

CONFIRM anti-CD20 (L26) Primary Antibody

REF 760-2531

05267099001

IVD  50

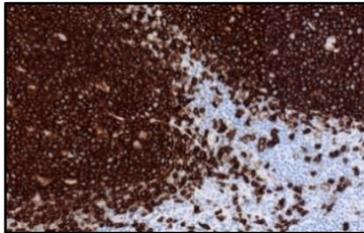


Figura 1. Tinción del apéndice mediante OptiView DAB IHC Detection Kit con CONFIRM anti-CD20 (L26) Primary Antibody.

Este anticuerpo está destinado para uso diagnóstico in vitro (IVD).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) Primary Antibody (anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26)) es un anticuerpo monoclonal de ratón dirigido contra el antígeno CD20. CD20 es una proteína transmembrana no glucosilada de 33-36 kDa cuya expresión se observa en estirpes de linfocitos B.¹⁻⁶ Su expresión se puede detectar primero en la fase de linfocitos pre-B y durante todas las fases de maduración de los linfocitos B.³⁻⁸ No obstante, la expresión de este antígeno no se presenta en células pro-B ni en plasmocitos.³⁻⁸ El antígeno CD20 es el marcador de células pan B más habitual en la evaluación de estirpes celulares de linfocitos B y su expresión se observa en casi todas las neoplasias de linfocitos B maduros y en casi ningún linfocito T.³⁻⁸ Cabe destacar que la detección de CD20 o su expresión dentro de una muestra de tejido puede reducirse en pacientes que hayan recibido tratamiento con terapias dirigidas contra CD20.^{9,10} Por tanto, teniendo en cuenta estas circunstancias, la confirmación de la estirpe de linfocitos B depende de otros marcadores de células pan B, como CD19, CD79a o Pax5, cuya expresión no se ve afectada por las terapias anti-CD20.^{9,10}

La detección de CD20 mediante inmunohistoquímica (IHC) con el anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) puede servir de ayuda en la identificación de linfocitos B normales o neoplásicos. Se puede utilizar como parte de un panel de estudios de IHC. El patrón de tinción es membranosa.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) puede usarse como el anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de secciones de tejido con parafina. El anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) se une a la proteína CD20 en las secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina (FFPE) y presenta un patrón de tinción membranosa. El anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) puede visualizarse mediante OptiView DAB IHC Detection Kit (n.º cat. 760-700 / 06396500001) o *ultraView* Universal DAB Detection Kit (n.º cat. 760-500 / 05269806001). Consulte la hoja de datos correspondiente para obtener más información.

MATERIAL SUMINISTRADO

El anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) contiene reactivo suficiente para 50 pruebas.

Un dispensador de 5 mL de anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) contiene aproximadamente 1,5 µg de un anticuerpo monoclonal de ratón (L26).

El anticuerpo se diluye en un tampón formado por Tris-HCl con una proteína transportadora y ProClin 300 al 0,10 %, un conservante.

La concentración del anticuerpo específico es aproximadamente de 0,3 µg/mL. No se ha observado ninguna reactividad del anticuerpo no específica conocida en este producto.

El anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) es un anticuerpo monoclonal de ratón producido como sobrenadante de un cultivo celular.

Consulte en la hoja de datos correspondiente del kit de detección de VENTANA las descripciones detalladas de: Principio del procedimiento, Material y métodos, Recogida y preparación de muestras para análisis, Procedimientos de control de calidad, Resolución de problemas, Interpretación de los resultados y Limitaciones.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministran reactivos de tinción como los kits de detección de VENTANA ni componentes auxiliares, incluyendo portaobjetos de control de tejido negativos y positivos.

No todos los productos que aparecen en la hoja de datos están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local de asistencia técnica de Roche.

No se suministran los reactivos y materiales siguientes, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Tejido de control recomendado
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Negative Control (Monoclonal) (n.º cat. 760-2014 / 05266670001)
4. OptiView DAB IHC Detection Kit (n.º cat. 760-700 / 06396500001)
5. *ultraView* Universal DAB Detection Kit (n.º cat. 760-500 / 05269806001)
6. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
7. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
8. LCS (Predilute) (n.º cat. 650-010 / 05264839001)
9. ULTRA LCS (Predilute) (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
10. Cell Conditioning Solution (CC1) (n.º cat. 950-124 / 05279801001)
11. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
12. Hematoxylin II (n.º cat. 790-2208 / 05277965001)
13. Bluing Reagent (n.º cat. 760-2037 / 05266769001)
14. Medio de montaje permanente
15. Cubreobjetos de cristal
16. Montador automático
17. Equipo de laboratorio de uso general
18. Instrumento BenchMark IHC/ISH

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvese entre 2 y 8 °C. No lo congele.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, vuelva a poner el tapón del dispensador después de cada uso y almacene inmediatamente el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpos tienen una fecha de caducidad. Si se almacena correctamente, el reactivo se mantendrá estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

De forma habitual, los tejidos FFPE que se procesan, resultan adecuados para su uso con este anticuerpo primario cuando se utilizan con los kits de detección de VENTANA y los instrumentos BenchMark IHC/ISH. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 %.¹¹ Las secciones de tejido se deben cortar con un grosor aproximado de 4 µm y colocarse en portaobjetos cargados positivamente. Los portaobjetos deben teñirse inmediatamente, ya que la antigenicidad de los cortes de tejido puede disminuir con el tiempo. Solicite a su representante de servicio de Roche una copia de «Recommended Slide Storage and Handling» para obtener más información al respecto.

Se recomienda que los controles positivos y negativos se ejecuten simultáneamente con muestras desconocidas.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. **PRECAUCIÓN:** En Estados Unidos, las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos. (Rx Only)
4. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
5. La solución ProClin 300 se utiliza como conservante en este reactivo. Está clasificada como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel.

- Adopte precauciones razonables cuando la manipule. Evite el contacto de reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa protectora y guantes.
- Los portaobjetos con carga positiva pueden verse afectados por presiones ambientales, dando lugar a una tinción incorrecta. Póngase en contacto con su representante de servicio de Roche para obtener más información sobre el uso de este tipo de portaobjetos.
 - Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos para el medio ambiente y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.^{12,13}
 - Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
 - Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
 - Para obtener más información sobre el uso de este dispositivo, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark IHC/ISH y las instrucciones de uso de todos los componentes necesarios que puede encontrar en navifyportal.roche.com.
 - Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
 - El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del SGA de la UE. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
 - Para comunicar la sospecha de incidentes graves relacionados con este dispositivo, póngase en contacto con su representante local de servicio Roche y con las autoridades competentes del Estado o País Miembro de residencia del usuario.

Este anticuerpo contiene componentes clasificados como sigue de acuerdo con la Normativa (CE) n.º 1272/2008

Tabla 1. Información de riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	H412	Perjudicial para los organismos acuáticos con efectos nocivos duraderos.
	P261	Evite inhalar la niebla o los vapores.
	P273	Evitar su emisión al medio ambiente.
	P280	Llevar guantes de protección.
	P333 + P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
	P362 + P364	Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
	P501	Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada.

Este producto contiene CAS n.º 55965-84-9, masa de reacción de: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

Los anticuerpos primarios VENTANA se han desarrollado para su uso en los instrumentos BenchMark IHC/ISH junto con los kits de detección de VENTANA y sus accesorios. Consulte Tabla 2 y Tabla 3 para ver los protocolos de tinción recomendados.

El anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) se ha optimizado para periodos de incubación y de recuperación del antígeno específicos, pero el usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo. Se recomienda encarecidamente al usuario no saltarse el paso de acondicionamiento celular.

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario de los instrumentos. Consulte la hoja de datos del kit de detección VENTANA correspondiente para obtener más detalles sobre los procedimientos de tinción de inmunohistoquímica.

Para obtener más información sobre el uso correcto de este dispositivo, consulte la hoja de datos del dispensador en línea asociado con P/N 760-2531.

Tabla 2. Protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) con OptiView DAB IHC Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método		
	GX	XT	ULTRA o ULTRA PLUS ^a
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	CC1 32 minutos	CC1 24 minutos	ULTRA CC1 32 minutos, 100 °C
Inhibidor preprimario de peroxidasa	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Anticuerpo (primario)	6 minutos, 37 °C	16 minutos, 37 °C	16 minutos, 36 °C
OptiView HQ Linker	8 minutos (predeterminado)		
OptiView HRP Multimer	8 minutos (predeterminado)		
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos		
Post-contratinción	Bluing, 4 minutos		

^a Se demostró la concordancia entre los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos.

Tabla 3. Protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) con ultraView Universal DAB Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método		
	GX	XT	ULTRA o ULTRA PLUS ^a
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	CC1 Suave	CC1 Suave	ULTRA CC1 36 minutos, 95 °C
Anticuerpo (primario)	8 minutos, 37 °C	16 minutos, 37 °C	16 minutos, 36 °C
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos		
Post-contratinción	Bluing, 4 minutos		

^a Se demostró la concordancia entre los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos.

Debido a variaciones en la fijación y el procesamiento del tejido, así como a las condiciones generales de los instrumentos y del entorno del laboratorio, puede que sea necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario, acondicionamiento celular o tratamiento previo de la proteasa en función de las muestras particulares, del método de detección utilizado y de las preferencias del lector. Para obtener más información sobre las variables de fijación, consulte «Immunohistochemistry Principles and Advances».¹⁴

CONTROL DE REACTIVO NEGATIVO

Además de la tinción con el anticuerpo anti-CD20 (L26), se debe teñir un segundo portaobjetos con el reactivo de control negativo correspondiente.

CONTROL DE TEJIDO POSITIVO

La práctica de laboratorio óptima consiste en incluir una sección de control positivo en el mismo portaobjetos que el tejido de la prueba. Esto contribuye a identificar fallos al aplicar los reactivos al portaobjetos. Un tejido con una tinción débil positiva es más adecuado

para el control de calidad. El tejido de control puede contener elementos de tinción tanto positiva como negativa y ambos sirven como control positivo y negativo. El tejido de control debe ser una muestra de autopsia reciente, biopsia o cirugía preparada o fijada con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de las secciones de prueba.

Los controles de tejido positivos conocidos solo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los reactivos y los instrumentos, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras de prueba. Si los controles de tejido positivos no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

Como ejemplos de tejidos de control positivo para el anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) se encuentran el bazo, la amígdala o el ganglio linfático.

INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES Y RESULTADOS PREVISTOS

El patrón de tinción celular del anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) es membranosa.

LIMITACIONES ESPECÍFICAS

La detección mediante el sistema OptiView Detection es por lo general más sensible que la del sistema *ultraView* Detection. El usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo y los sistemas de detección.

Es posible que no estén todos los ensayos registrados en cada instrumento. Póngase en contacto con el representante local de servicio Roche para obtener más información.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

RENDIMIENTO DE ANÁLISIS

Se realizaron pruebas de tinción para evaluar la sensibilidad, especificidad y precisión y los resultados se indican a continuación.

Sensibilidad y especificidad

Tabla 4. La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) se determinó analizando tejidos normales FFPE.

Tejido	N.º de casos positivos/total	Tejido	N.º de casos positivos/total
Cerebro	0/3	Timo*	0/3
Cerebelo	0/3	Mieloide (médula ósea)*	0/3
Glándula suprarrenal	0/3	Pulmón*	0/3
Ovario	0/3	Corazón	0/3
Páncreas*	0/3	Esófago*	0/3
Glándula paratiroidea*	0/3	Estómago*	0/3
Glándula pituitaria*	0/3	Intestino delgado*	0/3
Testículos	0/3	Colon*	0/3
Tiroides*	0/3	Hígado*	0/3
Mama*	0/5	Glándula salival*	0/3
Bazo*	5/5	Riñón*	0/3
Amígdala*	7/7	Próstata*	0/3
Endometrio*	0/3	Cuello del útero*	0/3
Músculo esquelético	0/3	Piel*	0/3
Nervio (disperso)	0/3	Mesotelio del pulmón	0/6
Vejiga*	0/4	Ganglio linfático*	7/7

* Tinción de linfocitos B

Tabla 5. La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) se determinó analizando una variedad de tejidos neoplásicos FFPE.

Patología	N.º de casos positivos/total
Glioblastoma (cerebro)	0/1
Meningioma (cerebro)	0/1
Ependimoma (cerebro)	0/1
Oligodendroglioma (cerebro)	0/1
Carcinoma seroso papilar (ovario)	0/1
Carcinoma (ovario)	0/1
Neoplasia neuroendocrina (páncreas)	0/1
Adenocarcinoma (páncreas)	0/1
Seminoma (testículos)	0/2
Carcinoma medular (tiroides)	0/1
Carcinoma papilar (tiroides)	0/1
Carcinoma ductal in situ (DCIS) (mama)	0/2
Carcinoma ductal invasivo (mama)	0/1
Carcinoma de células pequeñas (pulmón)	0/1
Carcinoma de células escamosas (pulmón)	0/1
Adenocarcinoma (pulmón)	0/1
Carcinoma neuroendocrino (esófago)	0/1
Adenocarcinoma (esófago)	0/1
Carcinoma de células en anillo de sello (Estómago)	0/1
Adenocarcinoma (gastrointestinal)	0/3
Tumor estromal gastrointestinal (GIST)	0/3
Carcinoma hepatocelular (hígado)	0/1
Hepatoblastoma (hígado)	0/1
Carcinoma de células claras (riñón)	0/1
Adenocarcinoma (próstata)	0/2
Carcinoma (endometrio)	0/1
Carcinoma de células claras (endometrio)	0/1
Carcinoma de células escamosas (cuello uterino)	0/2
Rabdomiosarcoma embrionario	0/1
Melanoma (recto)	0/1
Carcinoma de células basales (piel)	0/1
Carcinoma de células escamosas (piel)	0/1
Neurofibroma	0/1
Neuroblastoma (retroperitoneal)	0/1
Mesotelioma	0/1
Carcinoma urotelial (vejiga)	0/1

Patología	N.º de casos positivos/total
Leiomiomasarcoma	0/2
Osteosarcoma	0/1
Rabdomiosarcoma de células fusiformes	0/1
Linfoma de linfocitos B, sin especificar	129/133
Linfoma de linfocitos T, sin especificar	1/54
Linfoma anaplásico de células grandes (ganglio linfático)	1/5
Linfoma de Hodgkin (ganglio linfático)	1/3

Precisión

Se llevaron a cabo estudios de precisión con el anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) para demostrar:

- La precisión intermedia entre lotes del anticuerpo.
- La precisión intraserial y entre días en un instrumento BenchMark ULTRA.
- La precisión intermedia entre instrumentos en los instrumentos BenchMark GX, BenchMark XT y BenchMark ULTRA.
- La precisión intermedia entre plataformas entre los instrumentos BenchMark GX, BenchMark XT y BenchMark ULTRA.

Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

Se demostró la precisión del instrumento BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos. Entre los estudios que se llevaron a cabo figuraban la repetibilidad dentro del análisis y la precisión intermedia entre días y entre instrumentos. Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

RENDIMIENTO CLÍNICO

Los datos de rendimiento clínico pertinentes para el uso previsto del anticuerpo CONFIRM anti-CD20 (L26) se evaluaron mediante revisión sistemática de la documentación oportuna. Los datos obtenidos respaldan la utilización del dispositivo de acuerdo con su uso previsto.

REFERENCIAS

1. Mason DY, Comans-Bitter WM, Cordell JL, Verhoeven MA, van Dongen JJM. Antibody L26 recognizes an intracellular epitope on the B-cell-associated CD20 antigen. *Am J Pathol.* 1990;136(6):1215-1222.
2. Chu PG, Loera S, Huang Q, Weiss LM. Lineage determination of CD20-B-Cell neoplasms: an immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol.* 2006;126(4):534-544.
3. Swerdlow S, Campo E, Harris NL, et al. *WHO Classification of Tumours.* Lyon: IARC; 2017.
4. O'Malley DP, Fedoriv Y, Grimm KE, et al. Immunohistology of Lymph Node and Lymph Node Neoplasms, 5th Edition. In: Dabbs DJ, ed. *Diagnostic Immunohistochemistry.* Elsevier 2019:160-202
5. Higgins RA, Blankenship JE, Kinney MC. Application of Immunohistochemistry in the Diagnosis of Non-Hodgkin and Hodgkin Lymphoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132(3):441-461.
6. O'Malley DP, Auerbach A, Weiss LM. Practical Applications in Immunohistochemistry: Evaluation of Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Related Large B-Cell Lymphomas. *Arch Pathol Lab Med.* 2015;139(9):1094-1107
7. Bene MC, Nebe T, Bettelheim P, et al. Immunophenotyping of Acute Leukemia and Lymphoproliferative Disorders: A Consensus Proposal of the European Leukemianet Work Package 10. *Leukemia.* 2011;25(4):567-574.
8. Buske C, Hutchings M, Ladetto M, et al. ESMO Consensus Conference on Malignant Lymphoma: General Perspectives and Recommendations for the Clinical Management of the Elderly Patient with Malignant Lymphoma. *Ann Oncol.* 2018;29(3):544-562.
9. Cragg MS, Walshe CA, Ivanov AO, et al. The Biology of CD20 and Its Potential as a Target for Mab Therapy. In: Stohl W, ed. *B Cell Tropic Factors and B Cell Antagonism in Autoimmune Disease.* Vol 8. Basel, Karger 2005:140-174
10. Casan JML, Wong J, Northcott MJ, et al. Anti-CD20 Monoclonal Antibodies: Reviewing a Revolution. *Hum Vaccin Immunother.* 2018;14(12):2820-2841.

11. Carson FL, Cappellano C. *Histotechnology; A Self-Instructional Text,* 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
12. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
13. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
14. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances.* Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

NOTA: En este documento se ha usado el punto como separador decimal para marcar el borde entre la parte entera y la parte fraccionaria de los numerales con decimales. No se han usado separadores para las unidades de millar.

El resumen de los aspectos de seguridad y rendimiento se puede ver a continuación:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para EE. UU.: consulte elabdoc.roche.com/symbols para obtener más información al respecto).



Número mundial de artículo comercial



Identificación única del dispositivo



Indica la entidad que ha importado el producto sanitario en la Unión Europea

HISTORIAL DE REVISIONES

Rev.	Actualizaciones
H	Se ha actualizado la sección Rendimiento de análisis.

PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, OPTIVIEW, *ultraView* y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMACIÓN DE CONTACTO



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)
www.roche.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany
+800 5505 6606

