

Catene Leggere Libere

Kit Nefelometria BNA-BNII - Urine

Informazioni Aggiuntive

K.BNA.FRK.FRL

Il protocollo, i Reagenti e Calibratori utilizzati sono quelli standard. Le informazioni sui lotti utilizzati, la localizzazione dell'analizzatore, le curve di calibrazione su cui si basano le valutazioni e tutta la documentazione analitica è conservata in apposito fascicolo identificato.

Limite di sensibilità

Il PBS è stato utilizzato come campione ed è stato misurato 30 volte. Il Limite di sensibilità è stato calcolato applicando la formula: $Media + 3DS$.

I valori ottenuti sono: **FRK** = 0.080 mg/dl – **FRL** = 0.051 mg/dl

Limite di Linearità

Abbiamo utilizzato i Campioni Bence Jones positivi che le Commissioni Forlì e Liguria hanno selezionato quali "controlli provvisori" e denominati: BJ-kappa Lavagna, BJ-lambda Bellaria.

Dato che le curve di calibrazione si estendono da 8 mg/dl a 0.5 mg/dl i campioni sono stati diluiti in PBS come segue: BJ-kappa Lavagna 1:50, BJ-lambda Bellaria 1:10. Dei Campioni così diluiti sono state ottenute 10 diluizioni che vanno dal 100% al 10% con step del 10%.

Tutte le determinazioni sono state eseguite in doppio ed è stata utilizzata quale risultato la media delle due determinazioni. I CV% tra le repliche sono stati sempre inferiori al 3%.

E' stata considerata quale concentrazione di teorica di etichetta quella corrispondente alla diluizione 100% e quindi l'ambito di misurazione controllato è stato: FRK: 5.49 – 0.55 mg/dl; FRL: 5.95 – 0.59 mg/dl.

I valori ottenuti sono: **FRK** Correlazione = 0.9991 – **FRL** Correlazione = 0.9986.

Imprecisione - Ripetibilità

Abbiamo utilizzato i Campioni Bence Jones positivi che le Commissioni Forlì e Liguria hanno selezionato quali "controlli provvisori" e denominati: BJ-kappa Lavagna, BJ-lambda Bellaria.

Sono state eseguite 10 repliche di 6 diluizioni dei suddetti campioni. I risultati sono nella tabella seguente:

| FRK | BJ-kappa Lavagna | | | | | |
|--------------|---------------------------|-------------|-------------|----------------------------|-------------|-------------|
| Diluizione % | 100 | 80 | 60 | 50 | 30 | 10 |
| Media mg/dl | 5.56 | 4.46 | 3.44 | 2.83 | 1.78 | 0.50 |
| CV % | 3.04 | 1.92 | 1.35 | 1.87 | 0.93 | 4.29 |
| FRL | BJ-lambda Bellaria – alto | | | BJ-lambda Bellaria – basso | | |
| Diluizione % | 100 | 80 | 60 | 100 | 60 | 20 |
| Media mg/dl | 5.95 | 5.03 | 4.01 | 3.23 | 2.20 | 0.76 |
| CV % | 3.19 | 1.68 | 2.11 | 1.44 | 2.01 | 3.49 |

Effetto Matrice

Abbiamo utilizzato oltre ai Calibratori, il Siero di Riferimento "CA4" diluito in PBS da 1:5 a 1:40 e 10 campioni di urine di cui 5 con BJ-kappa e 5 con BJ-lambda. Il test è stato effettuato sostituendo il Reagente Antisiero con il PBS.

I risultati ottenuti sono tutti ampiamente inferiori al limite di sensibilità.

Correlazione Immage - BNII

Per ciascun tipo di Bence Jones sono stati esaminati 24 campioni – 8 bassi, 8 medi e 8 molto alti – sia sul nefelometro BNII che sul nefelometro Immage di Beckman con il kit apposito.

I risultati sono:
(in corso)

Cross-Reazione con Catene Leggere Legate

Abbiamo utilizzato come campione il Siero di Riferimento “CA4” di ATAB diluito in PBS da 1:5 a 1:40.

La concentrazione di Ig-kappa e Ig-lambda è stata misurata con il reagente anti Catene Leggere Totali rispettivamente kappa e lambda di Beckman e il risultato è stato diviso per 3.33 per ottenere l'espressione il Catene Leggere Libere.

Le Catene Leggere Libere sono state eseguite in doppio.

Il risultato ottenuti sono riportati nella tabella.

| FRK | Siero di Riferimento “CA4” | | | |
|-------------------------------------|----------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Diluizioni | 1:5 | 1:10 | 1:20 | 1:40 |
| Ig-kappa mg/dl | 55.25 | 28.00 | 13.80 | 7.20 |
| Libere kappa – media – mg/dl | 0.049 | 0.017 | 0.025 | 0.052 |

| FRL | Siero di Riferimento “CA4” | | | |
|--------------------------------------|----------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Diluizioni | 1:5 | 1:10 | 1:20 | 1:40 |
| Ig-lambda mg/dl | 24.90 | 13.45 | 6.85 | 3.66 |
| Libere lambda – media – mg/dl | 0.152 | 0.165 | 0.060 | 0.020 |

Dato l'andamento dei risultati è stata considerata superflua la misurazione del Bianco Campione (effetto matrice).

Bisogna anche annotare che non si può escludere che nel siero di riferimento vi siano piccole quantità di CLL.

In conclusione si può escludere che in campioni reali di urina la reazione sia affetta da cross-reazione con Catene Leggere Legate e quindi con Immunoglobuline intere.

Cross-Reazione con Catene Leggere Libere del tipo opposto

Abbiamo misurato il Calibratore kappa con il Reagente lambda e viceversa e il risultato è stato inferiore al Limite di Sensibilità del metodo.

La mancanza di questo tipo di cross-reazione è confermata dai risultati ottenuti sui campioni con la presenza esclusiva di BJ-kappa con il reagente lambda e viceversa.