se etiketten på hetteglasset for batchspesifikk Ig-konsentrasjon.

#### Anbefalinger for bruk

Immunhistokjemi på parafinsnitt.

Enzymindusert epitopgjenvinning (EIER): Følg bruksanvisningen for Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Foreslått fortykning: 1:200 i 30 minutter ved 25 °C. Dette er kun veiledende, og brukerne bør fastslå egne optimale fortykninger for sitt arbeid.

Visualisering. Følg bruksanvisningen for Novolink™ polymerdeteksjonssystemer, RE7280-K (1250 tester), RE7150-K (500 tester), RE7140-K (250 tester) eller RE7290-K (50 tester).

#### Oppbevaring og stabilitet

Oppbevar ved 2–8 °C. Må ikke fryses. Returner til 2–8 °C umiddelbart etter bruk. Må ikke brukes etter utløpsdatoen som er angitt på etiketten på hetteglasset. Andre oppbevaringsforhold enn de som er angitt ovenfor, må verifiseres av brukeren.

#### Prøveklargjøring

Anbefalt fiksativ er 10 % nøytralt bufret formalin for parafininnstøpte vevsnett.

#### Advarsler og forholdsregler

Dette reagenset ble fremstilt fra supernatanten fra cellekultur. Ettersom det er et biologisk produkt, må det utvises rimelig forsiktighet når det håndteres.

Molariteten av natriumazid er 15 mM. Et sikkerhetsdatablad (SDS) er tilgjengelig på forespørsel for natriumazid.

Se lokale, regionale eller statlige forskrifter for avhending av potensielt toksiske komponenter.

Prøver, før og etter fiksering, og alle materialer som utsettes for dem, skal håndteres som smittefarlige og avhendes etter egnede forholdsregler.<sup>1</sup> Pipetter aldri reagenser via munnen og unngå kontakt med hud og slimhinner med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skyll med rikelige mengder vann. Oppsøk lege.

Minimer mikrobiell kontaminering av reagenser, ellers kan det forekomme en økning i ikke-spesifikk farging.

Andre inkubasjonstider eller temperaturer enn de som er spesifisert, kan gi feilaktige resultater. Enhver slik endring må valideres av brukeren.

## Kvalitetskontroll

Forskjeller i vevprosessering og tekniske prosedyrer i brukerens laboratorium kan frembringe signifikant variasjon i resultatene og gjør det påkrevd med regelmessige interne ytelseskontroller i tillegg til følgende prosedyrer.

Kontroller skal være ferske prøver fra obduksjon/biopsi/kirurgi, som er formalinfiksert, behandlet og parafinvoksinntøpt så snart som mulig på samme måte som pasientprøven(e).

## Positiv vevkontroll

Brukes for å indikere riktig klargjorte vev og riktige fargingsteknikker.

En positiv vevkontroll bør inkluderes for hvert sett med testbetingelser i hver fargerunde.

Svakt positivt farget vev er mer egnet enn kraftig positivt farget vev til optimal kvalitetskontroll og påvisning av små nivåer reagensnedbrytning.<sup>2</sup>

Anbefalt positivt kontrollvev er mandel.

Hvis den positive vevkontrollen ikke gir positiv farging, skal resultater med testprøvene betraktes som ugyldige.

## Negativ vevkontroll

Skal undersøkes etter den positive vevkontrollen for å verifisere spesifisiteten i merkingen av målantigenet med det primære antistoffet. Anbefalt negativt kontrollvev er follikulære celler i skjoldbruskkjertel.

Alternativt gir variasjonen av forskjellige celletyper som kan finnes i de fleste vevsniitt ofte rom for negativ kontroll, men dette må verifiseres av brukeren.

Ikke-spesifikk farging, hvis dette forekommer, har vanligvis et diffus utseende. Sporadisk farging av bindevev vil også kunne observeres i vevsniitt som er fiksert i for mye formalin. Bruk intakte celler til tolkning av fargingsresultater. Nekrotiske eller degenererte celler farger ofte uspesifikt.<sup>3</sup> Falske positive resultater kan sees på grunn av ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan også forårsakes av endogene enzymer slik som pseudoperoksidase (erythrocytter), endogen peroksidase (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) avhengig av type immunfarging som brukes. For å differensiere endogen enzymaktivitet eller ikke-spesifikk binding av enzymer fra spesifikk immunreaktivitet kan ekstra pasientvev farges eksklusivt med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, merket polymer) og substratkromogen. Hvis det forekommer spesifikk farging i de negative vevkontrollene, skal resultater med pasientprøvene betraktes som ugyldige.

## Negativ reagenskontroll

Bruk en uspesifikk negativ reagenskontroll i stedet for det primære antistoffet med et snitt av hver pasientprøve for å evaluere uspesifikk farging og gi bedre mulighet for tolkning av den spesifikke fargingen på antigenstedet.

## Pasientvev

Undersøk pasientprøver farget med NCL-L-KAP-581 sist. Positiv fargingsintensitet skal vurderes i lys av eventuell ikke-spesifikk bakgrunnsfarging i den negative reagenskontrollen. På samme måte som for alle andre immunhistokjemiske tester betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet ikke var til stede i cellene / det analyserte vevet. Om nødvendig, skal det brukes et panel med antistoffer til å identifisere falske negative reaksjoner.

## Forventede resultater

### Normale vev

Klon CH15 detekterte kappa lyskjede-proteinet i cytoplasma og på membranen til plasmaceller. I tillegg til plasmakeller i vev, hvor det var tilstede, ble kappalettkjede-proteinet også detektert i en rekke vev, inkludert tykktarm, tarm (epitel), cerebellum (glialceller), nyre (tubuli, glomeruli), binyrkjertel, bukspyttkjertel (akin, kanaler), lunge (alveolære celler, makrofager), lever (hepatocytter), mage (epitel), spiserør (epitel), milt (plasmaceller), eggstokk (stroma), livmorhals (epitel), livmor (endometrial stroma), testikler (tubuli, Leydig-celler), prostata (acini, stroma), tymus, bryst (duktalt epitel), hypofyse, beinmarg, blindtarm (mesotelium), skjelettuskulatur, hjerte, navlestreng (mesotelium) og mandel (germinalsentre, plasmaceller, mantelsone-lymfocytter). (Totalt antall tilfeller som ble farget = 50).

### Unormale vev

Klon CH15 påviste kappalyskjede-proteinet i 53/67 hematologiske evaluerte maligniteter, inkludert 13/13 diffuse store B-cellelymfomer, 11/12 Hodgkins lymfomer, 7/7 follikulære lymfomer, 5/6 uspesifiserte B-cellelymfomer, 4/6 mantelcellelymfomer, 3/6 perifere T-cellelymfomer, 2/3 akutt lymfocytisk leukemi, 2/2 anaplastiske storcellelymfomer, 2/2 MALTomer, 1/1 Burkitts lymfom, 1/1 angioimmunoblastisk T-cellelymfom, 1/1 NK/T-cellelymfom, 1/1 uspesifisert ondartet lymfoblastisk lymfom, 0/3 uspesifisert T-cellelymfom, 0/2 uspesifisert lymfom og 0/1 uspesifisert ikke-Hodgkins lymfom. Med unntak av infiltrerende lymfocytter ble kappalyskjede også påvist i 57/62 ikke-lymfoide maligniteter, inkludert 6/6 eggstokktumorer, 6/6 lungetumorer, 6/6 sarkomer, 4/4 brysttumorer, 4/4 nevendokrine tumorer, 4/4 nyretumorer, 3/3 levertumorer, 3/3 blæretumorer, 3/3 adrenale tumorer, 3/3 endometriale tumorer, 1/3 kimmelcelletumorer, 2/2 bukspyttkjerteltumorer, 2/2 skvamøse cellekarsinomer, 2/2 skjoldbruskkjerteltumorer, 2/2 prostatatumorer, 1/1 kolontumor, 1/1 tarmtumor, 1/1 magetumor, 1/1 nevraltumor, 1/1 hudtumor og 1/1 unormal prostata. Ingen farging ble påvist i melanomer (0/2) og tymustumorer (0/1). (Totalt antall fargede tilfeller = 129).

**NCL-L-KAP-581 anbefales for deteksjon av humant kappa lyskjede-protein i normalt og neoplastisk vev, i tillegg til konvensjonell histopatologi med bruk av ikke-immunologiske histokjemiske farger.**

## Generelle begrensninger

Immunhistokjemi er en flertrinns diagnostisk prosess som krever spesialisert opplæring i valg av egnede reagenser, valg, fiksering og behandling av vev, klargjøring av IHC-objektglass og tolkning av fargingsresultater.

Vevfargingen er avhengig av håndteringen og behandlingen av vevet før det farges. Uriktig fiksering, dyppfrysing, opptining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminering med annet vev eller væsker kan frembringe artefakter, fanging av antistoff eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstappingsmetoder eller uregelmessigheter i vevet.<sup>4</sup> Overdreven eller ufullstendig kontrasfarging kan hindre riktig tolkning av resultater.

Den kliniske tolkningen av en farging eller uteblitt farging skal suppleres av morfologiske studier ved bruk av riktige kontroller og skal evalueres av en kvalifisert patolog innenfor sammenhengens av pasientens kliniske historie og andre diagnostiske tester. Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd er til bruk, som indisert, på enten frosne eller parafininntøpte snitt med spesifikk fikseringskrav. Det kan forekomme uventet antigenuttrykk, spesielt i neoplasmer. Den kliniske tolkningen av ethvert farget vevsniitt må inkludere morfologisk analyse og evaluering av egnede kontroller.

## **Bibliografi – generelt**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

## **Endringer på tidligere utgave**

Ikke relevant

## **Utstedelsesdato**

14 november 2018

# Novocastra™ Likit Monoklonal Fare Antikoru

## Kappa Light Chain

### Ürün Kodu: NCL-L-KAP-581

#### Kullanım Amacı

In vitro diagnostik kullanım içindir.

NCL-L-KAP-581, parafin bölümlerindeki kappa hafif zincir moleküllerinin ışık mikroskopisi ile nitel tanımlanması için tasarlanmıştır. Herhangi bir boyanmanın veya yokluğunun klinik yorumlaması hastanın klinik öyküsü ve diğer tanısal testler bağlamında nitelikli bir patoloji uzmanı tarafından değerlendirilmeli ve uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla desteklenmelidir.

#### İşlem Prensipleri

İmmünohistokimyasal (İHK) boyama teknikleri, antijene ardışık olarak belirli bir antikoron uygulanması (birincil antikor), birincil antikora ikincil bir antikoron uygulanması ve aralaradaki yıkama adımları ile, antijenlerin kromojenik substratlı bir enzim kompleksi yoluyla görselleştirilmesine olanak tanır. Kromojenin enzimle etkinleştirilmesi, antijen alanında gözle görüldür bir tepkiye yol açar. Numune daha sonra karşıt boyanabilir ve lamelle örtülebilir. Sonuçlar bir ışık mikroskobu kullanılarak yorumlanır ve belirli bir antijen ile ilişkili olabileceği veya olmayabilecek patofizyolojik süreçlerin ayrımı tanısına yardımcı olur.

#### Clone

CH15

#### İmmünojen

İnsan kappa hafif zincirin 106 aminoasidine karşılık gelen prokaryotik rekombinant protein.

#### Özgülük

İnsan kappa hafif zincir.

#### Reaktif Bileşimi

NCL-L-KAP-581, prezervatif olarak sodyum azit içeren supernatant bir likit doku kültürüdür.

#### Ig Sınıfı

IgG1

#### Toplam Protein Konsantrasyonu Total Protein

1,0–8,0. g/l. Lota özgülü toplam protein konsantrasyonu için flakon etiketine başvurun.

#### Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 125 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek. Seriyeye özgülü Ig konsantrasyonu için flakon etiketine bakın.

#### Kullanım Önerileri

Parafin kesitlerinde immünohistokimya.

Enzim ile Endüklenen Epitop Alımı (EIER): Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160–K içinde kullanım için lütfen talimatları takip edin.

Önerilen dilüsyon: 25°C'de 30 dakika boyunca 1:200. Bu, kılavuz olarak verilmiştir ve kullanıcılar kendi optimal çalışma seyreltilerini belirlemelidir.

Görüntüleme. Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 test), RE7150-K (500 test), RE7140-K (250 test) veya RE7290-K'de (50 test) kullanım için lütfen talimatları izleyin.

#### Saklama ve Stabilitate

2–8°C'de saklayın. Dondurmayın. Kullanımdan hemen sonra 2–8°C'ye geri alın. Flakon etiketinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Yukarıda belirtilenler dışında saklama koşulları kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

#### Numune Hazırlama

Parafine gömülü doku kesitleri için önerilen fiksatif %10 nötr tamponlanmış formalindir.

#### Yarılar ve Önemler

Bu reaktif hücre kültürü süpernatantından hazırlanmıştır. Biyolojik bir ürün olduğundan, elleçleme sırasında makul düzeyde dikkatli olunmalıdır.

Sodyum azitin molaritesi bu reaktifte 15 mM'dir. Sodyum azit için Malzeme Güvenlik Bilgileri Formu (MSDS), talep üzerine sağlanmaktadır.

Olası toksik bileşenlerin atılması ile ilgili yerel, bölgesel veya ulusal düzenlemelere başvurun.

Fiksasyondan önce ve sonra örnekler ve onlara maruz kalmış bütün materyaller, enfeksiyon yayılabileceği gibi işlem görmelidir ve gerekli önlemler alınarak atılmalıdır.<sup>1</sup> Reaktifleri hiçbir zaman ağızla pipetlemeyin. Cildin ve mukoz membranların reaktifler ve örneklerle temas etmesini önleyin. Reaktifler veya numuneler hassas bölgelere temas ederse bol miktarda suyla yıkayın. Tıbbi yardım isteyin. Reaktiflerin mikrobiyel kontaminasyonunu minimuma indirin yoksa nonspesifik boyanmada bir artış olabilir.

Belirtilenler dışındaki inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara yol açabilir. Bu tür değişiklikler kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

## Kalite Kontrol

Kullanıcının laboratuvarında doku işleme ve teknik işlemlerdeki farklar sonuçlarda önemli değişkenliğe neden olabilir ve aşağıdaki işlemlere ek olarak düzenli şekilde tesis içi kontrollerin kullanılmasını gerektirir.

Kontroller, hasta numunesi/numuneleriyle aynı şekilde mümkün olduğunca kısa süre içinde formalin fiksasyonlu, işlenmiş ve parafine gömülmüş taze otopsi/biyopsi/cerrahi materyal olmalıdır.

## Pozitif Doku Kontrolü

Doğru hazırlanmış dokuları ve uygun boyama tekniklerini belirtmek için kullanılır.

Her boyama döngüsünde her test koşulu setine bir pozitif doku kontrolü dahil edilmelidir.

Zayıf pozitif boyama yapılmış doku, optimal kalite kontrolü ve minör reaktif bozunma düzeylerini saptamak için güçlü pozitif boyama yapılmış dokudan daha uygundur.<sup>2</sup>

Önerilen pozitif kontrol dokusu bademciktir.

Eğer pozitif doku kontrolü pozitif boyanma göstermezse, test numunelerinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

## Negatif Doku Kontrolü

Primer antikör tarafından hedef antijenin etiketlenmesinin spesifikliğini doğrulamak için, pozitif doku kontrolünden sonra incelenmelidir. Önerilen negatif kontrol dokusu tiroidin foliküler hücreleridir.

Alternatif olarak çoğu doku kesitinde bulunan farklı hücre tiplerinin çeşitliliği sıklıkla negatif kontrol bölgeleri sunar ama bu durum kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Eğer varsa nonspesifik boyanmanın görünümü genellikle difüzdür. Aşırı formalin fiksasyonlu dokulardan kesitlerde bağ dokusunun sporadik boyanması da görülebilir. Boyanma sonuçlarının yorumlanması için sağlam hücreler kullanın. Nekrotik ve dejeneren hücreler genellikle spesifik olmayan şekilde boyanır.<sup>3</sup> Proteinlerin veya substrat reaksiyon ürünlerinin immünohistokimyasal olmayan bağlanması nedeniyle yanlış pozitif sonuçlar görülebilir. Bu sonuçlar ayrıca, kullanılan immün-boyaya bağlı olarak psödo peroksidad (eritrositler), endojen peroksidad (sitokrom C) veya endojen biotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) gibi endojen enzimlerden de kaynaklanabilir. Endojen enzim aktivitesini veya nonspesifik enzim bağlanmasını spesifik immünoreaktiveden ayırmak için ek hasta dokuları sırasıyla sadece substrat kromojen veya enzim kompleksleri (avidin-biotin, streptavidin, etiketli polimer) ve substrat kromojen ile boyanabilir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyanma olursa hasta numunelerinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

## Negatif Reaktif Kontrolü

Spesifik olmayan boyamayı değerlendirmek ve antijen bölgesinde spesifik boyanmayı daha iyi yorumlayabilmek için her hasta örneği kesitinde primer antikör yerine spesifik olmayan bir negatif reaktif kontrolü kullanın.

## Hasta Dokusu

NCL-L-KAP-581 ile boyanmış hasta numunelerini en son inceleyin. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün spesifik olmayan herhangi bir arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir. Her immünohistokimyasal testle olduğu gibi negatif bir sonuç antijenin saptanmadığı anlamına gelir ve antijenin çalışılan hücrelerde/dokuda bulunmadığı anlamına gelmez. Gerekirse yalnızca negatif reaksiyonları tanımlamak için bir antikör paneli kullanın.

## Öngörülen Sonuçlar

### Normal Dokular

CH15 klonu plazma hücrelerinin sitoplazmalarında ve membranlarındaki kappa hafif zincir tespit etmiştir. Dokulardaki plazma hücrelerine ek olarak, mevcut olduğu yerlerde, kappa hafif zincir proteini kolon (epitel), ince bağırsak (epitel), serebellum (glial hücreler), böbrek (tübüller glomerüller), adrenal bez, pankreas (asin, kanallar), akciğer (alveolar hücreler, makrofajlar), kaciğer (hepatositler), mide (epitel), özofagus (epitel), dalak (plazma hücreleri), yumurtalık (stroma), serviks (epitel), uterus (endometriyal stroma), testis (tübüller, Leydig hücreleri), prostat (asin, stroma), timus, meme (kanal epiteli), hipofiz bezi, kemik iliği, apandisit (mezotel), iskelet kası, kalp, göbek kordonu (mezotel) ve tonsil de (germinal merkezler, plazma hücreleri, mantle bölgesi lenfositleri) dahil olduğu çeşitli dokularda saptanmıştır. (Boyanan toplam vaka sayısı = 50).

### Anormal Dokular

Klon CH15, 13/13 difüz büyük B hücreli lenfoma, 11/12 Hodgkin lenfoması, 7/7 foliküler lenfoma, 5/6 belirtilmemiş B hücreli lenfoma, 4/6 mantle hücre lenfoması, 3/6 periferik T hücreli lenfoması, 2/3 akut lenfokistik lösemi, 2/2 anaplastik büyük hücre lenfoması, 2/2 MALToma, 1/1 Burkitt lenfoması, 1/1 anjiyoimmünoblastik T hücreli lenfoması, 1/1 NK/T hücreli lenfoması, 1/1 belirtilmemiş malignan lenfoblastik lenfoma, 0/3 belirtilmemiş T hücreli lenfoması, 0/2 belirtilmemiş lenfoma ve 0/1 belirtilmemiş Hodgkin olmayan lenfoma dahil olmak üzere değerlendirilen 53/67 hematolojik malignansilerde kappa hafif zincir proteini saptamıştır. İnfiltr eden lenfositler haricinde, 6/6 yumurtalık tümörü, 6/6 akciğer tümörü, 6/6 sarkom, 4/4 meme tümörü, 4/4 nöroendokrin tümörü, 4/4 böbrek tümörü, 3/3 akciğer tümörü, 3/3 mesane tümörü, 3/3 adrenal tümör, 3/3 endometriyal tümör, 1/3 germ hücreli tümörü, 2/2 pankreatik tümör, 2/2 skuamöz hücreli karsinom, 2/2 tiroid tümörü, 2/2 prostat tümörü, 1/1 kolon tümörü, 1/1 ince bağırsak tümörü, 1/1 mide tümörü, 1/1 nöral tümör, 1/1 cilt tümörü ve 1/1 anormal prostat da dahil olmak üzere 57/62 lenfoid olmayan malignanside kappa hafif zincir saptanmıştır. Melanomlarda (0/2) ve timus tümörlerinde (0/1) boyama saptanmadı. (Boyanan toplam vaka sayısı = 129).

**NCL-L-KAP-581, immünohistokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye ek olarak normal ve neoplastik dokularda insan kappa hafif zincir proteininin saptanması için önerilir.**

## Genel Sınırlamalar

İmmünohistokimya; uygun reaktiflerin seçimi, doku seçimi, fiksasyonu ve işlenmesi, IHC slaytının hazırlanması ve boyama sonuçlarının yorumlanması alanlarında özel eğitimden oluşan, çok adımlı bir diagnostik süreçtir.

Doku boyama, boyama öncesinde dokunun kullanımına ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer dokular veya sıvılarla kontaminasyon artefaktlara, antikör tutulmasına veya yalnızca negatif sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçlar, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki değişikliklerden ya da dokunun yapısından kaynaklanan düzensizliklerden kaynaklanabilir.<sup>4</sup>

Aşırı ya da tam olmayan karşıt boyama, sonuçların düzgün yorumlanmasını olumsuz etkileyebilir.

Herhangi bir boyanmanın veya yokluğunun klinik yorumlaması hastanın klinik öyküsü ve diğer tanısal testler bağlamında nitelikli bir patoloji uzmanı tarafından değerlendirilmeli ve uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla desteklenmelidir.

Leica Biosystems Newcastle Ltd'in antikorları, belirtilen şekilde, özel fiksasyon gereklilikleriyle parafine gömülü veya dondurulmuş kesitler üzerinde kullanılır. Özellikle neoplazmlarda beklenmeyen antijen ekspresyonu oluşabilir. Herhangi bir boyanmış doku kesitinin klinik yorumu morfolojik analizi ve uygun kontrollerin değerlendirilmesini içermelidir.

### **Kaynakça - Genel**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F, Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

### **Önceki Sayıya Göre Değişiklikler**

Geçerli Değildir

### **Yayın Tarihi**

14 Kasım 2018

# Течно мише моноклонално антитяло Novocastra™

## Kappa Light Chain

### Код на продукта: NCL-L-KAP-581

#### Предназначение

За употреба при in vitro диагностика.

Продуктът NCL-L-KAP-581 е предназначен за качествено идентифициране посредством оптична микроскопия на молекули с лека верига тип капа в парафинови срези. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

#### Принцип на процедурата

Техниките на имунохистохимично (ИHC) оцветяване позволяват визуализация на антигени чрез последователно приложение на специфично антитяло на антигена (първично антитяло), вторично антитяло на първичното антитяло и ензимен комплекс с хромогенен субстрат, с междинни стъпки на промиване. Ензимното активиране на хромогена води до видим реакционен продукт на мястото на антигена. След това може да се направи контраоцветяване на спесимена и да се постави покривно стъкло. Резултатите се интерпретират с използване на оптичен микроскоп и са в помощ при диференциалната диагностика на патолофизиологични процеси, които може да са или да не са свързани с определен антиген.

#### Клонинг

CH15

#### Имуноген

Прокариотен рекомбинантен протеин, съответстващ на 106 аминокиселини на човешка молекула с лека верига тип капа.

#### Специфичност

Човешка лека верига тип капа

#### Състав на реагента

NCL-L-KAP-581 е супернатантна течност от тъканна култура, съдържаща 15 mM натриев азид като консервант.

#### Имуноглобулинов клас

IgG1

#### Обща концентрация на протеин

Total Protein

1,0 – 8,0 g/L. Вижте етикета на флакона относно специфичната за партидата концентрация на общ протеин.

#### Концентрация на антитела

По-висока или равна на 125 mg/L, както е определено от ELISA. Вижте етикета на флакона относно специфичната за партидата концентрация на имуноглобулин.

#### Препоръки за употреба

Имунохистохимия върху парафинови срези.

Топлино индуцирано извличане на епитоп (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Следвайте инструкциите за употреба в Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC) RE7160-K.

Предложение за разреждане: 1:200 за 30 минути при температура 25 °C. Това е дадено като указание, като потребителите трябва сами да определят техни собствени оптимални работни разреждания.

Визуализиране. Следвайте инструкциите за употреба в Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 теста), RE7150-K (500 теста), RE7140-K (250 теста) или RE7290-K (50 теста).

#### Съхранение и стабилност

Съхранявайте при температура 2 – 8 °C. Не замразявайте. Да се върне на температура 2 – 8 °C веднага след употреба. Да не се използва след срока на годност, отбелязан върху етикета на флакона. Други условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя.

#### Подготовка на спесимени

Препоръчителният фиксиращ разтвор е неутрален буфериран формалин 10% за тъканни срези, вградени в парафин.

#### Предупреждения и предпазни мерки

Този реагент е приготвен от супернатант от клетъчна култура. Тъй като е биологичен продукт, необходимо е повишено внимание при работа с него.

Молярността на натриевия азид в този реагент е 15 mM. При поискване е налице информационен лист за безопасност на материалите (MSDS) за натриевия азид.

Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.

Всички спесимени преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тях, трябва да се третира като възможни преносители на инфекция и да се изхвърлят, като се вземат правилни предпазни мерки.<sup>1</sup> Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти и спесимени. При контакт на реагенти или спесимени с чувствителни зони измийте зоните с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.

Свеждайте до минимум микробната контаминация на реагентите, в противен случай може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване.

Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до грешни резултати. Всички подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

### Качествен контрол

Различията в обработката на тъканите и техническите процедури в лабораторията на потребителя могат да доведат до значително вариране на резултатите, налагащо редовно извършване на вътрешен контрол в допълнение към следните процедури.

Контролите трябва да са свежи спесимени, взети по време на аутопсия/биопсия/операция, фиксирани във формалин, обработени и вградени в парафинов восък, възможно най-бързо, по същия начин като проба(та) на пациента(ите).

### Позитивна тъканна контрола

Използва се, за да се покажат правилно приготвени тъкани и правилни техники на оцветяване.

Една позитивна тъканна контрола трябва да бъде включена за всеки сет с тестови условия при всяка серия проби за оцветяване.

Тъкан със слабо позитивно оцветяване е по-подходяща от тъкан със силно позитивно оцветяване за оптимален качествен контрол и за откриване на по-малки нива на деградация на реагента.<sup>2</sup>

Препоръчителната позитивна тъканна контрола е сливица.

Ако позитивната тъканна контрола не показва позитивно оцветяване, резултатите от спесимените, включени в теста, трябва да се считат за невалидни.

### Негативна тъканна контрола

Трябва да се изследва след позитивната тъканна контрола, за да се провери специфичността на белязването на целевия антиген от първичното антитяло.

Препоръчителната тъкан за негативна контрола е фоликуларни клетки от щитовидната жлеза.

Алтернативно, разнородието от различни видове клетки, присъстващи в повечето тъканни срези, често предлага места за негативна контрола, но това трябва да се провери от потребителя.

Неспецифичното оцветяване, ако присъства, обикновено е дифузно на вид. Спорадично оцветяване на съединителна тъкан може да се наблюдава и в части от прекомерно фиксирани във формалин тъкани. Използвайте интактни клетки за интерпретация на резултатите от оцветяването. Некротичните или дегенериралите клетки често се оцветяват неспецифично.<sup>3</sup>

Може да се видят неверни позитивни резултати поради неимунологично свързване на протеини или реакционни продукти на субстрата. Те може да са причинени и от ендогенни ензими, като например псевдопероксидаза (еритроцити), ендогенна пероксидаза (цитохром С) или ендогенен биотин (напр. черен дроб, гърда, мозък, бъбрек) в зависимост от типа на използваното имуно оцветяване. За диференциране на ендогенна ензимна активност или неспецифично ензимно свързване от специфична имунна реактивност ексклузивно може да се оцветят допълнителни тъкани от пациента, съответно със субстрат-хромоген или с ензимни комплекси (авидин-биотин, стрептавидин, маркиран полимер) и субстрат-хромоген. Ако се появи специфично оцветяване в негативната тъканна контрола, резултатите от спесимените на пациентите трябва да се считат за невалидни.

### Негативна контрола на реагента

Използвайте неспецифична негативна контрола на реагента, вместо първичното антитяло, със срез от всеки спесимен на пациента, за да се направи оценка на неспецифичното оцветяване и да се даде по-добра интерпретация на специфичното оцветяване на мястото на антигена.

### Тъкан от пациента

Изследвайте спесимените на пациенти, оцветени последно с NCL-L-KAP-581. Наситеността на позитивното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на негативната контрола на реагента. Както при всеки имунохистохимичен тест, един отрицателен резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът отсъства в анализираният клетък/тъкан. Ако се налага, използвайте панел от антитела за идентифициране на фалшиво отрицателни реакции.

### Очаквани резултати

#### Нормални тъкани

Клонинг CN15 открива протеина лека верига тип капа в цитоплазмата и на мембраната на клетките от плазмата. Освен в плазменни клетки в тъканите, в които е наличен, протеинът лека верига тип капа се открива и в редица тъкани, включително ободно черво (епител), тънки черва (епител), малък мозък (глиални клетки), бъбрек (тубули, гломерули), надбъбречна жлеза, панкреас (ацини, канали), бял дроб (алвеоларни клетки, макрофаги), черен дроб (хепатоцити), стомах (епител), хранопровод (епител), далак (плазмени клетки), яйчник (строма), цервикс (епител), макта (строма на ендометриума), тестис (канали, клетки на Лайдиг), простата (ацини, строма), тимус, гърда (дуктален епител), хипофизна жлеза, костен мозък, апендикс (мезотел), скелетен мускул, сърце, пъпна връв (мезотел) и сливица (зародишни центрове, плазмени клетки, лимфоцити от мантията). (Общ брой на оценените случаи = 50).

#### Абнормни тъкани

Клонинг CN15 открива протеина лека верига тип капа в 53/67 оценени хематологични злокачествени образувания, включително 13/13 дифузни едроклетъчни В-клетъчни лимфома, 11/12 лимфома на Ходжкин, 7/7 фоликуларни лимфома, 5/6 неопределени В-клетъчни лимфома, 4/6 мантелоклетъчни лимфома, 3/6 периферни Т-клетъчни лимфома, 2/3 остри лимфоцитни левкемии, 2/2 анапластични едроклетъчни лимфома, 2/2 MALTomas, 1/1 лимфома на Бъркит, 1/1 ангиоимунобластен Т-клетъчен лимфом, 1/1 NK/T-клетъчен лимфом, 1/1 неуточнен лимфобластен лимфом, 0/3 неуточнени Т-клетъчни лимфома, 0/2 неуточнени лимфома и 0/1 неуточнен неходжкинов лимфом. Освен инфилтриращите лимфоцити, леката верига тип капа се открива и в 57/62 нелимфоидни злокачествени образувания, включително 6/6 овариални тумора, 6/6 белодробни тумора, 6/6 саркоми, 4/4 тумора на гърдата, 4/4 невроендокринни тумора, 4/4 тумора на бъбреците, 3/3 тумора на черния дроб, 3/3 тумора на пикочния мехур, 3/3 адренални тумора, 3/3 тумора на ендометриума, 1/3 тумора на зародишните клетки, 2/2 тумора на панкреаса, 2/2 плоскоклетъчни карцинома, 2/2 тумора на щитовидната жлеза, 2/2 тумора на простатата, 1/1 тумор на ободното черво, 1/1 тумор на тънките черва, 1/1 тумор на стомаха, 1/1 неврален тумор, 1/1 кожен тумор и 1/1 абнормна простата. Не е открито оцветяване при меланоми (0/2) и тимусен тумор (0/1). (Общ брой на оценените случаи = 129).



**Продуктът NCL-L-KAP-581 се препоръчва за откриване на човешки протеин с лека верига тип капа в нормални и неопластични тъкани като допълнение към конвенционалната хистопатология с използване на неимунологични хистохимични оцветявания.**

### **Общи ограничения**

Имунохистохимията е многостъпков диагностичен процес, който се състои от специализирано обучение за избор на подходящи реагенти, избор на тъкани, фиксация и обработка, подготовка на ИНС предметно стъкло и интерпретация на резултатите от оцветяването.

Тъканното оцветяване зависи от боравенето с тъканта и нейната обработка преди оцветяването. Неправилната фиксация, замразяване, размразяване, промиване, изсушаване, затопляне, сръзване или контаминацията с други тъкани или течности може да причини поява на артефакти, блокиране на антителата или фалшиво отрицателни резултати. Несъответстващите резултати може да се дължат на вариации в методите на фиксация и вграждане или на присъща нерегулярност в тъканта.<sup>4</sup> Прекомерното или непълно контраоцветяване може да попречи на правилната интерпретация на резултатите.

Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

Антителата от Leica Biosystems Newcastle Ltd са предназначени за употреба, както е указано, върху замразени или вградени в парафин срези със специфични изисквания за фиксация. Възможно е да настъпи неочаквана антигенна експресия, особено при неоплазми. Клиничната интерпретация на всеки оцветен тъканен срез трябва да включва морфологичен анализ и оценката на подходящи контроли.

### **Библиография – основна**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramstand P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

### **Изменения на предишно издание**

Не е приложимо

### **Дата на издаване**

14 Ноември 2018

# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody

## Kappa Light Chain

Termékkód: NCL-L-KAP-581

### Alkalmazási terület

In vitro diagnosztikai használatra.

Az NCL-L-KAP-581 a kappa könnyűlánc molekulák fénymikroszkóppal végzett kvalitatív azonosítására szolgál paraffinos metszetekben. Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

### Az eljárás elve

Az immunhisztokémiai (immunohistochemical, IHC) megfestési technikák az antigén elleni specifikus antitest (elsődleges antitest), az elsődleges antitest elleni másodlagos antitest és egy enzim kromogén szubsztráttal alkotott komplexének egymás után következő alkalmazásán keresztül, közbeiktatott mosási lépések mellett lehetővé teszik az antigének megjelenítését. A kromogén enzimaktiválása látható reakcióterméket eredményez az antigén helyén. Ezután a minta kontrasztfesthető és lefedhető. Az eredmények fénymikroszkóp használatával értelmezhetők, majd segítségül használhatók a patofiziológias folyamatok differenciáldiagnózisa során, amely folyamatok az esetek egy részében konkrét antigénhez kapcsolódnak.

### Klón

CH15

### Immunogén

A humán kappa könnyűlánc molekula 106 aminosavának megfelelő prokarióta eredetű rekombináns fehérje.

### Specifikitás

Humán kappa könnyűlánc

### A reagens összetétele

Az NCL-L-KAP-581 tartósítószerként 15 mM nátrium-azidot tartalmazó folyékony szövetkultúra felülúszó.

### Ig-osztály

IgG1

### Összfehérje-koncentráció

Total Protein

1,0–8,0 g/l. A sarzsspecifikus összfehérje-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

### Antitest-koncentráció

Legalább 125 mg/l, ELISA módszerrel meghatározva. A sarzsspecifikus Ig-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

### Felhasználási javaslatok

Immunhisztokémia paraffinos metszeteken.

Enzimindukált epitópfeltárás (enzyme induced epitope retrieval, EIER). Kövesse a Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K használati útmutatóját.

Javasolt hígítás: 1:200, 30 percen át, 25 °C-on. Az adatok csak útmutatásul szolgálnak, a felhasználóknak kell meghatározniuk saját optimális munkadataikat.

Megjelenítés. Kövesse a Novolink™ Polymer Detection System RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests), illetve RE7290-K (50 tests) használati útmutatóját.

### Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. Tilos fagyaszteni. Felhasználás után azonnal tegye vissza 2–8 °C közötti hőmérsékletre. Ne használja az üveg címkéjén feltüntetett lejárati dátum után. A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell.

### A minták előkészítése

A javasolt fixálószer a paraffinba ágyazott szövetmetszeteknél 10%-os, semleges pufferolású formalin.

### Figyelmeztetések és óvintézkedések

Ez a reagens a sejtkultúra felülúszójából készült. Mivel biológiai termék, kezelésekor észszerű körültekintéssel kell eljárni.

A reagensben lévő nátrium-azid molaritása 15 mM. A nátrium-azidra vonatkozó anyagbiztonsági adatlapot (Material Safety Data Sheet, MSDS) igény esetén rendelkezésre bocsátjuk.

Minden potenciálisan toxikus összetevő ártalmatlanításával kapcsolatban kövesse a szövetségi, állami és helyi előírásokat.

A mintákat fixálás előtt és után, valamint a velük érintkező összes anyagot fertőtlenítésre képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani.<sup>1</sup> Soha ne pipettázza szájjal a reagenseket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet. Forduljon orvoshoz.

Minimálisan kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés.

A megadottaktól eltérő inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

## Minőség-ellenőrzés

A felhasználó laboratóriumában alkalmazott szövETFeldolgozási és technikai eljárások eltérései jelentős különbséget okozhatnak az eredményekben, ami az alábbi eljárásokon túl belső kontrollok rendszeres futtatását teszi szükségessé.

Kontrollként friss bronchialis/biopsziás/sebészeti mintákat kell használni, amelyekkel a lehető leghamarabb a betegmintákkal megegyező módon kell formalinban fixálni, feldolgozni és paraffiniaszba ágyazni.

## Posztív szövETkontroll

A megfelelő szövET-előkészítés és festési technikák ellenőrzésére használatos.

Minden tesztelési körülményegüttes esetében és minden megfestési sorozatban kell alkalmazni egy pozitív szövETkontrollt.

A gyengén pozitív festődésű szövET alkalmasabb az erősebben pozitív festődésű szövETnél az optimális minőség-ellenőrzéshez, valamint a kismértékű reagensbomlás észleléséhez.<sup>2</sup>

A javasolt pozitív kontrollszövetet a tonsilla.

Ha a pozitív szövETkontroll nem mutat pozitív festődést, a vizsgált minták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

## Negatív szövETkontroll

A pozitív szövETkontroll után azért kell megvizsgálni, hogy a vizsgált antigén elsődleges antitest segítségével történő jelölésének specificitását ellenőrizni lehessen.

A javasolt negatív kontrollszövetet a pajzsmirigy folliculáris sejtjei.

Ezenkívül a legtöbb szövETmetszetben jelen lévő különböző sejttypusok gyakran használhatók negatív kontrollként, de ezeket a felhasználónak kell ellenőrizni.

Ha van nem specifikus festődés, az rendszerint diffúz megjelenésű. A formalinban túlfixált szövETekből származó metszeteknél a kötőszövet szövETanyag festődése is megfigyelhető. A festési eredmények értelmezésére ép sejtet kell használni. A nekrotizált vagy degenerálódott sejtet gyakran nem specifikusan festődnek meg.<sup>3</sup> A fehérvérj vagy a szubsztrát reakciótermékeinek nem immunológiai kötődése miatt álpozitív eredmények jelentkezhetnek. Az alkalmazott immunfestés típusától függően álpozitív eredményeket okozhatnak olyan endogén enzimek is, mint a pszeudoperoxidáz (vörösvérsejtet), endogén peroxidáz (citokróm C), illetve endogén biotin (pl. máj, emlő, agy, vese). Az endogén enzim aktivitásának vagy az enzimek nem specifikus kötődésének a specifikus immunreakciótól való megkülönböztetésére további betegszövetek festhetők kizárólag szubsztrát–kromogén oldattal vagy enzimkomplexekkel (avidin-biotin, sztreptavidin, jelölt polimer) és szubsztrát–kromogénnel. Ha a negatív szövETkontroll specifikus festődést mutat, a betegminták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

## Negatív reagenskontroll

A nem specifikus festődés kiértékeléséhez és az antigén helyén létrejövő specifikus festődés jobb értelmezéséhez minden betegminta esetén egy metszeten alkalmazzon az elsődleges antitest helyett nem specifikus negatív reagenskontrollt.

## Betegszövet

Az NCL-L-KAP-581 reagenssel festett betegmintákat vizsgálja meg utolsóként. A pozitív festődés intenzitását a negatív reagenskontroll esetleges nem specifikus háttérfestődésének viszonylatában értékelje. Mint minden immunhisztokémiai vizsgálatnál, a negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható, nem pedig azt, hogy az antigén nem volt jelen a vizsgált sejtetben/szövetben. Szükség esetén az álnegatív reakciók azonosítására használjon antitestpanelt.

## Várható eredmények

### Normál szövETek

A CH15 kión kimutatta a kappa könnyűlánc fehérvérj a B-sejtvonal sejtjeinek citoplazmájában és membránján. Az adott szövETekben jelenlévő plazmasejtet mellett a kappa könnyűlánc fehérvérj kimutatták számos szövETben, beleértve a vastagbélben (epitélium), vékonybélben (epitélium), kisagyban (gliasejtet), vesében (tubulusok, glomerulusok), mellékvesében, hasnyálmirigyben (acinusok, vezeték), tüdőben (alveolusejtet, makrofágot), májban (hepatociták), gyomorban (epitélium), nyelcsőben (epitélium), lépben (plazmasejtet), petefészekben (sztróma), méhnyakban (epitélium), méhben (endometriális sztróma), herében (tubulusok, Leydig-sejtet), prosztátában (acinusok, sztróma), csécsemóirigyben, emlőben (duktális epitélium), agyalapi mirigyben, csontvelőben, vakbélben (mezotélium), vízvezetékben, szívben, köldökszínórban (mezotélium) és tonsillában (csírákozópontok, plazmasejtet, a köpenyzóna limfocitái). (Összes megfestett esetszám = 50).

### Kóros szövETek

A CH15 kión kimutatta a kappa könnyűlánc fehérvérj 53/67 kiértékelte hematológiai malignitás, beleértve 13/13 diffúz nagy B-sejtes limfóma, 11/12 Hodgkin-limfóma, 7/7 folliculáris limfóma, 5/6 meg nem határozott B-sejtes limfóma, 4/6 köpenysejt-limfóma, 3/6 perifériás T-sejtes limfóma, 2/3 akut limfocitás leukémia, 2/2 anaplasztikus nagy sejtet limfóma, 2/2 MALTóma, 1/1 Burkitt-limfóma, 1/1 angioimmunoblasztos T-sejtes limfóma, 1/1 NK/T-sejtes limfóma, 1/1 meg nem határozott malignus limfoblasztos limfóma, 0/3 meg nem határozott T-sejtes limfóma, 0/2 meg nem határozott limfóma és 0/1 meg nem határozott non-Hodgkin-limfóma esetén. Az infiltráló limfocitákon kívül a kappa könnyűláncot kimutatta 57/62 meg nem limfoid malignitás, beleértve 6/6 petefészek-daganat, 6/6 tüdődaganat, 1/3 szarkóma, 4/4 emlődaganat, 4/4 neuroendokrin daganat, 4/4 vesedaganat, 3/3 májdaganat, 3/3 húgyhólyagdaganat, 3/3 mellékvese-daganat, 3/3 endometrium-daganat, 1/3 csírasejtet daganat, 2/2 hasnyálmirigy-daganat, 2/2 laphámsejtet karcinóma, 2/2 pajzsmirigy-daganat, 2/2 prosztátadaganat, 1/1 vastagbél-daganat, 1/1 vékonybél-daganat, 1/1 gyomordaganat, 1/1 idegrendszeri daganat, 1/1 bőrdaganat és 1/1 kóros prosztata esetén. A melanómák (0/2) és a csécsemóirigy-daganatok (0/1) esetében nem mutatkozott festődés. (Összes megfestett esetszám = 129).

**Az NCL-L-KAP-581 a humán kappa könnyűlánc fehérvérj detektálására ajánlott egészséges és tumoros szövETekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos kórszöveti eljárások kiegészítéséeként.**

## Általános korlátozások

Az immunhisztokémia több lépésből álló diagnosztikai folyamat, amely a következőket foglalja magában: speciális képzés alapján a megfelelő reagens kiválasztása; a szövETek kiválasztása, fixálása és feldolgozása; az IHC tárgyilemez előkészítése; és a festési eredmények értelmezése.

A szövET festődése függ a szövET festés előtti kezelésétől és feldolgozásától. A nem megfelelő fixálás, a fagyasztás, olvasztás, mosás,

szárítás, melegítés, metszetkészítés, illetve a más szövetekkel vagy folyadékokkal történő szennyezés műtermékeket, az antitestek befogását, illetve álnegatív eredményeket okozhat. Ellentmondó eredményekhez vezethetnek a fixálási vagy beágyazási módszerek eltérései, illetve a szövet eredendő rendellenességei.<sup>4</sup>

A túlzott vagy hiányos kontrasztfestés ronthatja az eredmények megfelelő értelmezését.

Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

A Leica Biosystems Newcastle Ltd által biztosított antitestek specifikus fixálási követelmények mellett, az utasításoknak megfelelően fagyaszott vagy paraffinba ágyazott metszeteken történő felhasználásra szolgálnak. Időnként váratlan antigén-expresszió fordulhat elő, különösen daganatok esetében. Bármely festett szövetmetszet klinikai értelmezéséhez morfológiai elemzést is kell végezni, és ki kell értékelni a megfelelő kontrollokat.

### **Bibliográfia – általános**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

### **Módosítások az előző változathoz képest**

Nem alkalmazható

### **Kiadás dátuma**

14 november 2018

# Novocastra™ Anticorp monoclonal lichid de șoarece Kappa Light Chain

## Cod produs: NCL-L-KAP-581

### Utilizare prevăzută

Pentru diagnosticare in vitro.

NCL-L-KAP-581 este destinat identificării calitative, prin intermediul microscopiei optice, a moleculelor de lanț ușor kapa în secțiunile de parafină. Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice utilizând controale adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

### Principiul de procedură

Tehnicele de colorare imunohistochimică (IHC) permit vizualizarea antigenilor prin aplicarea secvențială a unui anumit anticorp pe antigen (anticorp primar), a unui anticorp secundar pe anticorpul primar și a unui complex enzimatic cu un substrat cromogen, cu etape de spălare intercalate. Activarea enzimatică a cromogenului duce la un produs de reacție vizibil la locul aplicării antigenului. Specimenul poate fi apoi contracolorat și acoperit cu lamelă. Rezultatele sunt interpretate folosind un microscop optic și ajută la diagnosticul diferențial al proceselor patofiziologice, care pot sau nu să fie asociate cu un anumit antigen.

### Clonă

CH15

### Imunogen

Proteină recombinantă procariotică corespunzând la 106 de aminoacizi din molecula de lanț ușor tip kapa umană.

### Specificitate

Lanț ușor kapa uman.

### Compoziția reactivului

NCL-L-KAP-581 este un supernatant de cultură tisulară lichid, care conține 15 mM azidă de sodiu drept conservant.

### Clasa Ig

IgG1

### Concentrație proteină totală

Total Protein

1,0–8,0 g/l. Consultați eticheta flaconului pentru concentrația proteinelor totale specifică lotului.

### Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 125 mg/L, așa cum este determinată prin ELISA. Consultați eticheta flaconului pentru concentrația Ig specifică lotului.

### Recomandări privind utilizarea

Imunohistochimie pe secțiuni de parafină.

Recuperarea indusă de căldură a epitopilor (HIER): Urmați instrucțiunile de utilizare pentru Enzyme Proteinase K Novocastra (IHC), RE7160-K.

Diluție sugerată: 1:200 timp de 30 de minute la 25 °C. Aceste informații sunt furnizate cu rol de îndrumare, iar utilizatorii trebuie să-și stabilească singuri propriile diluții de lucru optime.

Vizualizare. Urmați instrucțiunile de utilizare pentru Novolink™ Polymer Detection Systems RE7280-K (1250 teste), RE7150-K (500 teste), RE7140-K (250 teste) sau RE7290-K (50 teste).

### Depozitare și stabilitate

A se depozita la 2–8 °C. A nu se congela. A se returna la 2–8 °C imediat după utilizare. A nu se utiliza după data expirării indicată pe eticheta flaconului. Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator.

### Pregătirea specimenului

Mediul de fixare recomandat este formalină tamponată neutră 10% pentru secțiunile de țesut încorporate în parafină.

### Avertismente și precauții

Acest reactiv a fost pregătit din supernatant de cultură celulară. Întrucât este un produs biologic, trebuie să se acționeze cu prudență rezonabilă la manipularea sa.

Molaritatea azidei de sodiu din acest reactiv este 15 mM. Fișa tehnică de securitate a materialului (FTSM) referitoare la azida de sodiu este disponibilă la cerere.

Consultați reglementările naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea la deșeurile a oricăror componente cu potențial toxic.

Specimenele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manevrate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate.<sup>1</sup> Nu pipetați niciodată reactivii cu gura și evitați contactul reactivilor și specimenelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.

Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorării nespecifice.

Timpul sau temperaturile de incubație care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificări trebuie validate de către utilizator.

## Controlul calității

Diferențele în ceea ce privește procesarea țesutului și procedurile tehnice în laboratorul utilizatorului pot cauza o variabilitate semnificativă a rezultatelor, necesitând efectuarea de controale interne, în plus față de următoarele proceduri. Probele de control trebuie să fie probe proaspete de autopsie/biopsie/chirurgicale, fixate în formalină, procesate și încorporate în ceară de parafină cât mai curând posibil și în aceeași manieră ca și probele pacientului.

## Țesutul de control pozitiv

Folosit pentru a indica țesuturile pregătite corect și tehnicile de colorare adecvate.

O probă de țesut de control pozitiv trebuie să fie inclusă pentru fiecare set de condiții de testare în fiecare etapă de colorare.

Un țesut cu colorare pozitivă slabă este mai adecvat decât un țesut cu colorare pozitivă puternică în vederea unui control optim al calității și pentru a detecta nivelurile minore de degradare a reactivului.<sup>2</sup>

Țesutul de control pozitiv recomandat este de amigdale.

Dacă țesutul de control pozitiv nu demonstrează colorația pozitivă, rezultatele obținute cu acele probe de testare trebuie considerate nevalide.

## Țesutul de control negativ

Trebuie examinat după țesutul de control pozitiv pentru a verifica specificitatea informațiilor de etichetare ale antigenului țintă în funcție de anticorpii primari.

Țesutul de control negativ recomandat sunt celulele foliculare ale tiroidei.

Ca alternativă, varietatea de tipuri diferite de celule prezente în majoritatea secțiunilor tisulare oferă frecvent locuri de control negativ, dar acest lucru trebuie verificat de către utilizator.

Colorația nespecifică, dacă este prezentă, are, de obicei, un aspect difuz. Colorația sporadică a țesutului conjunctiv poate fi observată, de asemenea, în secțiuni de țesuturi fixate în mod excesiv în formalină. Folosiți celule intacte pentru interpretarea rezultatelor de colorare. Celulele necrotice sau degenerate se colorează deseori într-un mod nespecific.<sup>3</sup> Se pot observa rezultate fals pozitive ca urmare a legării non-immunologice a proteinelor sau produșilor de reacție ai substratului. Acestea pot fi cauzate, de asemenea, de enzimele endogene precum pseudoperoxidaza (eritrocite), peroxidaza endogenă (citocromul C) sau biotina endogenă (de exemplu, ficat, sân, creier, rinichi), în funcție de tipul de imunocolorație folosit. Pentru a diferenția activitatea enzimelor endogene sau legarea nespecifică a enzimelor de imunoreactivitatea specifică, pot fi colorate țesuturi suplimentare de la pacient numai cu substrat-cromogen sau, respectiv, complexe enzimatic (avidină-biotină, streptavidină, polimer etichetat) și substrat-cromogen. În cazul în care colorația specifică are loc în țesutul de control negativ, rezultatele obținute pe probele pacientului trebuie să fie considerate nevalide.

## Reactivul de control negativ

Folosiți un reactiv de control negativ non-specific în locul anticorpului primar cu o secțiune din fiecare specimen al pacientului pentru a evalua

colorația nespecifică și a permite o mai bună interpretare a colorării specifice la situl antigenului.

## Țesutul pacientului

Examinați speciemenele pacientului colorate cu NCL-L-KAP-581 ultimele. Intensitatea colorației pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorații de fond nespecifice a reactivului de control negativ. La fel ca în cazul oricărui test imunohistochimic, un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, și nu că antigenul a fost absent în celulele/țesuturile analizate. Dacă este necesar, folosiți un panel pentru anticorpi pentru identificarea reacțiilor fals negative.

## Rezultate așteptate

### Țesuturi normale

Clona CH15 a detectat proteina de lanț ușor kapa în citoplasma și pe membrana celulelor plasmatiche. Pe lângă celulele plasmatiche din țesuturi, acolo unde sunt prezente, proteina de lanț ușor kapa a fost detectată și într-o varietate de țesuturi incluzând colon (epiteliu), intestin subțire (epiteliu), creier (celule gliale), rinichi (tubule, glomerule), glanda suprarenală, pancreas (acini, canale), plămân (celule alveolare, macrofage), ficat (hepatocite), stomac (epiteliu), esofag (epiteliu), splină (celule plasmatiche), ovar (stroma), col uterin (epiteliu), uter (stroma endometrială), testicul (tubule, celule Leydig), prostată (acini, stroma), timus, sân (epiteliu ductal), glanda pituitară, măduva osoasă, apendice (mezoteliu), mușchi scheletic, cord, cordon ombilical (mezoteliu) și amigdală (centre germinale, celule plasmatiche, limfocite din zona de manta). (Numărul total al cazurilor la care s-a realizat colorare = 50).

### Țesuturi anormale

Clona CH15 a detectat proteina de lanț ușor kapa în 53/67 malignități hematologice evaluate, incluzând 13/13 limfoame difuze cu celule B mari, 11/12 limfoame Hodgkin, 7/7 limfoame foliculare, 5/6 limfoame nespecificate cu celule B, 4/6 limfoame cu celule de manta, 3/6 limfoame periferice cu celule T, 2/3 leucemii limfocitare acute, 2/2 limfoame anaplastice cu celule mari, 2/2 limfoame MALT, 1/1 limfom Burkitt, 1/1 limfom angioimunoblastic cu celule T, 1/1 limfom cu celule NK/T, 1/1 limfom limfoblastic malign nespecificat, 0/3 limfom nespecificat cu celule T, 0/2 limfom nespecificat și 0/1 limfom non-Hodgkin nespecificat. Cu excepția limfocitelor infiltrante, lanțul ușor kapa a fost detectat și în 57/62 malignități non-limfoide incluzând 6/6 tumori ovariene, 6/6 tumori pulmonare, 6/6 sarcoame, 4/4 tumori mamare, 4/4 tumori neuroendocrine, 4/4 tumori renale, 3/3 tumori hepatice, 3/3 tumori ale vezicii urinare, 3/3 tumori suprarenale, 3/3 tumori endometriale, 1/3 tumori cu celule germinale, 2/2 tumori pancreatice, 2/2 carcinoame cu celule scuamoase, 2/2 tumori tiroidiene, 2/2 tumori prostatiche, 1/1 tumoră a colonului, 1/1 tumoră a intestinului subțire, 1/1 tumoră a stomacului, 1/1 tumoră neurală, 1/1 tumoră a pielii și 1/1 prostată anormală. Nu s-a detectat colorare în melanoame (0/2) și tumoră a timusului (0/1). (Numărul total al cazurilor la care s-a realizat colorarea = 129).

**NCL-L-KAP-581 este recomandat pentru detectarea proteinei de lanț ușor kapa în țesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant al histopatologiei convenționale, utilizând coloranți histochemici non-immunologici.**

## Limitări generale

Imunohistochimia este un proces de diagnostic cu mai multe etape, care constă din instruirea specializată în ceea ce privește alegerea reactivilor adecvați; alegerea, fixarea și procesarea țesutului; prepararea lamei IHC; și interpretarea rezultatelor de colorare.

Colorarea tisulară depinde de manipularea și procesarea țesutului înainte de colorare. Fixarea, congelarea, dezghețarea, spălarea, uscarea, încălzirea, secționarea necorespunzătoare sau contaminarea cu alte țesuturi ori fluide pot cauza artefacte, captura anticorpilor sau rezultate fals negative. Rezultatele inconsecvente pot fi atribuite diferențelor în ceea ce privește metodele de fixare și încorporare, ori neregularităților inerente ale țesutului.<sup>4</sup>

Contracolorația excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea adecvată a rezultatelor.

Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice utilizând controale adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

Anticorpii de la Leica Biosystems Newcastle Ltd sunt destinați utilizării, conform indicațiilor, fie pe secțiuni congelate, fie pe secțiuni încorporate în parafină cu cerințe de fixare specifice. Poate apărea exprimarea neașteptată a antigenului, în special în neoplasme. Interpretarea clinică a oricărei secțiuni tisulare colorate trebuie să includă analiza morfologică și evaluarea probelor de control adecvate.

## Bibliografie - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

## Amendamente la ediția anterioară

Nu este cazul

## Data publicării

14 noiembrie 2018

# Жидкая форма моноклональных антител мыши Novocastra™ Каппа Light Chain

Код продукта: NCL-L-KAP-581

## Назначение

Для диагностики in vitro

Препарат NCL-L-KAP-581 предназначен для качественного определения молекул легкой каппа-цепи человека в парафиновых срезах методом световой микроскопии. Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

## Принцип метода

Иммуногистохимические (ИГХ) методы окрашивания позволяют визуализировать антигены путем последовательного связывания специфического антитела с антигеном (первичное антитело), вторичного антитела с первичным антителом и ферментного комплекса с хромогенным субстратом. Между этими этапами выполняется промежуточная промывка. Ферментная активация хромогена приводит к образованию видимого продукта реакции в месте расположения антигена. После этого образцы можно подвергать контрастному окрашиванию и заключить под покровную пленку. Интерпретацию результатов выполняют под световым микроскопом и используют для дифференциальной диагностики патофизиологических процессов, которые могут быть связаны или не связаны с конкретным антигеном.

## Клон

СН15

## Иммуноген

Рекомбинантный белок из прокариотических клеток, соответствующий 106 аминокислотам молекулы легкой каппа-цепи человека.

## Специфичность

Легкая каппа-цепь человека

## Состав реактива

NCL-L-KAP-581 является супернатантом жидкой культуры тканей, который в качестве консерванта содержит азид натрия в концентрации 15 мМ.

## Класс иммуноглобулинов

IgG1

## Общая концентрация белка Total Protein

1,0–8,0 г/л. Общая концентрация белка в каждой партии указана на этикетке флакона.

## Концентрация антитела

Не менее 125 мг/л при измерении методом ИФА. Концентрация иммуноглобулина, соответствующая данной серии, указана на этикетке флакона.

## Рекомендации по применению

Иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов.

Ферментативное демаскирование антигенов (Enzyme Induced Epitope Retrieval (EIER)). Следуйте инструкциям по применению фермента протеиназа K Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Рекомендуемое разведение: 1: 200 в течение 30 минут при температуре 25 °С. Данная информация носит рекомендательный характер, и пользователям следует самостоятельно определять оптимальные рабочие разведения.

Визуализация. Пожалуйста, следуйте инструкциям по использованию систем для визуализации Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 исследований), RE7150-K (500 исследований), RE7140-K (250 исследований) или RE7290-K (50 исследований).

## Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2–8 °С. Не замораживать. После использования немедленно вернуть на хранение при температуре 2–8 °С. Не использовать после указанной на этикетке флакона даты истечения срока годности. Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть проверены пользователем.

## Подготовка образцов

Для приготовления залитых в парафин срезов тканей рекомендуется фиксация в 10 % нейтральном забуференном формалине.

## Предупреждения и меры предосторожности

Этот реактив был изготовлен из супернатанта культуры клеток. При обращении с этим продуктом, как и с другими биологическими продуктами, следует соблюдать разумную осторожность.

Молярность азида натрия в данном реактиве составляет 15 мМ. Паспорт безопасности химической продукции, составленный на азид натрия, предоставляется по запросу.

По вопросам утилизации любых возможно токсических компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.



С образцами (до и после фиксации) и всеми материалами, которые находятся под их воздействием, следует обращаться как со способными к передаче инфекции и утилизировать, соблюдая соответствующие меры предосторожности.<sup>1</sup> Никогда не набирайте реактивы в пипетку ртом и не допускайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью.

Сводите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания. Инкубация при сроках и температурах, отличных от указанных в инструкции, может дать ошибочные результаты. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

### **Контроль качества**

Различия в методах обработки тканей и технических процедурах, выполняемых в лаборатории пользователя, могут привести к существенной вариабельности результатов, в связи с чем требуется регулярное выполнение внутрилaborаторных контролей в дополнение к указанным ниже процедурам.

В качестве контролей следует использовать свежие образцы, полученные при аутопсии, биопсии или хирургических процедурах, фиксированные в формалине, обработанные и как можно скорее залитые в парафин так же, как были обработаны полученные у пациентов образцы.

### **Положительный контроль ткани**

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания.

В каждый набор условий теста при каждом цикле окрашивания следует включать один срез ткани для положительного контроля. Для оптимального контроля качества и обнаружения незначительных уровней деградации реактива более подходит ткань со слабым положительным окрашиванием, чем ткань с сильным положительным окрашиванием.<sup>2</sup>

В качестве положительного контроля рекомендуется использовать ткань миндалин.

При отсутствии положительного окрашивания ткани, используемой в качестве положительного контроля, результаты, полученные с исследуемыми образцами, считаются недействительными.

### **Отрицательный контроль ткани**

Этот тест необходимо выполнять после положительного контроля ткани для проверки специфичности мечения целевого антигена первичным антителом.

В качестве отрицательного контроля рекомендуется использовать фолликулярные клетки щитовидной железы.

Кроме того, разнообразные типы клеток для отрицательного контроля можно часто найти в большинстве срезов тканей, однако такие препараты должны быть проверены пользователем.

Неспецифическое окрашивание, если оно присутствует, обычно выглядит диффузным. В срезах тканей, избыточно фиксированных формалином, можно также иногда увидеть окрашивание соединительной ткани. Для интерпретации результатов окрашивания используйте интактные клетки. Некротизированные или разрушенные клетки часто окрашиваются неспецифически.<sup>3</sup> Неиммунное связывание белков или продуктов реакции с субстратом может привести к ложноположительным результатам. Такие же результаты могут быть связаны с эндогенными ферментами, например псевдопероксидазой (в эритроцитах), эндогенной пероксидазой (цитохром С) или эндогенным биотином (например, в печени, молочной железе, головном мозге или почке) в зависимости от типа использованного иммунного окрашивания. Чтобы отличить активность эндогенных ферментов или неспецифическое связывание ферментов от специфической иммуореактивности, можно выполнить окрашивание дополнительных тканей пациента исключительно хромогенным субстратом или ферментными комплексами (авидин-биотин, стрептавидин, меченый полимер) и хромогенным субстратом соответственно. При наличии специфического окрашивания в отрицательном контроле ткани результаты исследования полученных у пациентов образцов считаются недействительными.

### **Отрицательный контроль реактива**

Для оценки неспецифического окрашивания и лучшей интерпретации специфического окрашивания в области связывания антигена, исследуя срезы каждого образца, взятого у пациента, вместо первичных антител используйте реактив, служащий в качестве неспецифического отрицательного контроля.

### **Ткань, полученная у пациента**

Исследуйте образцы взятой у пациента ткани, которые окрашены с помощью NCL-L-KAP-581, в последнюю очередь.

Интенсивность положительного результата окрашивания следует оценивать с учетом любого неспецифического фонового окрашивания реактива, представляющего собой отрицательный контроль. Как и при любом иммуногистохимическом исследовании, отрицательный результат означает необнаружение антигена, но не его отсутствие в исследованных клетках или ткани. При необходимости следует использовать панель антител для выявления ложноотрицательных реакций.

### **Ожидаемые результаты**

#### **Нормальные ткани**

Клон CN15 обнаружил белок легкой каппа-цепи в цитоплазме и на мембране плазматических клеток. Кроме плазматических клеток в тканях, где присутствовал белок легкой каппа-цепи, он также был обнаружен в различных других тканях, таких как толстый кишечник (эпителий), тонкий кишечник (эпителий), мозжечок (глиальные клетки), почки (канальцы, клубочки), надпочечники, поджелудочная железа (пузырьки, протоки), легкие (альвеолярные клетки, макрофаги), печень (гепатоциты), желудок (эпителий), пищевод (эпителий), селезенка (плазматические клетки), яичники (строма), шейка матки (эпителий), матка (эндометриальная строма), яички (канальцы, клетки Лейдига), простата (пузырьки, строма), вилочковая железа, молочная железа (протоковый эпителий), гипофиз, костный мозг, аппендицит (мезотелий), скелетные мышцы, сердце, пуповина (мезотелий) и миндалина (зародышевые центры, плазматические клетки, лимфоциты мантийной зоны). (Общее число окрашенных образцов = 50.)

#### Патологически измененные ткани

Клон СН15 обнаружил белок легкой каппа-цепи в 53/67 оцененных злокачественных гематологических новообразованиях, включая 13/13 случаев диффузной крупноклеточной В-лимфоцитарной лимфомы, 11/12 случаев лимфомы Ходжкина, 7/7 случаев фолликулярной лимфомы, 5/6 случаев неустановленной В-лимфоцитарной лимфомы, 4/6 случаев лимфомы из клеток мантийной зоны, 3/6 случаев периферийной Т-клеточной лимфомы, 2/3 случаев острого лимфоцитарного лейкоза, 2/2 случаев анапластической крупноклеточной лимфомы, 2/2 случаев MALT-лимфомы, 1/1 случая лимфомы Беркитта, 1/1 случая ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомы, 1/1 случая NK/T-клеточной лимфомы, 1/1 случая неустановленной злокачественной лимфобластной лимфомы, 0/3 случаев неустановленной Т-клеточной лимфомы, 0/2 случаев неустановленной лимфомы и 0/1 случая неустановленной неходжкинской лимфомы. Кроме инфильтрирующих лимфоцитов легкую каппа-цепь также обнаружили в 57/62 случаях нелимфоидных злокачественных новообразований, включая 6/6 случаев опухоли яичника, 6/6 случаев опухоли легкого, 6/6 случаев саркомы, 4/4 случаев опухоли молочной железы, 4/4 случаев нейроэндокринных опухолей, 4/4 случаев опухоли почек, 3/3 случаев опухоли печени, 3/3 случаев опухоли мочевого пузыря, 3/3 случаев опухоли надпочечников, 3/3 случаев эндометриальных опухолей, 1/3 случаев опухолей зародышевых клеток, 2/2 случаев опухоли поджелудочной железы, 2/2 случаев опухоли щитовидной железы, 2/2 случаев опухоли простаты, 1/1 случая опухоли толстого кишечника, 1/1 случая опухоли тонкого кишечника, 1/1 случая опухоли желудка, 1/1 случая невральнй опухоли, 1/1 случая опухоли кожи и 1/1 случая аномального изменения простаты. Окрашивания не наблюдались при меланоммах (0/2) и опухоли вилочковой железы (0/1). (Общее число окрашенных образцов тканей = 129.)

**NCL-L-KAP-581 рекомендуется использовать для обнаружения белка легкой каппа-цепи человека в здоровых и пораженных опухолю тканей в качестве дополнения к обычным гистопатологическим исследованиям с неиммунным гистохимическим окрашиванием.**

#### **Общие ограничения**

Иммуногистохимическое исследование является многостадийным диагностическим процессом, требующим специальных навыков в выборе надлежащих реактивов; выборе, фиксации и обработке тканей; приготовлении среза с ИГХ препаратом; интерпретации результатов окрашивания.

Окрашивание тканей зависит от обращения с тканями и их обработкой перед окрашиванием. Неправильные процедуры фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, сушки, нагрева, приготовления срезов, а также загрязнение другими тканями или жидкостями могут приводить к артефактам, захвату антител или ложноотрицательным результатам. Противоречивые результаты могут быть обусловлены различиями методов фиксации и заливки препарата или присущей тканям внутренней неравномерностью структуры.<sup>4</sup>

Чрезмерное или неполное контрастирование может негативно отразиться на точности интерпретации результатов.

Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

Изготовленные компанией Leica Biosystems Newcastle Ltd антитела предназначены, как указано выше, для применения на замороженных или залитых в парафин срезах и требуют выполнения конкретных требований по фиксации. Возможна непредвиденная экспрессия антигена, особенно в опухолях. Клиническая интерпретация любого окрашенного среза ткани должна включать морфологический анализ и оценку соответствующих контролей.

#### **Литература — общая**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramslund P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

#### **Дополнения к предыдущему выпуску**

Не применимо.

#### **Дата выпуска**

14 Ноябрь 2018

# Płynne mysie przeciwciało monoklonalne Novocastra™

## Kappa Light Chain

### Kod produktu: NCL-L-KAP-581

#### Przeznaczenie

Do diagnostyki in vitro.

Preparat NCL-L-KAP-581 jest przeznaczony do jakościowej identyfikacji za pomocą mikroskopii świetlnej cząstek lekkiego łańcucha kappa w skrawkach parafinowych. Kliniczną interpretację barwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

#### Zasady postępowania

Metody barwienia immunohistochemicznego (IHC) umożliwiają wizualizację antygenów dzięki zastosowaniu – po kolei – swoistego przeciwciała przeciwko antygenowi (przeciwciała pierwszorzędowego), przeciwciała drugorzędowego przeciwko przeciwciału pierwszorzędowemu i kompleksu enzymu z substratem chromogennym z etapami przemycania. Aktywacja enzymatyczna chromogenu prowadzi do wytworzenia widocznego produktu reakcji w miejscu antygenu. Następnie można wykonać barwienie kontrastowe próbki i zakryć ją szkiełkiem nakrywkowym. Wyniki są interpretowane przy użyciu mikroskopu świetlnego i pomagają w diagnostyce różnicowej procesów patofizjologicznych, które mogą mieć związek z określonym antygenem.

#### Klon

CH15

#### Immunogen

Prokariotyczne rekombinowane białko odpowiadające 106 aminokwasom ludzkiej cząsteczki łańcucha lekkiego kappa.

#### Swoistość

Ludzki łańcuch lekki kappa.

#### Skład odczynnika

NCL-L-KAP-581 jest płynnym supernatantem hodowli tkankowej zakonserwowanym 15 mM azydku sodu.

#### Klasa Ig

IgG1

#### Całkowite stężenie białka

Total Protein

1,0–8,0. g/l. Całkowite stężenie białka w danej serii podano na etykiecie fiołki.

#### Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 125 mg/L oznaczone za pomocą testu ELISA. Stężenie Ig w danej serii podano na etykiecie fiołki.

#### Zalecenia dotyczące stosowania

Badanie immunohistochemiczne skrawków zatopionych w parafinie.

Enzymatyczne odmaskowywanie epitopu (EIER): Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania dołączonej do Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Sugerowane rozcieńczenie: 1:200 przez 30 minut w temperaturze 25 °C. Te informacje stanowią jedynie wskazówkę – użytkownicy powinni sami określić swoje optymalne rozcieńczenie robocze.

Wizualizacja. Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania dołączonej do Novolink™ Polymer Detection System RE7280-K (1250 testów), RE7150-K (500 testów), RE7140-K (250 testów) lub RE7290-K (50 testów).

#### Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2–8 °C. Nie zamrażać. Niezwłocznie po użyciu ponownie umieścić w temperaturze 2–8°C. Nie używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie fiołki. Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych powyżej wymaga weryfikacji użytkownika.

#### Przygotowanie próbek

Zalecany utrwalaczem jest 10-procentowa obojętna buforowana formalina do zatopionych w parafinie skrawków tkankowych.

#### Ostrzeżenia i środki ostrożności

Odczynnik został przygotowany z supernatantu hodowli tkankowej. Ponieważ jest to produkt biologiczny, podczas jego używania należy zachować odpowiednie środki ostrożności.

Stężenie molarne azydku sodu w tym odczynniku wynosi 15 mM. Karta charakterystyki azydku sodu jest udostępniana na żądanie.

Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.

Próbki przed i po utrwaleniu oraz wszelkie materiały narażone na kontakt z nimi należy traktować jak materiały potencjalnie zakaźne i należy je utylizować z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności.<sup>1</sup> Podczas pobierania pipetą nie wolno zasysać odczynników ustami i należy unikać kontaktu odczynników i preparatów ze skórą oraz błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.

Chronicznie odczynniki przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego. Zastosowanie okresów inkubacji i temperatur innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

## Kontrola jakości

Różnice w przetwarzaniu tkanek i procedurach technicznych w laboratorium użytkownika mogą doprowadzić do znacznej zmienności wyników, co oznacza konieczność dodatkowego przeprowadzania regularnych kontroli wewnątrznych.

Kontrolę należy przeprowadzać jak najszybciej na świeżych próbkach z autopsji/biopsji/operacji chirurgicznej utrwalonych, przetworzonych i zatopionych w parafinie, taką samą metodą, jaką badane są pobrane tkanki.

## Tkankowa kontrola pozytywna

Stosowana w celu wskazania prawidłowo przygotowanych tkanek i prawidłowych technik barwienia.

W każdej serii barwienia każdy zestaw warunków testowych powinien uwzględniać jedną tkankową kontrolę pozytywną.

Do optymalnej kontroli jakości i do wykrywania niewielkich poziomów degradacji odczynników bardziej nadaje się tkanka o słabym barwieniu pozytywnym niż tkanka o silnym barwieniu pozytywnym.<sup>2</sup>

Tkankowa kontrola pozytywna powinna obejmować migdalek.

Jeśli tkankowa kontrola pozytywna nie wykaże odpowiedniego barwienia pozytywnego, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pobranych od pacjenta należy uznać za nieważne.

## Tkankowa kontrola negatywna

Należy ją wykonać po tkankowej kontroli pozytywnej, aby sprawdzić swoistość znakowania docelowego antygeny przez przeciwciała pierwszorzędowe.

Tkankowa kontrola negatywna powinna obejmować komórki foliularne tarczycy.

Ewentualnie tkankowa kontrola negatywna może obejmować różne typy komórek obecne w większości skrawków tkankowych, jednak powinno to zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Barwienie niespecyficzne, jeżeli jest obecne, zwykle ma charakter rozproszony. Na skrawkach wykonanych z materiału tkankowego nadmiernie utrwalonego w formalinie można również zaobserwować sporadyczne barwienie tkanki łącznej. Do interpretacji wyników barwienia należy używać nieszkodzonych komórek. Komórki martwicze lub zdegenerowane często powodują barwienie niespecyficzne.<sup>3</sup> Wyniki fałszywie pozytywne mogą pojawić się w następstwie nieimmunologicznego wiązania białek lub występowania produktów reakcji substratów. Mogą być również spowodowane przez endogenne enzymy, takie jak pseudoperoksydaza (erytrocyty), endogenna peroksydaza (cytochrom C) lub endogenna biotylna (np. wątroba, piersi, mózg, nerki), w zależności od zastosowanego barwnika immunohistochemicznego. Aby odróżnić endogenną aktywność enzymatyczną lub niespecyficzne wiązanie enzymów od swoistej immunoreaktywności, dodatkowe tkanki pacjenta mogą być barwione wyłącznie substratem chromogenem lub kompleksem enzymatycznym (awidyna-biotyna, streptawidyna, znakowany polimer) i substratem-chromogenem. Jeśli w trakcie tkankowej kontroli negatywnej nastąpi barwienie specyficzne, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pobranych od pacjenta należy uznać za nieważne.

## Negatywna kontrola odczynnika

Aby przeprowadzić ocenę barwienia niespecyficznego oraz umożliwić lepszą interpretację barwienia specyficznego na każdym skrawku z próbki pobranej od pacjenta należy przeprowadzić swoistość kontrolę negatywną odczynnika w miejscu wiązania przeciwciała pierwszorzędowego.

## Tkanka pacjenta

Próbki pobrane od pacjenta barwione NCL-L-KAP-581 należy badać jako ostatnie. Intensywność barwienia pozytywnego należy oceniać w kontekście ewentualnego występowania białko łańcucha lekkiego kappą wykryto także w różnych tkankach, w tym w okrężnicy (nabłonek), jelicie cienkim (nabłonek), mózdzku (komórki glejowe), nerce (kanaliki, kłębuszki nerkowe), nadnerczu, trzustce (pęcherzyki, kanaliki), płucu (komórki pęcherzykowe, makrofagi), wątrobie (hepatocyty), łożądku (nabłonek), przetyku (nabłonek), śledzionie (komórki plazmatyczne), jajniku (zrąb), szyjce macicy (nabłonek), macicy (zrąb endometrium), jądrach (kanaliki, komórki Leydiga), prostaty (pęcherzyki, zrąb), grasicy, sutkach (nabłonek przewodowy), przysadce, szpiku kostnym, wyrostku robaczkowym (mezotelium), mięśniach szkieletowych, sercu, pępowinie (mezotelium) i migdałkach (osrodki rozmnażania, komórki plazmatyczne, limfocyty strefy płaszczą). (Łączna liczba przypadków wybarwionych = 50).

## Oczekiwane wyniki

### Tkanki prawidłowe

Klon CH15 wykrył białko lekkiego łańcucha kappą w cytoplazmie i na błonie komórek plazmatycznych. Oprócz komórek plazmatycznych w tkankach będących obszarem normalnego występowania białko łańcucha lekkiego kappą wykryto także w różnych tkankach, w tym w okrężnicy (nabłonek), jelicie cienkim (nabłonek), mózdzku (komórki glejowe), nerce (kanaliki, kłębuszki nerkowe), nadnerczu, trzustce (pęcherzyki, kanaliki), płucu (komórki pęcherzykowe, makrofagi), wątrobie (hepatocyty), łożądku (nabłonek), przetyku (nabłonek), śledzionie (komórki plazmatyczne), jajniku (zrąb), szyjce macicy (nabłonek), macicy (zrąb endometrium), jądrach (kanaliki, komórki Leydiga), prostaty (pęcherzyki, zrąb), grasicy, sutkach (nabłonek przewodowy), przysadce, szpiku kostnym, wyrostku robaczkowym (mezotelium), mięśniach szkieletowych, sercu, pępowinie (mezotelium) i migdałkach (osrodki rozmnażania, komórki plazmatyczne, limfocyty strefy płaszczą). (Łączna liczba przypadków wybarwionych = 50).

### Nieprawidłowe tkanki

Klon CH15 wykrył białko lekkiego łańcucha kappą w 53/67 ocenianych nowotworach złośliwych, w tym 13/13 rozlanych chłoniakach z dużych limfocytów B, 11/12 chłoniakach Hodgkina, 7/7 chłoniakach gruczokowych, 5/6 nieokreślonych chłoniakach z limfocytów B, 4/6 chłoniakach z komórek płaszczą, 3/6 chłoniaków z obwodowych limfocytów T, 2/3 ostrych białaczek limfatycznych, 2/2 anaplastycznych chłoniakach z dużych limfocytów, 2/2 chłoniakach MALToma, 1/1 chłoniaku Burkitta, 1/1 chłoniaku angioimmunoblastycznym z limfocytów T, 1/1 chłoniaku z komórek NK/T, 1/1 nieokreślonym złośliwym chłoniaku limfoblastycznym, 0/3 nieokreślonych chłoniakach z limfocytów T, 0/2 chłoniakach nieokreślonych i 0/1 nieokreślonych chłoniakach niezmierniczych. Z wyjątkiem limfocytów naciekających łańcuch lekkiego kappą wykryto również w 57/62 złośliwych nowotworach nielimfoidalnych, w tym 6/6 guzach jajnika, 6/6 guzach płuc, 6/6 mięsach, 4/4 guzach sutka, 4/4 guzach neuroendokrynnych, 4/4 guzach nerek, 3/3 guzach wątroby, 3/3 guzach pęcherza moczowego, 3/3 guzach nadnerczy, 3/3 nowotworach endometrium, 1/3 guzie zarodkowy, 2/2 guzach trzustki, 2/2 rakach płekonabłonkowych, 2/2 guzach tarczycy, 2/2 guzach gruczołu krokowego, 1/1 guzie okrężnicy, 1/1 guzie jelita cienkiego, 1/1 guzie łożądek, 1/1 guzie neuronalnym, 1/1 nowotworze skóry i 1/1 przerście gruczołu krokowego. Nie stwierdzono barwienia w czerniakach (0/2) i guzach grasicy (0/1). (Łączna liczba przypadków wybarwionych = 129).

**Zaleca się stosowanie NCL-L-KAP-581 do wykrywania ludzkiego białka łańcucha lekkiego kappą w tkankach zdrowych i rakowych, jako uzupełnienie konwencjonalnego badania histopatologicznego opartego na nieimmunologicznym barwieniu histologicznym.**

## Ograniczenia ogólne

Badanie immunohistochemiczne to wieloetapowy proces diagnostyczny, który wymaga specjalistycznego szkolenia w zakresie doboru odpowiednich odczynników i tkanek, utrwalania i przetwarzania tkanek, przygotowywania preparatów immunohistochemicznych oraz interpretacji wyników barwienia.

Barwienie tkanek zależy od postępowania z tkanką i jej przetwarzania przed barwieniem. Nieprawidłowe utrwalanie, zamrażanie, rozmrażanie, przemywanie, suszenie, podgrzewanie, ścinanie skrawków lub skażenie innymi tkankami lub płynami może powodować artefakty, zatrzymywanie przeciwciał lub wyniki fałszywie negatywne. Niespójne wyniki mogą wynikać z różnic w metodach utrwalania i zatapiania lub nieprawidłowości związanej z tkanką.<sup>4</sup> Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastowe może negatywnie wpływać na właściwą interpretację wyników.

Kliniczną interpretację barwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Przeciwciała firmy Leica Biosystems Newcastle Ltd są przeznaczone do badania skrawków zamrożonych lub zatopionych w parafinie, które utrwalono zgodnie z określonymi wymogami. Może wystąpić nieoczekiwana ekspresja antygeny, szczególnie w przypadku nowotworów. Interpretacja kliniczna wybarwionych skrawków musi obejmować analizę morfologiczną oraz ocenę przeprowadzoną w ramach odpowiednich kontroli.

## Piśmiennictwo - ogólne.

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. *Journal of Molecular Recognition*. 2002; 15:248–259.

## Zmiany wprowadzone do poprzedniego wydania

Nie dotyczy

## Data publikacji

14 listopada 2018

# Tekoče mišje monoklonsko protitelo Novocastra™

## Kappa Light Chain

### Koda izdelka: NCL-L-KAP-581

#### Predvidena uporaba

Za diagnostično uporabo in vitro.

Izdelek NCL-L-KAP-581 je namenjen za kvalitativno identifikacijo molekul lahke verige kappa v parafinskih rezinah s pomočjo svetlobne mikroskopije. Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopoljevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

#### Načelo postopka

Imunohistokemijske (IHC) tehnike barvanja omogočajo vizualizacijo antigenov z izvajanjem zaporednega nanosa - z vmesnimi koraki izpiranja - specifičnega protitelesa na antigen (primarno protitelo), sekundarnega protitelesa na primarno protitelo in encimskega kompleksa s kromogenim substratom. Encimska aktivacija kromogena povzroči vidno reakcijo izdelka na mestu antigena. Tak vzorec lahko nato nasprotno barvamo in pokrijemo s krovnim stekelcem. Rezultate nato obdelamo s pomočjo svetlobnega mikroskopa in jih uporabimo pri diferencialni diagnozi patološko-fizioloških procesov, ki so morda povezani z določenim antigenom ali pa tudi ne.

#### Klon

CH15

#### Imunogen

Prokarionski rekombinantni protein, ki ustreza 106 aminokislinskim molekulam človeške lahke verige kappa.

#### Specifičnost

Humana lahka veriga kappa.

#### Sestava reagenta

NCL-L-KAP-581 je tekočinski supernatant kulture tkiva in vsebuje 15 mM natrijev azid kot konzervans.

#### Razred Ig

IgG1

#### Skupna koncentracija beljakovin

Total Protein

1,0–8,0 g/l. Skupna koncentracija beljakovin v določeni seriji je navedena na oznaki na viali.

#### Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 125 mg/l, določena s testom ELISA. Za specifično koncentracijo Ig v seriji glejte oznako na viali.

#### Priporočila za uporabo

Imunohistokemija parafinskih rezin.

Encimsko pridobivanje epitopov (EIER). Upoštevajte navodila za uporabo izdelka Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Predlagano redčenje: 1 : 200, 30 minut pri 25 °C. To so samo smernice; uporabniki naj poiščejo svoje lastne najbolj učinkovite delovne razredčine.

Vizualizacija. Upoštevajte navodila za uporabo sistema za zaznavanje polimerov Novolink™ Polymer Detection System, RE7280-K (1250 testov), RE7150-K (500 testov), RE7140-K (250 testov) ali RE7290-K (50 testov).

#### Shranjevanje in stabilnost

Hraniti pri temperaturi 2–8 °C. Ne zamrzujte. Takoj po uporabi ohladite na temperaturo 2–8 °C. Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, ki je naveden na oznaki na viali. Uporabnik naj preveri pogoje shranjevanja, ki se razlikujejo od zgoraj navedenih.

#### Priprava vzorcev

Priporočena fiksna raztopina je 10-% formalin v nevtralnem pufru za tkivne rezine, vstavljene v parafin.

#### Opozorila in previdnostni ukrepi

Vir priprave tega reagenta je supernatant celične kulture. Ker je to biološki izdelek, je treba z njim ravnati z ustrežno skrbnostjo.

Molarnost natrijevega azida v tem reagentu je 15 mM. Varnostni list za natrijev azid je na voljo na zahtevo.

Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno strupenih sestavin.

Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju slediti ustreznim previdnostnim ukrepom.<sup>1</sup> Nikoli ne pipetirajte reagentov z usti; pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo in sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poiščite zdravniško pomoč.

Pazite, da ne pride do mikrobnih okužb reagentov, saj lahko povzroči nespecifično barvanje.

Če uporabite čas ali temperature inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

#### Kontrola kakovosti

Razlike pri obdelavi tkiva in tehničnih postopkih v laboratoriju uporabnika lahko vodijo do precejšnje variabilnosti rezultatov, kar zahteva redne interne kontrole učinkovitosti poleg spodaj navedenih postopkov.

Kontrolni vzorci morajo biti sveži vzorci, pridobljeni z obdukcijo/biopsijo/kirurškim posegom, fiksirani s formalinom, obdelani in shranjeni v parafinskem vosku kakor hitro je mogoče ter na isti način, kot vzorci bolnikov.

## Pozitivni kontrolni vzorci tkiva

Uporabite jih za opredelitev pravilno pripravljenih tkiv in ustreznih tehnik barvanja.

Pri vsakem postopku barvanja morate vsakemu sklopu preizkusnih pogojev dodati en pozitiven kontrolni vzorec tkiva.

Za kar najboljšo kontrolo kakovosti in boljše zaznavanje manjših stopenj razkroja reagenta je bolj primerno uporabiti tkivo s šibkim pozitivnim obarvanjem kot tkivo z močnim pozitivnim obarvanjem.<sup>2</sup>

Za pozitivni kontrolni vzorec tkiva priporočamo tkivo tonzil.

Če pozitivni kontrolni vzorci tkiva ne pokažejo pozitivnega obarvanja, morate rezultate preizkusnih vzorcev zavreči kot neveljavne.

## Negativni kontrolni vzorci tkiva

Pregledati jih morate po pregledu pozitivnih kontrolnih vzorcev tkiva, da preverite specifičnost oznake ciljnega antigena glede na primarno protiteleso.

Za negativni kontrolni vzorec tkiva priporočamo folikularne celice ščitnice.

Drugače pa se kot negativni kontrolni vzorci pogosto uporablja vrsta različnih celic, ki so prisotne v večini rezin tkiv, vendar pa mora tako uporabo preveriti uporabnik.

Nespecifično barvanje, če je prisotno, je običajno razpršeno. Opazite lahko tudi posamično obarvanje vezivnega tkiva v rezinah tkiv, kot posledica premočnega fiksiranja s formalinom. Za razlago rezultatov obarvanja uporabite nespremenjene celice. Obarvanje nekrotičnih ali degeneriranih celic je pogosto nespecifično.<sup>3</sup> Lažno pozitivni rezultati se lahko pojavijo zaradi ne-immunološke vezave proteinov ali produktov reakcije substrata. Povzročijo jih lahko tudi endogeni encimi, kot so psevdoperoksidaza (eritrociti), endogena peroksidaza (citokromni C) ali endogeni biotin (npr. jetra, dojke, možgani, ledvice), odvisno od vrste uporabljenega imunskega barvila. Za razlikovanje med endogeno aktivnostjo encimov ali nespecifično vezavo encimov zaradi specifične imunске reaktivnosti, lahko barvate dodatna tkiva bolnika izključno ali s kromogenskim substratom ali encimskimi kompleksi (avidin-biotin, streptavidin, označeni polimer) in kromogenskim substratom. Če pride do specifičnega obarvanja negativnih kontrolnih vzorcev tkiva, morate rezultate vzorcev bolnika zavreči kot neveljavne.

## Negativni kontrolni reagent

Za oceno nespecifičnega barvanja in boljšo razlago specifičnega obarvanja na antigenskem mestu uporabite nespecifični negativni kontrolni reagent namesto primarnega protitelesa z eno rezino vsakega vzorca bolnika.

## Bolnikovo tkivo

Nazadnje preglejte bolnikove vzorce, obarvane z izdelkom NCL-L-KAP-581. Intenzivnost pozitivnega obarvanja ocenite v okviru morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja z negativnim kontrolnim reagentom. Tako kot pri vseh imunohistokemijskih preizkusih negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil zaznan, ne pa odsotnosti antigena v testiranih celicah/tkivih. Po potrebi uporabite nabor protiteles za opredelitev napačnih negativnih reakcij.

## Pričakovani rezultati

### Normalna tkiva

Klon CH15 je zaznal lahko verigo kappa v citoplazmi in na membrani plazemskih celic. Poleg plazemskih celic v tkivih, kjer so te prisotne, so protein lahko verige kappa zaznali tudi v različnih tkivih, vključno s kolonom (epitelij), tankim črevesom (epitelij), malimi možgani (glialne celice), ledvicami (tubuli, glomeruli), nadledvično žlezo, trebušno slinavko (acinusi, kanali), pljuči (alveolarne celice, makrofagi), jetri (hepatociti), želodcem (epitelij), požiralnikom (epitelij), vranico (plazemske celice), jajčniki (stroma), materničnim vratom (epitelij), maternico (endometrijska stroma), testisi (tubuli, Leydigove celice), prostato (acinusi, stroma), prižljcem, dojkami (duktalni epitelij), hipofizo, kostnim mozgom, slepičem (mezotelij), skeletnimi mišicami, srcem, popkovino (mezotelij) in tonzilami (germinalna središča, plazemske celice, limfociti plaščnega območja). (Skupno število obarvanih preparatov = 50).

### Nenormalna tkiva

Klon CH15 je zaznal protein lahke verige kappa pri 53/67 ocenjenih hematoloških malignostih, vključno s 13/13 difuznih velikoceličnih limfomov celic B, 11/12 Hodgkinovih limfomov, 7/7 folikularnih limfomov, 5/6 neopredeljenih limfomov celic B, 4/6 limfomov plaščnih celic, 3/6 limfomov perifernih celic T, 2/3 akutnih limfocitnih levkemij, 2/2 anaplastičnih velikoceličnih limfomov, 2/2 MALTomov, 1/1 Burkittovega limfoma, 1/1 angioimunoblastnega limfoma celic T, 1/1 limfoma celic NK/T, 1/1 neopredeljenega malignega limfoblastnega limfoma, 0/3 neopredeljenih limfomov celic T, 0/2 neopredeljenih limfomov in 0/1 neopredeljenega ne-Hodgkinovega limfoma. Razen pri infiltrirajočih limfocitih so lahko verigo kappa zaznali tudi pri 57/62 nelimfoidnih malignostih, vključno s 6/6 tumorjev jajčnikov, 6/6 pljučnih tumorjev, 6/6 sarkomov, 4/4 tumorjev dojke, 4/4 nevroendokrinih tumorjev, 4/4 ledvičnih tumorjev, 3/3 jetrnih tumorjev, 3/3 tumorjev sečnega mehurja, 3/3 tumorjev nadledvične žleze, 3/3 endometrijskih tumorjev, 1/3 tumorjev zarodnih celic, 2/2 tumorjev trebušne slinavke, 2/2 ploščatoceličnih karcinomov, 2/2 tumorjev ščitnice, 2/2 tumorjev prostate, 1/1 tumorja kolona, 1/1 tumorja tankega črevesa, 1/1 želodčnega tumorja, 1/1 nevralnega tumorja, 1/1 kožnega tumorja in 1/1 nenormalne prostate. Pri melanomih (0/2) in in tumorju prižljeca (0/1) niso zaznali nobenega obarvanja. (Skupno število obarvanih preparatov = 129).

**Izdelek NCL-L-KAP-581 se priporoča za zaznavanje človeške beljakovine lahka veriga kappa v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza ob konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunskih histokemičnih barvil.**

## Splošne omejitve

Imunohistokemija je diagnostični postopek z več koraki, ki zahteva specializirano usposabljanje za izbiro ustreznih reagentov, izbiro, fiksiranje in obdelavo tkiv, pripravo IHC preparata in razlago rezultatov obarvanja.

Obarvanje tkiva je odvisno od rokovanja s tkivom in njegovo obdelavo pred barvanjem. Nepravilno fiksiranje, zamrzovanje, odvajanje, izpiranje, sušenje, segregiranje, rezanje ali okužba z drugimi tkivi ali tekočinami lahko povzroči nastanek artefaktov, lovljenje protitelesa ali lažne negativne rezultate. Nedosledni rezultati so lahko posledica razlik pri metodah fiksiranja in priprave ali pa so del nepravilnosti tkiva samega.<sup>4</sup> Prekomerno ali nepopolno nasprotno barvanje lahko neugodno vpliva na pravilno tolmačenje rezultatov.

Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopoljevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Protitelesa družbe Leica Biosystems Newcastle Ltd so namenjena uporabi, kot je navedeno, na zamrznjenih ali v parafin vstavljenih rezinah z določnimi zahtevami za fiksiranje. Lahko pride do nepričakovanega izražanja antigena, zlasti pri neoplazmah. Pri klinični razlagi obarvane rezine tkiva morate upoštevati morfološko analizo in oceno ustreznih kontrol.

## **Splošna literatura**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

## **Dodatki in spremembe k prejšnji izdaji**

Ni primerno

## **Datum izdaje**

14 november 2018



# Novocastra™ Tekutá myší monoklonální protilátka

## Kappa Light Chain

### Kód výrobku: NCL-L-KAP-581

#### Zamýšlené použití

Pro diagnostické použití in vitro.

Produkt NCL-L-KAP-581 je určen ke kvalitativnímu stanovení molekul lehkého řetězce kappa světelnou mikroskopií na parafinových řezech. Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

#### Princip metody

Imunohistochemické (IHC) barvicí techniky umožňují vizualizaci antigenů pomocí sekvenční aplikace specifické protilátky proti antigenu (primární protilátka), sekundární protilátky proti primární protilátce a enzymového komplexu s chromogenním substrátem s interponovanými omývacími kroky. Enzymatická aktivace chromogenu má za následek viditelnou reakci produktu v místě antigenu. Vzorek pak může být kontrastně nabarven a překryt krycím sklíčkem. Výsledky se interpretují je světlém mikroskopu; jsou pomůckou v diferenciální diagnostice patofyziologických procesů, které mohou, ale nemusí, souviset s příslušným antigenem.

#### Klon

CH15

#### Imunogen

Prokaryotický rekombinantní protein odpovídá 106 aminokyselinám lidské molekuly lehkého řetězce kappa.

#### Specifita

Lidský lehký řetězec kappa

#### Složení reagentie

NCL-L-KAP-581 je tekutý supernatant z tkáňové kultury obsahující jako konzervační prostředek 15mM roztok azidu sodného.

#### Třída Ig

IgG1

#### Koncentrace celkového proteinu

Total Protein

1,0–8,0 g/l. Koncentrace celkového proteinu specifická pro šarži je uvedena na štítku na lahvičce.

#### Koncentrace protilátek

125 mg/l nebo vyšší, stanovená metodou ELISA. Koncentrace imunoglobulinu (Ig) specifická pro šarži je uvedena na štítku na lahvičce.

#### Doporučení k použití

Imunohistochemické vyšetření na parafinových řezech.

Enzymy indukované odmaskování epitopu (Enzyme Induced Epitope Retrieval, EIER). Postupujte podle návodu k použití k roztoku Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Doporučené ředění: 1:200 po dobu 30 minut při 25 °C. Toto doporučení je uvedeno jako vodítko; uživatel musí stanovit vlastní optimální pracovní ředění.

Vizualizace. Postupujte podle návodu k použití k systémů Novolink™ Polymer Detection System, RE7280-K (1 250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) nebo RE7290-K (50 tests).

#### Skladování a stabilita

Uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Nezmrazujte. Okamžitě po použití vraťte do teploty 2–8 °C. Nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na štítku na lahvičce. Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel validovat.

#### Příprava vzorku

Fixační roztok doporučený pro řezy tkáně zalité v parafinu je 10% formalin pufovaný na neutrální pH.

#### Varování a bezpečnostní opatření

Tato reagentie byla připravena ze supernatantu z buněčné kultury. Protože jde o biologický produkt, je nutno manipulaci s ní věnovat náležitou pozornost.

Molarita azidu sodného v této reagentii je 15 mM. Bezpečnostní list materiálu (MSDS) pro azid sodný je k dispozici na vyžádání.

Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.

Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály jim vystavenými, je nutno zacházet, jako by mohly způsobit přenos infekce, a likvidovat je s náležitými bezpečnostními opatřeními.<sup>1</sup> Reagentie nikdy nepipetujte ústy a zabraňte styku reagentií a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagentie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhledejte lékařskou pomoc.

Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagentií, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení.

Inkubační doby nebo teploty jiné než předepsané mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

## Kontrola jakosti

Rozdíly ve zpracování tkání a v technických postupech v laboratoři uživatele mohou způsobit významnou variabilitu výsledků, což vyžaduje kromě níže uvedených postupů i pravidelné provádění kontrol v laboratoři.

Kontroly musí být čerstvé pitevni/biopsické/operační vzorky co nejdříve fixované formálním, zpracované a zalité do parafinového vosku, stejným způsobem jako vzorek/vzorky pacienta.

## Positivní tkáňová kontrola

Používá se k průkazu správně připravených tkání a správných barvicích technik.

V každém barvicím cyklu musí být použita jedna pozitivní tkáňová kontrola pro každý soubor testovacích podmínek.

Pro optimální kontrolu jakosti a k detekci menšího stupně degradace reagenzie je vhodnější tkáň se slabým pozitivním barvením než tkáň se silným pozitivním barvením.<sup>2</sup>

Doporučená pozitivní tkáňová kontrola je tonzila.

Pokud pozitivní tkáňová kontrola nevykazuje pozitivní barvení, musí být výsledky testovaných vzorků považovány za neplatné.

## Negativní tkáňová kontrola

Musi být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole k ověření specifity označení cílového antigenu primární protilátkou.

Doporučená negativní tkáňová kontrola jsou folikulární buňky štítné žlázy.

Alternativně často představuje místa negativní kontroly řada různých typů buněk přítomných ve většině tkáňových řezů, to ale musí uživatel validovat.

Nespecifické barvení, je-li přítomno, má obvykle difúzní vzhled. V řezech ze tkání nadměrně fixovaných formálem může být také zjištěno sporadické barvení pojivové tkáně. K interpretaci výsledků barvení použijte neporušené buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky se často barví nespecificky.<sup>3</sup> Falešně pozitivní výsledky mohou být důsledkem imunologické vazby proteinů nebo produktů reakčního substrátu. Mohou být také způsobeny endogenními enzymy, jako je např. pseudoperoxidáza (erytrocyty), endogenní peroxidáza (cytochrom C) nebo endogenní biotin (např. játra, prs, mozek, ledviny), podle typu použitého imunobarviva. K odlišení aktivity endogenních enzymů či nespecifické vazby enzymů od specifické imunoreaktivity mohou být barveny další tkáně pacienta vylučně chromogenním substrátem, případně enzymovými komplexy (avidin-biotin, streptavidin, značený polymer) a chromogenním substrátem. Pokud dojde v negativní tkáňové kontrole ke specifickému barvení, musí být výsledky vzorků pacienta považovány za neplatné.

## Negativní reagenční kontrola

K vyhodnocení nespecifického barvení a umožnění lepší interpretace specifického barvení v místě antigenu použijte na řezu z každého vzorku pacienta nespecifickou negativní reagenční kontrolu místo primární protilátky.

## Tkáň pacienta

Nakonec vyšetřete vzorky pacienta barvené pomocí NCL-L-KAP-581. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším nespecifickým barvením pozadu i negativní reagenční kontroly. Jako u každého imunohistochemického vyšetření, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není ve vyšetřovaných buňkách/tkáňích přítomen. V případě potřeby použijte k identifikaci falešně negativních reakcí panel protilátek.

## Očekávané výsledky

### Normální tkáň

Klon CH15 detekoval protein lehkého řetězce kappa v cytoplasmě a na membráně plazmatických buněk. Kromě plazmatických buněk ve tkáních, ve kterých se nacházel, byl protein lehkého řetězce kappa rovněž detekován v řadě tkání, včetně tlustého střeva (epitel), tenkého střeva (epitel), mozečku (gliové buňky), ledvin (tubuly, glomeruly), nadledvin, pankreatu (aciny, dukty), plic (alveolární buňky, makrofágy), jater (hepatocyty), žaludku (epitel), jícnu (epitel), sleziny (plazmatické buňky), vaječnicků (stroma), děložního hrdla (epitel), dělohy (endometriální stroma), varlat (tubuly, Leydigovy buňky), prostaty (aciny, stroma), brzlíku, prsu (duktální epitel), hypofyzy, kostní dřeně, appendix (mezotel), kosterního svalu, srdce, pupečníku (mezotel) a tonzil (germinální centra, plazmatické buňky, plášťová zóna, lymfocyty). (Celkový počet barvených tkání = 50).

### Abnormální tkáň

Klon CH15 detekoval protein lehkého řetězce kappa u 53/67 vyšetřovaných vzorků hematologických malignit, včetně 13/13 difúzních velkobuněčných B lymfomů, 11/12 Hodgkinových lymfomů, 7/7 folikulárních lymfomů, 5/6 nespecifikovaných, B lymfomů 4/6 lymfomů z plášťových buněk, 3/6 ferulipal T lymfomů, 2/3 akutních lymfocytických leukémií, 2/2 anaplastických velkobuněčných lymfomů, 2/2 MALT lymfomů, 1/1 Burkittova lymfomu, 1/1 angioimunoblastického T lymfomu, 1/1 NK/T lymfomu, 1/1 nespecifického maligního lymfoblastického lymfomu, 0/3 nespecifických T lymfomů, 0/2 nespecifických lymfomů 0/1 nespecifického non-Hodgkinova lymfomu. S výjimkou infiltrujících lymfocytů byl lehký řetězec kappa rovněž detekován u 57/62 vzorků nelymfoidních malignit, včetně 6/6 ovariálních nádorů, 6/6 nádorů plic, 6/6 sarkomů, 4/4 nádorů prsu, 4/4 neuroendokrinních nádorů, 4/4 nádorů ledvin, 3/3 nádorů jater, 3/3 nádorů močového měchýře, 3/3 nádorů nadledvin, 3/3 endometriálních nádorů, 1/3 nádorů germinálních buněk 2/2 nádorů pankreatu, 2/2 karcinomů skvamózních buněk, 2/2 nádorů štítné žlázy, 2/2 nádorů prostaty, 1/1 nádoru tlustého střeva, 1/1 nádoru tenkého střeva, 1/1 nádoru žaludku, 1/1 neurální nádoru, 1/1 nádoru kůže a 1/1 abnormální prostaty. Barvení nebylo zjištěno u melanomů (0/2) a nádorů brzlíku (0/1). (Celkový počet barvených tkání = 129).

**NCL-L-KAP-581 se doporučuje k detekci lidského proteinu lehký řetězec kappa v normálních a neoplastických tkáních jako doplněk ke konvenční histopatologii s použitím imunologických histochemických nátěrů.**

## Obecná omezení

Imunohistochemické vyšetření je víceokrový diagnostický proces, který spočívá ve specializovaném školení ve výběru vhodných reagensů; výběru, fixaci a zpracování tkání; přípravě imunohistochemického sklíčka; a v interpretaci výsledků barvení.

Barvení tkáně závisí na manipulaci s tkání a jejím zpracování před barvením. Nesprávným postupem při fixaci, zmrazení, rozmrazení, omývání, sušení, zahřívání, krájení řezů nebo kontaminací jinými tkáněmi či tekutinami mohou vzniknout artefakty, může dojít k vychytávání protilátek nebo k falešně negativním výsledkům. Ne konzistentní výsledky mohou být důsledkem odchylek ve fixačních metodách a metodách zalití, nebo přirozených odchylek ve tkáni.<sup>4</sup> Nadměrné nebo nedostatečné kontrastní barvení může narušit správnou interpretaci výsledků.

Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných

kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Protilátky společnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd se používají, jak bylo uvedeno, u zmrazených nebo u parafinových řezů se specifickými požadavky na fixaci. Může dojít k expresi neočekávaných antigenů, zejména u nádorů. Klinická interpretace jakéhokoli barveného tkáňového řezu musí zahrnovat morfológickou analýzu a zhodnocení příslušných kontrol.

### **Literatura - všeobecná**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

### **Opravy předchozího vydání**

Nevztahuje se

### **Datum vydání**

14 listopad 2018

# Tekutá myšia monoklonálna protilátka Novocastra™

## Kappa Light Chain

### Kód produktu: NCL-L-KAP-581

#### Zamýšľané použitie

Na diagnostické použitie in vitro.

NCL-L-KAP-581 slúži na kvalitatívnu identifikáciu molekúl ľahkého reťazca kappa v parafínových rezoch pomocou svetelnej mikroskopie.

Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami pri použití zodpovedajúcich kontrol. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a ďalších diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

#### Princíp postupu

Techniky imunohistochemického (IHC) zafarbenia umožňujú vizualizáciu antigénov sekvenčnou aplikáciou špecifickej protilátky proti antigénu (primárna protilátka), sekundárnej protilátky proti primárnej protilátke a enzymatického komplexu s chromogénnym substrátom. Medzi jednotlivými krokmi prebieha premývanie. Enzymatická aktivácia chromogénu vytvára v mieste antigénu viditeľné produkty reakcie. Môžete doplniť kontrastné zafarbenie vzorky a zakryť ju krycím sklíčkom. Výsledky sa interpretujú pomocou svetelného mikroskopu a napomáhajú pri diferenciálnej diagnostike patofyziologických procesov, ktoré môžu, ale nemusia byť spojené s určitým antigénom.

#### Klon

CH15

#### Imunogén

Prokaryotický rekombinantný proteín zodpovedajúci 106 aminokyselinám ľudskej molekuly ľahkého reťazca kappa.

#### Špecificita

Ľudský ľahký reťazec kappa

#### Zloženie činidla

NCL-L-KAP-581 je tekutý supernatant na tkanivovú kultiváciu obsahujúci 15 mM azidu sodného ako konzervačnej látky.

#### Trieda Ig

IgG1

#### Celková koncentrácia proteínov

Total Protein

1,0 – 8,0. g/l. Celkovú koncentráciu proteínov špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Koncentrácia protilátok

Vyššia alebo rovná 125 mg/l podľa ELISA. Koncentráciu Ig špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Odporúčania na použitie

Imunohistochemia parafínových rezov.

Záchyt epitopov s enzymatickou indukciou (EIER). Postupujte podľa návodu na použitie systému Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

Odporúčané riedenie: 1 : 200 po dobu 30 minút pri teplote 25 °C. Táto hodnota je orientačná, používatelia si musia stanoviť svoje vlastné optimálne pracovné riedenie.

Vizualizácia. Postupujte podľa návodu na použitie pre systémy Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 testov),

RE7150-K

(500 testov), RE7140-K (250 testov) alebo RE7290-K (50 testov).

#### Ukladenie a stabilita

Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Nezmrazujte. Okamžite po použití vráťte do teploty 2 – 8 °C. Nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie uvedeného na štítku fľaštičky. Iné než vyššie uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom.

#### Príprava vzorky

Odporúčaný fixačný prípravok je 10 % neutrálny pufovaný formalín pre bločky tkaniva zaliate do parafínu.

#### Varovania a bezpečnostné opatrenia

Toto činidlo bolo pripravené zo supernatantu bunkovej kultúry. Keďže ide o biologický produkt, pri manipulácii je nutné vynaložiť zodpovedajúcu starostlivosť.

Molarita azidu sodného v tomto činidle je 15 mM. Materiálový bezpečnostný list (MSDS) k azidu sodnému je k dispozícii na požiadanie.

Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.

So vzorkami pred fixáciou a po nej a všetkými materiálmi, ktoré s nimi prišli do kontaktu, je nutné manipulovať ako s potenciálne infekčnými a zlikvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrní.<sup>1</sup> Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte kontaktu činidla a vzoriek s kožou a sliznicami. Ak sa činidlá alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody. Vyhľadajte lekársku pomoc.

Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.

Nedodržanie predpísaných inkubačných dób alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

## Kontrola kvality

Rozdiely v spracovaní tkaniva a technických postupoch v laboratóriu používateľa môžu viesť k významnému kolísaniu výsledkov, čo si vyžaduje, okrem nasledujúcich postupov, aj pravidelné interné kontroly.

Kontroly by mali byť čerstvé tievne/bioptické/chirurgické vzorky fixované čo najskôr formálnom a spracované zaliatím do parafínu rovnakým spôsobom ako vzorky pacienta.

## Positívna kontrola tkanivom

Identifikuje správne pripravené tkanivá a správne techniky zafarbenia.

Každá súprava testových podmienok v každom cykle zafarbenia musí obsahovať jednu pozitívnu kontrolu tkanivom.

Tkanivo so slabým pozitívnym farbením je pre optimálnu kontrolu kvality a na detekciu slabšej degradácie činiteľa vhodnejšie než tkanivo so silným pozitívnym farbením.<sup>2</sup>

Odporúčané tkanivo na pozitívnu kontrolu je tonzila.

Ak pozitívna kontrola tkanivom nebude vykazovať pozitívne zafarbenie, výsledky testovaných vzoriek je nutné považovať za neplatné.

## Negatívna kontrola tkanivom

Nutné vyšetriť po pozitívnej kontrole tkanivom s cieľom overiť špecifickosť značenia cieľového antigénu primárnou protilátkou.

Odporúčané tkanivo na negatívnu kontrolu sú folikulárne bunky štítnej žľazy.

Ako negatívnu kontrolu je možné použiť aj rôzne typy buniek prítomné vo väčšine tkanivových rezov, takýto postup si však vyžaduje validáciu používateľom.

Prípadné nešpecifické farbenie má obvykle difúznú vzhľad. V rezoch tkanív silne fixovaných formálnom môže byť pozorované sporadické farbenie spojiva. Na interpretáciu výsledkov farbenia používajte intaktné bunky. Nekrotické alebo degenerované bunky sa často farbia nešpecificky.<sup>3</sup> Falošne pozitívne výsledky môžu byť pozorované v dôsledku neimunologickej väzby proteínov alebo produktov reakcie substrátu. Môžu byť spôsobené aj endogénnymi enzýmami, ako napr. pseudoperoxidázou (erytrocyty), endogénnou peroxidázou (cytochróm C) alebo endogénnym biotínom (napr. pečeň, prsník, mozog, oblička) v závislosti od typu imunologického farbenia. S cieľom diferencovať endogénnu enzymatickú aktivitu alebo nešpecifickú väzbu enzýmov od špecifickej imunoreaktivity môžete nafarbiť ďalšie vzorky tkanív pacienta výhradne substrátovým chromogénom alebo enzymatickými komplexmi (avidín-biotín, streptavidín, značený polymér), resp. substrátovým chromogénom. V prípade špecifického farbenia v negatívnej kontrole tkanivom je nutné výsledky vzoriek pacienta považovať za neplatné.

## Negatívna kontrola čínildom

Na vyhodnotenie nešpecifického zafarbenia použité nešpecifickú negatívnu kontrolu čínildom miesto primárnej protilátky s rezom jednotlivých vzoriek pacienta, čo umožní lepšiu interpretáciu špecifického farbenia na mieste antigénu.

## Tkanivo pacienta

Pacientske vzorky zafarbené prípravkom NCL-L-KAP-581 preskúmajte ako posledné. Intenzitu pozitívneho farbenia je nutné vyhodnotiť v kontexte prípadného

nešpecifického zafarbenia negatívnej kontroly čínildom na pozadí. Podobne ako pri všetkých imunohistochemických testoch znamená negatívny výsledok, že antigén nebol detegovaný. Nepotvrďuje jeho absenciu v testovaných bunkách/tkanivách. V prípade potreby identifikujte falošne negatívne reakcie pomocou panelu protilátok.

## Očakávané výsledky

### Normálne tkanivá

Klon CH15 detegoval proteín ľahkého reťazca kapa v cytoplazme a na membráne plazmatických buniek. Okrem plazmatických buniek v tkanivách, ak sa tam nachádzali, bol proteín ľahkého reťazca kapa detegovaný aj v rôznych tkanivách vrátane hrubého čreva (epitel), tenkého čreva (epitel), mozogča (glioové bunky), obličiek (kanáliky, glomeruly), nadobličiek, pankreasu (lalôčky, vývody), pľúc (alveolárne bunky, makrofágy), pečene (hepatocyty), žalúdka (epitel), pažeráka (epitel), sleziny (plazmatické bunky), vaječníkov (stróma), krčka maternice (epitel), maternice (endometriálna stróma), semenníkov (kanáliky, Leydigove bunky), prostaty (lalôčky, stróma), týmusu, prsníka (duktálny epitel), hypofýzy, kostnej drene, slepého čreva (mezotel), kostrového svalstva, srdca, pupočnej šnúry (mezotel) a tonzily (zárodočné centrá, plazmatické bunky, lymfocyty v plášťovej zóne). (Celkový počet zafarbení = 50).

### Abnormálne tkanivá

Klon CH15 detegoval proteín ľahkého reťazca kapa v 53/67 hodnotených hematologických malignít vrátane 13/13 difúzných veľkobunkových B-lymfómov, 11/12 Hodgkinových lymfómov, 7/7 folikulárnych lymfómov, 5/6 nešpecifikovaných B-bunkových lymfómov, 4/6 lymfómov z plášťových buniek, 3/6 periférnych T-bunkových lymfómov, 2/3 akútnych lymfocytárnych leukémií, 2/2 anaplastických veľkobunkových lymfómov, 2/2 MALT lymfómov, 1/1 Burkittovho lymfómu, 1/1 angioimunoblastového T-bunkového lymfómu, 1/1 NK/T-bunkového lymfómu, 1/1 nešpecifikovaného maligného lymfoblastového lymfómu, 0/3 nešpecifikovaných T-bunkových lymfómov, 0/2 nešpecifikovaných lymfómov a 0/1 nešpecifikovaného non-Hodgkinovho lymfómu. Okrem infiltrujúcich lymfocytov bol ľahký reťazec kapa detegovaný aj v 57/62 nelymfoidných malignít vrátane 6/6 nádorov vaječníkov, 6/6 nádorov pľúc, 6/6 sarkómov, 4/4 nádorov prsníka, 4/4 neuroendokrinných nádorov, 4/4 nádorov obličiek, 3/3 nádorov pečene, 3/3 nádorov močového mechúra, 3/3 nádorov nadobličiek, 3/3 nádorov endometria, 1/3 nádorov zárodočných buniek, 2/2 nádorov pankreasu, 2/2 skvamocelulárnych karcinómov, 2/2 nádorov štítnej žľazy, 2/2 nádorov prostaty, 1/1 nádoru hrubého čreva, 1/1 nádoru tenkého čreva, 1/1 nádoru žalúdka, 1/1 neurálneho nádoru, 1/1 nádoru kože a 1/1 abnormálnej prostaty. Pri melanómoch (0/2) a nádore týmusu (0/1) nebolo pozorované žiadne zafarbenie. (Celkový počet farbení = 129).

**NCL-L-KAP-581 je odporúčaným prostriedkom na detekciu proteínu ľudskeho kapa ľahkého reťazca v normálnych a neoplastických tkanivách ako doplnok ku konvenčnej histopatológii za použitia neimunologických histochemických farbení.**

## Všeobecné limitácie

Imunohistochemia je diagnostický postup pozostávajúci z viacerých krokov, ktorý si vyžaduje špecializované zaškolenie vo výbere zodpovedajúcich čínilidiel, výbere tkanív, fixácie a spracovania, príprave IHC sklíčka a interpretácii výsledkov farbenia.

Farbenie tkaniva závisí od manipulácie s tkanivom a od jeho spracovania pred farbením. Nesprávna fixácia, zmrazovanie, rozmrazovanie, premývanie, sušenie, ohrievanie, rezanie alebo kontaminácia inými tkanivami či tekutinami môžu viesť k vzniku artefaktov, záchytu protilátok alebo falošne negatívnym výsledkom. Inkonzistentné výsledky môžu byť spôsobené zmenami

metód fixácie a montáže preparátov alebo inherentnými nepravdivosťami v tkanive.<sup>4</sup>

Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže narušiť správnosť interpretácie výsledkov.

Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami pri použití zodpovedajúcich kontrol. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a ďalších diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

Protilátky spoločnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd sú určené na použitie na zmrazených rezoch alebo rezoch zaliatych parafínom so špecifickými požiadavkami na fixáciu, ako uvádza tento dokument. Najmä pri neopláziách môže dôjsť k nečakanej expresii antigénov. Klinická interpretácia akýchkoľvek farbených tkanivových rezov musí zahŕňať morfológickú analýzu a vyhodnotenie zodpovedajúcich kontrol.

### **Bibliografia – všeobecne**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248–259.

### **Úpravy predchádzajúceho vydania**

Neuplatňuje sa

### **Dátum vydania**

14 november 2018







Leica Biosystems Newcastle Ltd  
Balliol Business Park  
Benton Lane  
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW  
United Kingdom  
☎ +44 191 215 4242



Leica Biosystems Canada  
71 Four Valley Drive  
Concord, Ontario L4K 4V8  
Canada  
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Inc  
1700 Leider Lane  
Buffalo Grove IL 60089  
USA  
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Melbourne  
Pty Ltd  
495 Blackburn Road  
Mt Waverley VIC 3149  
Australia  
☎ +61 2 8870 3500