

MultiMix™**Triple-Colour Reagent****Anti-Human B Cell (FMC7)/FITC****Anti-Human CD23/RPE****Anti-Human CD19/APC****Code TC683****ENGLISH****Intended use**

For in vitro diagnostic use.

TC683 is intended for use in flow cytometry. The reagent is intended for use in identification of FMC7-, CD23- and CD19-positive cells.

The FMC7 antigen is present on a subpopulation of relatively mature B cells in normal peripheral blood (1, 2). The antigen is expressed in a range of lymphoproliferative disorders, including B-cell prolymphocytic leukemia (B-PLL), hairy cell leukemia (HCL), mantle cell lymphoma (MCL), follicle centre lymphoma (FCL), marginal zone lymphoma (MZL), mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma, diffuse large B cell lymphoma (DLCL), Burkitt's lymphoma (BL) and Waldenström macroglobulinaemia (WM) (1-4). FMC7 has a low expression or is absent in B-cell chronic lymphocytic/small lymphocytic lymphoma (B-CLL/SL), null-cell acute lymphoblastic leukemia (Null-ALL), B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) and multiple myeloma (MM) (1-5). The FMC7 antigen is not expressed in acute myeloid leukemia (AML), chronic myeloid leukemia (CML), T- ALL and T-PLL (5).

CD23 is identical to the low affinity IgE receptor (FcεRII) found on B cells. CD23 is primarily expressed on B cells and monocytes and shows a strong expression on EBV-transformed B lymphoblasts (6). CD23 is also present on a large variety of other cells, such as T cells, eosinophils, platelets, Langerhans cells and a subset of thymic epithelial cells (6). CD23 is expressed on neoplastic cells from cases of B-cell chronic lymphocytic leukemia and some cases of centroblastic/centrocytic lymphoma but is not found in other types of lymphoid neoplasms (7).

CD19 is the broadest lineage-specific surface marker for B cells and it is present on the surface of virtually all B lymphocytes, including early B progenitor cells. CD19 expression is maintained in B-lineage cells that have undergone neoplastic transformation (8). Antibodies to CD19 are considered essential for the initial evaluation of acute and chronic lymphoproliferative disorders (9).

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

Reagent provided

TC683 comprises the following three matched fluorescent antibodies:

Monoclonal Mouse Anti-Human B Cell (FMC7), Clone FMC7, conjugated with fluorescein isothiocyanate isomer 1 (FITC).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD23, Clone MHM6, conjugated with R-phycoerythrin (RPE).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD19, Clone HD37, conjugated with allophycocyanin (APC).

The three conjugates in TC683 have been produced from purified monoclonal mouse antibodies of isotypes IgM, kappa (Anti-B Cell (FMC7)), IgG1, kappa (Anti-CD23) and IgG1, kappa (Anti-CD19). TC683 is provided in liquid form in buffer containing 0.4% bovine serum albumin (BSA) and 15 mmol/L NaN₃, pH 8.0. Each vial contains 50 tests (20 µL of conjugate for up to 10⁶ leucocytes from normal human peripheral blood).

Specificity

Anti-B Cell (FMC7) reacts with 3-6% of normal peripheral blood mononuclear cells. These represent a subset of B cells that also expresses surface membrane immunoglobulin (Smlg). The antibody does not label B cells without Smlg, T cells and monocytes (5). In lymphoproliferative disorders, Anti-B Cell (FMC7) has been shown to label B-PLL (2/2 cases (1)), HCL (14/14 cases (1)), MCL (15/15 cases (1) and 12/13 cases (2)), FCL (24/24 cases (1) and 46/62 cases (2)), MZL (20/20 cases (1) and 13/14 cases (2)), MALT lymphoma (14/17 cases (2)), DLCL (54/64 cases (2)), BL (2/2 cases (1) and 1/1 case (2)) and WM (5/6 cases (1) and 10/11 cases (4)).

Anti-B Cell (FMC7) shows weak or no reactivity in B-CLL/SSL (27/27 cases (2), 106/121 cases (1); and 17/17 cases (5)), Null-ALL (19/19 cases (5)), B-ALL (1/1 case (2)), T-ALL (5/5 cases (5)), AML/CML (6/6 cases (5)), T-PLL (1/1 case (5)) and MM (26/26 cases (4)).

Anti-CD23, MHM6, was included in the Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens, and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD23 (6).

Anti-CD19, HD37, was included in the Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens, and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD19 (10,11).

Precautions

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store in the dark at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the reagent is suspected, contact Dako Technical Support.

Staining procedure

1. Transfer 100 µL of anticoagulated (EDTA) blood to a 12 mm x 75 mm polystyrene test tube.
2. Add 20 µL of TC683 and mix gently by using a vortex mixer.
3. Incubate the tube in the dark at 2-8 °C for 30 minutes or at room temperature (20-25 °C) for 15-30 minutes.
4. Add 100 µL of Uti-Lyse™ Reagent A (Dako Code S3325) to the tube and mix gently by using a vortex mixer. Incubate the tube for 10 minutes at room temperature in the dark.
5. Add 1 mL of Uti-Lyse™ Reagent B (Dako Code S3325) to the tube and mix gently by using a vortex mixer. Incubate the tube for 10 minutes at room temperature in the dark.
6. Centrifuge the tube at 300 x g for 5 minutes. Gently aspirate the supernatant and discard it leaving approximately 50 µL of fluid in the tube.
7. Add 2 mL of PBS (Dako Code S3024) to the tube and resuspend the cells by using a vortex mixer.
8. Repeat step 6.
9. Resuspend the cells in an appropriate fluid for flow cytometry, e.g. 0.3 mL PBS.
10. Analyse the sample on a flow cytometer or store it in the dark at 2-8 °C until analysis. Samples should be analysed within 24 hours after staining.

Note that fluorochrome conjugates are light sensitive, and samples should be protected from light during the staining procedure and until the analysis.

Procedural notes

Step 1: It is optional to include a suitable positive and negative control sample with each run for reagent and preparation control.

Step 2: The volume of conjugate recommended is a guideline only. Optimal staining conditions may vary depending on specimen and preparation method and should be determined by each individual laboratory.

It is optional to include a control reagent test tube. The control reagent should match the isotypes and fluorochromes of the conjugated antibody reagent.

Steps 4 and 5: If another cell-lysing reagent is used, please follow the recommendations for that reagent. Note that if the alternative lysing reagent does not contain fixative, such as Dako EasyLyse™, Code S2364, the PBS in step 9 should contain 1% paraformaldehyde unless the sample is analysed within the time frame recommended for the lysing reagent.

Step 10: Abnormal numbers of cells expressing the target antigen or cells showing aberrant expression levels of the antigen can be expected in some disease states. This may result in an altered pattern of staining. It is important to understand the normal expression pattern of an antigen and its relationship to the expression of other relevant antigens in order to perform appropriate analysis.

Multicolor reagents are preferable to single-color reagents for the comprehensive analysis of flow cytometry specimens. The correct use of color compensation is particularly important in multicolor analysis. The combination of FITC, RPE and APC is especially easy to work with since the emission spectra of these fluorochromes show minimum spectral overlap.

Product-specific limitations

Lysing of blood samples with lysing reagents containing fixative prior to incubation with TC683 can destroy the epitope recognized by Anti-Human B Cell (FMC7)/FITC.

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation en diagnostic *in vitro*.

Le TC683 est destiné à être utilisé en cytométrie de flux. Le réactif est destiné à être utilisé pour l'identification des cellules FMC7+, CD23+ et CD19+.

L'antigène FMC7 est présent sur une sous-population de lymphocytes B relativement matures dans le sang périphérique sain (1, 2). L'antigène est exprimé dans une variété de syndromes lymphoprolifératifs, y compris la leucémie polyléucocytaire B (LPL-B), la leucémie à tricholeucocytes (LT), le lymphome à cellules du manteau (MCL), le lymphome centrofolliculaire (FCL), le lymphome de la zone marginale (MZL), le lymphome du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT), le lymphome diffus à grandes cellules B (DLCL), le lymphome de Burkitt (LB) et la macroglobulinémie de Waldenström (MW) (1-4). L'expression du FMC7 est faible ou est absente dans le lymphome lymphocytaire chronique à lymphocytes B (B-CLL)/lymphome lymphocytaire à petits lymphocytes B (B-SLL), la leucémie aiguë lymphoblastique à cellules nulles (LAL-« nulle »), la leucémie aiguë lymphoblastique à cellules B (LAL-B) et le myélome multiple (MM) (1-5). L'antigène FMC7 n'est pas exprimé dans les leucémies aiguës myéloïdes (LAM), les leucémies myéloïdes chroniques (LMC), les LAL-T et les LPL-T (5).

Le CD23 est identique au récepteur des IgE de faible affinité (FcεRII) retrouvé sur les lymphocytes B. Le CD23 est exprimé essentiellement sur les lymphocytes B et les monocytes et présente une forte expression sur les lymphoblastes B transformés par l'EBV (6). Le CD23 est également présent sur une grande variété d'autres cellules, telles que les lymphocytes T, les éosinophiles, les plaquettes, les cellules de Langerhans et un sous-groupe de cellules épithéliales thymiques (6). Le CD23 est exprimé sur les cellules néoplasiques provenant de cas de leucémie lymphocytaire chronique B et de certains cas de lymphome centroblastique/centrocytaire mais il n'est pas retrouvé dans d'autres types de néoplasmes lymphoïdes (7).

Le CD19 est le marqueur de surface le plus large spécifique à la lignée des lymphocytes B ; il est présent sur pratiquement tous les lymphocytes B, y compris les cellules progénitrices B précoces. L'expression du CD19 est préservée dans les cellules de la lignée B ayant subi une transformation néoplasique (8). Les anticorps dirigés contre le CD19 sont considérés comme essentiels à l'évaluation initiale des syndromes lymphoprolifératifs aigus et chroniques (9).

Les résultats doivent être interprétés par un professionnel qualifié et tenir compte des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques.

Réactifs fournis

Le TC683 comprend les trois anticorps fluorescents suivants :

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human B Cell (FMC7), Clone FMC7, conjugué à l'isomère 1 de l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC).

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human CD23, Clone MHM6, conjugué à la R-phycoérythrine (RPE).

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human CD19, Clone HD37, conjugué à l'allophycocyanine (APC).

Les trois conjugués du TC683 ont été préparés à partir d'anticorps monoclonaux de souris purifiés d'isotypes IgM, kappa (anti-lymphocyte B (FMC7)), IgG1, kappa (anti-CD23) et IgG1, kappa (anti-CD19). Le TC683 est fourni sous forme liquide dans un tampon contenant 0.4% d'albumine de sérum bovin (BSA) et 15 mmol/L d'azide de sodium (NaN₃) de pH 8,0. Chaque flacon contient suffisamment de conjugué pour 50 tests (20 µL de conjugué pour 10⁶ leucocytes au maximum issu du sang périphérique d'individus sains).

Spécificité

L'anticorps anti-lymphocytes B (FMC7) réagit avec 3 à 6% des cellules mononucléées saines du sang périphérique. Celles-ci représentent un sous-groupe de lymphocytes B qui exprime également une immunoglobuline membranaire de surface (SmIg). L'anticorps ne marque pas les lymphocytes B dépourvus de cette immunoglobuline SmIg, les lymphocytes T et les monocytes (5). Dans les syndromes lymphoprolifératifs, il a été montré que l'anticorps anti-lymphocytes B (FMC7) marque la LPL-B (2 cas sur 2 (1)), la LT (14 cas sur 14 (1)), le MCL (15 cas sur 15 (1) et 12 cas sur 13 (2)), le FCL (24 cas sur 24 (1) et 46 cas sur 62 (2)), le MZL (20 cas sur 20 (1) et 13 cas sur 14 (2)), le lymphome MALT (14 cas sur 17 (2)), le DLCL (54 cas sur 64 (2)), le LB (2 cas sur 2 (1) et 1 cas sur 1 (2)) et la MW (5 cas sur 6 (1) et 10 cas sur 11 (4)).

L'anticorps anti-lymphocytes B (FMC7) présente une faible réactivité ou aucune réactivité dans le B-CLL/SLL (27 cas sur 27 (2)), 106 cas sur 121 (1) et 17 cas sur 17 (5)), la LAL-Nul (19 cas sur 19 (5)), la LAL-B (1 cas sur 1 (2)), la LAL-T (5 cas sur 5 (5)), la LAM/LMC (6 cas sur 6 (5)), la LPL-T (1 cas sur 1 (5)) et le MM (26 cas sur 26 (4)).

L'anticorps anti-CD23, MHM6, a été évoqué lors des Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Deuxième, troisième, quatrième et cinquième conférences et ateliers internationaux sur les antigènes de différenciation des leucocytes humains [HLDA]). Les études réalisées par plusieurs laboratoires ont confirmé sa réactivité avec le CD23 (6).

L'anticorps anti-CD19, HD37, a été évoqué lors des Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Deuxième, troisième, quatrième et cinquième conférences et ateliers internationaux sur les antigènes de différenciation des leucocytes humains [HLDA]). Les études réalisées par plusieurs laboratoires ont confirmé sa réactivité avec le CD19 (10,11).

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conservé dans l'obscurité entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons du patient. En cas de coloration inattendue, ne pouvant être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et de suspicion d'un problème avec le réactif, contacter Dako Services Techniques.

Procédure de coloration

1. Transférer 100 µL de sang non coagulé (EDTA) dans un tube à essai en polystyrène de 12 mm x 75 mm.
2. Ajouter 20 µL de TC683 et mélanger doucement à l'aide d'un agitateur vortex.
3. Incuber le tube dans l'obscurité entre 2 et 8 °C pendant 30 minutes ou à température ambiante (20–25 °C) pendant 15 à 30 minutes.
4. Ajouter 100 µL de réactif Uti-Lyse™ Reagent A (réf. Dako S3325) dans le tube et mélanger doucement à l'aide d'un agitateur vortex. Incuber le tube dans l'obscurité pendant 10 minutes à température ambiante.
5. Ajouter 1 mL de réactif Uti-Lyse™ Reagent B (réf. Dako S3325) dans le tube et mélanger doucement à l'aide d'un agitateur vortex. Incuber le tube dans l'obscurité pendant 10 minutes à température ambiante.
6. Centrifuger le tube à 300 g pendant 5 minutes. Aspirer doucement le surnageant et l'éliminer en laissant environ 50 µL de liquide dans le tube.
7. Ajouter 2 mL de PBS (réf. Dako S3024) dans le tube et remettre les cellules en suspension à l'aide d'un agitateur vortex.
8. Répéter l'étape 6.
9. Remettre les cellules en suspension dans un liquide adapté à la cytométrie en flux, par exemple 0,3 mL de PBS.
10. Analyser l'échantillon sur un cytomètre en flux ou le conserver dans l'obscurité entre 2 et 8 °C jusqu'à l'analyse. Analyser les échantillons dans les 24 heures qui suivent la coloration.

Noter que les conjugués fluorochromes sont photosensibles. Les échantillons doivent donc être protégés de la lumière pendant la procédure de coloration et jusqu'à l'analyse.

Remarques sur la procédure

Étape 1 : Il est facultatif d'inclure un échantillon de contrôle positif et négatif approprié à chaque cycle pour contrôler les réactifs et la préparation.

Étape 2 : Le volume de conjugué n'est donné qu'à titre indicatif. Les conditions de coloration optimales peuvent varier en fonction de l'échantillon et de la méthode de préparation, et doivent être déterminées au cas par cas par chaque laboratoire.

L'utilisation d'un tube à essai de réactif de contrôle est facultative. Le réactif de contrôle doit correspondre aux isotypes et aux fluorochromes du réactif anticorps conjugué.

Étapes 4 et 5 : Si un autre réactif de lyse cellulaire est utilisé, suivre les recommandations fournies pour ce réactif. Noter que si le réactif de lyse utilisé ne contient pas de fixateur comme le Dako EasyLyse™, réf. S2364, le PBS de l'étape 9 doit contenir 1% de paraformaldéhyde sauf si l'échantillon est analysé dans les délais recommandés pour le réactif de lyse.

Étape 10 : Pour certaines maladies, on peut s'attendre à obtenir des nombres anormaux de cellules exprimant l'antigène cible ou des niveaux aberrants d'expression de l'antigène. Ceci peut modifier le profil de coloration. Afin d'effectuer des analyses appropriées, il est important de comprendre le profil d'expression normal de l'antigène et ses relations avec l'expression d'autres antigènes pertinents.

Les réactifs multicolores sont préférables aux réactifs unicolores pour l'analyse complète des échantillons de cytométrie en flux. L'utilisation correcte de la compensation de couleur est particulièrement importante dans les analyses multicolores. La combinaison du FITC, de la RPE et de l'APC est particulièrement facile à utiliser car le chevauchement des spectres d'émission de ces fluorochromes est minime.

Limites spécifiques au produit

Effectuer la lyse des échantillons sanguins avec des réactifs de lyse contenant un fixateur avant de les incubier avec le TC683 risque de détruire l'épitope reconnu par l'anticorps anti-lymphocytes B humains (FMC7)/FITC.

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

TC683 ist für durchflusszytometrische Testverfahren bestimmt. Das Reagenz dient zur Identifizierung von Zellen, die FMC7, CD23 und CD19 exprimieren.

Das FMC7-Antigen kommt auf einer Subpopulation relativ reifer B-Zellen in normalem peripherem Blut vor (1, 2). Dieses Antigen wird bei verschiedenen lymphoproliferativen Erkrankungen exprimiert, darunter der B-Zell-Prolymphozytenleukämie (B-PLL), der Haarzell-Leukämie (HCL), dem Mantelzell-Lymphom (MCL), dem folliculären Keimzentrumlymphom (FCL), dem Marginalzonenlymphom (MZL), dem MALT-Lymphom, dem diffus großzelligen B-Zell-Lymphom (DLCL), dem Burkitt-Lymphom (BL) sowie der Makroglobulinämie (Morbus Waldenström, WM) (1-4). Die FMC7-Expression fehlt bzw. ist nur gering beim chronischen lymphozytischen B-Zell-Lymphom/kleinzelligen lymphozytischen B-Zell-Lymphom (B-CLL/SLL), bei der Null-ALL, der akuten B-ALL und beim multiplen Myelom (MM) (1-5). Weder bei der akuten myeloischen Leukämie (AML) noch der chronischen myeloischen Leukämie (CML), der T-ALL bzw. T-PLL wird das FMC7-Antigen exprimiert (5).

CD23 ist identisch mit dem auf B-Zellen auftretenden Low Affinity IgE Rezeptor (FcεRII). Das Antigen wird vorwiegend auf B-Zellen und Monozyten exprimiert; die Expression ist besonders stark auf EBV-transformierten B-Lymphoblasten (6). Ferner liegt CD23 auf zahlreichen weiteren Zellen vor, so z.B. auf T-Zellen, Eosinophilen, Thrombozyten, Langerhans'schen Zellen und einer Untergruppe der Thymusepithelzellen (6). CD23 wird auf neoplastischen Zellen exprimiert, und zwar bei chronisch lymphatischer B-Zell-Leukämie und in einigen Fällen des Zentroblasten-/Zentrozyten-Lymphoms; allerdings fehlt es bei anderen lymphoiden Neoplasien (7).

CD19 ist der umfassendste abstammungsspezifische Oberflächenmarker für B-Zellen, der auf nahezu allen B-Lymphozyten einschließlich früher B-Vorläuferzellen vorkommt. In B-Zellen, die eine neoplastische Transformation durchlaufen haben, bleibt die CD19-Expression erhalten (8). Antikörper gegen CD19 gelten als wichtig bei der Erstuntersuchung akuter und chronischer lymphoproliferativer Erkrankungen (9).

Die Auswertung der Ergebnisse muss von einem qualifizierten Experten unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten vorgenommen werden.

Mitgelieferte Reagenzien

TC683 enthält folgende drei aufeinander abgestimmte fluoreszierende Antikörper:

Monoclonal Mouse Anti-Human B Cell (FMC7), Clone FMC7, konjugiert mit Fluoreszein-Isothioyanat-Isomer 1 (FITC).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD23, Clone MHM6, konjugiert mit R-Phycoerythrin (RPE).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD19, Clone HD37, konjugiert mit Allophycocyanin (APC).

Die drei in TC683 enthaltenen Konjugate wurden aus gereinigten monoklonalen Mausantikörpern der Isotypen IgM, Kappa (Anti-B Cell (FMC7)), IgG1, Kappa (Anti-CD23) und IgG1, Kappa (Anti-CD19) hergestellt. TC683 wird in flüssiger Form in einem Puffer mit 0,4% Rinderserum-Albumin (BSA) und 15 mmol/L NaNa₃, pH 8,0 geliefert. Jedes Fläschchen enthält Konjugat für 50 Tests (20 µL Konjugat für bis zu 10⁶ Leukozyten aus normalem humanem peripherem Blut).

Spezifität

Anti-B Cell (FMC7) reagiert mit 3–6% der mononukleären Zellen in normalem peripherem Blut. Dabei handelt es sich um eine Untergruppe der B-Zellen, die auch das Oberflächenmembran-Immunglobulin (surface membrane immunoglobulin, Smlg) exprimieren. Der Antikörper markiert weder B-Zellen, bei denen das Smlg fehlt, noch T-Zellen oder Monozyten (5). Bei lymphoproliferativen Erkrankungen markierte Anti-B Cell (FMC7) B-PLL (2/2 Fällen (1)), HCL (14/14 Fällen (1)), MCL (15/15 Fällen (1) und 12/13 Fällen (2)), FCL (24/24 Fällen (1) und 46/62 Fällen (2)), MZL (20/20 Fällen (1) und 13/14 Fällen (2)), MALT-Lymphom (14/17 Fällen (2)), DLCL (54/64 Fällen (2)), BL (2/2 Fällen (1) und 1/1 Fall (2)) sowie WM (5/6 Fällen (1) und 10/11 Fällen (4)).

Bei B-CLL/SLL (27/27 Fällen (2)), 106/121 Fällen (1) und 17/17 Fällen (5)), Null-ALL (19/19 Fällen (5)), B-ALL (1/1 Fall (2)), T-ALL (5/5 Fällen (5)), AML/CML (6/6 Fällen (5)), T-PLL (1/1 Fall (5)) und MM (26/26 Fällen (4)) war die Reaktivität von Anti-B Cell (FMC7) nur gering bzw. blieb aus.

Anti-CD23, MHM6 wurde bei den Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (2., 3., 4. und 5. Internationale(r) Workshop und Konferenz über menschliche Leukozyten differenzierende Antigene) untersucht; seine Reaktivität mit CD23 wurde in Studien einer Reihe von Labors bestätigt (6).

Anti-CD19, HD37 wurde bei den Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (2., 3., 4. und 5. Internationale(r) Workshop und Konferenz über menschliche Leukozyten differenzierende Antigene) untersucht; seine Reaktivität mit CD19 wurde in Studien einer Reihe von Labors bestätigt (10,11).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.

2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Ansammlungen von Natriumazid können auch in Konzentrationen, die nicht als gefährlich klassifiziert sind, mit Blei- und Kupferabflussrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Azidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.

3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.

4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.

5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Aufbewahrung

Im Dunkeln bei 2–8 °C aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Reagenz hindeutet, ist bitte Kontakt mit Dako technischen Kundendienst aufzunehmen.

Färbeverfahren

1. 100 µL antikoagulierendes (EDTA) Blut in ein 12 mm x 75 mm Polystyrol-Teströhrchen geben.

2. 20 µL TC683 zugeben und mit einem Vortexer vorsichtig mischen.

3. Das Teströhrchen 30 Minuten im Dunkeln bei 2–8 °C oder 15–30 Minuten bei Raumtemperatur (20–25 °C) inkubieren.

4. 100 µL Uti-Lyse™ Reagent A (Dako Code-Nr. S3325) dazugeben und mit einem Vortexer vorsichtig mischen. Teströhrchen 10 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubieren.

5. Dem Teströhrchen 1 mL Uti-Lyse™ Reagent B (Dako Code-Nr. S3325) zusetzen und mit einem Vortexer vorsichtig mischen. Teströhrchen 10 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubieren.

6. 5 Minuten bei 300 x g zentrifugieren. Den Überstand vorsichtig absaugen und entsorgen, dabei etwa 50 µL Flüssigkeit übriglassen.
7. 2 mL PBS dazugeben (Dako Code-Nr. S3024) und Zellen mit einem Vortexer resuspendieren.
8. Schritt 6 wiederholen.
9. Zellen in einer geeigneten Flüssigkeit, z.B. 0,3 mL PBS, für die Durchflusszytometrie resuspendieren.
10. Die Probe auf einem Durchflusszytometer analysieren oder bis zur Analyse bei 2–8 °C im Dunkeln aufbewahren. Die Proben innerhalb von 24 Stunden nach dem Färben analysieren.

Bitte beachten, dass Fluorochrom-Konjugate lichtempfindlich sind und die Proben während des Färbeverfahrens und bis zur Analyse vor Licht geschützt werden müssen.

Hinweise

Schritt 1: Als Kontrolle für das Reagenz und das Präparat kann bei jedem Durchlauf eine geeignete positive und negative Kontrollprobe mitlaufen.

Schritt 2: Die empfohlene Konjugatmenge gilt nur als Richtlinie. Optimale Färbungsbedingungen können je nach Probe und Vorbereitungsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst bestimmt werden.

Es kann auch ein Teströhrchen mit einem Kontrollreagenz mitgefärbt werden. Das Kontrollreagenz sollte den Isotypen und Fluorochromen des konjugierten Antikörperreagenz entsprechen.

Schritte 4 und 5: Wird ein anderes Reagenz für die Zelllyisierung verwendet, bitte die Empfehlungen für dieses Reagenz befolgen. Falls dieses Lysierungsreagenz kein Fixiermittel wie Dako EasyLyse™, Code-Nr. S2364 enthält, sollte die PBS in Schritt 9 1% Paraformaldehyd enthalten, es sei denn, die Probe wird innerhalb des für das Lysereagenz empfohlenen Zeitrahmens analysiert.

Schritt 10: Bei einigen Krankheitsbildern sind bei den das Zielantigen exprimierenden Zellen anomale Mengen oder abweichende Antigen-Expressionsgrade zu erwarten. Dies kann zu einem veränderten Färbemuster führen. Um entsprechende Analysen durchführen zu können, ist es wichtig, das normale Expressionsmuster der Antigene und deren Verhältnis zur Expression anderer relevanter Antigene zu kennen.

Für die umfangreiche Analyse von Durchflusszytometrieproben sind mehrfarbige Reagenzien einfarbigen vorzuziehen. Die korrekte Durchführung des Farbausgleichs ist bei der Mehrfarben-Analyse von besonderer Bedeutung. Die Kombination aus FITC, RPE und APC ist besonders einfach in der Anwendung, da es bei den Emissionsspektren dieser Fluorochrome nur zu minimalen Überschneidungen kommt.










Produktspezifische Beschränkungen

Werden Blutproben vor der Inkubation mit TC683 mit einem fixiermittelhaltigen Lysierungsreagenz lysiert, kann das von Anti-Human B Cell (FMC7)/FITC erkannte Epitop zerstört werden.

References/ Références/ Literatur

1. Ahmad E, Garcia D, Davis BH. Clinical utility of CD23 and FMC7 antigen coexistent expression in B-cell lymphoproliferative disorder subclassification. *Cytometry* 2002;50:1-7.
2. Garcia DP, Rooney MT, Ahmad E, Davis BH. Diagnostic usefulness of CD23 and FMC-7 antigen expression patterns in B-cell lymphoma classification. *Am J Clin Pathol* 2001;115:258-65.
3. Zola H, Neoh SH, Potter A, Melo JV, De Oliveria MSP, Catovsky D. Markers of differentiated B cell leukaemia: CD22 antibodies and FMC7 react with different molecules. *Dis Markers* 1987;5:227-35.
4. San Miguel JF, Caballero MD, Gonzalez M, Zola H, Lopez Borrascas A. Immunological phenotype of neoplasms involving the B cell in the last step of differentiation. *Br J Haematol* 1986;62:75-83.
5. Brooks DA, Beckman IGR, Bradley J, McNamara PJ, Thomas ME, Zola H. Human lymphocyte markers defined by antibodies derived from somatic cell hybrids. IV. A monoclonal antibody reacting specifically with a subpopulation of human B lymphocytes. *J Immunol* 1981;126:1373-7.
6. Sarfati M, Ishihara H, Delespesse G. B7. CD23 workshop panel report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, et al., editors. *Leucocyte typing V. White celldifferentiation antigens. Proceedings of the 5th International Workshop and Conference; 1993 Nov 3-7; Boston, USA.* Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1995. Volume 1. p. 530-3.
7. Pallesen G. B2.5. The distribution of CD23 in normal human tissues and in malignant lymphomas. In: McMichael AJ, Beverley PCL, Cobbold S, Crumpton MJ, Gilks W, Gotch FM, et al., editors. *Leucocyte typing III. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 3rd International Workshop and Conference; 1986 Sep 21-26; Oxford, England.* Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1987. p. 383-6.
8. Sato S, Tedder TF. BC3. CD19 workshop panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, et al., editors. *Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 6th International Workshop and Conference; 1996 Nov 10-14; Kobe, Japan.* New York, London: Garland Publishing Inc.; 1997. p. 133-5.
9. Braylan RC, Orfao A, Borowitz MJ, Davis BH. Optimal number of reagents required to evaluate hematology neoplasias: results of an international consensus meeting. *Cytometry* 2001;46:23-7.
10. Nadler LM. B cell/leukemia panel workshop: summary and comments. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, editors. *Leucocyte typing II. Proceedings of the 2nd International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens; 1984 Sept 17-20; Boston, USA.* New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer-Verlag; 1986. Volume 2. p. 3-43.
11. Mason DY, Ladyman H, Gatter KC. Immunohistochemical analysis of monoclonal anti-B cell antibodies. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, editors. *Leucocyte typing II. Proceedings of the 2nd International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens; 1984 Sept 17-20; Boston, USA.* New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer-Verlag; 1986. Volume 2. p. 245-55.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

 Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis
 In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 Keep away from sunlight (consult storage section) Conserver à l'écart du soleil (se reporter à la section conservation) Lichtgeschützt lagern (siehe Abschnitt zur Lagerung)	 Manufacturer Fabricant Hersteller
 Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung	 Authorized representative in the European Community Représentant agréé dans la Communauté européenne Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com