



K-Light Chain

Método inmunturbidimétrico para la determinación de cadena liviana kappa en suero

SIGNIFICACION CLINICA

Las inmunoglobulinas policlonales exhiben cadenas livianas kappa y lambda en una proporción constante 2:1, mientras que las inmunoglobulinas monoclonales presentan un solo tipo de cadena liviana. El aumento de la producción de inmunoglobulinas monoclonales o cadenas livianas monoclonales libres produce un cociente kappa/lambda fuera del rango de referencia que indica la existencia de una gammapatía monoclonal.

La determinación de cadenas livianas es útil para el diagnóstico y seguimiento de afecciones tales como mieloma múltiple, neoplasmas linfocitarios, macroglobulinemia de Waldenström y enfermedades del tejido conectivo tales como artritis reumatoidea o lupus eritematoso sistémico (LES).

FUNDAMENTOS DEL METODO

La cadena liviana kappa reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez causada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de cadena liviana kappa en la muestra y puede ser medida espectrofotométricamente.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: buffer fosfato, pH 7,4.

B. Reactivo B: anticuerpos policlonales anti-cadena liviana kappa humana (cabra) en buffer fosfato, pH 7,4.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Solución fisiológica.
- **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección. Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

MUESTRA

Suero

a) Recolección: obtener la muestra de la manera usual.

b) Aditivos: no se requieren.

c) Sustancias interferentes conocidas: no emplear muestras hemolizadas, lipémicas o contaminadas. Las muestras que poseen precipitados deben ser centrifugadas previo a su ensayo. No se observan interferencias por hemoglobina hasta 1100 mg/dl, triglicéridos hasta 2300 mg/dl, bilirrubina hasta 20 mg/dl y factor reumatoideo hasta 300 U/l.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. Si el ensayo no es realizado en el día, la muestra puede ser conservada 48 horas a 2-10°C o por períodos más prolongados de tiempo a -20°C.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados
- Tubos de Kahn o hemólisis
- Cronómetro

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm
 - Temperatura de reacción: temperatura ambiente (25°C). El control de la temperatura no es crítico, pudiendo oscilar entre 22 y 30°C.
 - Tiempo de reacción: 15 minutos
 - Volumen de muestra: 12 ul
 - Volumen final de reacción: 1112 ul
- Los volúmenes de muestra y reactivos pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo.

PROCEDIMIENTO

CURVA DE CALIBRACION

Realizar en tubos de Kahn, las siguientes diluciones en solución fisiológica del **Calibrador Proteínas nivel alto:** 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 y 1:160, empleando solución fisiológica como punto cero.

Calibrador Proteínas diluido	12 ul
Reactivo A	1000 ul

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a

340 nm (DO₁) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	100 ul
-------------------	--------

Mezclar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm (DO₂), llevando el aparato a cero con agua destilada.

Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada dilución del Calibrador Proteínas, incluyendo el punto cero.

Representar en papel milimetrado las diferencias de absorbancia (ΔA) en función de la concentración en mg/dl del Calibrador Proteínas.

PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS

Realizar una dilución 1:10 de las muestras en solución fisiológica.

Muestra diluida	12 ul
------------------------	-------

Reactivo A	1000 ul
-------------------	---------

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO₁) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	100 ul
-------------------	--------

Mezclar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm (DO₂), llevando el aparato a cero con agua destilada.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) correspondientes a cada muestra analizada. Interpolar esta ΔA en la curva de calibración para determinar la concentración en mg/dl (g/l) correspondiente a la muestra estudiada.

Las muestras con absorbancias superiores a la del calibrador proteínas nivel alto deben ser diluidas con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución utilizado.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso del **Control Inmunológico nivel 1** y **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA** de Wiener lab. El control deberá procesarse de la misma manera que las muestras.

VALORES DE REFERENCIA

138-375 mg/dl (1,38-3,75 g/l)

Cociente κ/λ : 1,17-2,93

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias Interferentes conocidas en MUESTRA.

Para preservar la integridad de los reactivos debe evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.

En el caso de muestras con características clínicas no

definidas, deberá realizarse una electroforesis de proteínas para detectar un eventual exceso de antígeno, como ocurre en las gammopatías. Un exceso de antígenos puede detectarse prediluyendo adecuadamente las muestras con solución fisiológica

Los resultados deberán ser evaluados en conjunto con la historia clínica del paciente, el examen médico y otros hallazgos de laboratorio.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: se realizaron replicados de muestras con distintos niveles de cadena liviana kappa, se calculó la precisión intraensayo.

Nivel	D.S.	C.V.
90,7 mg/dl	± 3,7 mg/dl	4,1%
236,7 mg/dl	± 3,9 mg/dl	1,7%
582,7 mg/dl	± 8,9 mg/dl	1,5%

b) Límite de detección: 25 mg/dl.

c) Rango de medición: 25 - 750 mg/dl.

d) Efecto prozona: no se evidencia efecto prozona hasta 7500 mg/dl de cadena liviana kappa.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

PRESENTACION

65 ml: - 1 x 60 ml Reactivo A

- 1 x 5 ml Reactivo B

(Cód. 1009359)

65 ml: - 1 x 60 ml Reactivo A

- 1 x 5 ml Reactivo B

(Cód. 1009654)

65 ml: - 1 x 60 ml Reactivo A

- 1 x 5 ml Reactivo B

(Cód. 1009964)*

BIBLIOGRAFIA

- Dati, F et al. - Proteins-Laboratory testing and clinical use, 2005.

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.

- Lievens M. Medical and technical usefulness of measurement of kappa and lambda immunoglobulin light chains in serum with an M-component. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 27:519-523, 1989.

- Hafner G et al. - Effects of standardization with the new international reference preparation for proteins in human serum on method comparability and reference values. - Clin. Lab. 41:743-748, 1995.

- Jones RG et al. - Use of Immunoglobulin Heavy-chain and Light-chain measurement in a multicenter trial to investigate Monoclonal components: I. Detection. - Clin. Chem. 37:1917-1921, 1991.

- Jones RG et al. - Use of Immunoglobulin Heavy-chain and Light-chain measurement in a multicenter trial to investigate Monoclonal components: II. Classification by use of Computer-based algorithms. - Clin Chem 37:1922-1926, 1991.



K-Light Chain

Método imunoturbidimétrico para a determinação da cadeia leve kappa em soro

SIGNIFICADO CLÍNICO

As imunoglobulinas policlonais apresentam cadeias leves kappa e lambda em uma proporção constante 2:1, entanto que as imunoglobulinas monoclonais apresentam somente uma classe de cadeia leve. O aumento da produção de imunoglobulinas monoclonais ou cadeias leves monoclonais livres produz um quociente kappa/lambda fora da faixa de referência que indica a existência de uma gamapatia monoclonal.

A determinação de cadeias leves é útil para o diagnóstico e seguimento de doenças tais como mieloma múltiplo, neoplasmas linfocitários, macroglobulinemia de Waldenström e enfermidades do tecido conectivo tais como artrite reumatóide ou lupus eritematoso sistêmico (LES).

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

A cadeia leve kappa reage com o anticorpo específico formando imunocomplexos insolúveis. A turbidez produzida pelos imunocomplexos é proporcional à concentração de cadeia leve kappa na amostra e pode ser lida com espectrofotômetro.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: tampão fosfato, pH 7,4.

B. Reagente B: anticorpos policlonais anti-cadeia leve kappa humana (cabra) em tampão fosfato, pH 7,4.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- Solução fisiológica.
- **Calibrador Proteínas nível alto Turbitest AA** da Wiener lab.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como potencialmente infectantes.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

AMOSTRA

Soro

a) Coleta: obter a amostra da maneira habitual.

b) Aditivos: não são necessários.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não utilizar amostras hemolisadas, lipêmicas ou contaminadas. As amostras que possuem precipitados devem ser centrifugadas antes de serem analisadas. Não são observadas interferências por hemoglobina até 1100 mg/dl, triglicerídeos até 2300 mg/dl, bilirrubina até 20 mg/dl, nem fator reumatóide até 300 U/l.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente recém coletada. Caso não seja possível realizar a prova na hora, a amostra pode ser conservada 48 horas sob refrigeração (2-10°C) ou por períodos maiores a -20°C.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubos de Kahn ou hemólise.
- Cronômetro.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 340 nm
- Temperatura de reação: temperatura ambiente (25°C). O controle de temperatura não é crítico, podendo oscilar entre 22 e 30°C.
- Tempo de reação: 15 minutos
- Volume de amostra: 12 ul
- Volume final de reação: 1112 ul

Os volumes de amostra e reagentes podem ser alterados proporcionalmente sem que sejam afetados os fatores de cálculo.

PROCEDIMENTO

CURVA DE CALIBRAÇÃO

Realizar em tubos de Kahn as seguintes diluições em solução fisiológica do **Calibrador Proteínas nível alto:** 1:10; 1:20; 1:40; 1:80 e 1:160 utilizando solução fisiológica como ponto zero.

Calibrador Proteínas diluído	12 ul
Reagente A	1000 ul

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO_1) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B 100 ul

Misturar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Ler a absorbância a 340 nm (DO_2) zerando o aparelho com água destilada.

Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada diluição do Calibrador Proteínas, incluindo o ponto zero.

Representar numa folha de papel milimetrado as diferenças de absorbância ΔA em função da concentração em mg/dl (g/l) do Calibrador Proteínas.

PROCEDIMENTO PARA AMOSTRAS

Realizar diluições 1:10 da Amostra em solução fisiológica.

Amostra diluída 12 ul

Reagente A 1000 ul

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO_1) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B 100 ul

Misturar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Ler a absorbância a 340 nm (DO_2) zerando o aparelho com água destilada.

CÁLCULOS DOS RESULTADOS

Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) que corresponde a cada amostra analisada. Interpolar os dados (ΔA) na curva de calibração para determinar a concentração em mg/dl (g/l) que corresponde à amostra estudada. As amostras com absorbância superior à do **Calibrador Proteínas nível alto** devem ser diluídas com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar os resultados obtidos pelo fator de diluição.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Recomenda-se o uso de **Control Imunológico nível 1** e **Control Imunológico nível 2 Turbitest AA** da Wiener lab. O controle é processado da mesma maneira que as amostras.

VALORES DE REFERÊNCIA

138 - 375 mg/dl (1,38 - 3,75 g/l).

Quociente κ/λ : 1,17 - 2,93

É recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Para preservar a integridade dos reagentes, todo tipo de contaminação deve ser evitado, utilizando para a medição somente micropipetas perfeitamente limpas e secas. Caso as amostras apresentarem características clínicas

não definidas deverá ser realizada uma electroforese de proteínas para detectar um possível excesso de antígeno como acontece nas gamopatias. Um excesso de antígeno pode ser detectado diluindo previamente as amostras em forma adequada com solução fisiológica.

Os resultados devem ser analisados em conjunto com a história clínica do paciente, o exame médico e outras características de laboratório.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: realizando replicados de amostras com diferentes níveis de cadeia leve kappa, foi calculada a precisão intra-ensaio:

Nível	D.P.	C.V.
90,7 mg/dl	± 3,7 mg/dl	4,1%
236,7 mg/dl	± 3,9 mg/dl	1,7%
582,7 mg/dl	± 8,9 mg/dl	1,5%

b) Limite de detecção: 25 mg/dl.

c) Faixa de medição: 25 - 750 mg/dl.

d) Efeito prozona: não é evidenciado efeito prozona até 7500 mg/dl de cadeia leve kappa.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Vide as adaptações específicas para cada tipo de analisador.

APRESENTAÇÃO

65 ml: - 1 x 60 ml Reagente A

- 1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009359)

65 ml: - 1 x 60 ml Reagente A

- 1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009654)

65 ml: - 1 x 60 ml Reagente A

- 1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009964)*

REFERÊNCIAS

- Dati, F et al. - Proteins-Laboratory testing and clinical use, 2005.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AAC Press, 5th ed., 2000.
- Lievens M. Medical and technical usefulness of measurement of kappa and lambda immunoglobulin light chains in serum with an M-component. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 27:519-523, 1989.
- Hafner G et al. - Effects of standardization with the new international reference preparation for proteins in human serum on method comparability and reference values. - Clin. Lab. 41:743-748, 1995.
- Jones RG et al. - Use of Immunoglobulin Heavy-chain and Light-chain measurement in a multicenter trial to investigate Monoclonal components: I. Detection. - Clin. Chem. 37:1917-1921, 1991.
- Jones RG et al. - Use of Immunoglobulin Heavy-chain and Light-chain measurement in a multicenter trial to investigate Monoclonal components: II. Classification by use of Computer-based algorithms. - Clin Chem 37:1922-1926, 1991.



κ-Light Chain

Immunoturbidimetric method for quantitative determination of κ-light chain in serum

SUMMARY

The polyclonal immunoglobulins exhibit kappa and lambda light chains in a constant ratio of 2:1, while monoclonal immunoglobulins show only a single light chain type. Increased production of monoclonal immunoglobulins or free monoclonal light chains produces a ratio kappa / lambda outside the reference range, indicating the existence of a monoclonal gammopathy.

The determination of light chains is useful for diagnosis and monitoring of multiple myeloma, lymphocytic neoplasms, Waldenstrom's macroglobulinemia and connective tissue diseases such as rheumatoid arthritis or lupus erythematosus (SLE).

PRINCIPLE

The κ-light chain reacts to the specific antibody forming insoluble immune complexes. The turbidity caused by these immune complexes is proportional to κ-light chain concentration in the sample and may be spectrophotometrically measured.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: phosphate buffer, pH 7.4.

B. Reagent B: polyclonal antibodies anti-human κ-light chain (goat) in phosphate buffer, pH 7.4.

NON-PROVIDED REAGENTS

- Saline solution
- Wiener lab.'s **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA**

INSTRUCTIONS FOR USE

Provided Reagents: ready to use.

WARNINGS

The reagents are for "in vitro" diagnostic use. All patient samples should be handled as though capable of transmitting infectious diseases. Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories. The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box. Do not freeze.

SAMPLE

Serum

a) Collection: obtain in the usual way.

b) Additives: not required.

c) Known interfering substances: do not use hemolyzed, lipemic or contaminated samples. Before testing, particles in samples should be removed by centrifugation.

No interferences have been observed with hemoglobin up to 1100 mg/dl, triglycerides up to 2300 mg/dl, bilirubin up to 20 mg/dl and rheumatoid factor up to 300 U/l.

See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: sample should be preferably fresh. In case it cannot be processed immediately, sample can be kept for up to 48 hours at 2-10°C or for longer period store at -20°C.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer.
- Square spectrophotometric cuvettes.
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes.
- Kahn or hemolysis tubes.
- Stopwatch.

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 340 nm
- Reaction temperature: room temperature (25°C). Temperature control is not critical, it can range between 22 and 30°C.
- Reaction time: 15 minutes
- Sample volume: 12 ul
- Final reaction volume: 1112 ul

Sample and reagents volumes may be proportionally changed without affecting the calculation factors.

PROCEDURE

CALIBRATION CURVE

In Kahn tubes dilute the **Calibrador Proteínas nivel alto** with saline solution 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160, using saline solution as the zero point.

Diluted Calibrador Proteínas	12 ul
-------------------------------------	-------

Reagent A	1000 ul
------------------	---------

Homogenize and measure the absorbance of each dilution at 340 nm (OD₃₄₀), setting the instrument to zero with distilled water. Then, add:

Reagent B	100 ul
------------------	--------

Mix and incubate 15 minutes at room temperature. Measure the absorbance at 340 nm (OD_2), setting the instrument to zero with distilled water. Calculate the absorbance difference ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) for each Calibrador Proteinás dilution, including the zero point. Draw on graph paper the ΔA absorbance differences based on the Calibrador Proteinás concentration in mg/dl (g/l).

SAMPLES PROCEDURE

Dilute the Samples 1:10 with saline solution.

Diluted Sample	12 ul
Reagent A	1000 ul

Homogenize and measure the absorbance at 340 nm (OD_1), setting the instrument to zero with distilled water. Then add:

Reagent B	100 ul
------------------	--------

Mix and incubate 15 minutes at room temperature. Measure the absorbance at 340 nm (OD_2), setting the instrument to zero with distilled water.

CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) for each sample tested. Interpolate this ΔA in the calibration curve to determine the concentration in mg/dl (g/l) corresponding to the sample under study. Samples with an absorbance above that of the **Calibrador Proteinás nivel alto** must be diluted with saline solution and processed again. Multiply the obtained result by the dilution factor.

QUALITY CONTROL METHOD

Wiener lab's **Control Inmunológico nivel 1** and **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA**.

Control should be processed in the same manner as samples.

REFERENCE VALUES

138-375 mg/dl (1.38 - 3.75 g/l)

Ratio κ/λ : 1.17 - 2.93

Each laboratory should set its own reference values.

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE.

It is recommended to perform a complete recalibration when changing reagent lot or when suggested by Quality Control.

Avoid contamination to preserve the integrity of the reagents. Only use thoroughly clean and dry micropipettes for measurement.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: replicates of samples containing different κ -light chain levels were assayed and the following results were obtained:

Intra-assay precision

Level	S.D.	C.V.
90.7 mg/dl	± 3.7 mg/dl	4.1 %
236.7 mg/dl	± 3.9 mg/dl	1.7 %
582.7 mg/dl	± 8.9 mg/dl	1.5 %

b) Detection limit: 25 mg/dl.

c) Measuring range: 25 - 750 mg/dl.

d) Prozone effect: not observed until 7500 mg/dl κ -light chain

WIENER LAB. PROVIDES

65 ml: - 1 x 60 ml Reagent A
- 1 x 5 ml Reagent B
(Cat. N° 1009359)

65 ml: - 1 x 60 ml Reagent A
- 1 x 5 ml Reagent B
(Cat. N° 1009654)

65 ml: - 1 x 60 ml Reagent A
- 1 x 5 ml Reagent B
(Cat. N° 1009964)*

REFERENCES

- Dati, F et al. - Proteins-Laboratory testing and clinical use, 2005.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- Lievens M. Medical and technical usefulness of measurement of kappa and lambda immunoglobulin light chains in serum with an M-component. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 27:519-523, 1989.
- Hafner G et al. - Effects of standardization with the new international reference preparation for proteins in human serum on method comparability and reference values. - Clin. Lab. 41:743-748, 1995.
- Jones RG et al. - Use of Immunoglobulin Heavy-chain and Light-chain measurement in a multicenter trial to investigate Monoclonal components: I. Detection. - Clin. Chem. 37:1917-1921, 1991.
- Jones RG et al. - Use of Immunoglobulin Heavy-chain and Light-chain measurement in a multicenter trial to investigate Monoclonal components: II. Classification by use of Computer-based algorithms. - Clin Chem 37:1922-1926, 1991.



Nr kat. 1009359
Nr kat. 1009654
Nr kat. 1009964

K-Light Chain

Immunoturbidymetryczna metoda do ilościowego oznaczania łańcucha lekkiego kappa w surowicy

WSTĘP

Poliklonalne immunoglobuliny są zbudowane z łańcuchów lekkich kappa i lambda w stosunku 2:1 w przeciwieństwie immunoglobulin monoklonalnych złożonych jedynie z jednego typu łańcucha lekkiego. Wzrost produkcji immunoglobulin monoklonalnych lub wolnych łańcuchów monoklonalnych powoduje przesunięcie stosunku łańcuchów kappa do lambda poza zakres referencyjny, wskazując na wystąpienie gammadopatii monoklonalnej. Oznaczanie łańcuchów lekkich znajduje zastosowanie w diagnostyce i monitorowaniu szpiczaka mnogiego, gammadopatii monoklonalnej towarzyszącej nowotworom, zapalenia wielomięśniowego, makroglobulinemii Waldenstroma i chorób tkanki łącznej takich jak reumatoidalne zapalenie stawów lub toczeń układowy (SLE).

ZASADA DZIAŁANIA

Łańcuchy lekkie kappa reagują ze specyficznym przeciwciałem tworząc nierozpuszczalny kompleksy. Zmętnienie spowodowane przez te kompleksy immunologiczne jest proporcjonalne do stężenia łańcuchów lekkich kappa w próbce i może być mierzone przy użyciu spektrofotometru.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: bufor fosforanowy, pH 7.4.

B. Odczynnik B: poliklonalne przeciwciała przeciwko ludzkim łańcuchom lekkim kappa (koza) w buforze fosforanowym, pH 7.4.

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Wiener lab. **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA**
- Roztwór soli fizjologicznej

INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: są gotowe do użycia.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki tylko do diagnostyki "in vitro".
Wszystkie próbki pacjentów powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźne.
Przy pracy z odczynnikami stosować środki ostrożności typowe dla rutynowych procedur w laboratoriach klinicznych. Odpady należy utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: trwałe jeśli są przechowywane w temperaturze 2-10°C do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Nie zamrażać.

MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi

a) Pobranie: otrzymana w klasyczny sposób.

b) Substancje dodatkowe: nie wymagane.

c) Znane interferencje: nie należy używać próbek z hemolizą, lipemicznymi lub zanieczyszczonych. Przed wykonaniem oznaczenia próbki należy odwirować. Hemoglobina do poziomu 1100 mg/dl, bilirubina do 20 mg/dl, triglicerydy do 2300 mg/dl i czynnik reumatoidalny do 300 mg/dl nie mają wpływu na wynik badania.

Wpływ leków: patrz dane źródłowe Young D.S

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: oznaczenie należy wykonać niezwłocznie po pobraniu. Jeśli badanie nie może być wykonane od razu surowicę można przechować do 48 godzin w lodówce (2-10°C) lub przez dłuższy okres czasu po zamrożeniu (-20°C).

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczone)

- Pipety i mikropipety
- Kuwety
- Spektrofotometr
- Probówki do hemolizy lub Kahna
- Stoper

WARUNKI OZNACZENIA

- Długość fali: 340 nm
- Czas reakcji: temperatura pokojowa (25°C). Monitorowanie temperatury nie jest istotne, może się wahać w granicach od 22 do 30°C
- Czas reakcji: 15 minut
- Objętość próbki: 12 µl
- Objętość końcowa: 1112 µl

Objętość próbki i odczynników można zmieniać proporcjonalnie bez zmiany współczynników do przeliczeń.

PROCEDURA

KRZYWA KALIBRACYJNA

W probówkach kahna przygotować rozcieńczenia **Calibrador Proteínas nivel alto** w soli fizjologicznej 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 i 1:160, stosując roztwór soli jako punkt zerowy.

Rozcieńczony Calibrator Proteínas	12 µl
--	-------

Odczynnik A	1000 µl
--------------------	---------

Wymieszać i zmierzyć absorbancje każdego rozcieńczenia przy długości 340 nm (OD₁), ustawiając aparat na zero względem wody destylowanej.

Odczynnik B	100 μ l
Wymieszać i inkubować 15 minut w temperaturze pokojowej. Zmierzyć absorbancje przy długości 340 nm (OD_2), ustawiając aparat na zero względem wody destylowanej. Wyliczyć różnicę absorbancji ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) dla każdego rozcieńczenia kalibratora łącznie z punktem zerowym. Wykreślić na papierze milimetrowym wartości ΔA w stosunku do poszczególnych stężeń Calibrator Protein as w mg/dl (g/l).	
PROCEDURA DLA PRÓBEK Rozcieńczyć próbkę (1:10) solą fizjologiczną	
Rozcieńczona próbka	10 μ l
Odczynnik A	1000 μ l
Wymieszać i zmierzyć absorbancje każdego rozcieńczenia przy długości 340 nm (OD_1), ustawiając aparat na zero względem wody destylowanej. Następnie dodać:	
Odczynnik B	100 μ l
Wymieszać i zmierzyć absorbancje każdego rozcieńczenia przy długości 340 nm (OD_2), ustawiając aparat na zero względem wody destylowanej.	

OBLICZENIA

Obliczyć przyrost absorbancji ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) dla każdej próbki badanej. Odnieść wartość ΔA do krzywej kalibracyjnej i znaleźć odpowiadające mu stężenie w mg/dl (g/l) w badanej próbce. Próbkę o absorbancji powyżej **Calibrador Protein as nivel alto Turbitest AA** należy rozcieńczyć przy użyciu soli fizjologicznej i oznaczyć jeszcze raz. Otrzymany wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

METODA KONTROLI JAKOŚCI

Do każdego oznaczenia należy dołączać dwa poziomy materiału kontrolnego (**Control Inmunológico nivel 1 Turbitest AA**, **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA** Wiener lab.).

Materiał kontrolny należy traktować w ten sam sposób jak próbki badane.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

138 - 375 mg/dl (1.38 - 3.75 g/l)

współczynnik κ/λ : 1.17 - 2.93

Zgodnie z zaleceniami IFCC każde Laboratorium powinno ustalić własne zakresy wartości referencyjnych.

OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz znane interakcje z innymi substancjami w rozdziale MATERIAŁ.

Zaleca się wykonywanie całej krzywej kalibracyjnej gdy zmienia się seria odczynnika lub ze wskazań kontroli jakości. Aby zapobiec kontaminacji odczynników należy stosować wyłącznie czyste i suche końcówki do pipet.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) **Powtarzalność:** oznaczano wielokrotnie próbki o

różnej zawartości łańcuchów lekkich kappa. Otrzymano następujące wyniki:

Precyzja wewnątrz seryjna

Poziom	S.D.	C.V.
90,7 mg/dl	$\pm 3,7$ mg/dl	4,1%
236,7 mg/dl	$\pm 3,9$ mg/dl	1,7%
582,7 mg/dl	$\pm 8,9$ mg/dl	1,5%

b) **Czułość testu:** 25 mg/dl

c) **Zakres pomiarowy:** 25 - 750 mg/dl

d) **Efekt wysokiej dawki:** nie występuje do 7500 mg/dl łańcuchów lekkich kappa.

WIENERLAB DOSTARCZA

65 ml: -1 x 50 ml odczynnika A

-1 x 5 ml odczynnika B

(Nr kat. 1009359)

65 ml: -1 x 60 ml odczynnika A

-1 x 5 ml odczynnika B

(Nr kat. 1009654)

65 ml: -1 x 60 ml odczynnika A

-1 x 5 ml odczynnika B


(Nr kat. 1009964)


ŹRÓDŁA


- Dati, F et al. - Proteins-Laboratory testing and clinical use, 2005.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- Lievens M. Medical and technical usefulness of measurement of kappa and lambda immunoglobulin light chains in serum with an M-component. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 27:519-523, 1989.
- Hafner G et al. - Effects of standardization with the new international reference preparation for proteins in human serum on method comparability and reference values. - Clin. Lab. 41:743-748, 1995.
- Jones RG et al. - Use of Immunoglobulin Heavy-chain and Light-chain measurement in a multicenter trial to investigate Monoclonal components: I. Detection. - Clin. Chem. 37:1917-1921, 1991.
- Jones RG et al. - Use of Immunoglobulin Heavy-chain and Light-chain measurement in a multicenter trial to investigate Monoclonal components: II. Classification by use of Computer-based algorithms. - Clin Chem 37:1922-1926, 1991.


SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"// Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"// This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices// Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea// Representante autorizado na Comunidade Europeia// Authorized representative in the European Community// Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro"// Uso médico-diagnóstico "in vitro"// "In vitro" diagnostic medical device// Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos// Conteúdo suficiente para <n> testes// Contains sufficient for <n> tests// Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad// Data de validade// Use by// Użyć przed


 Límite de temperatura (conservar a)// Limite de temperatura (conservar a)// Temperature limitation (store at)// Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar// Não congelar// Do not freeze// Nie zamrażać

 Riesgo biológico// Risco biológico// Biological risks// Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución// Volume após a reconstituição// Volume after reconstitution// Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido// Conteúdo// Contents// Zawartość

 Número de lote// Número de lote// Batch code// numer serii

 Elaborado por:// Elaborado por:// Manufactured by:// Wytwórca

 Nocivo// Nocivo// Harmful// Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic// Substancja żrące

 Irritante// Irritante// Irritant// Substancja drażniąca

 Consultar instrucciones de uso// Consultar as instruções de uso// Consult instructions for use// Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Calibrador// Calibrador// Calibrator// Kalibrator

 Control// Controle// Control// Próba kontrolna

 Control Positivo// Controle Positivo// Positive Control// Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo// Controle Negativo// Negative Control// Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo// Número de catálogo// Catalog number// Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-54



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina