

Cadenas Ligeras Libres

Kit Nefelometría Image - Orina

Información Adicional

K.IMG.FRK.FRL

El protocolo y los Reactivos y Calibradores empleados son standard.

La información sobre los lotes empleados, el emplazamiento del analizador, las curvas de calibración en las que se ha basado la evaluación y toda la documentación analítica, esta almacenada en una carpeta identificada apropiadamente.

Límite de Sensibilidad

Se empleó PBS como muestra repitiendo la medición 30 veces.

El límite de sensibilidad se calculó aplicando la fórmula: Media + 3 DS.

Los valores obtenidos fueron: FRK = 0.434 mg/dl – FRL = 0.103 mg/dl

Límite de Linealidad

Se emplearon las muestras Bence Jones positivas que las Comisiones Forlì y Liguria seleccionaron como “controles provisionales”, denominadas BJ-kappa Lavagna y BJ-lambda Bellaria.

Dado que las curvas de calibración van desde 8 mg/dl hasta 0.5 mg/dl, las muestras se diluyeron en PBS como sigue: BJ-kappa Lavagna 1:50 y BJ-lambda Bellaria 1:10. De las muestras así diluidas se obtuvieron diez diluciones sucesivas, desde el 100% hasta el 10% en pasos del 10%.

Todas las determinaciones se efectuaron por duplicado y se tomó como resultado la media de los dos valores obtenidos. El CV% entre las réplicas fué siempre inferior al 3%.

La dilución 100% se tomó como valor asignado para la concentración y por ello el rango de medida controlado fué: FRK: 5.79 – 0.60 mg/dl y FRL: 6.66 – 0.77 mg/dl.

Los valores obtenidos fueron: FRK Correlación = 0.99855 – FRL Correlación = 0.99863

Imprecisión - Repetibilidad

Se emplearon las muestras Bence Jones positivas que las Comisiones Forlì y Liguria seleccionaron como “controles provisionales”, denominadas BJ-kappa Lavagna y BJ-lambda Bellaria.

Se efectuaron nueve repeticiones de seis diluciones de las muestras arriba mencionadas.

Los resultados se relacionan en la tabla siguiente:

CLL - kappa	BJ-kappa Lavagna – alto			BJ-kappa Lavagna – bajo		
Dilución %	100	80	60	100	60	20
Media mg/dl	5.55	4.68	3.53	3.72	2.26	0.58
CV %	2.68	3.25	3.75	1.07	1.35	9.78
CLL - lambda	BJ-lambda Bellaria – alto			BJ-lambda Bellaria – bajo		
Dilución %	100	80	60	100	60	20
Media mg/dl	6.59	5.29	4.17	3.67	2.28	0.79
CV %	2.10	2.14	1.72	1.19	1.39	2.18

Efecto Matriz

Además de los Calibradores, empleamos el Suero de Referencia “CA4” (ATAB) diluido en PBS desde 1:5 hasta 1:40 y diez muestras de orina, cinco con BJ-kappa y cinco con BJ-lambda. El test se efectuó substituyendo el Reactivo Antisuero por PBS.

Los resultados obtenidos fueron todos muy inferiores al límite de sensibilidad.

Correlación Immage - BNII

Para cada tipo de Bence Jones se examinaron 24 muestras - 8 bajas, 8 medias y 8 muy altas - tanto en el nefelómetro BNII (Dade Behring) como en el nefelómetro Immage (Beckman Coulter) con el kit apropiado.

Los resultados fueron:

(... *EN CURSO* ...)

Reacción Cruzada con las Cadenas Ligeras Ligadas

Empleamos el Suero de Referencia "CA4" (ATAB) como muestra, diluido en PBS desde 1:5 hasta 1:40.

La concentración de Ig-kappa e Ig-lambda se midió con los reactivos anti Cadenas Ligeras Totales, kappa y lambda respectivamente, de Beckman y los resultados se dividieron por 3.33 para obtener el resultado expresado como concentración de Cadenas Ligeras Libres.

La determinación de las Cadenas Ligeras Libres se efectuó por duplicado.

Los resultados obtenidos se relacionan en las tablas siguientes:

CLL - kappa	Suero Referencia "CA4"			
	1:5	1:10	1:20	1:40
Diluciones	1:5	1:10	1:20	1:40
Ig-kappa mg/dl	55.25	28.00	13.80	7.20
kappa Libre – media – mg/dl	0.122	0.120	0.115	0.039

CLL - lambda	Suero Referencia "CA4"			
	1:5	1:10	1:20	1:40
Diluciones	1:5	1:10	1:20	1:40
Ig-lambda mg/dl	24.90	13.45	6.85	3.66
lambda Libre – media – mg/dl	0.297	0.363	0.302	0.225

Dados los resultados, la medida del Blanco de Muestra (efecto matriz) se consideró superfluo.

Es necesario evidenciar que **la presencia de pequeñas cantidades de CLL en el suero de referencia no puede ser excluida.**

Como conclusión, **puede excluirse que en muestras reales de orina la reacción pueda verse afectada por una reacción cruzada** con Cadenas Ligeras Ligadas y consecuentemente con Inmunoglobulinas intactas.

Reacción Cruzada con Cadenas Ligeras Libres del tipo opuesto

Efectuamos la medición del Calibrador kappa con el Reactivo lambda, y viceversa, y los resultados obtenidos fueron inferiores al Límite de Sensibilidad del método.

La no existencia de este tipo de reacción cruzada se confirmó también con los resultados obtenidos en muestras con presencia exclusiva de BJ-kappa con el Reactivo lambda y viceversa.