


Cadenas Ligeras Libres

Kit Turbidimetría Instrumental - Orina

Hoja de Instrucciones

REF K.ITA.FRK.FRL

CE	IVD	2 ... 8°C	70 test	ES - Español	 www.newscientific.com
----	-----	-----------	---------	--------------	---

Introducción - Principio

El objeto del Kit es la determinación de las *Cadenas Ligeras Libres (CLL) kappa y lambda en orinas no concentradas con fotómetros manuales o analizadores automáticos de Química Clínica.*

El método se basa en la reacción de Inmunoprecipitación en fase líquida con antisueros adsorbidos específicos para los determinantes "Hidden" (ocultos) de las Cadenas Ligeras de las Inmunoglobulinas.

Cadenas Ligeras Libres en sangre

Los kits usados en suero o plasma, con la misma metodología de la orina, dan resultados técnica y analíticamente excelentes; sin embargo, debemos subrayar que el significado clínico de la determinación de la concentración de las Cadenas Ligeras Libres en sangre está en la actualidad en fase de estudio y definición. Por lo tanto, en estas instrucciones se hace referencia únicamente a la orina. Para más información contactar con el Servicio de Asistencia al Cliente o visitar el sitio Web www.newscientific.com.

Reactivos del Kit

Reactivos antisuero:

- Cadenas Ligeras Libres kappa (R.ITA.FRK - verde) 1 vial - 18 ml
- Cadenas Ligeras Libres lambda (R.ITA.FRL - amarillo) 1 vial - 18 ml

Calibradores / Controles:

- Cadenas Ligeras Libres kappa (W.UPC.FRK - verde) 1 vial - 1 ml
- Cadenas Ligeras Libres lambda (W.UPC.FRL - amar.) 1 vial - 1 ml

Forma: todos los reactivos son líquidos, listos para su uso.

Estabilidad: más de 12 mesi a +2 ... +8°C.

Concentración de los Calibradores del Kit

- Calibrador Cadenas Ligeras Libres kappa: ≈ 20 mg/dl.
- Calibrador Cadenas Ligeras Libres lambda: ≈ 20 mg/dl.

Número de test

Con el Kit se efectúan 70 test kappa y lambda si se utiliza el volumen de reactivo previsto en estas instrucciones (250 μ l/test).

Otros Reactivos relacionados no contenidos en el kit

- Reactivo Sin Antisuero - Ref.: R.ITS.RWA
Este reactivo se emplea para preparar el "blanco de muestra" para en procedimiento manual en fotómetros o para los Analizadores que no efectúan automáticamente la substracción del "blanco de muestra".
- Set Calibradores Prediluidos - Ref.: W.SET.UPC.FRK.FRL
Está disponible un Set de Calibradores prediluidos listos para su uso.
- Controles - Refs: Y.UPR.FRK - Y.UPR.FRL
Son Controles listos para su uso.

Calibradores / Controles: informaciones

A falta de indicaciones por parte de Comunidades Científicas se ha procedido por "Estandarización Interna".

Consultar las relativas instrucciones adjuntas.

Parámetros analíticos y ejecución del método

Ejecución manual y lectura con fotómetro

Seguir las instrucciones relacionadas en el reverso.

Ejecución en analizadores automáticos de química clínica

Seguir las instrucciones del fabricante del analizador para programar y efectuar dos analíticas Turbidimétricas según el esquema relacionado en el reverso..

Procedimiento operativo

Curvas de Calibración

Preparar las diluciones del calibrador (ver tabla) o emplear el Set prediluido.

Efectuar el procedimiento de calibración para ambas metodías.

La calibración debe rehacerse siempre que se use un nuevo lote

Los resultados y las curvas típicas se relacionan en el reverso.

Muestras

Orina entera, no concentrada, centrifugada (3.000 rpm x 10'). Como conservante usar Azida Sódica 0,1%.

Determinación sobre las Muestras

Efectuar la determinación con los reactivos CLL kappa y CLL lambda.

Controles

Se aconseja insertar en cada serie analítica:

- Control Negativo: PBS (o Sol. Fisiológica) = Blanco Reactivo.
 - Control Positivo: Calibrador diluido 1:16 - Conc. ≈ 1.25 mg/dl.
- La estabilidad del Calibrador diluido está limitada a pocas horas.
Como alternativa usar como Controles positivos Y.UPR.FRK e Y.UPR.FRL

Resultados e Interpretación

Valores de Referencia Normales

Las Cadenas Ligeras Libres están prácticamente ausentes en la orina del sujeto normal.

Valores Significativos

Cualquier valor superior al obtenido con el PBS (Blanco Reactivo, Control Negativo) debe considerarse potencialmente positivo. Algunos emplean como Cut Off el doble del valor del PBS.

Usualmente para el Screening se toma "1 mg/dl" como concentración significativa.

Limitaciones de la Determinación Cuantitativa

Las Cadenas Ligeras Libres presentes en la muestra y las presentes en los Calibradores pueden ser "distintas" y pueden por ello reaccionar de manera no proporcional; falta de paralelismo muestra/calibrador. Ello es análogo a lo que ocurre con la determinación cuantitativa por Inmunoprecipitación en fase líquida (Turbidimetría/Nefelometría) en el caso de Inmunoglobulinas Monoclonales en el suero (Componente Monoclonal - CM sérico).

Exceso de Antígeno

El método permite la correcta medida de una concentración de Calibrador 10 veces más alta que el punto más alto de la curva de calibración. De cualquier modo, no es posible excluir que una Muestra vaya en "Exceso de Antígeno".

Monoclonalidad

El test no permite evidenciar si las CLL presentes en la muestra son monoclonales o policlonales.

Límite de Sensibilidad y otras informaciones técnicas

La sensibilidad es ligeramente distinta según la relación reactivo/muestra utilizada.

Para más información contactar con el Servicio de Asistencia al Cliente.

Precauciones para la Seguridad

Conservante: Azida Sódica.

- Manipulación: La Azida Sódica es tóxica.
Todos los reactivos contienen Azida Sódica < 0,1% (w/v). Aunque a tal concentración la Azida Sódica no es peligrosa, adoptar las precauciones necesarias para evitar la ingestión accidental.
- Eliminación: La Azida Sódica puede reaccionar con plomo o cobre dando un compuesto explosivo.

Advertencias para el Uso

- Todos los reactivos deben emplearse sólo para "determinaciones" *In Vitro*.
- Los Reactivos del Kit se han sometido a Controles de Calidad y deben reaccionar como se describe en estas instrucciones. En el caso de que los controles no den la reacción prevista, todos los reactivos del Kit deben considerarse como no fiables.
- No mezclar reactivos pertenecientes a Kits de lotes distintos.
- Las diluciones de los Calibradores tienen una estabilidad limitada a pocas horas.

Informaciones y Referencias Bibliográficas

Contactar con el Servicio de Asistencia al Cliente o consultar www.newscientific.com.

Preparación Curva de Calibración

Preparar las curvas de calibración según el siguiente esquema:

Dilución calibrador (% del entero)	2,5 %	5 %	10 %	20 %	40 %
<input type="checkbox"/> Calibrador μ l	20	20	40	80	160
<input type="checkbox"/> Fisiológica Tamponada (PBS) μ l	780	380	360	320	240
Concentración correspondiente mg/dl	0,5	1	2	4	8

O bien preparar una cantidad doble de la dilución 40% y obtener el 20%, 10%, 5% y 2.5% por diluciones sucesivas al medio.

El punto a 0 mg/dl se obtiene utilizando Solución Fisiológica.

Parámetros y procedimiento para ejecución manual en fotómetro

Parámetros Generales

- a. Tiempo de incubación: 20 minutos.
- b. Lectura: longitud de onda = 340 nm; poner a cero con H2O; medir la absorbancia (Abs) o Densidad Óptica (o.d.).
- c. Resultado: Abs Cuvetas Reacción Muestras o Calibradores – (menos) (Abs Blanco Muestra o Calibradores + Abs Blanco Reactivo).

Curvas de Calibración

- a. Preparar las diluciones de los calibradores según el esquema relacionado en la tabla.
- b. Efectuar el Blanco de Reactivo según lo relacionado en la tabla
- c. Efectuar el Blanco de Muestra y la Reacción sobre cada dilución con los respectivos reactivos según lo relacionado en la tabla.
- d. Reportar en el eje-x las concentraciones de los puntos de calibración y sobre el eje-y los correspondientes “Resultados” (al neto del Blanco de Muestra y de Reactivo).
- e. A título de ejemplo se reportan los resultados de dos calibraciones.

Muestras

Para cada serie analítica proceder como sigue:

- a. Efectuar el Blanco de Reactivo (Control Negativo) como se reporta en la tabla.
- b. Efectuar sobre las Muestras el Blanco de Muestra y la Reacción con ambos reactivos (kappa y lambda) como se reporta en la tabla.
- c. Efectuar el Control Positivo: Calibrador diluido 1:16 - Conc. ≈ 1.25 mg/dl. Como alternativa usar los Controles positivos Y.UPR.FRK e Y.UPR.FRL.
- d. Interpolarse en la curva de Calibración el Resultado obtenido (al neto del Blanco de Reactivo y del Blanco de Muestra).

Ejecución manual en fotómetro						
Cuveta de reacción		Reactivo RWA	Reactivo FRK	Reactivo FRL	Calibrador Muestra Control	PBS
		µl	µl	µl	µl	µl
Blanco Reac. Kappa	(BRK)	-	250	-	-	20
Blanco Reac. Lambda	(BRL)	-	-	250	-	20
Blanco Muestra	(BCn)	250	-	-	20	-
Reacción Kappa	(RKn)	-	250	-	20	-
Reacción Lambda	(RLn)	-	-	250	20	-

Parámetros analíticos generales para analizadores	
Método analítico	punto final (end point assay)
Relación Muestra/Reactivo	De 1:17 a 1:11
Longitud de onda	340nm o 340nm/ > 500nm
Tiempo de reacción	mínimo 10 minutos (aconsejado 20 minutos)
Calibración	6 puntos
Blanco Reactivo	Si
Blanco Muestra	Si
Resultado: Absorbancia (Abs)	Abs Muestra – (menos) (Abs blanco reactivo + Abs blanco muestra)

Atención: las curvas reportadas tienen únicamente un valor orientativo

Calibration Curve Examples using Photometer

FRK					FRL					FKL - "mixed"										
Reagent		R.ITA.FRK		Date	29/05/02		Reagent		R.ITA.FRL		Date	29/05/02		Reagent		R.ITA.FKL		Date	29/05/02	
Calibrator		W..SET.FRK		Lot	A204		Calibrator		W..SET.FRL		Lot	A204		Calibrator		W..SET.FKL		Lot	A204	
Procedure		Standard			Absorbance x 1000		Procedure		Standard			Absorbance x 1000		Procedure		Standard			Absorbance x 1000	
mg/dl	Sample	Blank	Reagent	Net	mg/dl	Sample	Blank	Reagent	Net	mg/dl	Sample	Blank	Reagent	Net						
Saline(RB)	0	-	25	-	Saline(RB)	0	-	19	-	Saline(RB)	0	-	22	-						
Calibrator	0,25	-	-	-	Calibrator	0,25	-	-	-	Calibrator	0,25	-	-	-						
	0,5	0	35	10		0,5	0	65	46		0,5	0	40	16						
	1	0	59	34		1	0	113	94		1	2	130	105						
	2	0	109	84		2	0	215	196		2	3	256	231						
	4	0	210	185		4	1	420	400		4	3	490	465						
	8	1	410	384		8	2	605	584		8	3	823	798						

