

**Monoclonal Mouse  
Anti-Human CD21**  
Clone 1F8

Code M0784

**ENGLISH****Intended use**

For in vitro diagnostic use.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD21, Clone 1F8, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). The antibody labels CD21-expressing follicular dendritic cells and mature B cells and is a useful aid for the classification of malignant lymphomas (1). Differential classification is aided by the results from a panel of antibodies. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist. This antibody is intended to be used after the primary diagnosis has been made by conventional histopathology using nonimmunologic histochemical stains.

**Synonyms for antigen**

C3d-receptor, CR2, EBV-receptor (2).

**Summary and explanation**

CD21 is a transmembrane glycoprotein belonging to a family of complement regulatory proteins, comprising CD35, C4-binding protein, factor H and CD55. CD21 has an Mr of 145 000 and in its soluble form, sCD21, an Mr of 130 000. The extracellular region consists of multiple short consensus repeats, which contain several distinct ligand-binding sites. Binding of the specific ligands results in differential transmembrane signalling via the cytoplasmic tail that has potential protein kinase C and tyrosine kinase phosphorylation sites (2, 3).

CD21 is expressed by follicular dendritic cells (FDCs) and mature B cells (3). FDCs form a three-dimensional meshwork in B-cell follicles, which apparently defines the structure of the follicular compartment (1). On lymphoid tissue B cells, CD21 expression is strong on marginal zone, and moderate on mantle zone B cells. Germinal centre B cells have been found to be negative with most CD21 mAbs, and bone marrow B cells have little or no CD21 expression. The expression of CD21 is gradually lost, together with IgD, after stimulation of resting B cells in vitro. Further, CD21 has been found on several types of epithelial cells, and with low expression on T-cell acute lymphoblastic leukemic cells, subsets of normal thymocytes, and mature T cells (3).

Refer to *Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: Principle of Procedure, Materials Required, Not Supplied, Storage, Specimen Preparation, Staining Procedure, Quality Control, Troubleshooting, Interpretation of Staining, General Limitations.

**Reagent provided**

Monoclonal mouse antibody provided in liquid form as cell culture supernatant dialysed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and containing 15 mmol/L NaN<sub>3</sub>.

Clone: 1F8 (4). Isotype: IgG1, kappa.

Mouse IgG concentration: See label on vial.

The protein concentration between lots may vary without influencing the optimal dilution. The titer of each individual lot is compared and adjusted to a reference lot to ensure a consistent immunohistochemical staining performance from lot-to-lot.

**Immunogen**

CD21 preparation purified from human tonsils to 60% purity (4).

**Specificity**

In Western blotting of the immunogen, the antibody labels a band of 145 kDa, corresponding to CD21. The epitope recognized by the antibody is located within a 72 kDa C3d-binding fragment (4).

The antibody labels cells or cell lines known to express CD21 (Raji, NC 37, tonsil cells), whereas no labeling is observed in the CD21-negative Jurkat cells (T-cell line) and human erythrocytes (4).

**Precautions**

1. For in vitro diagnostic use.
2. For professional users.
3. This product contains sodium azide (NaN<sub>3</sub>), 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.
4. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
5. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
6. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

**Storage**

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

**Specimen preparation**

Paraffin sections: The antibody can be used for labeling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Pre-treatment of deparaffinized tissues with heat-induced epitope retrieval is required. Optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, whereas pre-treatment of tissues with Dako Proteinase K, Code S3020, was found less efficient. Heat-induced epitope retrieval using Dako Target Retrieval Solution, pH 9.0, Code S2368, and 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0, was found inefficient. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure.

**Staining procedure**

These are guidelines only. Optimal conditions may vary depending on specimen type and preparation method, and should be validated individually by each laboratory. The performance of this antibody should be established by the user when utilized with other manual staining systems or automated platforms.

Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human CD21, Code M0784, may be used at a dilution range of 1:25-1:50 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human tonsil and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. The recommended negative control is Dako Mouse IgG1, Code X0931, diluted to the same mouse IgG concentration as the primary antibody. Unless the stability of the diluted antibody and negative control has been established in the actual staining procedure, it is recommended to dilute these reagents immediately before use, or dilute in Dako Antibody Diluent, Code S0809.

Visualization: Dako EnVision+HRP kits, e.g. Code K4005, are recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.

Quality control: Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimen.

**Staining interpretation**

Cells labeled by the antibody display staining confined to the cell membrane.

## Performance characteristics

**Normal tissues:** In reactive lymphoid hyperplasia, the antibody strongly labels germinal centre FDCs in 11/11 cases, with a densely meshed FDC staining of the light zone and a loosely arranged, much less compact FDC staining of the dark zone. The antibody labels plasma cells, and gives a faint and less consistent labeling of lymphocytes in the mantle zone. Sinus-lining cells and monocytoïd B cells are weakly labeled (1).

**Abnormal tissues:** In six cases of B-cell chronic lymphocytic leukemia, the antibody showed weak surface labeling of neoplastic cells in four cases, and labeled FDCs in the sparse residual germinal centres in four cases. In 8/8 mantle cell lymphomas, the antibody labeled loosely arranged, ill-defined, and expanded FDC meshworks of either nodular or diffuse patterns, resembling broken-up primary follicles. In 11/11 follicular lymphomas, the abnormal follicles demonstrated dense, sharply defined, expanded and sometimes merging FDC meshworks. However, only loose and patchy FDC labeling was observed in five cases with high-grade transformation in the areas of diffuse large cell lymphoma. In 7/7 low-grade MALT-type B-cell lymphomas, the antibody labeled expanded FDC meshworks, with particularly dense and confluent appearance in cases of primary salivary gland and gastric lymphomas. In 5/5 T-cell and histiocyte-rich B-cell lymphomas, the antibody labeled a few compressed residual follicles at the periphery of the lymphomatous involvement. In 9/9 angioimmunoblastic T-cell lymphomas, clusters of dendritic cells with FDC morphology appeared with frequent incorporation of proliferating postcapillary venules. In 4/4 nodular lymphocyte predominance Hodgkin's lymphomas, the antibody labeled enlarged FDC meshworks overlapping the expanded mantle zones. In 15 cases of Hodgkin's lymphoma of nodular sclerosing subtype, the antibody labeled sharply defined, sometimes irregular FDC meshworks surrounding the negative tumor cells in 11 cases of grade I, and showed sparse or no labeling in 4 cases of grade II disease (1). In follicular dendritic sarcoma, the antibody labeled neoplastic cells in 17/17 cases (5). In another study (6) the antibody labeled Reed-Sternberg and Hodgkin's cells in 7/37 cases of nodular sclerosing, 2/41 cases of mixed cellularity, and 5/12 cases of lymphocyte depletion Hodgkin's lymphoma, whereas no labeling of tumor cells was observed in four cases of lymphocyte predominance type. In nine of the cases where Reed-Sternberg and Hodgkin's cells were labeled by the antibody, the cells expressed no other B- or T-cell associated markers (6).

## FRANÇAIS

### Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human CD21, Clone 1F8, est destiné à être utilisé en immunohistochimie (IHC). L'anticorps marque les lymphocytes B matures et les cellules dendritiques folliculaires exprimant la CD21. Cet anticorps facilite la classification des lymphomes malins (1). La classification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié. Cet anticorps est destiné à être utilisé après un diagnostic primaire par histopathologie traditionnelle utilisant des colorations histochimiques non immunologiques.

### Synonymes de l'antigène

Récepteur de C3d, CR2, récepteur de l'EBV (2).

### Résumé et explication

La CD21 est une glycoprotéine transmembranaire qui appartient à une famille de protéines régulatrices du complément, comprenant la CD35, la protéine de liaison C4, le facteur H et la CD55. La CD21 a une masse moléculaire de 145 000 et, dans sa forme soluble, sCD21, une masse moléculaire de 130 000. La région extracellulaire est constituée de nombreuses répétitions de séquences courtes, qui comportent plusieurs sites distincts de liaison des ligands. La liaison de ligands spécifiques se traduit par une signalisation transmembranaire différentielle via la queue cytoplasmique qui peut comporter des sites de phosphorylation de la protéine kinase C et de la tyrosine kinase (2, 3).

La CD21 est exprimée par les cellules dendritiques folliculaires et les lymphocytes B matures (3). Les dendritiques folliculaires forment un tissu tridimensionnel de follicules des lymphocytes B, qui définit apparemment la structure du compartiment folliculaire (1). Sur les lymphocytes B du tissu lymphoïde, l'expression de la CD21 est forte sur une zone marginale et modérée sur les lymphocytes B de la zone du manteau. Les lymphocytes B du centre germinatif se sont avérés être négatifs à la plupart des mAb de la CD21, et les lymphocytes B de la moelle osseuse présentent une expression très faible, voire aucune expression, de la CD21. L'expression de la CD21 se perd progressivement, en même temps que les IgD, après stimulation des lymphocytes B au repos in vitro. En outre, la CD21 s'avère présente sur plusieurs types de cellules épithéliales, et s'accompagne d'une faible expression sur les cellules de leucémies lymphoblastiques aiguës à lymphocytes T, de sous-ensembles de thymocytes normaux, et de lymphocytes T matures (3).

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du système de détection pour les procédures IHC : Principe de la procédure, Matériel requis mais non fourni, Conservation, Préparation des échantillons, Procédure de coloration, Contrôle de qualité, Dépannage, Interprétation de la coloration, Limites générales.

### Réactif fourni

Anticorps monoclonal de souris, fourni sous forme liquide en tant que surnageant de culture cellulaire, dialysé contre 0,05 mol/L de Tris-HCl à pH 7,2 et contenant 15 mmol/L d'azide de sodium (NaN<sub>3</sub>).

Clone : 1F8 (4). Isotype : IgG1, kappa.

Concentration en IgG de souris : Voir l'étiquette sur le flacon.

La concentration en protéines peut varier d'un lot à l'autre sans que cela influence la dilution optimale. Le titre de chaque lot est comparé et ajusté par rapport à un lot de référence pour assurer des performances de coloration immunohistochimiques cohérentes d'un lot à l'autre.

### Immunogène

Préparation de CD21 purifiée issue d'amygdale humaine à une pureté de 60% (4).

### Spécificité

Dans les analyses par Western blot de l'immunogène, l'anticorps marque des bandes de 145 kDa correspondant à la CD21. L'épitope reconnu par l'anticorps est situé au sein d'un fragment de liaison de la C3d de 72 kDa (4).

L'anticorps marque les cellules ou lignées cellulaires connues pour exprimer la CD21 (Raji, NC 37, cellules d'amygdale), alors qu'aucun marquage n'est observé dans les cellules de Jurkat négatives à la CD21 (lignée de lymphocytes T) et dans les érythrocytes humains (4).

### Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN<sub>3</sub>), 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.
4. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées.
5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau.
6. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.

### Conservation

Conservé entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par des différences dans les procédures du laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.

### Préparation des échantillons

Coupes en paraffine : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. Le prétraitement des tissus déparaffinés avec une restauration d'épitope induite par la chaleur est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus avec le produit Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, tandis que le prétraitement des tissus avec le produit Dako Proteinase K, réf. S3020, s'est avéré moins efficace. La restauration d'épitope induite par la chaleur dans le produit Dako Target Retrieval Solution, pH 9,0, réf. S2368, et dans 10 mmol/L de tampon citrate, à pH 6,0, s'est avérée inefficace. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante.

## Procédure de coloration

Il ne s'agit là que de conseils. Les conditions optimales peuvent varier en fonction du type de prélèvement et de la méthode de préparation, et doivent être validées individuellement par chaque laboratoire. Les performances de cet anticorps doivent être établies par l'utilisateur lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuelle ou plates-formes automatisées.

**Dilution :** Le Monoclonal Mouse Anti-Human CD21, réf. M0784, peut être utilisé à une gamme de dilution de 1:25 à 1:50 lorsqu'il est appliqué sur des coupes d'amygdale humaine fixées au formol et incluses en paraffine, en utilisant une restauration d'épitope induite par la chaleur de 20 minutes dans le produit Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, et une incubation de 30 minutes avec l'anticorps primaire à température ambiante. Le contrôle négatif recommandé est le produit Dako Mouse IgG1, réf. X0931, dilué à la même concentration en IgG de souris que l'anticorps primaire. À moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif n'ait été établie dans la procédure de coloration en cours, il est recommandé de diluer ces réactifs immédiatement avant utilisation ou de les diluer avec le produit Dako Antibody Diluent, réf. S0809.

**Visualisation :** Il est recommandé d'utiliser les kits Dako EnVision+HRP, réf. K4005. Suivre la procédure incluse dans le kit de visualisation sélectionnée.

**Contrôle de qualité :** Les tissus de contrôle positifs et négatifs, ainsi que le réactif de contrôle négatif, doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients.

## Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent généralement une coloration limitée à la membrane cellulaire.

## Performances

**Tissus sains :** Dans l'hyperplasie lymphoïde réactive, l'anticorps marque fortement les cellules dendritiques folliculaires du centre germinatif dans 11 cas sur 11, avec une coloration des cellules dendritiques folliculaires fortement intriquée dans la zone claire et une coloration des cellules dendritiques folliculaires imprécise et beaucoup moins compacte dans la zone sombre. L'anticorps marque les cellules plasmiques et entraîne un marquage faible et moins homogène des lymphocytes de la zone du manteau. Les cellules de la paroi sinusale et les lymphocytes B monocytoides sont faiblement marqués (1).

**Tissus anormaux :** Dans 6 cas de leucémie lymphoïde chronique à lymphocytes B, l'anticorps a présenté un marquage de surface faible des cellules néoplasiques dans quatre cas, ainsi qu'un marquage des cellules dendritiques folliculaires dans les centres germinatifs résiduels épars dans quatre cas. Dans 8 cas sur 8 de lymphome à cellules du manteau, l'anticorps a marqué des tissus de cellules dendritiques folliculaires étendus, mal définis et peu denses soit nodulaires soit diffus, ressemblant à des follicules primaires brisés. Dans 11 cas sur 11 de lymphome folliculaire, les follicules anormaux ont présenté un tissu de cellules dendritiques folliculaires dense, nettement défini, étendu et parfois fusionnant. Cependant, seul un marquage de cellules dendritiques folliculaires imprécis et irrégulier a été observé dans cinq cas avec une transformation de haut grade dans les zones de lymphome diffus à grandes cellules. Dans 7 cas sur 7 de lymphome à lymphocytes B de type MALT de faible grade, l'anticorps a marqué des tissus de cellules dendritiques folliculaires étendus, avec une apparence particulièrement dense et confluyente dans les cas de lymphomes primaires gastriques et des glandes salivaires. Dans 5 cas sur 5 de lymphome à lymphocytes T et de lymphomes à lymphocytes B riches en histiocytes, l'anticorps a marqué quelques follicules résiduels comprimés à la périphérie de l'engagement lymphomateux. Dans 9 cas sur 9 de lymphome à lymphocytes T angio-immunoblastiques, des foyers de cellules dendritiques ayant une morphologie de cellules dendritiques folliculaires sont apparus avec une incorporation fréquente de veinules post-capillaires proliférantes. Dans 4 cas sur 4 de lymphome hodgkinien nodulaire à prédominance lymphocytaire, l'anticorps a marqué des tissus de cellules dendritiques folliculaires étendus chevauchant les zones du manteau étendues. Dans 15 cas de lymphome d'Hodgkin de sous-type nodulaire sclérosant, l'anticorps a marqué des tissus de cellules dendritiques folliculaires nettement définis, parfois irréguliers entourant des cellules tumorales négatives dans 11 cas de grade I, et a présenté un marquage épars, voire aucun marquage dans 4 cas de grade II (1). Dans le sarcome dendritique folliculaire, l'anticorps a marqué les cellules néoplasiques dans 17 cas sur 17 (5). Dans une autre étude (6), l'anticorps a marqué des cellules de Reed-Sternberg et d'Hodgkin dans 7 cas sur 37 de sclérose nodulaire, 2 cas sur 41 de lymphome à cellularité mixte, et 5 cas sur 12 de lymphome hodgkinien à déplétion lymphocytaire, alors qu'aucun marquage de cellules tumorales n'a été observé dans 4 cas de type à prédominance lymphocytaire. Dans 9 de ces cas où des cellules de Reed-Sternberg et de Hodgkin étaient marquées par l'anticorps, les cellules n'ont exprimé aucun autre marqueur associé aux lymphocytes B ou T (6).

## DEUTSCH

### Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD21, Clone 1F8, ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Dieser Antikörper markiert follikuläre dendritische Zellen und reife B-Zellen, die CD21 exprimieren, und ist hilfreich bei der Klassifikation von malignen Lymphomen (1). Die Differenzialklassifikation wird durch die Ergebnisse eines Antikörper-Panels unterstützt. Die klinische Auswertung einer eintretenden oder ausbleibenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden. Dieser Antikörper kommt nach der Primärdiagnose durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung von nicht immunologischen histochemischen Färbungen zum Einsatz.

### Synonyme Bezeichnungen des Antigens

C3d-Rezeptor, CR2, EBV-Rezeptor (2).

### Zusammenfassung und Erklärung

CD21 ist ein transmembranes Glykoprotein aus der Familie komplementregulierender Proteine, wie u. a. CD35, C4-bindendes Protein, Faktor H und CD55. CD21 hat ein Mr von 145 000 und in seiner löslichen Form, sCD21, ein Mr von 130 000. Die extrazelluläre Region besteht aus mehreren Kurzkonsenswiederholungen, die mehrere klare ligandenbindende Stellen enthalten. Die Bindung der spezifischen Liganden ergibt eine differenzielle transmembranöse Signaltransduktion über den zytoplasmatischen Schwanz, der potenzielle Phosphorylierungsstellen von Proteinkinase C und Tyrosinkinase aufweist (2, 3).

CD21 wird von follikulären dendritischen Zellen (FDCs) und reifen B-Zellen exprimiert (3). FDCs bilden ein dreidimensionales Netzwerk in B-Zellfollikeln, das anscheinend die Struktur des follikulären Kompartiments definiert (1). Auf B-Zellen von lymphoidem Gewebe ist die CD21-Expression in Randzonen stark und in Mantelzonen-B-Zellen moderat ausgeprägt. Keimzentrum-B-Zellen wurden mit den meisten CD21 mAbs als negativ befunden und Knochenmark-B-Zellen weisen wenig oder keine CD21-Expression auf. Die Expression von CD21 geht zusammen mit IgD nach der Stimulierung von ruhenden B-Zellen in vitro schrittweise verloren. Außerdem wurde CD21 auf einigen Arten von Epithelzellen gefunden sowie mit geringer Expression auf akuten lymphoblastischen Leukämiezellen des T-Zellentyps, Untergruppen von normalen Thymozyten und reifen T-Zellen (3).

Folgende Angaben bitte den *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von *Dako* bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: Verfahrensprinzipien; Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien; Lagerung; Gewebepreparation; Färbeverfahren; Qualitätskontrolle; Fehlerbehandlung; Auswertung der Färbung; Allgemeine Beschränkungen.

### Geliefertes Reagenz

Monoklonale Mausantikörper in flüssiger Form als gegen 0,05 mol/L Tris-HCl, pH 7,2 und 15 mmol/L Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> dialysierter Zellkulturüberstand.

**Klon:** 1F8 (4). **Isotyp:** IgG1, Kappa.

**Konzentration von Maus-IgG:** Siehe Behälteretikett.

Die Proteinkonzentration kann zwischen Chargen abweichen, ohne die optimale Verdünnung zu beeinflussen. Der Titer jeder Charge wird mit dem einer Referenzcharge verglichen und dieser angeglichen, um konstante immunhistochemische Färbegergebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.

### Immungen

CD21-Präparat aus menschlichem Mandelgewebe, zu 60% rein (4).

### Spezifität

Beim Western Blotting des Immungens markiert der Antikörper Banden von 145 kDa, was CD21 entspricht. Das vom Antikörper erkannte Epitop ist innerhalb eines 72 kDa schweren, C3d-bindenden Fragments lokalisiert (4).

Der Antikörper markiert Zellen oder Zelllinien, von denen bekannt ist, dass sie CD21 exprimieren (Raji, NC 37, Mandelgewebezellen), hingegen keine Markierung in den CD21-negativen Jurkat-Zellen (T-Zelllinie) und menschlichen Erythrozyten beobachtet wird (4).

### Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (Na<sub>3</sub>N), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
4. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.

SSM0784CEEFG\_01 p. 3/4

- Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
- Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.

#### Lagerung

Bei 2-8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientengewebeproben mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Anfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann, und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufzunehmen.

#### Gewebevorbereitung

**Paraffinschnitte:** Der Antikörper kann für die Markierung von formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Die Vorbehandlung des Gewebes durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung ist erforderlich. Optimale Ergebnisse werden mit Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, erzielt. Die Vorbehandlung der Gewebe mit Dako Proteinase K, Code-Nr. S3020, erwies sich als weniger effizient. Die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung mit Dako Target Retrieval Solution, pH 9,0, Code-Nr. S2368, und 10 mmol/L Citratpuffer, pH 6,0, erwies sich als ineffizient. Während der Gewebevorbereitung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

#### Färbeverfahren

Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Bedingungen können je nach Gewebetyp und Vorbereitungsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Die Leistung dieses Antikörpers sollte vom Benutzer bei einem Einsatz mit anderen manuellen Färbesystemen oder automatisierten Systemen ermittelt werden.

**Verdünnung:** Monoclonal Mouse Anti-Human CD21, Code-Nr. M0784, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten von menschlichem Mandelgewebe bei einer hitzeinduzierten Epitopdemaskierung von 20 Minuten in Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, und einer 30-minütigen Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur in einem Verdünnungsbereich zwischen 1:25 und 1:50 verwendet werden. Als Negativkontrolle wird Dako Mouse IgG1, Code-Nr. X0931, empfohlen, das auf dieselbe Konzentration an Maus-IgG wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Falls die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle für das verwendete Färbeverfahren nicht erwiesen ist, wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor der Verwendung bzw. in Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S0809, zu verdünnen.

**Detektionssystem:** Dako EnVision+HRP Kits (z. B. Code-Nr. K4005) werden empfohlen. Das für das ausgewählte Detektionssystem beschriebene Verfahren befolgen.

**Qualitätskontrolle:** Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativkontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden.

#### Auswertung der Färbung

Vom Antikörper markierte Zellen weisen eine auf die Zellmembran beschränkte Färbung auf.

#### Leistungseigenschaften








**Normalgewebe:** Bei reaktiver lymphoider Hyperplasie markiert der Antikörper Keimzentrum-FDCs in 11/11 Fällen stark mit einer dicht vernetzten FDC-Färbung der hellen Zone und einer locker angeordneten, viel weniger kompakten FDC-Färbung der dunklen Zone. Der Antikörper markiert Plasmazellen und erzeugt eine schwache und weniger konsistente Markierung von Lymphozyten in der Mantelzone. Sinusdeckzellen und monozytoide B-Zellen werden schwach markiert (1).

**Anormales Gewebe:** In sechs Fällen von chronischer lymphozytärer B-Zellen-Leukämie zeigte der Antikörper in vier Fällen eine schwache Oberflächenmarkierung neoplastischer Zellen und markierte in vier Fällen FDCs in vereinzelt Keimzentrumsresten. In 8/8 Fällen von Mantelzellymphomen markierte der Antikörper locker angeordnete, schlecht definierte und erweiterte FDC-Netzwerke von nodulärer oder diffuser Gestalt, die gebrochenen primären Follikeln ähneln. In 11/11 Fällen von follikulären Lymphomen zeigten die anormalen Follikel dichte, klar definierte, erweiterte und manchmal sich mischende FDC-Netzwerke. Allerdings wurde in fünf Fällen mit hoher Transformation in den Bereichen mit diffus großzelligem Lymphom nur vereinzelt lockere FDC-Markierung beobachtet. In 7/7 Fällen von niedriggradigen B-Zell-Lymphomen vom MALT-Typ markierte der Antikörper erweiterte FDC-Netzwerke mit besonders dichter und konfluenter Erscheinung in Fällen von primären Speicheldrüsen- und Magenlymphomen. In 5/5 Fällen von T-Zell- und histiozytenreichen B-Zell-Lymphomen markierte der Antikörper einige komprimierte Restfollikel im Peripheriebereich des lymphomatosen Bereichs. In 9/9 Fällen von angioimmunoblastischen T-Zell-Lymphomen erschienen Gruppen dendritischer Zellen mit FDC-Morphologie mit häufiger Aufnahme proliferierender postkapillärer Venolen. In 4/4 Fällen von nodulären, durch Prädominanz von Lymphozyten gekennzeichneten Hodgkin-Lymphomen markierte der Antikörper vergrößerte FDC-Netzwerke, die die erweiterten Mantelzonen überlappen. Bei 15 Fällen von Hodgkin-Lymphomen des nodulären, sklerosierenden Untertyps markierte der Antikörper klar definierte, manchmal unregelmäßige FDC-Netzwerke um die negativen Tumorzellen in 11 Fällen mit Grad I und zeigte zerstreute oder keine Markierung in 4 Fällen mit Grad-II-Erkrankung (1). Bei follikulärem dendritischem Sarkom markierte der Antikörper neoplastische Zellen in 17/17 Fällen (5). In einer anderen Studie (6) markierte der Antikörper Reed-Sternberg- und Hodgkin-Zellen in 7/37 Fällen von nodulär sklerosierendem, 2/41 Fällen von gemischtzelligem und 5/12 Fällen von lymphozytenarmem Hodgkin-Lymphom, wohingegen keine Markierung von Tumorzellen in 4 Fällen des durch Prädominanz von Lymphozyten gekennzeichneten Typs beobachtet wurde. In neun Fällen, in denen Reed-Sternberg- und Hodgkin-Zellen durch den Antikörper markiert wurden, exprimierten die Zellen keine anderen auf B- oder T-Zellen bezogenen Marker (6).

#### References / Bibliographie / Literaturnachweise

- Bagdi E, Krenacs L, Krenacs T, Miller K, Isaacson PG. Follicular dendritic cells in reactive and neoplastic lymphoid tissues: a reevaluation of staining patterns of CD21, CD23, and CD35 antibodies in paraffin sections after wet heat-induced epitope retrieval. *Appl Immunohistochem Molec Morphol* 2001;9:117-24.
- Timens W. CD Guide. CD21. 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. 1125.
- Timens W. BC5. CD21 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. 140-2.
- Petzer AL, Schulz TF, Stauder R, Eigenthaler A, Myones BL, Dierich MP. Structural and functional analysis of CR2/EBV receptor by means of monoclonal antibodies and limited tryptic digestion. *Immunology* 1988;63:47-53.
- Chan JKC, Fletcher CDM, Nayler SJ, Cooper K. Follicular dendritic cell sarcoma. Clinicopathologic analysis of 17 cases suggesting a malignant potential higher than currently recognized. *Cancer* 1997;79:294-313.
- Nakamura S, Nagahama M, Kagami Y, Yatabe Y, Takeuchi T, Kojima M, et al. Hodgkin's disease expressing follicular dendritic cell marker CD21 without any other B-cell marker. A clinicopathologic study of nine cases. *Am J Surg Pathol* 1999;23:363-76.

#### Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

 REF	Catalogue number Référence catalogue Katalognummer	 2°C – 8°C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Manufacturer Fabricant Hersteller
 IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	 LOT	Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung		
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten		Use by Utiliser avant Verwendbar bis		

Revision / Révision / Revision 2018.01

SSM0784CEEFG\_01 p. 4/4