



Kit Hevylite® IgG kappa Optilite®

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

Código de producto: NK621.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, 2.ª planta, 08009 Barcelona (España)
Teléfono: 902 027 750
Fax: 902 027 752
Correo electrónico: info@bindingsite.es
Página web: www.bindingsite.es

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



Aviso: Los resultados de Hevylite IgG kappa de una muestra determinada obtenidos con ensayos de diferentes fabricantes pueden variar debido a diferencias entre métodos de ensayo y especificidad de reactivos. Los resultados de los que deberá informarse al médico por parte del laboratorio deberán incluir la identidad del ensayo Hevylite IgG kappa utilizado. Los valores obtenidos con diferentes métodos de ensayo no se deberán usar de manera intercambiable. Si durante el proceso de monitorización de un paciente se cambia el método de ensayo para determinar los niveles de Hevylite IgG kappa, se deberán llevar a cabo análisis secuenciales adicionales. Antes de cambiar ensayos, el laboratorio **DEBERÁ** confirmar los valores de base de los pacientes que se estén monitorizando de forma seriada.

1 APLICACIÓN

El kit Hevylite IgG kappa es un ensayo *in vitro* cuantitativo que pretende medir la IgG kappa (cadena pesada IgG y cadena ligera kappa de inmunoglobulina intacta) en suero, plasma EDTA y heparina-litio usando el analizador Optilite de Binding Site. La medición de Hevylite IgG kappa se usa junto con Hevylite IgG lambda para calcular el cociente IgG kappa/IgG lambda. El cociente Hevylite IgG kappa/IgG lambda se puede usar para la monitorización de mieloma múltiple IgG previamente diagnosticado, junto con otras evaluaciones clínicas y pruebas de laboratorio. La asignación de respuesta completa está sujeta a otras pruebas, incluyendo inmunofijación y evaluaciones de la médula ósea y orina.

2 RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Las inmunoglobulinas se producen tras la exposición del sistema inmune humoral a antígenos específicos. La IgM es la primera clase de inmunoglobulinas que se produce. Con la maduración de la respuesta, también pueden producirse anticuerpos IgG e IgA. Las moléculas de las inmunoglobulinas consisten en dos cadenas pesadas idénticas (α , δ , ϵ , y γ o μ), que definen la clase de inmunoglobulina, y dos cadenas ligeras idénticas (κ o λ). Cada cadena ligera está unida a una cadena pesada y las dos cadenas pesadas están unidas covalentemente en la región bisagra. En individuos sanos, el rango de concentración de IgG es 6,0 – 16,0 g/L (ref.1).

Las concentraciones elevadas de proteínas monoclonales en suero son indicadoras de una anomalía subyacente, como por ejemplo gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI), mieloma múltiple y otros desórdenes linfoproliferativos. Las directrices internacionales recomiendan la electroforesis de proteínas séricas o la cuantificación nefelométrica de inmunoglobulinas como herramientas para monitorizar la enfermedad de los pacientes (ref. 2) (junto con otras pruebas, incluyendo citometría de flujo y análisis de cadenas ligeras libres en suero, ref. 3). Los ensayos de IgG total mediante nefelometría también incluirán las inmunoglobulinas no tumorales, y la medición de IgG kappa o IgG lambda dará una representación más exacta de la producción tumoral. Además, la medición de ambas IgG kappa e IgG lambda, el cálculo del cociente IgG kappa/IgG lambda y la comparación con los valores encontrados en individuos sanos pueden proporcionar una mayor sensibilidad en la indicación de la clonalidad (refs. 4, 5, 6). Adicionalmente, los cambios en el cociente IgG kappa/IgG lambda y su normalización al compararlos con el rango de normalidad del cociente servirán de ayuda en la monitorización de la enfermedad de los pacientes. El uso del cociente IgG kappa/IgG lambda compensará también cualquier cambio en el volumen de plasma y corregirá las variaciones de la vida media ocasionadas por la saturación del receptor.

3 PRINCIPIO

La evaluación de la concentración de un antígeno soluble mediante métodos de 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 **Antisuero:** Se suministra en forma líquida estabilizada. Conservantes: 0,099 % de azida sódica, 0,1 % de ácido E-amino-n-caproico (EACA) y 0,01 % de benzamidaína.
- 4.2 **Calibradores y controles:** Preparados a partir de una mezcla de suero humano, se suministran en forma líquida estabilizada. Contienen 0,099 % de azida sódica, 0,1 % de ácido E-amino-n-caproico (EACA) y 0,01 % de benzamidaína como conservantes. La concentración indicada en el certificado de control de calidad se ha obtenido mediante estudios comparativos con el Material de Referencia Internacional DA470k usando preparados de IgG kappa e IgG lambda purificados por afinidad.
- 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. Los ensayos usados están aprobados por la FDA (EE. UU.) o aprobados para el diagnóstico *in vitro* en la UE (Directiva 98/79/CE, 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 equipo de protección y vestuario 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 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 (especialmente si hay heridas) o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave con abundante agua y consulte a un médico urgentemente. En caso de contacto prolongado de la azida sódica con tuberías de plomo y 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 únicamente por personal especializado para los fines indicados en el apartado Aplicación. Resulta esencial observar estrictamente el procedimiento indicado en todo momento. No se garantizan resultados válidos obtenidos utilizando parámetros diferentes de los indicados en estas instrucciones.

Los reactivos de kits con números de lote diferentes **NO** son intercambiables.

6 ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El kit no abierto debe conservarse a 2-8 °C y se puede usar hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja del kit. **NO CONGELAR.** El reactivo, el calibrador y los controles pueden conservarse refrigerados a 2-8 °C durante 2,5 meses como máximo tras la apertura, siempre que estén tapados para evitar la evaporación. El reactivo se puede conservar, sin proteger, hasta 28 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, separarse 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 puede conservarse a 2-8 °C hasta un máximo de 21 días. Si el ensayo va a ejecutarse más tarde, se recomienda hacer alícuotas y congelar sin diluir a -20 °C o temperatura inferior. No congelar y descongelar las muestras más de una vez. Evitar el uso de muestras lipémicas, hemolizadas, contaminadas por microbios o 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. 7)

8 METODOLOGÍA

Nota: Con el fin de poder realizar una interpretación completa de los resultados, se debe determinar la relación IgG kappa/IgG lambda; por lo tanto deben analizarse también las muestras con el kit Hevylite IgG lambda Optilite de Binding Site (NK622.OPT).

8.1 Material suministrado

- 8.1.1 1 x 50 tests *Optilite IgGk Reagent* (reactivo IgGk Optilite)
- 8.1.2 1 x 2,4 mL *Optilite IgGk Calibrator* (calibrador IgGk Optilite)
- 8.1.3 1 x 1,6 mL *Optilite IgGk High Control* (control elevado IgGk Optilite)
- 8.1.4 1 x 1,6 mL *Optilite IgGk Low Control* (control bajo IgGk Optilite)
- 8.1.5 1 x 1,8 mL *Optilite IgGk Antigen excess Control* (control de exceso de antígeno IgG4)

8.2 Materiales necesarios no suministrados con el kit

- 8.2.1 Equipo para la obtención y preparación de las muestras como tubos para la recogida de sangre, centrifuga, etc.
- 8.2.2 Analizador Optilite completamente equipado y operativo.
- 8.2.3 Las instrucciones actuales de funcionamiento del analizador: Manual de funcionamiento Optilite, código INS700.OPT.
- 8.2.4 Diluyente 2 Optilite, código de producto IK710.

8.3 Preparación de los reactivos

Antes de cargar, mezclar por inversión evitando la formación de espuma o burbujas en la superficie 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 de la prueba para este ensayo se indican en el código de barras del certificado de control de calidad que acompaña al kit (QCcert621.OPT). Escanee los códigos Barcode 1 y Barcode 2 para cargar los parámetros.
- 8.4.2 Asegúrese de que el control de exceso de antígeno IgG kappa esté cargado en todo momento al usar este ensayo.

8.5 Rango de medición

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

Dilución del analizador Optilite	Rango aproximado (g/L)
1+0	0,115 – 1,5
1+4	0,575 – 7,5
1+19	2,3– 30
1+79	9,2 – 120

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 (QCcert621.OPT). Los resultados obtenidos sólo pueden aceptarse si los resultados de los controles entran dentro del $\pm 15\%$ 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 del ensayo. Si no se solucionara el problema, rogamos se dirijan a la asistencia técnica de su proveedor.

10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- 10.1 Los ensayos turbidimétricos no son adecuados para la determinación de muestras altamente lipémicas o hemolíticas o muestras que contengan complejos inmunes circulantes (CIC); dado que estas muestras pueden producir una cantidad impredecible de luz dispersa no especificable. Los resultados no previstos deberán verificarse con un método alternativo.
- 10.2 No se deben basar decisiones en cuanto a tratamiento de pacientes partiendo únicamente de la determinación de la relación IgG kappa, IgG lambda o IgG kappa/IgG lambda. Se deben tener también en cuenta el cuadro clínico así como otros análisis.
- 10.3 Exceso de antígeno: A pesar de que se usa un gran número de muestras que contienen niveles elevados de IgG kappa monoclonal para establecer los límites de reacción de prozona, la naturaleza impredecible de los clones individuales implica que puede haber exceso de antígeno sin detectar. La composición aminoácida de la inmunoglobulina producida por un clon de la célula B individual influirá en el nivel de correspondencia de la cual una muestra puede evidenciar, con el ensayo Hevlyte, un exceso de antígeno.
- 10.4 Se puede configurar la protección contra aviso de exceso de antígeno (marcas "límite de antígeno bajo") para los resultados de IgG kappa.
- 10.5 Las inmunoglobulinas monoclonales son altamente variables. Cualquier muestra que dé resultados inesperados se debe volver a analizar a una dilución más alta (concentración más baja) para prevenir el exceso antigénico.

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.

Rangos en suero de adultos

Este intervalo de referencia se obtuvo mediante la medición de las concentraciones de IgG kappa e IgG lambda del suero de donantes de sangre británicos adultos sanos, con este ensayo, en un BN^{III}. El intervalo de referencia se calculó mediante datos estadísticos no paramétricos y representa el 95 % central de la población. Esto se verificó en Optilite con los sueros de 50 donantes de sangre estadounidenses.

	Número (n)	Valor medio (g/L)	Conc. mediana (g/L)	Rango percentil 95 (g/L)
IgG kappa (g/L)	130	6,9	6,85	4,03 – 9,78
IgG lambda (g/L)	130	3,84	3,81	1,97 – 5,71
Cociente IgG kappa / IgG lambda	130	1,86	1,87	0,98 – 2,75

*BN^{III} es una marca registrada de Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

12 CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

12.1 Precisión

El estudio de precisión se realizó siguiendo las pautas de 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 6 muestras diferentes usando 3 lotes de reactivo en 3 analizadores.

	Resumen de precisión								
	Media (g/L)	Intraensayo		Interensayo		Interdía		Total	
		SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
Nivel 1	4,260	0,185	4,3	0,209	4,9	0,162	3,8	0,323	7,6
Nivel 2*	3,148	0,048	1,5	0,104	3,3	0,124	3,9	0,169	5,4
Nivel 3*	5,601	0,145	2,6	0,263	4,7	0,308	5,5	0,430	7,7
Nivel 4	7,621	0,178	2,3	0,263	3,5	0,413	5,4	0,521	6,8
Nivel 5	13,574	0,218	1,6	0,385	2,8	0,879	6,5	0,984	7,2
Nivel 6	16,824	0,383	2,3	0,352	2,1	0,992	5,9	1,120	6,7

* a la dilución de muestra 1+4

12.2 Estudio comparativo

Se llevó a cabo un estudio comparativo analizando 114 muestras (40 sueros normales, 74 sueros clínicos) con el kit IgG kappa Optilite y un kit alternativo disponible en el mercado. El análisis de regresión de Passing-Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 1,15x - 0,89 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{analizador predicho})$$

coeficiente de correlación $r = 0,961$ (calculado por regresión lineal)

Se realizó un estudio comparativo mediante el análisis de 63 muestras emparejadas de suero y plasma con heparina de litio usando el kit IgG kappa Optilite. El análisis de regresión de Passing-Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0,96x + 0,13 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{plasma heparina de litio}; x = \text{suero})$$

coeficiente de correlación $r = 0,966$ (calculado por regresión lineal)

Se realizó un estudio comparativo mediante el análisis de 63 muestras emparejadas de suero y plasma EDTA usando el kit IgG kappa Optilite. El análisis de regresión de Passing-Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0,97x + 0,11 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{plasma EDTA}; x = \text{suero})$$

coeficiente de correlación $r = 0,961$ (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, 0,115 g/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. A Statistical Approach; Approved Guideline (EP6-A)*. La linealidad de este ensayo se ha confirmado analizando una serie de diluciones de una muestra de suero sobre el rango de 1,930-33,427 g/L con desviaciones de linealidad de $<10\%$.

12.5 Sustancias interferentes

Se realizó un estudio siguiendo CLSI EP7-A2: *Interference Testing in Clinical Chemistry, Approved Guideline* (documento CLSI EP7-A2). Se analizaron una muestra de suero normal, una muestra de suero con valor cercano al punto de decisión médica y una muestra de suero anormal. No se observaron interferencias significativas en los ensayos con triglicéridos (1000 mg/dL), intralípidos (2000 mg/dL), bilirrubina (200 mg/L) o hemoglobina (5 g/L).

No hay constancia de interferencia significativa con fármacos de uso habitual.

13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Protein Reference Unit Handbook of Clinical Immunochimistry (1999) Ed. A. Milford Ward, Pamela G. Riches, R. Fifield and A. M. Smith. PRU Publications, Sheffield, 134-136.
- Dimopoulos M, Kyle R, Fermand JP, Rajkumar SV, San MJ, Chanan-Khan A et al. Consensus recommendations for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3. *Blood* 2011; 117(18):4701-4705.
- Rajkumar et al. Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood* 2011; 117(18):4691-4695.
- Bradwell AR, Harding SJ, Fourrier NJ, Wallis GLF, Drayson NT, Carr-Smith HD et al. Assessment of monoclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual immunoglobulin κ/λ ratios. *Clin. Chem.* 2009; 55 (9):1646-1655.
- Ludwig H, Milosavljevic D, Zojer N, Faint JM, Bradwell AR, Hübl W, Harding SJ. Immunoglobulin heavy/light chain ratios improve paraprotein detection and monitoring, identify residual disease and correlate with survival in multiple myeloma patients. *Leukemia*.2012 Jul 17. doi: 10.1038/leu.2012.197.
- Bradwell A, Harding S, Fourrier N, Mathiot C, Attal M, Moreau P, Harousseau JL, Avet-Loiseau H. Prognostic utility of intact immunoglobulin Ig κ /Ig λ ratios in multiple myeloma patients. *Leukemia*.2012 Jun 13. doi: 10.1038/leu.2012.159
- 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"