



Kit Freelite® Lambda Libre Optilite®

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

Código de Producto: LK018.OPT

Producto fabricado por:
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
www.bindingsite.co.uk

The Binding Site Group Limited Sucursal en España
Bruc 72 2ª planta, 08009 Barcelona, España
Teléfono 902027750
Fax: 902027752
e-mail: info@bindingsite.es
web: www.bindingsite.es

Optilite & Freelite son marcas registradas de The Binding Site Group Limited (Birmingham, UK) en ciertos países. El resto de marcas y nombres de productos pueden ser marcas comerciales de sus respectivos propietarios.



Aviso: debido a diferencias entre métodos de ensayo y especificidad de reactivos, para ciertos especímenes, pueden variar los resultados de cadenas ligeras libres lambda determinados con ensayos de distintos fabricantes o sobre diferentes sistemas. Los resultados de que deberá informarse al médico por parte del laboratorio deberán incluir la identidad del ensayo de cadenas ligeras libres lambda utilizado. Los valores obtenidos con diferentes ensayos o sistemas no se deberán usar de manera intercambiable. Si durante el proceso de monitorización de un paciente se cambia el ensayo o sistema utilizado para determinar los niveles de cadenas ligeras libres lambda, se deberán llevar a cabo análisis secuenciales adicionales. Antes de cambiar ensayos o sistemas, el laboratorio **DEBERÁ** confirmar los valores de base de los pacientes que se estén monitorizando de forma seriada.

1 APLICACIÓN

El Kit **Freelite** Lambda Libre Optilite está diseñado para la cuantificación *in vitro* de las cadenas ligeras libres lambda en suero, o en plasma obtenido con heparina lito o EDTA en el analizador Optilite de Binding Site. El análisis de las distintas cantidades de cadenas ligeras libres es de gran ayuda en el diagnóstico y monitorización del mieloma múltiple, neoplasias linfocíticas, la macroglobulinemia de Waldenström, AL amyloidosis, síndrome de deposición de cadenas ligeras y enfermedades del tejido conjuntivo como por ejemplo el lupus eritematoso sistémico (SLE), junto con otras determinaciones clínicas y de laboratorio.

2 RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Las moléculas de inmunoglobulinas se componen de dos cadenas pesadas idénticas (α , μ , γ , δ o ϵ) que definen el tipo de inmunoglobulina y dos cadenas ligeras idénticas (κ o λ). Cada cadena ligera está unida covalentemente a una cadena pesada y las dos cadenas pesadas están entre sí enlazadas covalentemente en la región bisagra. En el suero de individuos sanos la mayoría de las cadenas ligeras se presentan ligadas a la cadena pesada. Sin embargo, también se encuentran niveles bajos de cadenas ligeras en el suero de individuos sanos, ya que las células plasmáticas las producen y segregan en exceso. El peso molecular de ambas cadenas ligeras es de aproximadamente 22,5kD. En el suero se encuentra la cadena ligera libre Kappa (κ) mayormente como monómero, la cadena ligera libre Lambda (λ) como dímero covalentemente ligado, con un peso molecular de aproximadamente 45kD. Esto conlleva a índices de filtración glomerular distintos para κ y λ , lo que podría ser una posible explicación para la relación κ / λ de 0,625 en el suero comparada con la relación κ ligada / λ ligada de 2,0. Una concentración elevada de las cadenas ligeras libres monoclonales en suero está asociada con la proliferación maligna de células plasmáticas (por ejemplo mieloma múltiple), AL amyloidosis y la deposición de cadenas ligeras. Con enfermedades autoinmunes como el SLE pueden aparecer unas concentraciones elevadas de cadenas ligeras libres policlonales en suero (Ref 1-13).

3 PRINCIPIO

La evaluación de la concentración de un antígeno soluble por turbidimetría supone la reacción con un antisuero específico para formar complejos insolubles. Al pasar la luz a través de la suspensión formada, se transmite y focaliza una porción de esta luz a un fotodiodo mediante un sistema de lentes ópticas. La cantidad de luz transmitida es indirectamente proporcional a la concentración de proteína específica en la muestra analizada. Las concentraciones se calculan automáticamente en referencia a una curva de calibración almacenada en el instrumento.

4 REACTIVOS

4.1 **Reactivo látex:** anticuerpo mono específico policlonal fijado a partículas látex poliestireno. Conservantes: 0,1% de ácido E-amino-n-caproico (EACA), 0,01% de benzamida y 0,05% de ProClin.

4.2 **Calibradores y controles:** Preparados a partir de una mezcla de suero humano, se suministran en forma líquida estabilizada. Conservantes: 0,099% de azida sódica, 0,1% de EACA y 0,01% de benzamida.

4.3 **Buffer de reacción:** Contiene 0,099% de azida sódica como conservante.

5 PRECAUCIONES

Los sueros humanos suministrados en el kit han sido sometidos a screening para donantes, resultando negativos a la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), de los anticuerpos del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH1 y VIH2) y del virus de la hepatitis C. Las técnicas usadas están aprobadas por la FDA (USA) o aprobadas para el diagnóstico *in vitro* en la UE (Directiva 98/79/EC, Anexo II); sin embargo dichos ensayos no garantizan la ausencia de agentes infecciosos. Deben establecerse métodos de manipulación y eliminación adecuados para todos los materiales potencialmente infecciosos, incluyendo el uso de guantes y vestuario protector adecuado en todo momento al manipular este producto. Los procedimientos deben ser accesibles sólo a personal con formación específica.

ADVERTENCIA: Este producto contiene azida sódica y ProClin 300 y debe ser manipulado con precaución; se deben usar guantes y vestuario protector adecuado en todo momento al manipular este producto. No trague ni permita el contacto con la piel o las mucosas (especialmente si hay heridas). En caso de contacto, lave con abundante agua y consulte a un médico. Con el plomo y el cobre pueden formarse azidas metálicas explosivas. Cuando se elimine el reactivo, lave con mucha agua los recipientes para evitar la acumulación de azida.

Este producto debe ser utilizado por personal especializado para los fines indicados en el apartado Aplicación. Se recomienda observar estrictamente el procedimiento indicado. No se garantizan resultados válidos obtenidos utilizando parámetros diferentes que los indicados.

Los reactivos de diferentes lotes **NO** son intercambiables.

6 ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los kits no abiertos deben conservarse a 2-8°C y se pueden usar hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del kit. **NO CONGELAR.** El reactivo, el calibrador y los controles pueden conservarse refrigerados a 2-8°C durante tres meses como máximo tras la apertura, tomando precauciones para evitar la evaporación. El reactivo se puede conservar, sin proteger, hasta 30 días en el analizador Optilite, siempre y cuando se deje encendido el interruptor de alimentación.

7 OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras de sangre deben proceder de extracciones venosas, y en el caso del plasma separarlo lo antes posible. La sangre se ha de dejar que coagule de modo natural y separar el suero lo antes posible para prevenir la hemólisis. El suero debe conservarse a 2-8°C si el ensayo se ejecuta dentro de 21 días. Para períodos más largos, se recomienda conservar el suero a -20°C o temperatura inferior (Ref 16). No congelar y descongelar los sueros más de una vez. Centrifugue las muestras que contengan precipitados antes de realizar el ensayo (17). Evitar el uso de sueros lipémicos, hemolizados o contaminados por microbios, o de muestras que contengan partículas. Es responsabilidad de cada laboratorio el uso de todas las referencias disponibles y/o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad específicos para su laboratorio (Ref 14).

8 METODOLOGÍA

Nota: Con el fin de poder realizar una interpretación completa de los resultados, se debería determinar la relación kappa libre/lambda libre. Por lo tanto las muestras deberían analizarse también con el Kit Freelite Kappa Libre Optilite de Binding Site (LK016.OPT).

8.1 Material suministrado

- 8.1.1 1 x 100 Tests *Optilite Lambda Free Reagent* (reactivo Lambda Free Optilite)
- 8.1.2 1 x 2,8mL *Optilite Lambda Free Calibrator* (calibrador Lambda Free Optilite)
- 8.1.3 1 x 1,7mL *Optilite Lambda Free High Control* (control elevado Lambda Free Optilite)
- 8.1.4 1 x 1,7mL *Optilite Lambda Free Low Control* (control bajo Lambda Free Optilite)

8.2 Materiales necesarios no suministrados con el kit

- 8.2.1 Materiales necesarios para la preparación de las muestras, como tubos para la recolección de la sangre, centrífuga, etc.
- 8.2.2 Analizador Optilite completamente equipado.
- 8.2.3 Las instrucciones actuales de funcionamiento del analizador: Manual de funcionamiento Optilite, código INS700.OPT
- 8.2.4 Diluyente 1 Optilite, código de producto IK709

8.3 Preparación de los reactivos

Antes de cargar, mezclar por inversión evitando la formación de espuma o burbujas que podrían interferir en el momento de la aspiración del reactivo.

8.4 Procedimiento de la prueba

El usuario deberá estar familiarizado con el funcionamiento del analizador Optilite antes de realizar la prueba. Preparar el equipo para su uso según las instrucciones del manual de funcionamiento Optilite.

8.4.1 Los parámetros para este ensayo se indican en el código de barras del certificado de control de calidad que acompaña al kit (p. ej., QCcert018.OPT). "Escanee los códigos de barras para cargar los parámetros"

8.5 Rango de medición

El rango de medición aproximado del ensayo se indica en la siguiente tabla:

Dilución del analizador Optilite	Rango aproximado (mg/L)
1+1	1,3 – 34,7
1+7	5,2 – 139
1+79	52 – 1390
1+799	520 – 13900
1+7999	5200 – 139000

8.6 Interpretación de los resultados

Los resultados del ensayo siempre se deben evaluar junto con el historial y exámenes clínicos del paciente, y los resultados de otras pruebas, incluyendo resultados previos de **Freelite** si están disponibles.

Debido a la naturaleza de las proteínas monoclonales, algunas muestras pueden presentar no linealidad al ser analizadas a diferentes diluciones. Para poder cuantificar estas muestras de manera adecuada, se recomienda seguir el protocolo de dilución descrito en la sección 8.5 e informar del primer resultado plausible.

Todos los inmunoensayos son susceptibles de mostrar exceso de antígeno. Para poder identificar muestras con exceso de antígeno, Optilite tiene un sistema de monitorización de la cinética de reacción. Cualquier muestra que presente una cinética de reacción atípica generará:

- un aviso de "Actividad elevada" o
- un aviso de "Comprobación de actividad**".

Las muestras que hayan generado un aviso de cualquiera de los dos tipos se volverán a analizar automáticamente a una dilución superior. Si tras la repetición la muestra da un resultado que se considera poco plausible, se debe repetir el análisis.

Consulte más información sobre la interpretación de avisos en el Manual de funcionamiento de Optilite (INS700.OPT) suministrado junto con el analizador.

Aviso importante: Ningún sistema de comprobación automática puede identificar todos los casos de exceso de antígeno, y un porcentaje muy bajo de muestras con exceso de antígeno pueden no provocar el aviso de "Actividad elevada" o el de "Comprobación de actividad".

Se recomienda que se adjunte lo siguiente a todos los resultados de cadenas ligeras libres.

"La falta de detección del exceso de antígeno es poco habitual pero no se puede descartar. Si estos resultados de cadenas ligeras libres no concuerdan con otras determinaciones clínicas y de laboratorio, o si la muestra proviene de un paciente que ha demostrado previamente exceso de antígeno, el resultado se debe comprobar volviendo a analizar la muestra a una dilución más alta. Los resultados siempre se deben interpretar junto con otras pruebas de laboratorio y evidencias clínicas: cualquier anomalía se debe consultar con el laboratorio de análisis".

*El aviso de "Comprobación de actividad" únicamente se visualiza en instrumentos Optilite con el software V7.0 instalado.

9 CONTROL DE CALIDAD

Se deben analizar al menos dos niveles de material de control adecuado una vez al día como mínimo. Además, se deben analizar controles tras la calibración, con cada nuevo lote de reactivo y tras el mantenimiento específico o los pasos de resolución de problemas descritos en el manual de funcionamiento Optilite.

El análisis de control se debe realizar de acuerdo a los requerimientos reglamentarios y el procedimiento estándar de cada laboratorio.

Las concentraciones de los controles suministrados están indicadas en el certificado de control de calidad que acompaña al kit (QCcert018.OPT). Los resultados obtenidos sólo pueden aceptarse si los resultados de los controles entran dentro del $\pm 20\%$ de las concentraciones indicadas.

En caso de que un control dé un resultado fuera del rango y se haya empleado una curva de calibración almacenada, se recomienda calibrar de nuevo el test. Si aún después de la nueva calibración estuviera fuera de rango, deberá verificarse el instrumento y los parámetros programados. Si no se solucionara el problema, rogamos se dirijan al soporte técnico de su proveedor.

10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- 10.1 La turbidez, las partículas y la hemólisis podrían interferir en el ensayo. Las muestras visiblemente turbias o que contienen partículas se deben centrifugar antes del análisis (17). No se deben usar muestras altamente lipémicas o turbias que no se puedan aclarar. Los resultados no previstos deberán verificarse con un método alternativo.
- 10.2 No debe realizarse el diagnóstico ni iniciarse un tratamiento basándose únicamente en la medida de la cadena ligera libre. Deben tenerse en cuenta también la historia clínica y resultados de otras pruebas de laboratorio
- 10.3 Este ensayo no se ha validado en pediatría.

11 VALORES ESPERADOS

Los rangos indicados se han obtenido a partir de un número limitado de muestras y son únicamente orientativos. Los valores esperados pueden variar en función de la edad, sexo, tipo de muestra, dieta y localización geográfica. Cada laboratorio debe verificar la transmisibilidad de los valores esperados a la población a analizar y, si es necesario, establecer su propio rango de referencia.

Intervalo de referencia en suero

282 individuos sanos de edades comprendidas entre 20 y 90 años se sometieron a las pruebas realizadas mediante el análisis **Freelite** de Binding Site para BN™ II* (Ref 11). El intervalo de referencia se calculó utilizando estadística no paramétrica y representa el 95% central de la población.

	Conc. media (mg/L)	Conc. mediana (mg/L)	Rango percentil 95 (mg/L)
Kappa libre	8,36	7,30	3,30 - 19,40
Lambda libre	13,43	12,40	5,71 - 26,30
	Media	Mediana	Rango total
Relación Kappa/Lambda	0,63	0,60	0,26 - 1,65

*BN™ es una marca de Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

12 CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

12.1 Precisión

El estudio de precisión se realizó siguiendo las pautas CLSI EP5-A2 *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods*. El estudio se llevó a cabo durante 21 días laborables, con 2 series al día. Un usuario midió los resultados de 8 muestras diferentes usando 1 lote de reactivo en 3 analizadores.

	Resumen de Precisión								
	Media (mg/L)	Intra-ensayo SD	Intra-ensayo CV %	Inter-ensayo SD	Inter-ensayo CV %	Inter día SD	Inter día CV %	Total SD	Total CV %
Nivel 1*	4,66	0,10	2,1	0,13	2,7	0,15	3,2	0,22	4,7
Nivel 2	7,50	0,22	3,0	0,28	3,7	0,54	7,2	0,65	8,6
Nivel 3	14,41	0,23	1,6	0,21	1,5	0,47	3,2	0,56	3,9
Nivel 4	19,79	0,37	1,8	0,39	2,0	0,41	2,1	0,67	3,4
Nivel 5	29,96	0,60	2,0	0,53	1,8	0,78	2,6	1,12	3,7
Nivel 6	71,07	1,28	1,8	1,45	2,0	1,70	2,4	2,57	3,6
Nivel 7	115,64	3,97	3,4	4,85	4,2	5,33	4,6	8,23	7,1
Nivel 8**	335,41	4,62	1,4	10,70	3,2	15,41	4,6	19,32	5,8

* a la dilución de muestra 1+1

** a la dilución de muestra 1+79

12.2 Estudio comparativo

Se llevó a cabo un estudio comparativo analizando 191 muestras (97 muestras normales, 94 muestras clínicas) con el kit **Freelite** Lambda Libre Optilite y un kit alternativo disponible en el mercado. El análisis de regresión Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 1,01x + 0,28 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{analizador prediado})$$

$$\text{coeficiente de correlación } r = 0,985 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

Se realizó un estudio comparativo mediante el análisis de 84 muestras emparejadas de suero y plasma con EDTA usando el kit **Freelite** Lambda Libre Optilite. El análisis de regresión de Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 1,04x - 0,80 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{plasma EDTA}; x = \text{suero})$$

$$\text{coeficiente de correlación } r = 0,996 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

Se realizó un estudio comparativo mediante el análisis de 108 muestras emparejadas de suero y plasma heparina de litio usando el kit **Freelite** Lambda Libre Optilite. El análisis de regresión de Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 1,03x - 0,26 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{plasma heparina de litio}; x = \text{suero})$$

$$\text{coeficiente de correlación } r = 0,995 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

12.3 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (LoQ) de este ensayo se define como el punto inferior del rango de medición, 1,3mg/L. El estudio de validación del LoQ se basó en el documento CLSI EP17-A *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation*.

12.4 Linealidad

El estudio de linealidad se basó en el documento CLSI EP6-A *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures*. La linealidad de este ensayo ha sido confirmada mediante diluciones seriadas de muestras de suero por encima del rango 4.127 a 155.450mg/L con desviaciones de linealidad <10%.

12.5 Sustancias interferentes

Se realizó un estudio siguiendo CLSI EP7-A2: Estudio de Interferencias en Química Clínica, Aprobadas en las directrices (CLSI documento EP7-A2). Se analizaron una muestra de suero normal, muestras de suero con valores cercanos a los puntos de decisión médica y muestras de suero anormal. No se observaron interferencias significativas en los ensayos con Intralipidos (500mg/dL), bilirrubina (200mg/L), triglicéridos (1000mg/dL) o hemoglobina (5 g/L).

No hay constancia de interferencia significativa con fármacos de uso habitual. Varias publicaciones ofrecen más información al respecto (Ref 15).

13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cole PW, Durie BGM, Salmon SE (1978). Immunquantitation of free light chain immunoglobulins: Application in multiple myeloma. *J. Immunol. Meth.* **19**: 341-349.
2. Pescali E, Pezozoli A (1988). The clinical spectrum of pure Bence-Jones proteinuria. *Cancer* **61**: 2408-2415.
3. Solling J, Romer FK (1981). Free light chains of immunoglobulins in serum from patients with rheumatoid arthritis, sarcoidosis, chronic infections and pulmonary cancer. *Acta. Med. Scand.* **209**: 473-477.
4. Drayson MT, Tang LX, Drew R, Mead GP, Carr-Smith HD and Bradwell AR (2001). Serum free light chain measurements for identifying and monitoring patients with non-secretory multiple myeloma. *Blood* **97**: 2900-2902.
5. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Tang LX, Showell PJ, Drayson MT and Drew RL (2001). Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin. Chem.* **47**: 4, 673-680.
6. Tang LX, Showell P, Carr-Smith HD, Mead GP, Drew R and Bradwell AR (2000). Evaluation of F(ab')₂-based latex-enhanced nephelometric reagents for free immunoglobulin light chains on the Behring Nephelometer™ II. *Clin. Chem* **46**: 6, Suppl. 2000: 705, pA181.
7. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Harvey TC and Drayson MT (2003). Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet* **361**: 489-491.
8. Abraham RS, Katzmann JA, Clark RJ, Bradwell AR, Kyle RA and Gertz MA (2003). Quantitative Analysis of Serum Free Light Chains: A new marker for the diagnostic evaluation of primary systemic amyloidosis. *Am. J. Clin. Pathol.* **119**: (2): 274 - 278.
9. Lachmann HJ, Gallimore JR, Gillmore JD, Carr-Smith HD, Bradwell AR, Pepys MB and Hawkins PN (2003). Outcome in systemic AL amyloidosis in relation to changes in concentration of circulating immunoglobulin free light chains following chemotherapy. *Brit. J. Haem.* **122**: 78-84.
10. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP and Drayson MT (2002). Serum free light chain immunoassays and their clinical application. *Clinical and Applied Immunology Reviews* **3**: 17 - 33.
11. Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS, Bryant S, Lymp JF, Bradwell, AR and Kyle RA (2002). Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin. Chem.* **48**: 1437-1444.
12. Bradwell AR (2009). Serum Free Light Chain Analysis, 5th Edition. Publ. The Binding Site Ltd, Birmingham, UK.

13. Mead GP, Carr-Smith HD, Drayson MT, Morgan GJ, Child JA and Bradwell AR (2004). Serum free light chains for monitoring multiple myeloma. *Brit. J. Haematol.* **126**, 348-354.
14. CLSI GP44-A4, Vol. 30 No. 10, 5.5.1.1.1, May 2010, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline"
15. Young D (2000). *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 5th ed. AACC Press.
16. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 2002.
17. CLSI – C56-A, Vol 32 No.10 July 2012 "Hemolysis, Icterus, and Lipemia/Turbidity Indices as Indicators of Interference in Clinical Laboratory Analysis"