



## Zestaw do oznaczania wolnych łańcuchów kappi Optilite® Freelite Mx™

Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*

Kod produktu: LK016.M.OPT

Wyrób wyprodukowany przez:  
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK  
www.bindingsite.co.uk  
Telephone: +44 (0)121 456 9500  
Fax: +44 (0)121 456 9749  
E-mail: info@bindingsite.co.uk

Optilite, SPALUS i Freelite to zastrzeżone znaki towarowe należące do spółki The Binding Site Group Limited (Birmingham, Wielka Brytania) i używane przez nią w niektórych krajach. Freelite Mx to znak towarowy należący do firmy The Binding Site Group Limited (Birmingham, Wielka Brytania). Inne marki lub nazwy wyrobów mogą być znakami handlowymi należącymi do ich właścicieli.



**Ostrzeżenie:** Wyniki oznaczenia wolnych lekkich łańcuchów kappi dla danej porcji próbki uzyskane przy użyciu zestawów badawczych różnych producentów lub różnych systemów mogą się różnić między sobą ze względu na odmienne metody oznaczania i różną swoistość odczynnika. Wyniki zgłaszane lekarzowi przez laboratorium muszą zawierać dane identyfikacyjne użytego zestawu do oznaczania wolnych lekkich łańcuchów kappi. Wartości uzyskane przy zastosowaniu różnych testów lub systemów nie mogą być używane wymiennie. W przypadku zmiany testu lub systemu do oznaczania poziomu wolnych lekkich łańcuchów kappi w trakcie regularnego monitorowania pacjenta należy przeprowadzić dodatkowe badania sekwencyjne. Przed zmianą testu lub systemu laboratorium **MUSI** potwierdzić wartości podstawowe dotyczące regularnie monitorowanych pacjentów.

### 1 PRZEZNACZENIE

Zestaw do oznaczania wolnych łańcuchów kappi Optilite **Freelite Mx** jest przeznaczony do ilościowego oznaczania wolnych łańcuchów kappi w diagnostyce *in vitro* w surowicy krwi, osoczu z EDTA lub osoczu z heparyną litową, moczu i płynie mózgowo-rdzeniowym z wykorzystaniem analizatora Optilite firmy Binding Site. W połączeniu z wynikami innych badań laboratoryjnych i klinicznych oznaczenie wolnych łańcuchów lekkich pomaga w diagnostyce i monitorowaniu szpiczaka mnogiego, nowotworów limfocytowych, makroglobulinemii Waldenströma, amyloidoz AL, choroby odkładania lekkich łańcuchów oraz chorób tkanki łącznej, takich jak toczeń rumieniowaty układowy (SLE).

### 2 PODSUMOWANIE I WYJAŚNIENIE

Molekuły immunoglobulin składają się z dwóch identycznych łańcuchów ciężkich ( $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  lub  $\epsilon$ ), które określają klasę immunoglobuliny, oraz dwóch identycznych łańcuchów lekkich ( $\kappa$  lub  $\lambda$ ). Każdy łańcuch lekki jest kowalennie połączony z łańcuchem ciężkim a dwa łańcuchy ciężkie są połączone kowalennie w rejonie zawiązowym. U osób zdrowych większość łańcucha wolnego istnieje w surowicy właśnie w tej formie, związana z łańcuchem ciężkim. W surowicy osób zdrowych znajduje się również niewielkie ilości wolnych łańcuchów lekkich (FLC) w wyniku nadprodukcji i wydzielania FLC przez komórki osocza. O ile masa obu lekkich łańcuchów wynosi  $\approx 22.5$  kDa, wolny lekki łańcuch  $\kappa$  ( $\kappa$ -FLC) istnieje głównie jako monomer a wolny łańcuch lekki  $\lambda$  ( $\lambda$ -FLC) jako kowalennie połączony dimer o masie cząstkowej  $\approx 45$  kDa. Prowadzi to do zróżnicowania szybkości filtrowania kłębuszkowego  $\kappa$ -FLC i  $\lambda$ -FLC i może stanowić wyjaśnienie obserwowanego współczynnika  $\kappa$ -FLC do  $\lambda$ -FLC wynoszącego 0,625 w surowicy w porównaniu ze współczynnikiem związanego  $\kappa$  do  $\lambda$  wynoszącego 2,0. Poziom FLC w moczu jest niski. W zdrowej nerce komórki cewkowe wybiórczo wchłaniają ponownie wszystkie FLC i stąd też ich obecność w moczu jest prawdopodobnie spowodowana wydzielaniem do przewodu moczowego. Podwyższony poziomy monoclonalnych FLC łączy się z rozprzestrzenieniem się złośliwych komórek osocza (np. szpiczak mnogim), amyloidozą AL i chorobą odkładania lekkich łańcuchów. Podwyższone poziomy poliklonalnych FLC w surowicy mogą być również związane z chorobami autoimmunologicznymi, takimi jak np. SLE. Pojawienie się podwyższonego poziomu FLC w moczu może wskazywać na schorzenie nerek lub złośliwą chorobę limfoproliferatywną, taką jak szpiczak mnogim. Monoklonalny moczowy FLC związany z nowotworem układu limfocytowego nazywa się białkiem Bence Jones'a (1-13). Oznaczenie płynu mózgowo-rdzeniowego może być przydatne w wykrywaniu wewnątrzkanalowej syntezy immunoglobulin (14-15). Ocena wewnątrzkanalowej syntezy wolnych łańcuchów lekkich może być przydatna w diagnostyce różnych chorób ośrodkowego układu nerwowego.

### 3 ZASADA

Określenie stężenia rozpuszczalnego antygenu metodami turbidymetrycznymi wymaga reakcji z określoną surowicą odpornościową w celu stworzenia związków nierozpuszczalnych. System soczewek optycznych przesyła i ogniskuje na fotodiodzie część światła przechodzącego przez powstałą zawiesinę. Ilość przesłanego światła jest w

odwrotnej proporcji do stężenia danego białka w badanej próbce. Stężenia są obliczane automatycznie poprzez odniesienie do krzywej kalibracyjnej znajdującej się w instrumencie.

### 4 ODCZYNNIKI

- 4.1 **Odczynnik lateksowy:** Składa się z warstwy poliklonalnego monoswoistego przeciwciała nałożonego na lateks polistyrenowy. Konserwanty: 0,1% kwasu E-amino-n-kapronowego (EACA), 0,01% benzamidyny oraz 0,05% ProClin.
- 4.2 **Wzorzec i materiały kontrolne:** Połączona surowica ludzka, dostarczona w stabilizowanej formie płynnej. Zawiera następujące konserwanty: 0,099% azydki sodu, 0,1% EACA oraz 0,01% benzamidyny.
- 4.3 **Bufor reakcyjny:** Zawiera 0,099% azydki sodu jako konserwantu.

### 5 UWAGA

Wszyscy dawcy surowicy ludzkiej zawartej w tym zestawie zostali poddani badaniom surowicy, które dały negatywny wynik dla antygenu powierzchniowego wirusa zapalenia wątroby typu B (HBsAg) oraz przeciwciał przeciw ludzkiemu wirusowi niedoboru odporności (HIV1 i HIV2) i wirusowi zapalenia wątroby typu C. Wykorzystane testy zostały zatwierdzone przez FDA (USA) lub dopuszczone do użytkowania w diagnostyce *in vitro* w UE (Dyrektywa 98/79/WE, Aneks II); pomimo tego nie mogą one gwarantować braku czynników zakaźnych. Należy ustalić prawidłowe metody obchodzenia się i utylizacji dla wszystkich potencjalnie zakaźnych materiałów, takie jak (między innymi) obowiązek noszenia przez użytkowników odpowiednich środków ochrony i odzieży ochronnej przez cały czas. Do wykonywania tych procedur powinien być dopuszczony wyłącznie personel kompletnie przeszkolony w zakresie takich metod.

**OSTRZEŻENIE:** Wyrób ten zawiera azydek sodu i ProClin™ i należy obchodzić się z nim z ostrożnością; w czasie używania wyrobu należy zawsze mieć na sobie odpowiednie rękawice oraz inną odzież ochronną. Nie spożywać i zapobiegać przed kontaktem ze skórą (szczególnie ze skaleczeniami i ranami otwartymi) i błonami śluzowymi. Jeśli dojdzie do kontaktu, należy umyć miejsce dużą ilością wody i pilnie uzyskać pomoc medyczną. W wyniku długiego kontaktu z azydkiem sodu mogą powstać wybuchowe azydki metali, szczególnie przy kontakcie z ołowianymi i miedzianymi elementami instalacji kanalizacyjnej. W przypadku utylizacji odczynnika należy przepłukać instalację dużą ilością wody, aby uniknąć osadzania się azydki.

**Wyrób ten może używany wyłącznie przez odpowiednio przeszkolony personel do celów opisanych w Przeznaczeniu. Niebezpieczne jest stałe i ścisłe przestrzeganie tych zaleceń. Zastosowanie parametrów innych, niż te zawarte w zaleceniach może spowodować uzyskanie nieważnych rezultatów.**

Odczynniki z zestawów w innych numerach partii **NIE** są wzajemnie zamienne.

### 6 PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Nieotwarty zestaw powinien być przechowywany w temperaturze od 2 do 8°C i może być używany do daty ważności widocznej na etykiecie opakowania zestawu. **NIE ZAMRAŻAĆ.** Odczynnik, wzorzec i materiały kontrolne można przechowywać w lodówce do trzech miesięcy po otwarciu, zamknięte, aby uniknąć parowania, w temperaturze od 2 do 8°C. Odczynnik może być przechowywany otwarty w analizatorze Optilite do 30 dni, pod warunkiem, że urządzenie jest podłączone na stałe do sieci.

### 7 POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Próbki powinny być pobierane poprzez wkłucie dożylnie i w przypadku osocza jak najszybciej rozdzielone. Krew powinna w naturalny sposób skrzepnąć, a surowica powinna zostać jak najszybciej oddzielona, aby nie dopuścić do hemolizy. Próbki surowicy, osocza i moczu można przechowywać w temperaturze od 2 do 8°C do 21 dni, natomiast dłuższe przechowywanie, do 6 miesięcy, powinno odbywać się w stanie zamrożenia w temperaturze -20°C (18). Próbki płynu mózgowo-rdzeniowego można przechowywać w temperaturze od 2 do 8°C do 7 dni, natomiast dłuższe przechowywanie powinno odbywać się w stanie zamrożenia w temperaturze -20°C. Próbki płynu mózgowo-rdzeniowego należy odwirować przed ich badaniem. Przed wykonaniem badania należy odwirować próbki zawierające cząstki stałe (19). Nie należy używać próbek skażonych bakteryjnie, próbek zawierających cząstki stałe oraz próbek lipemicznych lub hemolizowanych. Należy unikać powtarzania cykli zamrażania i rozmrażania. W zakresie odpowiedzialności danego laboratorium leży wykorzystanie wszystkich dostępnych materiałów referencyjnych i/lub wyników własnych badań w celu ustalenia specyficznych kryteriów trwałości (16).

### 8 METODOLOGIA

Uwaga: aby umożliwić pełną interpretację wyników, należy określić stosunek wolnych kappi do lambda; w związku z tym należy dokonać pomiarów próbek przy pomocy zestawu do oznaczania wolnych łańcuchów kappi Optilite **Freelite Mx** firmy Binding Site (LK018.M.OPT).

#### 8.1 Materiały dostarczone

- 8.1.1 1 x 100 Tests Optilite Kappa Free Mx Reagent (Odczynnik dla wolnych łańcuchów kappi Mx Optilite do 100 testów)
- 8.1.2 1 x 2,7 mL Optilite Kappa Free Mx Calibrator (2,7 ml Wzorzec wolnych łańcuchów kappi Mx Optilite)
- 8.1.3 1 x 1,6 mL Optilite Kappa Free High Mx Control (1,6 ml Optilite Kappa Free High Mx Control)
- 8.1.4 1 x 1,6 mL Optilite Kappa Free Low Mx Control (1,6 ml Optilite Kappa Free Low Mx Control)

#### 8.2 Materiały wymagane lecz niedostarczone

- 8.2.1 Sprzęt do pobierania i przygotowania próbek badanych, np. próbówki, wirówka, itp.
- 8.2.2 W pełni sprawny i wyposażony analizator Optilite.
- 8.2.3 Aktualna instrukcja obsługi analizatora. Podręcznik obsługi Optilite, kod do wprowadzenia: INS700.OPT
- 8.2.4 Rozcieńczalnik Optilite 1, kod wyrobu IK709
- 8.2.5 Specjalny płyn myjący Optilite, kod wyrobu IK707

#### 8.3 Przygotowanie odczynnika

- 8.3.1 Przed załadowaniem należy odczynnik wymieszać łagodnie używając inwersji tak, aby nie wytworzyć lub pozostawić na powierzchni piany lub bąbelków, ponieważ mogą one zakłócić aspirację odczynnika.
- 8.3.2 Należy zapewnić, aby specjalny płyn myjący Optilite znajduje się w urządzeniu przez cały czas trwania tego badania.

#### 8.4 Procedura testu

**Użytkownik powinien zapoznać się z obsługą analizatora Optilite przed rozpoczęciem czynności testujących.** Analizator należy przygotować do użytku zgodnie z instrukcją zawartą w Podręczniku obsługi Optilite.

- 8.4.1 Parametry testu dla tego testu podano jako kody kreskowe na załączonym atleście QC (np. QCcert016.M.OPT). „Zeskanuj kody kreskowe, by wprowadzić parametry”
- 8.4.2 **Uwaga: Badając próbki płynu mózgowo-rdzeniowego, należy je pobierać przy stopniu rozcieńczenia 1+0.**

## 8.5 Zakres pomiaru

Przybliżony zakres pomiaru testu przedstawiono w tabeli poniżej.

Stopień rozpuszczenia dla analizatora Optilite.	Przybliżony zakres (mg/l)
1+0	0,33 - 12,7
1+1	0,6 - 25,3
<b>1+9</b>	<b>2,9 - 127</b>
1+99	29 - 1270
1+999	290 - 12700
1+9999	2900 - 127000

## 8.6 Interpretacja wyników

Wyniki tego badania należy zawsze rozważać w połączeniu z historią zdrowia pacjenta, badaniami klinicznymi i innymi wynikami włącznie z uprzednimi wynikami testu **Freelite**, jeśli takie są dostępne.

Natura białek monoklonalnych powoduje, że niektóre próbki mogą wykazywać brak liniowości przy badaniu w różnych rozcieńczeniach. Aby właściwie dokonać pomiarów takich próbek, wskazane jest postępowanie zgodnie z protokołem rozcieńczania opisanym w dziale 8.5 i podanie pierwszego realistycznego wyniku.

Wszystkie testy immunologiczne cechuje możliwość wystąpienia nadmiaru antygenów. Aby określić, które próbki cechuje nadmiar antygeny, Optilite daje możliwość śledzenia kinetyki reakcji. Próbkę o nietypowej kinetyce reakcji spowodują albo

- pojawienie się flagi HA (High activity - Wysoka aktywność)
- albo flagi AC (Activity check - Kontrola aktywności)\*

Próbki, które spowodowały pojawienie się którejś z tych flag są automatycznie ponownie mierzone przy wyższym rozcieńczeniu. Jeśli próbka da wynik uznany za mało prawdopodobny, należy ją ponownie przetestować.

Dalsze informacje na temat interpretacji flag znajdują się w Podręczniku obsługi Optilite (INS700.OPT), dostarczonym wraz z analizatorem.

**Ważna uwaga:** Żaden zautomatyzowana kontrola nie zidentyfikuje wszystkich przypadków nadmiaru antygeny, a bardzo niewielki procent próbek z nadmiarem antygeny wykaże normalną kinetykę reakcji, w związku z tym nie spowoduje pojawienia się flagi HA lub AC.

Zaleca się, aby wszystkim rezultatom pomiarów wolnych łańcuchów lekkich towarzyszyło następujące oświadczenie

*„Niewykryty nadmiar antygeny występuje rzadko, ale nie może zostać wykluczony. Jeśli niniejsze wyniki pomiaru wolnych łańcuchów lekkich są niezgodne z innymi wynikami klinicznymi lub laboratoryjnymi, bądź próbka pochodzi od pacjenta, u którego wcześniej pojawił się nadmiar antygeny, wynik musi zostać sprawdzony poprzez ponowne przetestowanie przy wyższym stopniu rozcieńczenia próbki. Wyniki należy zawsze interpretować w połączeniu z innymi testami laboratoryjnymi i wynikami klinicznymi; wszelkie anomalie powinny zostać przedyskutowane z testującym laboratorium.”*

\*Flaga AC jest widoczna wyłącznie na przyrządach Optilite z zainstalowanym oprogramowaniem V7.0

## 9 KONTROLA JAKOŚCI

Minimum raz dziennie należy przetestować przynajmniej dwa poziomy odpowiedniego materiału kontrolnego. Materiały kontrolne należy testować również po kalibracji, z każdą nową partią odczynnika i po określonych czynnościach konserwacyjnych lub naprawczych opisanych w Podręczniku obsługi Optilite.

Testowanie kontrolne jakości należy przeprowadzać zgodnie z wymogami przepisów oraz ze standardową procedurą danego laboratorium.

Stężenia dostarczonych materiałów kontrolnych zamieszczone są w dołączonym certyfikacie kontroli jakości (QCcert016.M.OPT). Uzyskane wyniki można przyjąć jedynie wówczas, gdy rezultaty kontrolne znajdują się w przedziale  $\pm 20\%$  podanego stężenia (stężeń).

Jeśli w czasie pomiaru przy pomocy zachowanej krzywej uzyskany zostanie wynik kontrolny poza zakresem, pomiar musi zostać ponownie skalibrowany. Jeśli po rekalkibracji wyniki kontrolne mierzone przy pomocy nowej krzywej nadal znajdują się poza zakresem, należy sprawdzić instrument i parametry pomiarowe przed powtórzeniem pomiaru. Jeśli problemy nie znikną, proszę się skontaktować z miejscowym serwisem technicznym.

## 10 OGRANICZENIA

- 10.1 Zmętnienie, obecność cząstek i hemoliza mogą zakłócić wyniki pomiaru. Próbkę o widocznym zmętnieniu lub zawierającą cząstki stałe należy odwirować przed badaniem (19). Nie poddających się oczyszczeniu wysoce lipemicznych lub mętnych próbek nie należy używać. Nieoczekiwane wyniki należy potwierdzić przy pomocy alternatywnej metody testowania.
- 10.2 Nie należy dokonywać diagnozy i prowadzić leczenia jedynie na podstawie pomiarów wolnych łańcuchów lekkich kappa. Należy wziąć pod uwagę ogólny wywiad kliniczny pacjenta oraz inne wyniki laboratoryjne.
- 10.3 Badanie to nie jest przeznaczone do użytku pediatrycznego.
- 10.4 Dla celów analizy płynu mózgowo-rdzeniowego nie należy używać próbek zawierających szczawian fluorku, ponieważ wpływa on na oznaczanie wolnych łańcuchów lekkich, co skutkuje niedoszacowaniem zgłaszanego wyniku.

## 11 OCZEKIWANE WARTOŚCI

Podane przedziały uzyskano na podstawie ograniczonej liczby próbek i powinny być one traktowane jedynie do celów orientacyjnych. Oczekiwane wartości mogą się różnić w zależności od wieku, płci, typu próbki, diety i położenia geograficznego. Każde laboratorium powinno zweryfikować przenaszalność wartości oczekiwanych na swoją własną populację i, jeśli to konieczne, określić własny przedział odniesienia.

**Przedział referencyjny surowicy u pacjentów dorosłych**

Ten zakres referencyjny uzyskano mierząc stężenie wolnych łańcuchów lekkich w surowicy pobranej od 282 normalnych dawców amerykańskich, używając testów Binding Site **Freelite** na BN™II\* (11). Ten zakres referencyjny obliczono korzystając z nieparametrycznej analizy statystycznej i reprezentuje on centralne 95% populacji.

	Średnia (mg/l)	Mediana (mg/l)	Przedział 95 percentyla (mg/l)
Wolny kappa	8,36	7,30	3,30 - 19,40
Wolny lambda	13,43	12,40	5,71 - 26,30
	<b>Średnia</b>	<b>Mediana</b>	<b>Całkowity zakres</b>
Stosunek kappa do lambda	0,63	0,60	0,26 - 1,65

\*BN™ jest znakiem towarowym należącym do Siemens Healthcare Diagnostics, Inc.

## Przedział referencyjny moczu u pacjentów dorosłych

Niniejszy zakres referencyjny uzyskano poprzez oznaczenie poziomu wolnych łańcuchów lekkich w moczu pobranym od 120 zdrowych pacjentów przy użyciu testów **Freelite** Mx firmy Binding Site na urządzeniu Optilite.

	Średnia (mg/l)	Mediana (mg/l)	97,5 percentyl (mg/l)
Wolny kappa	7,64	4,54	32,90
Wolny lambda	1,03	0,74	3,79

## Przedział referencyjny płynu mózgowo-rdzeniowego u pacjentów dorosłych

Niniejsze przedziały uzyskano poprzez oznaczenie poziomu wolnych łańcuchów lekkich w płynie mózgowo-rdzeniowym pobranym z 24 próbek ujemnych na obecność prążków oligoklonalnych przy użyciu testów **Freelite** firmy Binding Site na urządzeniu SPAPLUS®. Zarówno dla wolnych łańcuchów kappa, jak i lambda, liczba próbek była niższa od zakresu pomiarowego testu.

Próbka płynu mózgowo-rdzeniowego ujemna na obecność prążków oligoklonalnych	Przedział (mg/l)
Wolny kappa	<0,1 – 1,96
Wolny lambda	Niewymierny zakres

## 12 CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

### 12.1 Precyzja

Badanie precyzji oparte było na: Ocena precyzji wyników klinicznych metod pomiarów wielkościowych **CLSI EP5-A2** (**CLSI EP5-A2 Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods**).

**Surowica:** Badanie to przeprowadzono w ciągu 21 dni roboczych, z 2 pobraniami dziennie. Jeden użytkownik dokonał pomiaru 8 różnych próbek moczu, używając 1 partii odczynnika, i korzystając z 3 analizatorów.

Podsumowanie precyzji									
	Średnia (mg/l)	W czasie pobrania		Pomiędzy pobraniami		Pomiędzy dniami		Ogółem	
		SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
Poziom 1*	2,48	0,07	2,6	0,02	0,8	0,09	3,5	0,11	4,4
Poziom 2	4,87	0,13	2,6	0,14	2,9	0,32	6,6	0,38	7,7
Poziom 3	8,17	0,17	2,1	0,14	1,7	0,34	4,1	0,41	5,0
Poziom 4	13,74	0,23	1,7	0,14	1,0	0,55	4,0	0,61	4,5
Poziom 5	23,19	0,34	1,5	0,42	1,8	0,61	2,7	0,82	3,5
Poziom 6	71,79	2,35	3,3	1,27	1,8	2,13	3,0	3,42	4,8
Poziom 7	105,13	5,52	5,2	0,00	0,0	4,48	4,2	7,11	6,7
Poziom 8**	329,21	13,32	4,0	5,67	1,7	13,18	4,0	19,58	5,9

\* wykonany przy rozcieńczeniu próbki 1+1

\*\* wykonany przy rozcieńczeniu próbki 1+99

**PMR:** Badanie to przeprowadzono w ciągu 5 dni roboczych, z 2 pobraniami dziennie. Jeden użytkownik ocenił 2 różne próbki płynu mózgowo-rdzeniowego, używając 1 partii odczynnika i korzystając z 3 analizatorów.

Podsumowanie precyzji									
	Średnia (mg/l)	W czasie pobrania		Pomiędzy pobraniami		Pomiędzy dniami		Ogółem	
		SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
Poziom 1*	0,51	0,02	4,6	0,04	7,3	0,02	3,7	0,05	9,4
Poziom 2*	10,79	0,24	2,2	0,13	1,2	0,69	6,4	0,74	6,8

\* wykonany przy rozcieńczeniu próbki 1+0

**Mocz:** Badanie to przeprowadzono w ciągu 21 dni roboczych, przy 2 pobraniach dziennie. Jeden użytkownik dokonał pomiaru 4 różnych próbek moczu, używając 1 partii odczynnika na 3 analizatorach.

Podsumowanie precyzji										
	Wyniki	Średnia (mg/l)	W czasie pobrania		Pomiędzy pobraniami		Pomiędzy dniami		Ogółem	
			SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
Poziom 1	84	5,49	0,28	5,1	0,10	1,8	0,30	5,4	0,42	7,6
Poziom 2	84	33,08	0,70	2,1	1,61	4,9	2,08	6,3	2,72	8,2
Poziom 3	84	99,16	3,12	3,1	4,56	4,6	4,29	4,3	6,99	7,1
Poziom 4*	84	179,12	5,16	2,9	5,12	2,9	13,89	7,8	15,68	8,8

\* wykonano przy rozcieńczeniu próbki 1+99

### 12.2 Porównanie

Badanie porównawcze polegało na analizie 208 próbek surowicy (w tym 73 normalnych surowic i 135 surowic klinicznych) z wykorzystaniem zestawu Optilite **Freelite** do badania wolnych łańcuchów lekkich Kappa oraz alternatywnego, dostępnego komercyjnie testu. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 0,95x - 0,76 \text{ (mg/l)}$$

$$(y = \text{Optilite}; x = \text{porównawczy analizator})$$

współczynnik korelacji  $r = 0,967$  (obliczony metodą regresji liniowej)

Badanie porównawcze polegało na analizie 80 sparowanych próbek osocza, zawierających surowicę i EDTA, z wykorzystaniem testu Optilite **Freelite** do badania wolnych łańcuchów lekkich Kappa. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$y = 0,95x - 0,23$  (mg/l) (y = osocze z EDTA; x = surowica)

współczynnik korelacji  $r = 0,989$  (obliczony metodą regresji liniowej)

Badanie porównawcze polegało na analizie 90 sparowanych próbek osocza, zawierających surowicę i heparynę litową, z wykorzystaniem zestawu Optilite **Freelite** do pomiaru wolnych łańcuchów lekkich Kappa. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$y = 1,06x - 0,40$  (g/l) (y = osocze z heparyną litową; x = surowica)

współczynnik korelacji  $r = 0,991$  (obliczony metodą regresji liniowej)

Badanie porównawcze polegało na analizie 81 próbek płynu mózgowo-rdzeniowego przy użyciu zestawu Optilite **Freelite Mx** do oznaczania wolnych łańcuchów lekkich kappa oraz alternatywnego, dostępnego na rynku testu. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki na podstawie 59 próbek mieszczących się w zakresach pomiarowych obu testów:

$y = 0,98x - 0,00$  (mg/l) (y = Optilite; x = porównawczy analizator)

współczynnik korelacji  $r = 0,974$  (obliczony metodą regresji liniowej)

Badanie porównawcze polegało na analizie 165 próbek moczu (w tym 86 o poziomie analitu poniżej limitu referencyjnego), przy użyciu zestawu Optilite **Freelite Mx** do oznaczania wolnych łańcuchów lekkich kappa oraz alternatywnego, dostępnego na rynku testu. Analiza regresji Passinga-Babloka dała następujące wyniki:

$y = 1,02x - 0,21$  (mg/l) (y = Optilite; x = analizator porównawczy)

współczynnik korelacji  $r = 0,992$  (obliczony metodą regresji liniowej)

## 12.3 Granica oznaczalności

Granica oznaczalności tego testu określona jest jako dolna wartość zakresu pomiarowego, 0,33 mg/l. Badanie walidujące granicę oznaczalności oparte było o *Protokoły określania granic wykrywalności i granic oznaczalności CLSI EP17-A* (CLSI EP17-A Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation).

## 12.4 Liniowość

Badanie liniowości zostało przeprowadzone w oparciu o Ocenę liniowości procedur pomiarów ilościowych CLSI (Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures): Podejście statystyczne; zatwierdzone wytyczne (EP6-A).

**Surowica:** Liniowość tego badania została potwierdzona przy użyciu próbki surowicy seryjnie rozcieńczonej w przedziale od 2,60 - 140,34 mg/l, przy odchyleniu od liniowości <10%.

**PMR:** Liniowość tego badania została potwierdzona przy użyciu próbki płynu mózgowo-rdzeniowego seryjnie rozcieńczonej w przedziale od 0,25 - 14,087 mg/l, przy odchyleniu od liniowości <10%.

**Mocz:** Liniowość tego badania została potwierdzona przy użyciu próbki moczu seryjnie rozcieńczonej w przedziale od 2,9 do 127 mg/l, przy odchyleniu od liniowości <10%.

## 12.5 Zakłócenia

Badanie wykonano zgodnie w CLSI EP7-A2: *Testowanie zakłóceń w chemii klinicznej, zatwierdzone wytyczne* (Dokument CLSI EP7-A2).

**Surowica:** Przetestowano normalną próbkę surowicy, próbki surowicy bliską punktowi podejmowania decyzji medycznych oraz próbki surowicy odbiegającej od normy. Nie zaobserwowano znaczących zakłóceń badania przy testowaniu z intralipidem (500 mg/dl), bilirubiną (200 mg/l), trójglicerydem (1000 mg/dl) i hemoglobina (1,25 g/l).

Nie są znane zakłócenia spowodowane przez powszechnie używane leki. Dalsze informacje znajdują się w literaturze (17).

**PMR:** Przebadano próbki płynu mózgowo-rdzeniowego o wynikach na granicy podejmowania decyzji medycznych. Nie zaobserwowano znaczących zakłóceń badania przy testowaniu z acetaminofenem (1324 μmol/l), kwasem acetylosalicylowym (3,62 mmol/l), hemoglobina (2,5 g/l), związaną bilirubiną (200 mg/l) i niezwiązaną bilirubiną (200 mg/l).

**Mocz:** Przebadano próbkę moczu o stężeniu wolnych lekkich łańcuchów kappa zbliżonym do limitu referencyjnego dla tego testu. Nie zaobserwowano znaczących zakłóceń badania przy testowaniu z kwasem askorbinowym (200 mg/l), bilirubiną (100 mg/l), hemoglobina (240 mg/l) i albuminą (5 g/l).

- Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Harvey TC and Drayson MT (2003). Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet* **361**: 489-491.
- Abraham RS, Katzmann JA, Clark RJ, Bradwell AR, Kyle RA and Gertz MA (2003). Quantitative Analysis of Serum Free Light Chains: A new marker for the diagnostic evaluation of primary systemic amyloidosis. *Am. J. Clin. Pathol.* **119**: (2): 274 – 278.
- Lachmann HJ, Gallimore JR, Gillmore JD, Carr-Smith HD, Bradwell AR, Pepys MB and Hawkins PN (2003). Outcome in systemic AL amyloidosis in relation to changes in concentration of circulating immunoglobulin free light chains following chemotherapy. *Brit. J. Haem.* **122**: 78-84.
- Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP and Drayson MT (2002). Serum free light chain immunoassays and their clinical application. *Clinical and Applied Immunology Reviews* **3**: 17 – 33.
- Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS, Bryant S, Lymp JF, Bradwell, AR and Kyle RA (2002). Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin. Chem.* **48**: 1437-1444.
- Bradwell AR (2009). Serum Free Light Chain Analysis, 5<sup>th</sup> Edition. Publ. The Binding Site Ltd, Birmingham, UK.
- Mead GP, Carr-Smith HD, Drayson MT, Morgan GJ, Child JA and Bradwell AR (2004). Serum free light chains for monitoring multiple myeloma. *Brit. J. Haematol.* **126**, 348-354.
- Presslauer S, Milosavljevic D, Brucke T, Bayer P, Hubl W. Elevated levels of kappa free light chains in CSF support the diagnosis of multiple sclerosis. *J. Neurol* 2008;255:1508–14
- Fischer C, Arnet B, Koehler J, Lotz J, Lackner KJ. Kappa free light chains in cerebrospinal fluid as markers of intrathecal immunoglobulin synthesis. *Clin Chem* 2004;50:1809–13
- CLSI GP44-A4, Vol. 30 No. 10, 5.5.1.1.1, May 2010, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline"
- Young D (2000). Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 5th ed. AACCC Press.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 2002
- CLSI – C56-A, Vol 32 No.10 July 2012 "Hemolysis, Icterus, and Lipemia/Turbidity Indices as Indicators of Interference in Clinical Laboratory Analysis"

## 13 BIBLIOGRAFIA

- Cole PW, Durie BGM, Salmon SE (1978). Immunoquantitation of free light chain immunoglobulins: Application in multiple myeloma. *J. Immunol. Meth.* **19**: 341-349.
- Pescali E, Pezozoli A (1988). The clinical spectrum of pure Bence-Jones proteinuria. *Cancer* **61**: 2408-2415.
- Solling K, Solling J, Romer FK (1981). Free light chains of immunoglobulins in serum from patients with rheumatoid arthritis, sarcoidosis, chronic infections and pulmonary cancer. *Acta. Med. Scand.* **209**: 473-477.
- Drayson MT, Tang LX, Drew R, Mead GP, Carr-Smith HD and Bradwell AR (2001). Serum free light chain measurements for identifying and monitoring patients with non-secretory multiple myeloma. *Blood* **97**: 2900-2902.
- Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Tang LX, Showell PJ, Drayson MT and Drew RL (2001). Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin. Chem.* **47**: 4, 673-680.
- Tang LX, Showell P, Carr-Smith HD, Mead GP, Drew R and Bradwell AR (2000). Evaluation of F(ab')<sub>2</sub>-based latex-enhanced nephelometric reagents for free immunoglobulin light chains on the Behring Nephelometer™ II. *Clin. Chem* **46**:6, Suppl. 2000: 705, pA181.