

Catene Leggere Libere

Foglio Istruzioni

Kit Turbidimetria Strumentale - Urine

REF K.ITA.FRK.FRL

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

Introduzione - Principio

Obiettivo del kit è la determinazione delle *Catene Leggere Libere (CLL) kappa e lambda in urine non concentrate con fotometri manuali o analizzatori automatici di Chimica Clinica*.

Il metodo si basa sulla reazione di ImmunoPrecipitazione in fase liquida con antisieri adsorbiti specifici per i determinanti "hidden" delle Catene Leggere Libere (CLL).

Catene leggere libere nel sangue

I kit usati su siero e plasma, con la stessa applicazione delle urine, danno risultati tecnicamente e analiticamente ineccepibili; d'altra parte sottolineiamo che il significato clinico della determinazione della concentrazione delle Catene Leggere Libere nel sangue è attualmente in fase di studio e definizione. Pertanto in questo inserto si fa riferimento solo alle urine. Per maggiori informazioni rivolgersi al Servizio Clienti o visitare il sito www.newscientific.com.

Reagenti del Kit

Reagenti antisiero:

- Catene Leggere Libere kappa (R.ITA.FRK - verde) 1 fiala - 18 ml
- Catene Leggere Libere lambda (R.ITA.FRL - giallo) 1 fiala - 18 ml

Calibratori / Controlli:

- Catene Leggere Libere kappa (W.UPC.FRK - verde) 1 fiala - 1 ml
- Catene Leggere Libere lambda (W.UPC.FRL - giallo) 1 fiala - 1 ml

Forma: tutti e reagenti e calibratori sono liquidi pronti all'uso.

Stabilità: oltre 12 mesi a +2 ... +8°C.

Concentrazioni dei Calibratori del kit

- Calibratore Catene Leggere Libere kappa: ≈ 20 mg/dl.
- Calibratore Catene Leggere Libere lambda: ≈ 20 mg/dl.

Numero di test

Con il kit si eseguono 70 test kappa e lambda se si utilizza il volume ottimale del reagente previsto in queste istruzioni pari a 250 µl/test.

Altri Reagenti correlati non contenuti nel kit

- Reagente Senza Antisiero - Codice: R.ITS.RWA
Questo reagente viene usato per preparare il "bianco campione" per la procedura manuale su fotometri o per gli Analizzatori che non eseguono automaticamente la sottrazione del "bianco campione".
- Set Calibratori Pre-diluiti - Codice: W.SET.UPC.FRK.FRL
E' disponibile un set di Calibratori pre-diluiti pronti all'uso.
- Controlli - Codice: Y.UPR.FRK - Y.UPR.FRL
Sono controlli pronti all'uso.

Calibratori / Controlli: informazioni

In mancanza di indicazioni delle Comunità Scientifiche si è proceduto per "Standardizzazione Interna".

Preparazione dei Calibratori e Controlli

Per ciascun tipo di catena leggera sono selezionati campioni di urine di pazienti con Mieloma Micromolecolare che mostrino all'elettroforesi una banda costituita dalla Proteina di Bence Jones e solo tracce di albumina e di altre proteine.

Si può ritenere che in un campione di questo tipo la quantità di proteine totali corrisponda alla quantità di Catene Leggere Libere.

Le proteine totali sono dosate con il metodo di Bradford.

Parametri analitici ed esecuzione

Esecuzione manuale e lettura su fotometro

Seguire le istruzioni riportate sul retro

Esecuzione su analizzatori automatici di chimica clinica

Seguire le istruzioni del produttore dell'analizzatore per programmare ed eseguire due analisi Turbidimetriche secondo lo schema sul retro.

Procedura Operativa

Curve di Calibrazione

Utilizzare il set prediluito o preparare le curve di calibrazione secondo lo schema riportato sul retro.

Eseguire la procedura di calibrazione per entrambe le Catene Leggere.

Ripetere le curve di calibrazione almeno al cambio del lotto.

I risultati e le curve tipiche sono riportati sul retro.

Campione

Urine intere, non concentrate, eventualmente centrifugate (3000 giri x 10').
Come conservante utilizzare SodioAzide 0.1%.

Determinazione sui campioni

Eseguire la determinazione con i reagenti kappa e lambda.

Controlli

Si consiglia di inserire in ogni serie analitica:

- Controllo Negativo: PBS (o Sol. Fisiologica) = Bianco Reagente.
- Controllo Positivo: Calibratore diluito 1:16 - Conc. ≈ 1.25 mg/dl.

La stabilità del Calibratore diluito è limitata a poche ore.

In alternativa usare come Controlli positivi Y.UPR.FRK e Y.UPR.FRL

Risultati e Interpretazione

Valori di Riferimento Normali

Le CLL sono praticamente assenti nelle urine del soggetto normale.

Valori Significativi

Qualsiasi valore superiore a quello ottenuto con il PBS (Bianco Reagente, Controllo Negativo) è da considerare potenzialmente positivo.

Alcuni utilizzano come cut off il doppio del valore del PBS.

In genere per lo screening si assume "1 mg/dl" come concentrazione significativa.

Limiti del Dosaggio Quantitativo

Le CLL presenti nel campione e quelle presenti nei Calibratori possono essere "diverse" e possono perciò reagire in modo non proporzionale; manca di parallelismo campione/calibratore.

Ciò è analogo a quanto avviene con la determinazione quantitativa: Turbidimetria/Nefelometria, nel caso di Immunoglobuline Monoclonali nel siero (Componente Monoclonale - CM serica).

Eccesso di Antigene

Il metodo consente la corretta misurazione di una concentrazione di Calibratore 10 volte più alta del punto di più alto della curva di calibrazione. Comunque, non è possibile escludere che un Campione vada in "Eccesso di Antigene".

Monoclonalità

Il test non consente di evidenziare se le Catene Leggere Libere presenti nel campione sono monoclonali.

Limite di Sensibilità e altre informazioni tecniche

La sensibilità è leggermente diversa a seconda del rapporto reagente/campione utilizzato.

Per informazioni rivolgersi al Servizio Assistenza Clienti.

Precauzioni per la Sicurezza

Conservante: SodioAzide.

- Manipolazione: La SodioAzide è tossica.
Tutti i reagenti contengono SodioAzide < 0,1% (w/v).
In tale concentrazione la SodioAzide non è pericolosa; comunque, adottare le precauzioni necessarie ad evitarne l'ingestione accidentale.
- Smaltimento: La SodioAzide può reagire con piombo e rame dando un composto esplosivo.

Avvertenze per l'uso

- Tutti i reagenti vanno utilizzati unicamente per "ricerca" *in vitro*.
- I Reagenti del kit sono stati sottoposti a Controllo di Qualità e devono reagire come descritto in queste istruzioni.
Nel caso i controlli non diano la reazione prevista, tutti i reagenti del kit devono essere ritenuti inaffidabili.
- Non mescolare reagenti di kit appartenenti a lotti diversi.
- Le diluizioni dei Calibratori hanno stabilità limitata a poche ore.

Informazioni e Riferimenti Bibliografici

Per ulteriori informazioni rivolgersi al Servizio Assistenza Clienti.

Preparazione Curva di Calibrazione

Preparare le curve di calibrazione secondo lo schema riportato sotto:

| Diluizioni calibratori (% di intero) | 2,5 % | 5 % | 10 % | 20 % | 40 % |
|--|-------|-----|------|------|------|
| <input type="checkbox"/> Calibratore μ l | 20 | 20 | 40 | 80 | 160 |
| <input type="checkbox"/> Fisiologica Tamponata (PBS) μ l | 780 | 380 | 360 | 320 | 240 |
| Concentrazioni corrispondenti mg/dl | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 8 |

Oppure preparare una quantità doppia della diluizione 40% e ottenere il 20%, 10%, 5% e 2.5% per diluizioni successive al raddoppio.

Il punto a 0 mg/dl si ottiene utilizzando Soluzione Fisiologica.

Parametri e procedura per esecuzione manuale su fotometro

Parametri Generali

- a. Tempo di incubazione: 20 minuti.
- b. Lettura: lunghezza d'onda = 340 nm; azzerare con H₂O; rilevare le assorbanze (Abs) o Densità Ottica (o.d.).
- c. Risultato: Abs Cuvette Reazione Calibratori o Campioni - (meno) (Abs Bianco Campione Calibratori + Abs Bianco Reagente).

Curve di Calibrazione

- a. Preparare le diluizioni dei calibratori secondo lo schema riportato sopra nella apposita tabella.
- b. Eseguire il Bianco Reagente secondo quanto riportato in tabella
- c. Eseguire il Bianco Campione e la Reazione su ciascuna diluizione con i rispettivi reagenti secondo quanto riportato in tabella.
- d. Riportare sull'asse-x le concentrazioni dei punti di calibrazione e sull'asse-y i corrispondenti "Risultati" (al netto del Bianco Campione e del Bianco Reagente).
- e. A titolo di esempio sono riportati sotto i risultati delle due calibrazioni.

Campioni

Per ogni serie analitica procedere come segue

- a. Eseguire il Bianco Reagente (Controllo Negativo) come riportato in tabella.
- b. Eseguire sui Campioni il Bianco Campione e la Reazione con entrambi i Reagenti kappa e lambda come riportato in tabella.

- c. Eseguire il Controllo Positivo: Calibratore diluito 1:16 - Conc. \approx 1.25 mg/dl. In alternativa usare come Controlli positivi Y.UPR.FRK e Y.UPR.FRL.
- d. Interpolare sulla curva di Calibrazione il Risultato ottenuto (al netto del Bianco Reagente e del Bianco Campione).

| Esecuzione manuale su fotometro | | Reagente RWA | Reagente FRK | Reagente FRL | Calibratore Campione Controllo | PBS |
|---------------------------------|-------|--------------|--------------|--------------|--------------------------------|---------|
| Cuvetta di reazione | | μ l | μ l | μ l | μ l | μ l |
| Bianco Reag. Kappa | (BRK) | - | 250 | - | - | 20 |
| Bianco Reag. Lambda | (BRL) | - | - | 250 | - | 20 |
| Bianco Campione | (BCn) | 250 | - | - | 20 | - |
| Reazione Kappa | (RKn) | - | 250 | - | 20 | - |
| Reazione Lambda | (RLn) | - | - | 250 | 20 | - |

| Parametri analitici generali per analizzatori | |
|---|---|
| Metodo analitico | punto finale (end point assay) |
| Rapporto Campione/Reagente | da 1:17 a 1:11 |
| Lunghezza d'onda | 340nm o 340nm/ > 500nm |
| Tempo di reazione | minimo 10 minuti (consigliato 20 minuti) |
| Calibrazione | 6 punti |
| Bianco Reagente | Si |
| Bianco Campione | Si |
| Risultato: Assorbanza (Abs) | Abs Campione - (meno) (Abs bianco reagente + Abs bianco campione) |

Attenzione: le curve riportate hanno valore solo orientativo

Calibration Curve Examples using Photometer

| FRK | | | | Date 29/05/02 | | | | FRL | | | | Date 29/05/02 | | | | FKL - "mixed" | | | | Date 29/05/02 | | | |
|-------------------|------------|--------------|---------------|-------------------|------------|----------|--------------|-------------------|------------|------------|-------|-------------------|---------------|------------|------------|---------------|--------------|---------------|------------|---------------|--|--|--|
| Reagent | R.ITA.FRK | Lot | A204 | Reagent | R.ITA.FRL | Lot | A204 | Reagent | R.ITA.FKL | Lot | A204 | Reagent | R.ITA.FKL | Lot | A204 | Reagent | R.ITA.FKL | Lot | A204 | | | | |
| Calibrator | W..SET.FRK | Lot | A204 | Calibrator | W..SET.FRL | Lot | A204 | Calibrator | W..SET.FKL | Lot | A204 | Calibrator | W..SET.FKL | Lot | A204 | Calibrator | W..SET.FKL | Lot | A204 | | | | |
| Procedure | | Standard | | Procedure | | Standard | | Procedure | | Standard | | Procedure | | Standard | | Procedure | | Standard | | | | | |
| Absorbance x 1000 | | | | Absorbance x 1000 | | | | Absorbance x 1000 | | | | Absorbance x 1000 | | | | | | | | | | | |
| | mg/dl | Sample Blank | Reagent kappa | Net Result | | mg/dl | Sample Blank | Reagent kappa | Net Result | | mg/dl | Sample Blank | Reagent mixed | Net Result | | mg/dl | Sample Blank | Reagent mixed | Net Result | | | | |
| Saline(RB) | 0 | - | 25 | - | Saline(RB) | 0 | - | 19 | - | Saline(RB) | 0 | - | 22 | - | Saline(RB) | 0 | - | 22 | - | | | | |
| Calibrator | 0,25 | - | - | - | Calibrator | 0,25 | - | - | - | Calibrator | 0,25 | - | - | - | Calibrator | 0,25 | - | - | - | | | | |
| | 0,5 | 0 | 35 | 10 | | 0,5 | 0 | 65 | 46 | | 0,5 | 2 | 40 | 16 | | | | | | | | | |
| | 1 | 0 | 59 | 34 | | 1 | 0 | 113 | 94 | | 1 | 3 | 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 | | | | | | | | | |

