

3diag - KAP - TIA

REF TD-42771

LOT **771-13**

⏳ 2024-09

UDI



(01) 08434477311017
(10) 771-13
(17) 240930
(240) TD-42771

EN KAPPA Light Chains (serum+urine) - for Turbidimetry
INSTRUCTIONS FOR USE

ES Cadenas Ligeras KAPPA (suero+orina) - para Turbidimetría
INSTRUCCIONES DE USO

IT Catene Leggere KAPPA (siero+urina) - per Turbidimetria
ISTRUZIONI PER L'USO

PT Cadeias Leves KAPPA (soro+urina) - para Turbidimetria
INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO



<https://www.3diag.com/011>
for IFU, Scan or follow link,
and select LOT



TRIMERO Diagnostics, SL

c. València 558, 4t 2a - 08026 Barcelona (Spain)
☎ +34 93 244 86 79 - www.3diag.com



INSTRUCTIONS FOR USE

Reagents for professional use,
for *In Vitro* use only in clinical laboratory (IVD)

3diag - KAP - TIA

KAPPA Light Chains (serum+urine)
for Turbidimetry

REF TD-42771

INTENDED USE

Quantitative determination of KAPPA Light Chains (bound and free) (KAP), in human serum and urine, by turbidimetric method in automatic Clinical Chemistry Analyzers.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The specific antibodies (Ab) of the reagent, when combined with the antigens (Ag) of the patient sample, form insoluble compounds causing a change in the absorbance and dispersion of the light, proportional to the antigen concentration, which can be quantified by turbidimetric (TIA) or nephelometric (NIA) method, by comparison with calibrators of known concentration.

CONTENTS - COMPOSITION - PREPARATION

- Antiserum Reagent: **REAG Ab KAP**
REF TD-42771-RA ▽ 100 test - 5 ml
Anti-human KAP antibodies solution.
- Reaction Buffer: **BUF KAP**
REF TD-42771-BF ▽ 100 test - 25 ml
TRIS Buffer, with PEG.

As a preservative, the reagents contain <0.1% (1 g/l) Sodium Azide (NaN₃).

The reagents are ready for use and require no preparation. Before each use it is convenient that the reagents are homogenized, shaking them gently avoiding the formation of foam or bubbles.

When inserting a reagent container into the analyzer, it is always recommended to wait a while before using it, in order for its temperature to stabilize.

WARNINGS - PRECAUTIONS

- Sodium Azide is toxic. Even if sodium azide is not harmful at the concentration present in the reagents, take the necessary precautions to avoid accidental ingestion or contact with the eyes.
- Sodium Azide can react with lead or copper to give explosive compounds. For disposal it is recommended to rinse with plenty of running water to avoid accumulation in drains.
- Since the absence of infectious agents can not be proven with absolute certainty, components containing materials of human or animal origin must be handled with caution, as potentially infectious, following the recommended safety standards for biological risk.
- Do not mix components belonging to different lot kits.

- Clinical diagnosis should not be based on the results of a single test, but should always integrate all relevant clinical and laboratory data.

STORAGE - SHELF LIFE

- Store refrigerated at +2...+8°C. Do not freeze, as the functionality of the reagents may be altered.
- Properly stored and unopened, the reagents are stable until the expiration date indicated on the label.
- Once opened, provided they are handled with adequate precautions to avoid contamination, the shelf life of the reagents is at least 4 weeks, provided that after each use they are stored immediately in the original containers, tightly capped and refrigerated at +2...+8°C. This information should be taken as a guideline given that, obviously, the shelf life depends on the particular environmental and use conditions, which may differ from those of the stability studies carried out.

MATERIALS NEEDED, NOT SUPPLIED

- Automatic Clinical Chemistry Analyzer, capable of running photometric assays at 340 nm, and accessories: reagent containers, cuvettes, etc..
- 3diag - KL - CAL SET REF TD-42772
- 3diag - U-KL - CAL SET REF TD-42782
- κλoneus® - U-FLC - CAL SET REF TD-42501-U
- 3diag - KL - CONTROL REF TD-42774
- 3diag - U-KL - CONTROL REF TD-42793
- κλoneus® - U-FLC - CONTROL REF TD-42502-U

SAMPLES

- Fresh Serum.
Samples with presence of fibrin should be centrifuged. Do not use hemolyzed, lipemic or contaminated samples.
- Fresh Urine.
It is usual the use of a 24-hour urine aliquot, however specific guidelines⁽¹⁾ recommend the use of a random urine, preferably the second morning void, and expressing the concentration relative to urinary creatinine. The addition of <0.1% (1 g/l) Sodium Azide (NaN₃) as a preservative is also recommended. Prior to the analysis, the samples should be centrifuged until a clear and transparent supernatant is obtained⁽²⁾. For the determination of specific proteins, centrifugation of urine samples at 3000⁽³⁾-5000⁽⁴⁾ g for 10 minutes is the standard practice in the laboratory.

In bibliography⁽⁵⁾ it is reported the following stability :

- Serum: Refrigerated/Freezed: 28 days
- Urine: 7 days in refrigerated urine (sample of preference). The sample should always be kept refrigerated.

Specific guidelines⁽⁶⁾ establish that it is the responsibility of each laboratory to consult all available references or to carry out its own studies to determine its specific stability criteria.

PROCEDURE

If necessary, carefully transfer the reagents to the containers used by the analyzer, preventing leakage and foaming or bubbles.

To program and calibrate assays, follow the instructions for use of the analyzer used, with the recommended general parameters that are detailed below. Please, contact the Customer Support Service (☎ support@3diag.com - ☎ +34 93 244 86 79) for further information about applications to specific analyzers.

Assay Parameters - Serum / Urine

- ①Dispense and mix:
 - Sample/Calibrator/Control: Serum: 10 µl (dilution 1:40)
Urine: 20 µl (neat)
 - BUF KAP 250 µl
- ②Incubate a fixed time between 1 and 5 minutes
- ③Read absorbance A1 (Blank) at 340 nm
- ④Dispense and mix:
 - REAG Ab KAP Serum: 50 µl
Urine: 30 µl
- ⑤Incubate a fixed time of about 5 minutes

- ⑥ Read absorbance A2 (End Point) at 340 nm
- ⑦ Interpolate the absorbance increment (A2-A1) of the samples and controls in the curve obtained with the calibrators

Samples with concentrations higher than the upper limit of the assay range should be analyzed again, diluted manually with Saline, or by programming a larger sample dilution in the analyzer, to recover a value close to the midpoint of the measurement range.

Calibration Parameters - Serum / Urine

- **Serum:** Use the **3diag - KL - CAL SET**.
- **Urine:** It is recommended to use the **κλoneus® - U-FLC - CAL SET**, constituted by human Free Light Chain (FLC) solutions, or alternatively the **3diag - U-KL - CAL SET**, consisting of human serum solutions containing bound Light Chains.
- If the analyzer allows it, it is recommended to program two replicates of each calibration point.
- The calibrations are Non-linear. For the calculation it is recommended to use a 3rd Order Polynomial, a Logit or a Polygonal adjustment.
- The calibration curves have a limited validity, which depends on the particular conditions of use. The assays should be recalibrated when:
 - a new lot of reagents is used,
 - established internal quality control procedures do not deliver the expected results, or
 - after performing maintenance operations on the analyzer.

PERFORMANCES OF THE METHOD

Detailed information on the characteristics and performances of the assays is given in the Technical Reports, available on the website (www.3diag.com) or upon request to the Customer Support Service (✉ support@3diag.com - ☎ +34 93 244 86 79).

Antigen Excess

The Light Chains of the sample, especially if they are monoclonal, can react in a way that is not proportional to the calibration (lack of linearity), just as it happens in the immunochemical quantification of monoclonal immunoglobulins.

Although the method does not enter into antigen excess until very high concentrations of Light Chains, as a precaution it is recommended to analyze patient samples, which, because of their history, clinical data or other laboratory results, are suspected of having extreme values of Light Chains or whose reaction is non-proportional, at two dilutions, the usual working one and manually prediluted (for example 1:10). Recovered result of the prediluted sample significantly higher than that of the sample at the normal dilution is indicative of an eventual excess of antigen or non-linearity; in that case, to obtain a result as accurate as possible, it is recommended to dilute the sample progressively (for example in steps of 1:5) until a value close to the midpoint of the measurement range is recovered.

The use of complementary assays, such as the determination of Free Light Chains (FLC) in serum and urine, serum Immunoglobulins, electrophoretic assays, or the determination of Light Chains at the same time in serum and urine, may be a useful alarm signal in case of obtaining discordant results.

QUALITY CONTROL

To monitor performances, it is recommended to use the controls of the **3diag - KL - CONTROL** for the serum, and the **κλoneus® - U-FLC - CONTROL** or the **3diag - U-KL - CONTROL**, depending on the calibrator used, for the urine.

The insertion of internal controls is recommended:

- in each analytical series,
- when using a new reagent kit from the same lot, and
- after performing a calibration.

Each laboratory should establish its own quality scheme and corrective actions if controls do not meet the assigned tolerances. The reagents have been subjected to quality control checks and should react as described in these instructions. Therefore, as a general recommendation, in the event that controls do not give the expected results, the following should be done:

- repeat controls,
- if the deviation persists, repeat with new controls,
- if the deviation persists, calibrate again, and
- if the deviation persists, contact the Customer Support Service (✉ support@3diag.com - ☎ +34 93 244 86 79).

As a precaution, until the causes of the deviation have been identified and corrected:

- all reagents should be considered unreliable, and
- sample results should not be validated.

TRACEABILITY

Values are referred to the *European Reference Material ERM-DA470k/IFCC (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM)*, using the *M.M. Lievens formula*⁽⁷⁾.

The values of the Free Light Chain calibrators and controls are also referred to internal standards based on highly purified proteins.

REFERENCE INTERVALS

It is always advisable for each laboratory to establish its own reference values.

The bibliography reports reference values of:

- **Serum:** between 170 and 370 mg/dl⁽⁸⁾.
Reference values for KAP/LAM ratio are between 1.35 and 2.65⁽⁸⁾.
- **Urine:** up to 0,9 mg/dl⁽⁵⁾.

In general, Free Light Chains (FLC) are present only in traces in the urine of normal subjects. Specific guidelines⁽¹⁾ report that, for the study of monoclonal components, at least 1 mg/dl (10 mg/l) of Kappa and Lambda FLC should be detected, concentration which has therefore to be considered as significant.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Hemolyzed, lipemic or turbid samples, which cannot be clarified by centrifugation, should not be used in turbidimetric or nephelometric assays as turbidity and particles can interfere with the determination.
- Samples containing circulating immune complexes (CICs) / heterophilic antibodies can lead to erroneously increased or decreased results in immunoassays. Unexpected or inconsistent results should be confirmed using alternative methods.
- The product must be used as described in these instructions by suitably trained personnel. Any modification made to the assay and its necessary validation is the sole responsibility of the user, as well as the validation on each particular analyzer.
- Samples from internal quality controls other than the recommended one, or from external quality controls, may give different results than those obtained by other methods, due to matrix effects. To evaluate the results it may be necessary to establish specific target values for the method.
- It is well known that immunochemical assays are not suitable for the measurement of paraproteins, due to the possibility of a non-linear response and therefore lack of accuracy and inconsistent results. Furthermore, an immunochemical measurement cannot distinguish between monoclonal and polyclonal proteins. Light Chain concentrations can never be considered as a measure of the monoclonal component.
- When changing the method, it is advisable to carry out additional sequential measurements to establish new baseline values that allow monitoring the evolution of patients.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Quantities of Light Chains exceeding normal values or an abnormal KAP/LAM ratio may be indicative of the presence of a monoclonal gammopathy, which should always be confirmed by electrophoretic techniques. Its quantification may also be useful in monitoring the monoclonal component.

In urine, specific guidelines⁽¹⁾ propose, as an alternative approach, the use of the quantitative measurement of Light Chains as a screening method for the presence of Bence-Jones proteinuria (BJP), that may also be useful in monitoring.

SYMBOLS

In addition to the harmonized symbols provided on the European Standard EN 980:2008, in the labels and instructions of use has been used the complementary symbology proposed⁽⁹⁾ by the EDMA (*European Diagnostic Manufacturers Association*), whose meaning is detailed below.

REAG	Reagent
Ab	Antibody / Antiserum
BUF	Buffer
KAP	KAPPA Light Chains
CAL	Calibrator
H	High
L	Low
KL	Light Chains (Kappa and Lambda)

BIBLIOGRAPHY

- (1) Graziani et al. for the IFCC Committee on Plasma Proteins: "Guidelines for the Analysis of Bence Jones Protein" - Clin Chem Lab Med 2003; 41(3): 338-346.
- (2) Morales L.J., Ventura S., Solé E et al. - Comité de Comunicación de la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio, SEQC^{ML}: "Muestras de Orina de 24 horas y Orina Reciente para la Medición de las Magnitudes Biológicas Más Comunes", ISBN: 978-84-89975-52-1 (2017).
- (3) "Alpha-1-Microglobulin (A1M) - IMMAGE® Immunochemistry Systems Chemistry Information Sheet", © Copyright 2017 Beckman Coulter, Inc..
- (4) Bergón Jiménez E., Bergón Sendín M.: "Uso del cociente cadenas kappa/cadenas lambda en orina para el estudio de la proteína de Bence Jones", Quimica Clinica 1999; 18 (5) 266-270.
- (5) Mayo Medical Laboratories website (www.mayomedicallaboratories.com), date of consultation: 25th February 2019.
- (6) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Doc. GP44-A4, May 2010: "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Test; Approved Guideline - Fourth Edition"
- (7) M.M. Lievens: "Medical and technical usefulness of measurement of kappa and lambda immunoglobulin light chains in serum with an M-component" - J Clin Chem Clin Biochem 1989; 27; 519-23.
- (8) Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH: "Sistema BN° II - Protocolos de Ensayo - Versión 2.4", 2009/03.
- (9) EDMA Labelling Task Force: "EDMA Symbols for IVD Reagents and Components - Revision, October 2009".

TEXT REVISION DATE

11th June 2021.

Modifications highlighted in blue ■ .



TRIMERO Diagnostics, SL

c. València 558, 4t 2a - 08026 Barcelona (Spain)
☎ +34 93 244 86 79 - www.3diag.com



ES

INSTRUCCIONES DE USO

Reactivos para uso profesional,
sólo para uso *In Vitro* en laboratorio clínico (IVD)

3diag - KAP - TIA

Cadenas Ligeras KAPPA (suero+orina)
para Turbidimetría

REF TD-42771

USO PREVISTO

Determinación cuantitativa de las Cadenas Ligeras KAPPA (libres y ligadas) (KAP), en suero y orina humanos, por método turbidimétrico en analizadores automáticos de Química Clínica.

PRINCIPIO DEL METODO

Los anticuerpos (Ab) específicos del reactivo forman compuestos insolubles cuando se combinan con los antígenos (Ag) de la muestra del paciente, ocasionando un cambio en la absorbancia y dispersión de la luz, proporcionales a la concentración de antígeno, que puede ser cuantificada, por método turbidimétrico (TIA) o nefelométrico (NIA), por comparación con calibradores de concentración conocida.

CONTENIDO - COMPOSICION - PREPARACION

- Reactivo Antisuero: **REAG Ab KAP**
REF TD-42771-RA ▼ 100 test - 5 ml
Anticuerpos anti-KAP humanas en solución.
- Tampón de Reacción: **BUF KAP**
REF TD-42771-BF ▼ 100 test - 25 ml
Tampón TRIS, con PEG.

Como conservante, los reactivos contienen <0,1% (1 g/l) de Azida Sódica (NaN₃).

Los reactivos están listos para su uso y no requieren ninguna preparación.

Antes de cada uso es conveniente que los reactivos sean homogeneizados, agitándolos suavemente evitando la formación de espuma o burbujas.

Al insertar un contenedor de reactivos en el analizador, es siempre recomendable esperar un tiempo antes de usarlo, al objeto de que su temperatura se estabilice.

ADVERTENCIAS - PRECAUCIONES

- La Azida Sódica es tóxica. Aunque a la concentración presente la Azida Sódica no es peligrosa, adoptar las precauciones necesarias para evitar su ingestión accidental o contacto con los ojos.
- La Azida Sódica puede reaccionar con plomo o cobre dando compuestos explosivos. Para su eliminación se recomienda enjuagar con abundante agua corriente para evitar la acumulación en los desagües.
- Puesto que la ausencia de agentes infecciosos no puede probarse con total certeza, los componentes que contienen materiales de origen humano o animal deben ser manipulados con precaución, como potencialmente infecciosos, siguiendo las normas de seguridad recomendadas para riesgo biológico.

- No mezclar componentes pertenecientes a Kits de lotes distintos.
- El diagnóstico clínico no debe basarse en los resultados de un único test, sino que debe siempre integrar todos los datos clínicos y de laboratorio pertinentes.

ALMACENAMIENTO - VIDA UTIL

- Almacenar refrigerado a +2...+8°C. No congelar, pues la funcionalidad de los reactivos puede verse alterada.
- Conservados adecuadamente y sin abrir, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en su etiqueta.
- Una vez abiertos, siempre que se manejen con las precauciones adecuadas para evitar su contaminación, la vida útil de los reactivos es de al menos 4 semanas, siempre que después de cada uso se guarden inmediatamente en los contenedores originales, bien tapados y refrigerados a +2...+8°C. Este dato debe ser tomado como orientativo pues, obviamente, la vida útil depende de las condiciones ambientales y de uso particulares, que pueden diferir de las de los estudios de estabilidad efectuados.

MATERIALES NECESARIOS, NO SUMINISTRADOS

- Analizador automático de Química Clínica, capaz de efectuar ensayos fotométricos a 340 nm, y accesorios: contenedores de reactivos, cubetas, etc..
- 3diag - KL - CAL SET REF TD-42772
- 3diag - U-KL - CAL SET REF TD-42782
- κaloneus® - U-FLC - CAL SET REF TD-42501-U
- 3diag - KL - CONTROL REF TD-42774
- 3diag - U-KL - CONTROL REF TD-42793
- κaloneus® - U-FLC - CONTROL REF TD-42502-U

MUESTRAS

- Suero fresco.
Las muestras con presencia de fibrina deben centrifugarse. No utilizar muestras hemolizadas, lipémicas o contaminadas.
- Orina fresca.
Es usual el empleo de una alícuota de la orina de 24 horas, aunque líneas guía⁽¹⁾ específicas recomiendan el uso de orina extemporánea, preferiblemente la segunda de la mañana, y la expresión de los resultados en relación a la Creatinina urinaria. También se recomienda la adición de <0,1% (1 g/l) de Azida Sódica (NaN₃) como conservante.
Previo al análisis, las muestras deben centrifugarse hasta obtener un sobrenadante claro y transparente⁽²⁾.
Para la determinación de proteínas específicas, es práctica habitual en el laboratorio la centrifugación de las muestras de orina a 3000⁽³⁾-5000⁽⁴⁾ g por 10 minutos.
En bibliografía⁽⁵⁾ se relaciona la siguiente estabilidad:
- Suero: Refrigerado/Congelado: 28 días
- Orina: 7 días en orina refrigerada (muestra de preferencia). La muestra debería siempre mantenerse refrigerada.

Líneas guía específicas⁽⁶⁾ establecen que es responsabilidad de cada laboratorio el consultar todas las referencias disponibles o efectuar sus propios estudios para determinar sus criterios de estabilidad específicos.

PROCEDIMIENTO

Si resulta necesario, trasvasar cuidadosamente los reactivos a los contenedores previstos por el analizador, evitando pérdidas y la formación de espuma o burbujas.

Seguir las instrucciones de uso del analizador empleado para programar y calibrar ensayos, con los parámetros generales recomendados que se detallan a continuación. Se ruega contactar al Servicio de Asistencia al Cliente (☎ support@3diag.com - ☎ +34 93 244 86 79) para más información sobre aplicaciones para analizadores específicos.

Parámetros del Ensayo - Suero/Orina

- ① Dispensar y mezclar:
 - Muestra/Calibrador/Control: Suero: 10 µl (dilución 1:40)
Orina: 20 µl (entera)
 - BUF KAP** 250 µl
- ② Incubar un tiempo fijo de entre 1 y 5 minutos

- ③ Leer la absorbancia A1 (Blanco) a 340 nm
- ④ Dispensar y mezclar:
 - **REAG Ab KAP** Suero: 50 µl
 - Orina: 30 µl
- ⑤ Incubar un tiempo fijo de alrededor de 5 minutos
- ⑥ Leer la absorbancia A2 (Punto Final) a 340 nm
- ⑦ Interpolarse el incremento de absorbancia (A2-A1) de las muestras y controles en la curva de calibración obtenida con los calibradores

Muestras con concentraciones mayores que la del límite superior del rango de ensayo deben analizarse de nuevo, programando una dilución de muestra mayor en el analizador, o diluidas manualmente con **Solución Salina** para recuperar un valor cercano al punto medio del intervalo de medida.

Parámetros de Calibración - Suero/Orina

- **Suero:** Usar el **3diag - KL - CAL SET**.
- **Orina:** Se recomienda usar el **κλoneus® - U-FLC - CAL SET**, constituido por soluciones de Cadenas Ligeras Libres (FLC) humanas, o alternativamente el **3diag - U-KL - CAL SET**, constituido por soluciones de suero humano conteniendo Cadenas Ligeras Ligadas.
- Si el analizador lo permite, se recomienda programar dos réplicas de cada punto de calibración.
- La calibración es No Lineal, para el cálculo se recomienda usar un ajuste de Polinomio de 3r Orden, Logit o Poligonal.
- Las curvas de calibración tienen una validez limitada, que depende de las condiciones de uso particulares. Los ensayos deben recalibrarse cuando:
 - se utilice un nuevo lote de reactivos,
 - los procedimientos de control de calidad interno establecidos no den los resultados esperados, o
 - después de efectuar operaciones de mantenimiento en el analizador.

PRESTACIONES DEL METODO

La información detallada sobre las características y prestaciones de los ensayos se relacionan en los Informes Técnicos, disponibles en la página Web (www.3diag.com) o bajo demanda al Servicio de Asistencia al Cliente (✉ support@3diag.com - ☎ +34 93 2448679).

Exceso de Antígeno

Las Cadenas Ligeras de la muestra, en especial si son monoclonales, pueden reaccionar de manera no proporcional a la calibración (falta de linealidad), de igual manera a como sucede en la cuantificación inmunológica de inmunoglobulinas monoclonales. Aunque las métodos no entran en exceso de antígeno hasta concentraciones muy elevadas de Cadenas Ligeras, como precaución se recomienda analizar las muestras de pacientes, que por su historial, datos clínicos u otros resultados de laboratorio se sospeche que puedan tener valores extremos de Cadenas Ligeras, o una reacción no proporcional, a dos diluciones, la usual de trabajo y prediluidas manualmente (por ejemplo 1:10). La obtención con la muestra prediluida de un resultado recuperado significativamente superior al de la muestra a la dilución de trabajo es indicativo de un eventual exceso de antígeno o no linealidad; en ese caso, para obtener un resultado lo más exacto posible se recomienda diluir progresivamente la muestra (por ejemplo en pasos de 1:5) hasta que a dos diluciones sucesivas se recuperen resultados coherentes. El uso de ensayos complementarios, como la determinación de las Cadenas Ligeras Libres (FLC) en suero y orina, las Inmunoglobulinas séricas, técnicas electroforéticas, o efectuar la determinación de las Cadenas Ligeras contemporáneamente en suero y orina, puede resultar una señal de alarma útil en caso de obtener resultados discordantes.

CONTROL DE CALIDAD

Para monitorizar las prestaciones, se recomienda emplear los controles del **3diag - KL - CONTROL** para el suero, y del **κλoneus® - U-FLC - CONTROL** o del **3diag - U-KL - CONTROL**, dependiendo del calibrador empleado, para la orina.

Se recomienda la inserción de controles internos:

- en cada serie analítica,
- al usar un nuevo vial de reactivos del mismo lote, y
- después de efectuar una calibración.

Cada laboratorio debería establecer su propio esquema de calidad y acciones correctivas si los controles no cumplen con las tolerancias asignadas.

Los reactivos se han sometido a controles de calidad y deben reaccionar como se describe en estas instrucciones. Por ello, como recomendación general, en el caso de que los controles no den el resultado previsto, se debería:

- repetir los controles,
- si persiste la desviación, repetir con unos nuevos controles,
- si persiste la desviación, calibrar de nuevo, y
- si persiste la desviación, contactar con el Servicio de Asistencia al Cliente (✉ support@3diag.com - ☎ +34 93 244 86 79).

Por precaución, hasta haber identificado y corregido las causas de la desviación:

- todos los reactivos deben considerarse como no fiables, y
- no se deberían validar los resultados de las muestras.

TRAZABILIDAD

Los valores de todos los materiales de referencia están trazados al *European Reference Material ERM-DA470k/IFCC (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM)*, usando la fórmula de *M.M. Lievens*⁽⁷⁾.

Los valores de los calibradores y controles de Cadenas Ligeras Libres están también referidos a estándares internos de proteínas altamente purificadas.

INTERVALOS DE REFERENCIA

Es siempre recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

La bibliografía relaciona unos valores de referencia de:

- **Suero:** entre 170 y 370 mg/dl⁽⁸⁾.
Los valores de referencia del Cociente KAP/LAM son de entre 1.35 y 2.65⁽⁸⁾.
- **Orina:** hasta 0.9 mg/dl⁽⁵⁾.

En general, en la orina de pacientes normales, están presentes sólo trazas de Cadenas Ligeras Libres. Las líneas guía⁽¹⁾ específicas reportan que, para el estudio de los componentes monoclonales, deberían detectarse, como mínimo, FLC Kappa y Lambda de 1 mg/dl (10 mg/l), concentración que debería pues considerarse como significativa.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Las muestras hemolizadas, lipémicas o turbias, que no puedan aclararse mediante centrifugación, no deben utilizarse en ensayos turbidimétricos o nefelométricos pues la turbidez y las partículas pueden interferir en la determinación.
- Muestras conteniendo inmunocomplejos circulantes (CICs) / anticuerpos heterofílicos pueden dar lugar a resultados erróneamente aumentados o disminuidos en los inmunoensayos. Resultados inesperados o incoherentes deberían confirmarse usando métodos alternativos.
- El producto debe ser usado como se describe en estas instrucciones por personal adecuadamente formado. Cualquier modificación realizada sobre el ensayo y su necesaria validación es responsabilidad exclusiva del usuario, así como su validación en cada analizador en particular.
- Las muestras de controles de calidad internos distintos al recomendado, o de controles de calidad externos, pueden dar resultados distintos a los obtenidos por otros métodos, debido a efectos matriz. Para evaluar los resultados podría ser necesario establecer los valores objetivo específicos para el método.
- Es bien sabido que los ensayos inmunológicos no son adecuados para la medición de paraproteínas, debido a la posibilidad de una respuesta no lineal y, por lo tanto, a la falta de exactitud y a resultados inconsistentes. Además, una medición inmunológica no puede distinguir entre proteínas monoclonales y policlonales. La concentración de Cadenas

Ligeras nunca puede considerarse como una medida del componente monoclonal.

- Al cambiar de método es recomendable realizar medidas secuenciales adicionales para establecer nuevos valores basales que permitan monitorizar la evolución de los pacientes.

SIGNIFICADO CLINICO

Cantidades de Cadenas Ligeras superiores a los valores normales o un cociente KAP/LAM anormal pueden ser indicativos de la presencia de una gammopatía monoclonal, que siempre deberá ser confirmada por técnicas electroforéticas. Su cuantificación puede ser también útil en el seguimiento del componente monoclonal.

En orina, las líneas guía⁽¹⁾ específicas proponen la alternativa del uso de la medida cuantitativa de las Cadenas Ligeras como método de despistaje de la presencia de proteinuria de Bence-Jones (BJP), pudiendo resultar también útil en su monitorización.

SIMBOLOS

Además de los símbolos armonizados, previstos en el estándar europeo EN 980:2008, en las etiquetas e instrucciones de uso se ha empleado la simbología complementaria propuesta⁽⁹⁾ por la EDMA (European Diagnostic Manufacturers Association), cuyo significado se detalla a continuación.

REAG	Reactivo
Ab	Anticuerpo / Antisuero
BUF	Tampón
KAP	Cadenas Ligeras KAPPA
CAL	Calibrador
H	Alto
L	Bajo
KL	Cadenas Ligeras (Kappa y Lambda)

BIBLIOGRAFIA

- (1) Graziani et al. for the IFCC Committee on Plasma Proteins: "Guidelines for the Analysis of Bence Jones Protein" - *Clin Chem Lab Med* 2003; 41(3): 338-346.
- (2) Morales L.J., Ventura S., Solé E et al. - Comité de Comunicación de la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio, SEQC^{ML}: "Muestras de Orina de 24 horas y Orina Reciente para la Medición de las Magnitudes Biológicas Más Comunes", ISBN: 978-84-89975-52-1 (2017).
- (3) "Alpha-1-Microglobulin (A1M) - IMMAGE® Immunochemistry Systems Chemistry Information Sheet", © Copyright 2017 Beckman Coulter, Inc..
- (4) Bergón Jiménez E., Bergón Sendín M.: "Uso del cociente cadenas kappa/cadenas lambda en orina para el estudio de la proteína de Bence Jones", *Química Clínica* 1999; 18 (5) 266-270.
- (5) Página Web de Mayo Medical Laboratories (www.mayomedicallaboratories.com), fecha consulta: 25 febrero 2019.
- (6) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Doc. GP44-A4, May 2010: "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Test; Approved Guideline - Fourth Edition"
- (7) M.M. Lievens: "Medical and technical usefulness of measurement of kappa and lambda immunoglobulin light chains in serum with an M-component" - *J Clin Chem Clin Biochem* 1989; 27; 519-23.
- (8) Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH: "Sistema BN° II - Protocolos de Ensayo - Versión 2.4", 2009/03.
- (9) EDMA Labelling Task Force: "EDMA Symbols for IVD Reagents and Components - Revision, October 2009".

FECHA REVISION TEXTO

11 Junio 2021.

Modificaciones resaltadas en color azul ■ .



TRIMERO Diagnostics, SL

c. València 558, 4t 2a - 08026 Barcelona (Spain)
☎ +34 93 244 86 79 - www.3diag.com



ISTRUZIONI PER L'USO

Reagenti per uso professionale,
solo per uso *In Vitro* in laboratorio clinico (IVD)

3diag - KAP - TIA

Catene Leggere KAPPA (siero+urina)
per Turbidimetria

REF TD-42771

USO PREVISTO

Determinazione quantitativa delle Catene Leggere KAPPA (libere e legate) (KAP), nel siero e nell'urina umani, per metodo turbidimetrico in analizzatori automatici di Chimica Clinica.

PRINCIPIO DEL METODO

Gli anticorpi (Ab) specifici del reagente formano composti insolubili quando si combinano con gli antigeni (Ag) del campione del paziente, dando luogo a un cambiamento di assorbanza e dispersione della luce, proporzionali alla concentrazione di antigene, che può essere quantificata mediante metodo turbidimetrico (TIA) o nefelometrico (NIA), per confronto con calibratori a concentrazione nota.

CONTENUTO - COMPOSIZIONE - PREPARAZIONE

- Reagente Antisiero: **REAG Ab KAP**
REF TD-42771-RA ▼ 100 test - 5 ml
Anticorpi anti-KAP umani in soluzione.
- Tamponi di reazione: **BUF KAP**
REF TD-42771-BF ▼ 100 test - 25 ml
Tamponi TRIS, con PEG.

Come conservante, i reagenti contengono <0,1% (1 g/l) di Sodio Azide (NaN₃).

I reagenti sono pronti per l'uso e non richiedono alcuna preparazione. Prima di ogni utilizzo è conveniente che i reagenti siano omogeneizzati, mescolandoli delicatamente evitando la formazione di schiuma o bolle.

Quando si inserisce un contenitore di reagente nell'analizzatore, è sempre consigliabile attendere un po' prima di utilizzarlo, affinché la sua temperatura si stabilizzi.

AVVERTENZE - PRECAUZIONI

- La Sodio Azide è tossica. Anche se nella concentrazione presente non sia pericolosa, adottare le precauzioni necessarie per evitarne l'ingestione accidentale o il contatto con gli occhi.
- La Sodio Azide può reagire con il piombo o il rame presenti nelle tubature e producono composti esplosivi. Per la loro eliminazione si raccomanda di risciacquare con abbondante acqua corrente per evitare l'accumulo negli scarichi.
- Poiché l'assenza di agenti infettivi non può essere provata con certezza assoluta, i componenti che contengono materiali di origine umana o animale devono essere manipolati con precauzione, come potenzialmente infettivi, seguendo le norme

- di sicurezza raccomandate per il rischio biologico.
- Non mescolare componenti appartenenti a kit di lotti diversi.
- La diagnosi clinica non si deve basare sui risultati di un unico test, ma deve sempre integrare tutti i dati clinici e di laboratorio pertinenti.

STOCCAGGIO - STABILITÀ

- Conservare in frigo a +2...+8°C. Non congelare, in quanto la funzionalità dei reagenti potrebbe esserne alterata.
- Conservati adeguatamente e non aperti, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.
- Una volta aperti, purché manipolati con le precauzioni adeguate ad evitarne la contaminazione, la stabilità dei reagenti è di almeno 4 settimane, sempre che dopo ogni uso vengano riposti immediatamente nei contenitori originali, ben chiusi e refrigerati a +2...+8°C. Questo dato deve essere preso come indicativo in quanto, ovviamente, la stabilità dipende dalle condizioni ambientali e dall'uso, e può differire da quella degli studi di stabilità effettuati.

MATERIALI NECESSARI, NON FORNITI

- Analizzatore automatico di Chimica Clinica, capace di effettuare saggi fotometrici a 340 nm, e accessori: contenitori di reagenti, vaschette, etc..
- 3diag - KL - CAL SET REF TD-42772
- 3diag - U-KL - CAL SET REF TD-42782
- κaloneus® - U-FLC - CAL SET REF TD-42501-U
- 3diag - KL - CONTROL REF TD-42774
- 3diag - U-KL - CONTROL REF TD-42793
- κaloneus® - U-FLC - CONTROL REF TD-42502-U

CAMPIONI

- Siero fresco.
I campioni con presenza di fibrina devono essere centrifugati. Non utilizzare campioni emolizzati, lipemici o contaminati.
- Urina fresca.
È usuale l'uso di un'aliquota di urina di 24 ore, sebbene linee guida specifiche⁽¹⁾ raccomandino l'uso di urina estemporanea, preferibilmente dal secondo vuoto del mattino, e l'espressione dei risultati in relazione alla creatinina urinaria. Si raccomanda anche l'aggiunta di <0,1% (1g/ l) di Sodio Azide (NaN₃) come conservante.
Prima dell'analisi, i campioni devono essere centrifugati fino a ottenere un surnatante chiaro e trasparente⁽²⁾.
Per la determinazione di proteine specifiche, la centrifugazione dei campioni di urina a 3000⁽³⁾-5000⁽⁴⁾ g per 10 minuti è la pratica standard in laboratorio.

In bibliografia⁽⁵⁾ viene riferita la seguente stabilità:

- Siero: Refrigerato/Congelato: 28 giorni
- Urina: 7 giorni in urina refrigerata (campione di preferenza). Il campione deve essere sempre conservato in refrigerato.

Linee guida specifiche⁽⁶⁾ stabiliscono che è responsabilità di ciascun laboratorio consultare tutti i riferimenti disponibili o effettuare propri studi per determinare propri criteri di stabilità specifici.

PROCEDURA

Se risulta necessario, travasare con cura i reagenti nei contenitori previsti per l'analizzatore, evitando perdite e la formazione di schiuma o bolle.

Seguire le istruzioni d'uso dell'analizzatore utilizzato, per programmare e calibrare i saggi, utilizzando i parametri generali raccomandati che vengono dettagliati di seguito. Si prega di contattare il Servizio Clienti (☎ support@3diag.com - ☎ +34 93 244 86 79) per ulteriori informazioni sulle applicazioni per analizzatori specifici.

Parametri del Saggio - Siero/Urina

- ① Dosare e mescolare:
 - Campione/Calibratore/Controllo: Siero: 10 µl (diluito 1:40)
Urina: 20 µl (intera)
 - BUF KAP** 250 µl

- ② Incubare per un tempo fisso compreso tra 1 e 5 minuti
 - ③ Leggere l'assorbanza A1 (Bianco) a 340 nm
 - ④ Dosare e mescolare:
 - **REAG Ab KAP** Siero: 50 µl - Urina: 30 µl
 - ⑤ Incubare per un tempo fisso di circa 5 minuti
 - ⑥ Leggere l'assorbanza A2 (Punto Finale) a 340 nm
 - ⑦ Interpolare l'incremento di assorbanza (A2-A1) dei campioni e controlli nella curva di calibrazione ottenuta con i calibratori
- Campioni con concentrazioni maggiori al limite superiore dell'intervallo di misura devono essere analizzati di nuovo, programmando una diluizione di campione maggiore nell'analizzatore, o diluiti manualmente con **Soluzione Salina** per recuperare un valore vicino al punto medio dell'intervallo di misura.

Parametri di Calibrazione - Siero/Urina

- **Siero:** Usare il **3diag - KL - CAL SET**.
- **Urina:** Si raccomanda di usare il **kloneus® - U-FLC - CAL SET**, costituito da soluzioni di Catene Leggere Libere (FLC) umani, o in alternativa il **3diag - U-KL - CAL SET**, costituito da soluzioni di siero umano contenenti Catene Leggere Legate.
- Se l'analizzatore lo permette, si raccomanda di programmare due repliche di ciascun punto di calibrazione.
- La calibrazione è Non Lineare; per il calcolo si raccomanda di usare un adattamento di Polinomio di 3° ordine, Logit o Poligonale.
- Le curve di calibrazione hanno una validità limitata, che dipende dalle condizioni di uso particolari. I dosaggi devono essere ricalibrati quando:
 - si usa un nuovo lotto di reagenti,
 - le procedure di controllo di qualità interno stabilite non danno i risultati sperati, o
 - dopo avere effettuato operazioni di manutenzione sull'analizzatore.

PRESTAZIONI DEL METODO

Le informazioni dettagliate sulle caratteristiche e prestazioni dei dosaggi sono riportate nei Rapporti Tecnici, disponibili sul sito web (www.3diag.com) o su richiesta al Servizio Clienti (☎ support@3diag.com - ☎ +34 93 244 86 79).

Eccesso di Antigene

Le Catene Leggere del campione, specialmente se sono monoclonali, possono reagire in modo non proporzionale alla calibrazione (mancanza di linearità), proprio come accade nella quantificazione immunochimica delle immunoglobuline monoclonali.

Sebbene i metodi non entrino nell'eccesso di antigene fino a concentrazioni molto elevate di catene leggere, per precauzione si consiglia di analizzare i campioni dei pazienti, che a causa della loro storia, dati clinici o altri risultati di laboratorio sono sospetti di avere valori estremi di Catene Leggere, o una reazione non proporzionale, a due diluizioni, la solita di lavoro e manualmente prediluiti (ad esempio 1:10). Ottenere con il campione prediluito un risultato recuperato significativamente più elevato rispetto a quello del campione alla diluizione di lavoro è indicativo di un eventuale eccesso di antigene o non linearità; in tal caso, per ottenere un risultato il più accurato possibile, si consiglia di diluire gradualmente il campione (ad esempio in passaggi di 1:5) fino a quando non viene recuperato un valore vicino al punto medio dell'intervallo di misura.

L'uso di test complementari, come la determinazione delle Catene Leggere Libere (FLC) nel siero e nelle urine, le immunoglobuline sieriche, le tecniche elettroforetiche o la determinazione delle Catene Leggere contemporaneamente nel siero e nelle urine, può essere un utile segnale di allarme in caso di ottenere risultati discordanti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Per monitorare le prestazioni, si raccomanda l'uso dei controlli inclusi nel **3diag - KL - CONTROL**, per il siero, e nel **kloneus® - U-FLC - CONTROL** o nel **3diag - U-KL - CONTROL**, a seconda del calibratore utilizzato, per l'urina.

Si raccomanda l'inserimento dei controlli interni:

- in ciascuna serie analitica,
- quando si usa un nuovo kit di reagenti dello stesso lotto, e
- dopo avere effettuato una calibrazione.

Ciascun laboratorio dovrebbe stabilire un proprio schema di qualità e di azioni correttive se i controlli non sono conformi alle tolleranze assegnate.

I reagenti sono stati sottoposti a controlli di qualità e devono reagire come descritto in queste istruzioni. Pertanto, in linea generale, qualora i controlli non diano il risultato previsto, si dovrebbe:

- ripetere i controlli;
- se la deviazione persiste, ripetere con nuovi controlli;
- se la deviazione persiste, calibrare di nuovo e
- se ancora persiste, contattare il Servizio di Assistenza al Cliente (☎ support@3diag.com - ☎ +34 93 244 86 79).

Per precauzione, fino a quando non siano state individuate e corrette le cause della deviazione:

- tutti i reagenti devono essere considerati inaffidabili e
- i risultati dei campioni non devono essere convalidati.

TRACCIABILITÀ

I valori di tutti i materiali di riferimento sono riferiti al *European Reference Material ERM-DA470k/IFCC (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM)*, utilizzando la formula di M.M. Lievens⁽⁷⁾.

I valori dei calibratori e dei controlli di Catene Leggere Libere sono anche riferiti a calibratori interni di proteine altamente purificate.

INTERVALLI DI RIFERIMENTO

È sempre raccomandabile che ciascun laboratorio stabilisca i propri valori di riferimento.

Nella bibliografia si riportano valori di riferimento di:

- **Siero:** tra 170 e 370 mg/dl⁽⁸⁾.
I valori di riferimento del Rapporto KAP/LAM sono compresi tra 1.35 e 2.65⁽⁸⁾.
- **Urina:** fino a 0.9 mg/dl⁽⁵⁾.

In generale, nelle urine dei soggetti normali sono presenti solo tracce di Catene Leggere Libere. Le linee guida⁽¹⁾ specifiche riportano che, per lo studio dei componenti monoclonali, devono essere rilevati, almeno, FLC Kappa e FLC Lambda di 1 mg/dl (10 mg/l), concentrazione che dovrebbe quindi essere considerata significativa.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- I campioni emolizzati, lipemici o torbidi, che non possano essere resi limpidi mediante centrifugazione, non devono essere utilizzati in saggi turbidimetrici o nefelometrici, dal momento che la torbidità e le particelle possono interferire nella determinazione.
- Campioni contenenti immunocomplessi circolanti (CICs)/anticorpi eterofili possono dare risultati erroneamente aumentati o diminuiti negli immunodosaggi. Risultati inattesi o incoerenti dovrebbero essere confermati utilizzando metodi alternativi.
- Il prodotto deve essere utilizzato, come descritto in queste istruzioni, da personale adeguatamente formato. Qualsiasi modifica apportata al test e la relativa convalida è di esclusiva responsabilità dell'utilizzatore, così come la sua convalida in ogni particolare analizzatore.
- I campioni di controlli di qualità interni diversi da quelli raccomandati, o di controlli di qualità esterni, possono dare risultati diversi da quelli ottenuti mediante altri metodi a causa di effetti matrice. Per valutare i risultati potrebbe essere necessario stabilire valori target specifici per il metodo.

- È risaputo che i saggi immunochimici non sono idonei alla misurazione di paraproteine, data la possibilità di una risposta non lineare e, quindi, di mancanza di accuratezza e di risultati inaffidabili. Inoltre, una misurazione immunochimica non permette di distinguere tra proteine monoclonali e policlonali. La concentrazione di Catene Leggere non può mai essere considerata una misura della componente monoclonale.
- Quando si cambia il metodo, è consigliabile eseguire misurazioni sequenziali aggiuntive per stabilire nuovi valori di base che consentano di monitorare l'evoluzione dei pazienti.

SIGNIFICATO CLINICO

Quantità di Catene Leggere superiori ai valori normali o un rapporto KAP/LAM anormale possono essere indicativi della presenza di una gammopatia monoclonale, che dovrebbe essere sempre confermata da tecniche elettroforetiche. La sua quantificazione può anche essere utile nel monitoraggio della componente monoclonale.

Nelle urine, le linee guida⁽¹⁾ specifiche propongono, come approccio alternativo, l'utilizzo della misurazione quantitativa delle Catene Leggere come metodo di screening per la presenza della proteinuria di Bence-Jones (BJP), che può anche essere utile nel monitoraggio.

SIMBOLI

Oltre ai simboli armonizzati, previsti nello standard europeo EN 980:2008, nelle etichette e nelle istruzioni per l'uso è stata utilizzata la simbologia complementare proposta⁽⁹⁾ dalla EDMA (*European Diagnostic Manufacturers Association*), il cui significato è dettagliato di seguito.

REAG	Reagente
Ab	Anticorpo / Antisiero
BUF	Tampone
KAP	Catene Leggere KAPPA
CAL	Calibratore
H	Alto
L	Basso
KL	Catene Leggere (Kappa e Lambda)

BIBLIOGRAFIA

- (1) Graziani et al. for the IFCC Committee on Plasma Proteins: "Guidelines for the Analysis of Bence Jones Protein" - *Clin Chem Lab Med* 2003; 41(3): 338-346.
- (2) Morales L.J., Ventura S., Solé E et al. - Comité de Comunicación de la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio, SEQC^{ML}: "Muestras de Orina de 24 horas y Orina Reciente para la Medición de las Magnitudes Biológicas Más Comunes", ISBN: 978-84-89975-52-1 (2017).
- (3) "Alpha-1-Microglobulin (A1M) - IMMAGE[®] Immunochemistry Systems Chemistry Information Sheet", © Copyright 2017 Beckman Coulter, Inc..
- (4) Bergón Jiménez E., Bergón Sendín M.: "Uso del cociente cadenas kappa/cadenas lambda en orina para el estudio de la proteína de Bence Jones", *Química Clínica* 1999; 18 (5) 266-270.
- (5) Sito Web di Mayo Medical Laboratories (www.mayomedicallaboratories.com), data consultazione: 25 febbraio 2019.
- (6) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Doc. GP44-A4, May 2010: "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Test; Approved Guideline - Fourth Edition"
- (7) M.M. Lievens: "Medical and technical usefulness of measurement of kappa and lambda immunoglobulin light chains in serum with an M-component" - *J Clin Chem Clin Biochem* 1989; 27; 519-23.
- (8) Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH: "Sistema BN[®] II - Protocolos de Ensayo - Versión 2.4", 2009/03.
- (9) EDMA Labelling Task Force: "EDMA Symbols for IVD Reagents and Components - Revision, October 2009".

DATA DI REVISIONE DEL TESTO

9 giugno 2021.

Modifiche evidenziate in colore blu ■ .



TRIMERO Diagnostics, SL

c. València 558, 4t 2a - 08026 Barcelona (Spain)
☎ +34 93 244 86 79 - www.3diag.com



PT

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Reagentes para uso profissional,
só para uso *In Vitro* em laboratório clínico (IVD)

3diag - KAP - TIA

Cadeias Leves KAPPA (soro+urina)
para Turbidimetria

REF TD-42771

USO PREVISTO

Determinação quantitativa das Cadeias Leves KAPPA (livres e ligadas) (KAP), no soro e na urina humanos, em analisadores automáticos de Química Clínica.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os anticorpos (Ab) específicos do reagente formam compostos insolúveis quando se combinam com os antígenos (Ag) da amostra do doente, ocasionando uma alteração na absorvância e dispersão da luz, proporcionais à concentração de antígeno, que pode ser quantificada, por método turbidimétrico (TIA) ou nefelométrico (NIA), por comparação com calibradores de concentração conhecida.

CONTEÚDO - COMPOSIÇÃO - PREPARAÇÃO

- Reagente Antisoro: REAG Ab KAP
REF TD-42771-RA ▼ 100 test - 5 ml
Solução de anticorpos anti-KAP humanas.
- Tampão de Reação: BUF KAP
REF TD-42771-BF ▼ 100 test - 25 ml
Tampão TRIS, com PEG.

Como conservante, os reagentes contêm <0,1% (1 g/l) de Azida de Sódio (NaN₃).

Os reagentes estão prontos para serem usados e não requerem qualquer preparação.

Antes de cada utilização é conveniente que os reagentes sejam homogeneizados, agitando-os suavemente e evitando a formação de espuma ou bolhas.

Ao inserir um contedor de reagentes no analisador, é sempre recomendável aguardar um pouco antes de usá-lo, para que sua temperatura se estabilize.

ADVERTÊNCIAS - PRECAUÇÕES

- A Azida de Sódio é tóxica. Embora com as concentrações presentes a Azida de Sódio não seja perigosa, devem-se adotar as precauções necessárias para se evitar a sua ingestão acidental ou o contacto com os olhos.
- A Azida de Sódio pode reagir com chumbo ou cobre, dando compostos explosivos. Para a sua eliminação recomenda-se o enxaguamento com água corrente abundante, para se evitar a acumulação nos esgotos.

- Dado que a ausência de agentes infecciosos não pode ser provada com toda a certeza, os componentes que contêm materiais de origem humana ou animal devem ser manipulados com cuidado, como potencialmente infecciosos, seguindo as normas de segurança recomendadas para risco biológico.
- Não se devem misturar componentes pertencentes a Kits de lotes diferentes.
- O diagnóstico clínico não se deve basear nos resultados de um único teste, devendo-se integrar sempre todos os dados clínicos e laboratoriais pertinentes.

ARMAZENAMENTO - VIDA ÚTIL

- Deve-se armazenar refrigerado a +2...+8°C. Não deve ser congelado, dado que a funcionalidade dos reagentes pode ficar alterada.
- Conservados adequadamente e fechados, os reagentes são estáveis até ao prazo de validade indicado na sua etiqueta.
- Depois de abertos, desde que sejam manuseados com as precauções adequadas para se evitar a sua contaminação, a vida útil dos reagentes é de pelo menos 4 semanas, desde que depois de cada utilização sejam guardados imediatamente nos contentores originais, bem tapados e refrigerados a +2...+8°C. Esta informação deve ser considerada como indicativa, dado que, obviamente, a vida útil depende das condições ambientais e de uso particulares, que podem diferir das dos estudos de estabilidade efetuados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, NÃO FORNECIDOS

- Analisador automático de Química Clínica, capaz de efetuar ensaios fotométricos a 340 nm e acessórios: contentores de reagentes, tinas, etc.
- 3diag - KL - CAL SET REF TD-42772
- 3diag - U-KL - CAL SET REF TD-42782
- κλoneus® - U-FLC - CAL SET REF TD-42501-U
- 3diag - KL - CONTROL REF TD-42774
- 3diag - U-KL - CONTROL REF TD-42793
- κλoneus® - U-FLC - CONTROL REF TD-42502-U

AMOSTRAS

- Soro fresco.
As amostras com presença de fibrina devem ser centrifugadas. Não utilizar amostras hemolisadas, lipémicas ou contaminadas.
- Urina fresca.
É usual o uso de uma alíquota de urina de 24 horas, no entanto diretrizes⁽¹⁾ específicas recomendam o uso de urina extemporânea, de preferência a segunda da manhã, e a expressão dos resultados em relação à Creatinina urinária. Também é recomendável adicionar <0,1% (1 g/l) de Azida de Sódio (NaN₃) como conservante.
Antes da análise, as amostras devem ser centrifugadas até que um sobrenadante claro e transparente seja obtido⁽²⁾.
Para a determinação de proteínas específicas, é prática comum em laboratório centrifugar amostras de urina a 3000⁽³⁾-5000⁽⁴⁾ g por 10 minutos.

Em bibliografia⁽⁵⁾ indica-se a estabilidade seguinte:

- Soro: Refrigerado/Congelado: 28 dias
- Urina: 7 dias na urina refrigerada (amostra de preferência). A amostra deve sempre ser mantida refrigerada.

Diretrizes específicas⁽⁶⁾ estabelecem que é da responsabilidade de cada laboratório consultar todas as referências disponíveis ou efetuar os seus próprios estudos para determinar os seus critérios de estabilidade específicos.

PROCEDIMENTO

Se for necessário, devem-se transvasar cuidadosamente os reagentes para os contentores previstos pelo analisador, evitando perdas e a formação de espuma ou bolhas. Devem-se seguir as instruções de utilização do analisador utilizado para programar e calibrar ensaios, com os parâmetros gerais recomendados detalhados em seguida. Por favor, entre em contacto com o Serviço de Atendimento ao Cliente (☎)

support@3diag.com - ☎ +34 93 244 86 79) para obter mais informações sobre aplicativos para analisadores específicos.

Parâmetros do Ensaio - Soro/Urina

- ① Dispensar e misturar:
 - Amostra/Calibrador/Controlo: **Soro:** 10 µl (diluição 1:40)
Urina: 20 µl (inteira)
 - **BUF** **KAP** 250 µl
 - ② Incubar durante um período de tempo fixo de 1 a 5 minutos
 - ③ Ler a absorvância A1 (Branco) a 340 nm
 - ④ Dispensar e misturar:
 - **REAG** **Ab** **KAP** **Soro:** 50 µl
Urina: 30 µl
 - ⑤ Incubar durante um período de tempo fixo de cerca de 5 min.
 - ⑥ Ler a absorvância A2 (Ponto Final) a 340 nm
 - ⑦ Interpoliar o aumento de absorvância (A2-A1) das amostras e controlos na curva de calibragem obtida com os calibradores
- Amostras com concentrações superiores à limite superior do intervalo de medição devem ser novamente analisadas, programando uma diluição de amostra maior no analisador ou diluídas manualmente com **Solução Salina**, até se recuperar um valor próximo ao ponto médio do intervalo de medição.

Parâmetros de Calibragem - Soro/Urina

- **Soro:** Usar o **3diag - KL - CAL SET**.
- **Urina:** Recomenda-se o uso do **κloneus® - U-FLC - CAL SET**, constituído por soluções da Cadeias Leves Livres (FLC) humanas, ou alternativamente el **3diag - U-KL - CAL SET**, constituído por soluções de soro humano contendo Cadeias Leves Ligadas.
- Se o analisador o permitir, recomenda-se que se programem duas réplicas de cada ponto de calibragem
- A calibragem é Não Linear. Para o cálculo, recomenda-se o uso de um ajuste de Polinómio de 3ª Ordem, Logit ou Poligonal
- **As curvas de calibração têm uma validade limitada, que depende das condições de utilização particulares. Os ensaios devem ser recalibrados quando:**
 - se utilizar um novo lote de reagentes,
 - os procedimentos de controlo de qualidade interno estabelecidos não derem os resultados esperados, ou
 - depois da execução de operações de manutenção no analisador.

PRESTAÇÕES DO MÉTODO

As informações detalhadas sobre as características e prestações do ensaio encontram-se no Relatório Técnico, disponível na página Web (www.3diag.com) ou a pedido ao Serviço de Assistência ao Cliente (☎ support@3diag.com - ☎ +34 93 244 86 79).

Excesso de Antígeno

As Cadeias Leves da amostra, especialmente se são monoclonais, podem reagir de forma não proporcional à calibração (falta de linearidade), como acontece na quantificação imunológica das imunoglobulinas monoclonais.

Embora os métodos não entrem no excesso de antígeno até concentrações muito altas de Cadeias Leves, como precaução, recomenda-se a análise de amostras de pacientes que, por sua história, dados clínicos ou outros resultados laboratoriais, são suspeitas de ter valores extremos de Cadeias Leves, ou cuja reação não seja proporcional, normalmente e manualmente pré-diluídas (por exemplo 1:10). A obtenção com a amostra pré-diluída de um resultado recuperado significativamente superior à da amostra na diluição de trabalho é indicativa de um eventual excesso de antígeno ou não linearidade; neste caso, para obter um resultado tão preciso quanto possível, recomenda-se a diluição progressiva da amostra (por exemplo em etapas de 1:5) até que duas diluições sucessivas obtiveram resultados coerentes.

O uso do ensaios complementares, por exemplo, a determinação das Cadeias Leves Livres no soro e urina, imunoglobulinas séricas, técnicas eletroforéticas ou a determinação de Cadeias Leves ao mesmo tempo no soro e na urina, pode ser um sinal de alarme útil em caso de obtenção de resultados discordantes.

CONTROLO DE QUALIDADE

Para a monitorização da performance, recomenda-se o uso dos controlos do **3diag - KL - Control**, para o soro, e do **κloneus® - U-FLC - CONTROL** ou **3diag - U-KL - CONTROL**, dependendo do calibrador utilizado, para a urina.

Recomenda-se o processamento de controlos internos:

- em cada série analítica,
- ao usar um novo frasco de reagentes do mesmo lote, e
- depois da execução de uma calibração.

Cada laboratório deveria estabelecer o seu próprio esquema de qualidade e ações corretivas se os controlos não satisfizerem as tolerâncias atribuídas.

Os reagentes foram submetidos a controlos de qualidade e devem reagir como se descreve nestas instruções. Por isso, como recomendação geral, **caso os controlos não deem o resultado previsto, deve-se:**

- repetir os controlos,
- se o desvio persistir, repetir com novos controlos,
- se o desvio persistir, calibrar novamente, e
- se o desvio persistir, contactar o Serviço de Assistência ao Cliente (☎ support@3diag.com - ☎ +34 93 244 86 79).

Como precaução, enquanto não se tiverem identificado e corrigido as causas do desvio:

- todos os reagentes devem ser considerados como não fiáveis, e
- os resultados das amostras não devem ser validados.

RASTREABILIDADE

Os valores de todos os materiais de referência estão rastreados ao *European Reference Material ERM-DA470k/IFCC (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM)*, usando a fórmula de *M.M. Lievens*⁽⁷⁾.

Os valores dos calibradores e controlos da Cadeias Leves Livres também são referenciados a padrões internos de proteínas altamente purificadas.

INTERVALOS DE REFERÊNCIA

É sempre recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

Em bibliografia indicam-se valores de referência de:

- **Soro:** entre 170 e 370 mg/dl⁽⁸⁾.
Os valores de referência do Quociente KAP/LAM são de entre 1.35 e 2.65⁽⁸⁾.
- **Urina:** até 0,9 mg/dl⁽⁵⁾.

Em geral, na urina de indivíduos normais estão presentes apenas traços da Cadeias Leves Livres. As diretrizes⁽¹⁾ específicas referem que, para o estudo de componentes monoclonais, devem ser detectadas, pelo menos, FLC Kappa e Lambda de 1 mg/dl (10 mg/l), concentração que, portanto, deve ser considerada significativa.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Amostras hemolisadas, lipêmicas ou turvas, que não podem ser clarificadas por centrifugação, não devem ser utilizadas em testes turbidimétricos ou nefelométricos, pois a turvação e as partículas podem interferir na determinação.
- Amostras contendo imunocomplexos circulantes (CICs) / anticorpos heterofílicos podem levar a resultados erroneamente aumentados ou diminuídos em imunoenaios. Resultados inesperados ou inconsistentes devem ser confirmados usando métodos alternativos.
- O produto deve ser usado conforme descrito nestas instruções por pessoal devidamente treinado. Qualquer modificação feita no teste e sua necessária validação são de responsabilidade exclusiva do usuário, bem como sua validação em cada analisador em particular.
- Amostras de controlos de qualidade internos diferentes do recomendado, ou de controlos de qualidade externos, podem apresentar resultados diferentes dos obtidos por outros métodos, devido aos efeitos da matriz. Para avaliar os resultados, pode ser necessário estabelecer valores-alvo específicos para o método.

- É bem sabido que os ensaios imunoquímicos não são adequados para a medição de paraproteínas, devido à possibilidade de uma resposta não linear e, portanto, à falta de exatidão e a resultados inconsistentes. Além disso, uma medição imunoquímica não pode distinguir entre proteínas monoclonais e policlonais. A concentração de Cadeias Leves nunca pode ser considerada como uma medida do componente monoclonal.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Quantidades de Cadeias Leves superiores aos valores normais ou um Quociente KAP/LAM anormal podem ser indicativos da presença de uma gammopatia monoclonal, que deveria ser sempre confirmada por técnicas eletroforéticas. A sua quantificação também pode ser útil no seguimento do componente monoclonal. Na urina, as diretrizes⁽¹⁾ específicas propõem como abordagem alternativa o uso da medida quantitativa das Cadeias Leves como método de triagem para a presença de proteinúria de Bence-Jones (BJP), podendo também ser útil na sua monitorização.

SÍMBOLOS

Além dos símbolos harmonizados, previstos na norma europeia EN 980:2008, nas etiquetas e instruções de utilização foi usada a simbologia complementar proposta⁽⁹⁾ pela EDMA (*European Diagnostic Manufacturers Association*), cujo significado se detalha em seguida.

REAG	Reagente
Ab	Anticorpo / Antisoro
BUF	Tampão
KAP	Cadeias Leves KAPPA
CAL	Calibrador
H	Alto
L	Baixo
KL	Cadeias Leves (Kappa e Lambda)

BIBLIOGRAFIA

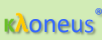

- (1) Graziani et al. for the IFCC Committee on Plasma Proteins: "Guidelines for the Analysis of Bence Jones Protein" - *Clin Chem Lab Med* 2003; 41(3): 338-346.
- (2) Morales LJ., Ventura S., Solé E et al. - Comité de Comunicación de la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio, SEQC^{ML}; "Muestras de Orina de 24 horas y Orina Reciente para la Medición de las Magnitudes Biológicas Más Comunes", ISBN: 978-84-89975-52-1 (2017).
- (3) "Alpha-1-Microglobulin (A1M) - IMMAGE® Immunochemistry Systems Chemistry Information Sheet", © Copyright 2017 Beckman Coulter, Inc..
- (4) Bergón Jiménez E., Bergón Sendín M.: "Uso del cociente cadenas kappa/cadenas lambda en orina para el estudio de la proteína de Bence Jones", *Química Clínica* 1999; 18 (5) 266-270.
- (5) Página Web de Mayo Medical Laboratories (www.mayomedicallaboratories.com), data consulta: 25 fevereiro 2019.
- (6) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Doc. GP44-A4, May 2010: "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Test; Approved Guideline - Fourth Edition"
- (7) M.M. Lievens: "Medical and technical usefulness of measurement of kappa and lambda immunoglobulin light chains in serum with an M-component" - *J Clin Chem Clin Biochem* 1989; 27; 519-23.
- (8) Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH: "Sistema BN° II - Protocolos de Ensayo - Versión 2.4", 2009/03.
- (9) EDMA Labelling Task Force: "EDMA Symbols for IVD Reagents and Components - Revision, October 2009".

DATA REVISÃO TEXTO

11 de junho de 2021.

Modificações destacadas em cor azul .

CATALOGUE of Available Proteins - Turbidimetry (TIA) / Nephelometry (NIA)

Protein Description	Traced to	Sample	Beckman C. IMAGE®	Siemens H. BN™ series	Turbidimetry see NOTE #1
 Free Light Chains - Serum	ERM-DA470k	Serum	Available	-	Available
 Free Light Chains - Urine	ERM-DA470k	Urine	Available	Available	Available
Kappa (B&F) Light Chains	ERM-DA470k	Serum & Urine	-	-	Available
Lambda (B&F) Light Chains	ERM-DA470k	Serum & Urine	-	-	Available
Beta-2 Microglobulin	WHO B2M	Serum & Urine	Available	-	Available
C1q Complement	WHO W1032	Serum	Available	Available	Available
C5 Complement	WHO W1032	Serum	Available	Available	Available
C1 (Esterase) Inhibitor	Internal Standard	Serum	Available	-	Available
Factor B (C3 Proactivator)	WHO W1032	Serum	Available	Available	Available
Cystatin C	ERM-DA471	Serum & Urine	Available	only in Urine	Available
Hemopexin	NIBSC 74/520	Serum	Available	-	Available
IgD Immunoglobulins	NIBSC 67/037	Serum	Available	Available	Available
Retinol Binding Protein	Internal Standard	Serum & Urine	Available	only in Urine	Available
Soluble Transferrin Receptor	WHO 07/202	Serum	Available	-	Available
IgE Immunoglobulins	WHO 75/502	Serum	-	-	Available
Alpha-1 Microglobulin	Internal Standard	Urine	-	-	Available
Serum Amyloid A	WHO 92/680	Serum	Available	-	Available

NOTE #1: Applications available for **Optilite®**, **Alinity c**, **Architect c**, **ADVIA®** series, **AU®** series, **cobas®** series, and other analyzers by request

IMAGE® and **AU®** are registered trademarks of Beckman Coulter, Inc, Fullerton, CA.
BN™ and **ADVIA®** are registered trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg, Deutschland.
Optilite® is a registered trademark of The Binding Site Group Ltd, Birmingham, U.K.
Alinity and **Architect** related brand marks are registered trademarks of Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, USA
cobas® and related brand marks are trademarks of Roche Diagnostics Ltd, Rottkreuz, Switzerland

ALL PROTEINS INCLUDED IN  **Accuracy 365** Online Quality Control Further information and registration at www.accuracy365.com

Accuracy 365 aims to monitor and compare, between laboratories, the results obtained in the Internal Quality Control processes of end-users of specific protein control materials manufactured by **TRIMERO Diagnostics**.

Main features:

- 100 % free and lifetime.
- Cloud application, Available 24 hours, 365 days per year.
- Intuitive interface and very simple to use.
- Calculation and representation of statistical data in real time.
- Anonymous participation, data are only accessible by its owner.