



## Kit Hevylite® IgM Kappa Optilite®

**Sólo para uso diagnóstico *in-vitro***

**Código de Producto: NK625.OPT**

Producto fabricado por:  
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, Reino Unido  
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, SPAPLUS y Hevylite 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 Hevylite IgM kappa 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 IgM kappa 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 IgM kappa, se deberán llevar a cabo análisis sercuenciales 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 Hevylite IgM Kappa es un ensayo *in vitro* cuantitativo que pretende medir la IgM kappa (cadena pesada IgM 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 IgM Kappa se usa junto con Hevylite IgM Lambda para calcular el cociente IgM kappa / IgM lambda. Este test se debe usar junto con otras determinaciones clínicas y de laboratorio.

### 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 ( $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  o  $\mu$ ), que definen la clase de inmunoglobulina, y dos cadenas ligeras idénticas ( $\kappa$  o  $\lambda$ ). 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 IgA es 0,5 – 2,0g/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 (MGUS), mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström y otros desórdenes linfoproliferativos. Se recomienda la densitometría de electroforesis de proteínas en suero (SPE) para cuantificar proteínas monoclonales (Ref 2). En estos casos se puede medir la IgM total mediante turbidimetría pero ésta también incluirá las inmunoglobulinas no tumorales, por ello la medida de IgM kappa o IgM lambda dará una representación más exacta de la producción tumoral. El uso de la relación IgM kappa/IgM compensará también cualquier cambio en el volumen de plasma y hematocritos.

### 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 Latex Reactivo:** Se suministra en forma líquida estabilizada. Los conservantes: 0,099% de azida sódica, 0,1% de ácido E-amino-n-caproico (EACA), 0,01% de benzamida y 0,05% 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. 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 IgM kappa y IgM 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. 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 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 periodos más largos, se recomienda conservar el suero a -20°C o temperatura inferior (Ref 3). No congelar y descongelar los sueros más de una vez. 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 4).

### 8 METODOLOGÍA

**Nota:** Con el fin de poder realizar una interpretación completa de los resultados, se deberían determinar los cocientes IgM kappa/IgM lambda. Por lo tanto las muestras deberían analizarse también con el kit **Hevylite** IgM Lambda Optilite de Binding Site (NK626.OPT).

#### 8.1 Material suministrado

- 8.1.1 1 x 50 Tests *Optilite IgMk Reagent* (reactivo *IgMk Optilite*)
- 8.1.2 1 x 1,8mL *Optilite IgMk Calibrator* (calibrador *IgMk Optilite*)
- 8.1.3 1 x 1,4mL *Optilite IgMk High Control* (control elevado *IgMk Optilite*)
- 8.1.4 1 x 1,4mL *Optilite IgMk Low Control* (control bajo *IgMk 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 INST700.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 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 de código de barras del certificado de control de calidad que acompaña al kit (QCcert625.OPT). Escanee los códigos Barcode 1 y Barcode 2 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 (g/L)
1+0	0,02 - 0,50
1+9	0,2-5,0
1+89	1,8-45,0
1+299	6,0-150,0

## 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 (QCcert625.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 programados. Si no se solucionara el problema, rogamos se dirijan al soporte técnico de su proveedor.

## 10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Los tests turbidimétricos no son adecuados para la determinación de muestras altamente lipémicas o hemolíticas o muestras que contengan complejos inmunes circulantes (CICs) dado que estas muestras pueden producir una cantidad impredecible de luz dispersa no especificable. Los resultados no previstos deberán verificarse con un método alternativo.
- No se deben basar decisiones en cuanto a tratamiento de pacientes partiendo únicamente de la determinación de la relación IgM Kappa, IgM Lambda o IgM Kappa / IgM Lambda.
- Exceso de antígeno:** A pesar de que se usa un gran número de muestras que contienen niveles elevados de IgM lambda 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 en correspondencia del cual, una muestra puede evidenciar, con el ensayo **Hevylite**, un exceso de antígeno.
- Puede observarse una protección de advertencia de comprobación de exceso de antígeno (avisos de "límite de antígeno bajo") respecto a los resultados de IgM lambda.
- Las inmunoglobulinas monoclonales son altamente variables. Cualquier muestra que de resultados inesperados se debe volver a analizar a una dilución más alta (concentración más baja) para prevenir el exceso antigénico.
- Puede que no se informe adecuadamente de las muestras de pacientes con síndrome de hiperviscosidad o crioglobulinemia.

## 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.

### Rango en suero de adultos

Este intervalo de referencia se obtuvo mediante la determinación de las concentraciones de IgM kappa e IgM lambda del suero de 147 donantes de sangre británicos adultos sanos, con este ensayo en un SPAPLUS®. 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.

	Valor medio	Valor mediana	Rango percentil 95
IgM kappa (g/L)	0,71	0,63	0,19 – 1,63
IgM lambda (g/L)	0,39	0,35	0,12 – 1,01
Relación IgM kappa/ IgM lambda	1,85	1,81	1,18 – 2,74

## 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 3 lotes de reactivos diferentes en 3 analizadores.

	Resumen de Precisión								
	Media (g/L)	Intra-ensayo		Inter-ensayo		Inter día		Total	
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Nivel 1*	0,097	0,001	1,1	0,002	2,1	0,005	5,4	0,006	5,9
Nivel 2*	0,146	0,002	1,2	0,004	2,7	0,008	5,3	0,009	6,1
Nivel 3*	0,219	0,003	1,2	0,007	3,2	0,010	4,5	0,012	5,6
Nivel 4	0,326	0,003	1,0	0,015	4,5	0,000	0,0	0,015	4,6
Nivel 5	1,194	0,013	1,1	0,046	3,8	0,000	0,0	0,048	4,0
Nivel 6	2,050	0,025	1,2	0,093	4,5	0,000	0,0	0,096	4,7
Nivel 7	2,603	0,045	1,7	0,130	5,0	0,026	1,0	0,140	5,4
Nivel 8	3,944	0,058	1,5	0,179	4,5	0,113	2,9	0,220	5,6

\*a la dilución de muestra 1+0

### 12.2 Estudio comparativo

Se llevó a cabo un estudio comparativo analizando 263 muestras (24 muestras normales y 239 muestras clínicas) con el Kit Hevylite IgM Kappa Optilite y un kit alternativo disponible en el mercado. El análisis de regresión Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0,93x + 0,01 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{analizador prediado})$$

coeficiente de correlación  $r = 0,986$  (calculado por regresión lineal)

Se llevó a cabo un estudio comparativo analizando 55 pares de muestras de suero y heparina litio en plasma con el Kit Hevylite IgM Kappa Optilite. El análisis de regresión Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0,97x + 0,00 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{heparina litio en plasma}; x = \text{suero})$$

coeficiente de correlación  $r = 0,998$  (calculado por regresión lineal)

Se llevó a cabo un estudio comparativo analizando 55 pares de muestras de suero y EDTA en plasma con el Kit Hevylite IgM Kappa Optilite. El análisis de regresión Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0,96x + 0,01 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{EDTA en plasma}; x = \text{suero})$$

coeficiente de correlación  $r = 0,989$  (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, 0,020g/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*. Se ha demostrado linealidad en el rango de analito 0,2 - 5,0g/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, 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 intralipid (1500mg/dL), triglicéridos (1000mg/dL), bilirubina (200mg/L) o hemoglobina (5g/L).

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

### 12.6 Exceso de antígeno

No se observó exceso de antígeno hasta el nivel de 9,6 veces el punto más alto de la curva de calibración a la dilución de muestra estándar 1+9. Esto equivale a 48,00 g/L.

## 13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Protein Reference Unit Handbook of Clinical Immunochemistry (1999) Ed. A. Milford Ward, Pamela G. Riches, R. Fifield and A. M. Smith. PRU Publications, Sheffield, 134-136.
- Smith A, Wisloff F and Samson D (2005) Guidelines on the diagnosis and management of multiple myeloma 2005, Br. J Haematology 132, 410-451.
- Bradwell A R, Harding S, Drayson M, Mead G. Novel nephelometric assays give a sensitive measure of residual disease in multiple myeloma (MM). Br J Haem 2008; 141(s1): p39: Abstract 107.
- 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"