

## Diazyme Human Kappa ( $\kappa$ ) Free Light Chain Assay

Der Human Kappa ( $\kappa$ ) Free Light Chain Assay von Diazyme ist nur in größeren Mengen und in den folgenden Kit-Ausführungen erhältlich:

REF	Kit-Umfang
DZ169A-K	R1: 1 x 22 mL R2: 1 x 7 mL

### Verwendungszweck

Der Human Kappa ( $\kappa$ ) Free Light Chain Assay von Diazyme ist ein latexverstärkter immunturbidimetrischer Assay zur quantitativen Bestimmung von freien Kappa-Leichtketten (Kappa-FLC) in Serum auf Hitachi 917 Analyzern. Die Messung von Kappa-FLC und Lambda-FLC dient in Verbindung mit anderen Laborbefunden zur Unterstützung der Diagnose von multiplem Myelom. Verwendung nur zur *In-vitro*-Diagnostik.

### Klinische Bedeutung

Normale Immunglobuline bestehen aus kleineren Einheiten, die als schwere Ketten und leichte Ketten bezeichnet werden. Es gibt fünf Arten von schweren Ketten (Alpha, Delta, Epsilon, Gamma und My) und zwei Arten von leichten Ketten (Kappa und Lambda). Die schweren und leichten Ketten werden auf unabhängige Weise in den Plasmazellen hergestellt und bilden zusammen ein vollständiges („intaktes“) Immunglobulin. Wenn die leichten Ketten an die schweren Ketten angelagert sind, werden sie als „gebunden“ bezeichnet; gibt es eine solche Anlagerung nicht, werden sie als „frei“ bezeichnet. Bei der freien Kappa-Leichtkette (Kappa-FLC) handelt es sich um ein Protein mit 22 kD. Dagegen ist die Lambda-FLC normalerweise ein Dimer mit 44 kD, das im Serum vorkommt. Erhöhte Konzentrationen von freien Kappa- oder Lambda-Leichtketten werden mit Plasmazellstörungen in Verbindung gebracht. Dazu gehören das multiple Myelom, lymphozytäre Neoplasien, Morbus Waldenström, AL-Amyloidose, Leichtketten-Speicherkrankheit und Bindegewebserkrankungen wie systemischer Lupus erythematoses.<sup>1-5</sup>

### Assay-Prinzip

Der Human Kappa ( $\kappa$ ) Free Light Chain Assay ist ein latexverstärkter immunturbidimetrischer Assay. Durch Bindung der in der Probe vorhandenen freien Kappa-Leichtketten an den mit den spezifischen Anti-Kappa-FLC-Antikörpern beschichteten Latexpartikeln kommt es zur Agglutination. Der Grad der durch die Agglutination hervorgerufenen Trübung der Probe ist optisch messbar. Er verhält sich proportional zur Kappa-FLC-Konzentration in der Probe. Das Gerät berechnet die Kappa-FLC-Konzentration durch Interpolation des erfassten Signals einer 6-Punkt-Kalibrationskurve, die mit Kalibratoren bekannter Konzentrationen erstellt wurde.

### Reagenz – „Arbeitslösungen“

**REAGENZ 1:** Tris-Pufferlösung

**REAGENZ 2:** Latexpartikel, die mit polyklonalen Anti-Kappa-FLC-Antikörpern aus Kaninchen und Ziegen beschichtet sind

### Handhabung der Reagenzien

- Das **REAGENZ** des Human Kappa ( $\kappa$ ) Free Light Chain Assays von Diazyme wird gebrauchsfertig bereitgestellt.
- Zum Verdünnen der stark konzentrierten Kappa-FLC-Proben wird entionisiertes Wasser benötigt.

### Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

**REAGENZ**, **KALIBRATOREN** (**REF** DZ169A-CAL) und **KONTROLLEN** (**REF** DZ169A-CON) des Human Kappa ( $\kappa$ ) Free Light Chain Assays von Diazyme sind bei 2–8 °C zu lagern. **NICHT EINFRIEREN**. Die **REAGENZ**, **KALIBRATOREN** und **KONTROLLEN** sind bei vorschriftsmäßiger Lagerung bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. **REAGENZ** aus verschiedenen Chargen nicht mischen.

### Entnahme und Handhabung von Proben

Der Human Kappa ( $\kappa$ ) Free Light Chain Assay kann für Serumproben verwendet werden. Bei 2–8 °C gelagerte Proben sind 21 Tage lang haltbar; eine Lagerung über längere Zeiträume muss bei –20 °C erfolgen. Wiederholte Einfrier-/Auftauzyklen sollten vermieden werden, um die potenzielle Proteinzerstörung auf ein Minimum zu reduzieren. Proben mit starker Trübung dürfen nicht verwendet werden.

### Im Lieferumfang enthaltene Materialien

Weitere Informationen dazu enthält der Abschnitt „Reagenzien – Arbeitslösungen“.

### Zusätzlich benötigte Materialien

- Human Kappa Free Light Chain **KALIBRATOR**-Set von Diazyme (**REF** DZ169A-CAL)
- Human Kappa Lambda Free Light Chain **KONTROLL**-Set von Diazyme (**REF** DZ169A-CON)
- Entionisiertes Wasser

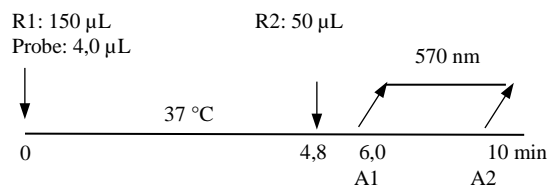
### Vorsichtsmaßnahmen

- Verwendung nur zur *In-vitro*-Diagnostik.
- Vorsicht: In den USA darf dieser Test nach den gesetzlichen Vorschriften nur durch einen Arzt oder auf ärztliche Verschreibung abgegeben werden, der gemäß der Gesetze des Staates, in dem er oder sie praktiziert, dazu berechtigt ist, den Test zu verwenden bzw. dessen Verwendung anzuordnen.
- REAGENZ**, **KALIBRATOREN** und **KONTROLLEN** sind bei 2–8 °C zu lagern. **NICHT EINFRIEREN**.
- Die Reagenzien, den Kalibrator und die Kontrollen nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Proben, die Material humanen Ursprungs enthalten, sind als potenziell infektiös und gemäß den Vorschriften für sicheres Arbeiten im Labor zu handhaben, wie im Dokument „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ (HHS Publication Number [CDC] 93-8395) beschrieben.
- Verschlucken sowie Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Siehe Sicherheitsdatenblatt.
- Das **REAGENZ** enthält < 0,1 % Natriumazid (NaN<sub>3</sub>) als Konservierungsmittel. Natriumazid kann bei einer Reaktion mit Blei oder Kupfer hochexplosive Metallazide bilden. Bei der Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen, um Azidbildung zu vermeiden.

8. Weitere Sicherheitshinweise zur Lagerung oder Handhabung dieses Produkts sind dem Sicherheitsdatenblatt des Produkts zu entnehmen. Sicherheitsdatenblätter (SDS) sind bei unserer Kundendienstabteilung unter der Rufnummer +1 858-455-4768 erhältlich.

### Assay-Verfahren

Nachstehend ist das Assay-Verfahren auf dem Hitachi 917 Analyzer veranschaulicht.



1. Inkubation einer 4,0-µL-Probe mit 150 µL **R1** 4,8 Minuten lang bei 37 °C.
2. Zugabe von 50 µL **R2**.
3. 4 Zyklen nach Zugabe von **R2**: Messen der Extinktionsänderung bei 570 nm für 4,0 Minuten.
4. Die Berechnung des Kappa-FLC-Werts erfolgt mit der gemessenen Extinktionsänderung anhand der Interpolation einer Kalibrationskurve, die mit Kalibratoren mit bekannten Konzentrationen erstellt wurde.

Hilfe bei technischen Fragen erhalten Sie telefonisch unter +1 858-455-4768 oder per E-Mail: [support@diazyme.com](mailto:support@diazyme.com).

### Kalibration

Es sind fünf Konzentrationsstufen von Kalibratoren auf Serumbasis erhältlich (**REF** DZ169A-CAL), die in gebrauchsfertiger Form vorliegen. Verwenden Sie zur Kalibration entionisiertes H<sub>2</sub>O sowie die Kalibratorkonzentrationen 1 bis 5. Die geöffneten Kalibratoren sind mindestens 1 Monat lang haltbar, wenn sie bei 2–8 °C und gut verschlossen gelagert werden, um den Kontakt mit Luft und die Verdampfung auf ein Minimum zu reduzieren. Ungeöffnete Kalibratoren sind bis zum auf dem Fläschchen angegebenen Verfallsdatum haltbar.

### Qualitätskontrolle

Wir empfehlen die Verwendung von Human Kappa/Lambda FLC-Kontrollen von Diazyme, um die Leistung der Human Kappa (κ) Free Light Chain Assay-**REAGENZIIEN** von Diazyme zu validieren. Kappa-FLC-**KONTROLLEN** für normale und abnormale Bereiche sind bei Diazyme Laboratories erhältlich (**REF** DZ169A-CON). Jedes Labor sollte eigene zulässige Grenzwerte für Kontrollen definieren. Beim Testen von Qualitätskontrollmaterialien sind die geltenden nationalen und regionalen Richtlinien und Vorschriften einzuhalten.

### Ergebnisse

Die Ergebnisse werden in der Einheit mg/L ausgegeben. Hinweis: Proben mit Werten über 150 mg/L sollten im Verhältnis 1:20 mit entionisiertem Wasser verdünnt und erneut analysiert werden. Die Ergebnisse sind mit 20 zu multiplizieren.

### Referenzbereich

Der Referenzbereich des Human Kappa (κ) Free Light Chain Assays von Diazyme wurde nach dem CLSI-Protokoll C28-A3 mit Serumproben von 120 augenscheinlich gesunden Personen evaluiert. Das zentrale 95%-Referenzintervall wurde auf 2,37 bis 20,73 mg/L festgelegt.

Das Verhältnis von Kappa (κ)-FLC zu Lambda (λ)-FLC wurde evaluiert. Dafür wurden Serumproben von 315 augenscheinlich gesunden Personen mit dem Kappa FLC Assay und dem Lambda FLC Assay von Diazyme getestet. Das Verhältnis wurde folgendermaßen berechnet: Kappa-FLC (A)/Lambda-FLC (B). Der gesamte Bereich des Verhältnisses betrug 0,22 bis 1,74, mit einem mittleren Verhältnis von 0,84 und einem medianen Verhältnis von 0,81.

Wir empfehlen jedoch jedem Labor, für die jeweilige Population einen eigenen Normalbereich festzulegen.

### Einschränkungen

1. Es gibt zwar keine bekannten internationalen Standards für Kappa-FLC, dieser Assay wurde jedoch mit einem zugelassenen Produkt verglichen.
2. Proben mit Kappa-FLC-Konzentrationen über 150 mg/L im Standardmodus sollten mit entionisiertem Wasser verdünnt und erneut getestet werden; der Verdünnungsfaktor ist bei der Berechnung des Wertes zu berücksichtigen.
3. Wie bei jedem diagnostischen Testverfahren sind die Ergebnisse unter Berücksichtigung aller anderen Testergebnisse und des klinischen Status des Patienten auszuwerten.
4. Der Human Kappa (κ) Free Light Chain Assay von Diazyme wurde auf den folgenden Geräten validiert: Hitachi 917, Abbott Architect c4000/c8000, DZ-Lite c270, Roche cobas c 501 und Beckman AU680. Aktualisierte Applikationsblätter erhalten Sie vom technischen Support unter +1 858-455-4768 oder per E-Mail: [support@diazyme.com](mailto:support@diazyme.com)

### Leistungsmerkmale

Die Leistung des Human Kappa (κ) Free Light Chain Assays von Diazyme wurde auf dem Hitachi 917 Analyzer anhand einer 6-Punkt-Kalibration mit entionisiertem Wasser und den separat erhältlichen Kalibratorkonzentrationen 1–5 bestimmt. Die Ergebnisse aus verschiedenen Labors können variieren.

### Methodenvergleich

Der Methodenvergleich des Human Kappa (κ) Free Light Chain Assays von Diazyme wurde gemäß CLSI-Protokoll EP9-A2 durchgeführt. Dafür wurden insgesamt 126 Serumproben über den Bereich von 4,63 bis 2975,80 mg/L mit einem Vergleichstest verglichen. Von den 126 Proben wurde bei 39 Proben das multiple Myelom (MM) und bei 12 Proben eine Monoklonale Gammopathie Unklarer Signifikanz (MGUS) nachgewiesen, 34 waren abnormal (aufgrund anderer Krankheiten) und 41 waren normal (keine Krankheit). Die Übereinstimmung zwischen den Kappa-FLC-Werten des Diazyme-Tests und denen des Vergleichstests betrug 98 %. Die Ergebnisse der Regressionsanalyse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Parameter	Lineare Regression	Deming-Regression
n	126	126
Steigung	0,958	0,969
95%-KI	0,932-0,985	0,943-0,996
Schnittpunkt	-2,536	-4,813
95%-KI	-14,703-9,632	-17,014-7,388
Korrelationskoeffizient (R <sup>2</sup> )	0,977	0,977
Probenbereich	4,63-2975,80	4,63-2975,80

### Präzision

Die Präzision des Human Kappa ( $\kappa$ ) Free Light Chain Assays von Diazyme wurde gemäß CLSI-Richtlinie EP5-A evaluiert. Dafür wurden acht Konzentrationen der Serumproben mit Kappa-FLC-Werten, die sich über den gesamten analytischen Messbereich des Assays erstreckten, und zwei Konzentrationen der Kappa-FLC-Kontrollen auf Serumbasis über 20 Arbeitstage in 2 Läufen pro Tag mit Duplikaten unter Verwendung verschiedener Reagenzchargen und Analyser getestet. Die Präzisionsdaten wurden mithilfe einer dreifach verschachtelten Varianzanalyse (ANOVA) analysiert. Dabei wurden die folgenden Ergebnisse für den Mittelwert (mg/L) und VK% erhalten:

Eine Reagenzcharge auf drei Analyzern

ID	Mittelwert n=240	In der Serie	Zwischen Serien	Zwischen Tagen	Zwischen Geräten	Gesamt
S1	9,38	7,6 %	4,9 %	3,5 %	5,1 %	11,0 %
S2	35,30	2,1 %	1,5 %	1,3 %	2,0 %	3,5 %
S3	122,37	2,4 %	0,9 %	1,8 %	0,8 %	3,2 %
S4	5,95	7,5 %	3,0 %	8,5 %	N/A	11,7 %
S5	15,76	2,9 %	1,6 %	2,1 %	0,2 %	3,9 %
S6	25,92	1,7 %	1,3 %	0,5 %	0,4 %	2,2 %
S7	139,23	1,5 %	1,5 %	0,7 %	1,1 %	2,5 %
S8	2588,59	1,4 %	0,6 %	2,6 %	1,5 %	3,3 %
Kon1	16,70	3,2 %	2,6 %	2,4 %	0,9 %	4,9 %
Kon2	29,10	2,1 %	1,2 %	2,1 %	5,9 %	6,7 %

Drei Reagenzchargen auf einem Analyzer

ID	Mittelwert n=240	In der Serie	Zwischen Serien	Zwischen Tagen	Zwischen Chargen	Gesamt
S1	9,49	7,9 %	5,7 %	5,7 %	2,6 %	11,6 %
S2	35,14	2,9 %	0,8 %	1,5 %	0,8 %	3,5 %
S3	121,53	2,6 %	1,5 %	2,3 %	N/A	3,8 %
S4	5,81	6,3 %	2,6 %	2,7 %	0,7 %	7,4 %
S5	15,40	2,4 %	0,9 %	0,6 %	2,2 %	3,5 %
S6	25,66	1,1 %	0,3 %	0,6 %	1,0 %	1,7 %
S7	138,28	1,1 %	N/A	1,0 %	1,0 %	1,8 %
S8	2588,45	1,3 %	1,0 %	2,5 %	1,5 %	3,3 %
Kon1	16,64	4,2 %	1,4 %	3,0 %	1,6 %	5,6 %
Kon2	27,82	3,2 %	N/A	2,7 %	1,8 %	4,6 %

### Nachweisgrenzen

Leerwertgrenze (LOB), Nachweisgrenze (LOD) und Quantifizierungsgrenze (LOQ) des Human Kappa ( $\kappa$ ) Free Light Chain Assays von Diazyme wurden gemäß CLSI-Richtlinie EP17-A2 evaluiert. Die LOB beträgt demnach 1,2 mg/L, die LOD 2,0 mg/L und die LOQ 4,5 mg/L.

### Linearität

Die Linearität des Human Kappa ( $\kappa$ ) Free Light Chain Assays von Diazyme wurde gemäß CLSI-Richtlinie EP6-A evaluiert. Auf Grundlage der Linearitätsdaten und der Quantifizierungsgrenze (LOQ = 4,5 mg/L) beträgt der analytische Messbereich (AMR) im Standardmodus 4,5 bis 150 mg/L. Im erweiterten Modus beträgt der analytische Messbereich 4,5 bis 3000 mg/L.

### Störeinflüsse

Um Störeinflüsse von den normalerweise in Serum enthaltenen Substanzen zu bestimmen, wurde der Human Kappa ( $\kappa$ ) Free Light Chain Assay von Diazyme mit einer normalen Kappa-FLC-Serumprobe und einer abnormalen (hohen) Kappa-FLC-Serumprobe getestet, die mit den Substanzen in verschiedenen Konzentrationen versetzt waren. Die Versuche wurden nach CLSI-Richtlinie EP7-A2, „Interference Testing in Clinical Chemistry“ (Approved guideline-Second Edition), durchgeführt.

Die folgenden, üblicherweise im Serum vorhandenen Substanzen führten zu einer Abweichung von weniger als 10 %, als sie in den unten angegebenen Konzentrationen untersucht wurden:

Störeinflüsse	Konzentration
Triglycerid	1000 mg/dL
Ascorbinsäure	10 mM
Bilirubin	40 mg/dL
Konjugiertes Bilirubin	40 mg/dL
Hämoglobin	1000 mg/dL
Rheumafaktor	100 IU/mL

### Hook-Effekt

Bis zu einer Kappa-FLC-Konzentration von 100.000 mg/L wurde kein High-Dose-Hook-Effekt festgestellt.

### Literatur

- International Myeloma Foundation «Understanding Serum Free Light Chain Assays», 2011
- Drayson M, Tang LX, Drew R, Mead GP, Carr-Smith H and Bradwell AR. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. Blood. 2001; 97(9):2900-2.
- Nelson M, Brown RD, Gibson J and Joshua DE. Measurement of free kappa and lambda chains in serum and the significance of their ratio in patients with multiple myeloma. British Journal of Haematology. 1992; 81(2): 223-30.
- Nakano T, Miyazaki S, Takahashi H, Matsumori A, Maruyama T, Komoda T and Nagata A. Immunochemical quantification of free immunoglobulin light chains from an analytical perspective. Clinical Chemistry Laboratory Medicine. 2006; 44(5): 522-32.
- Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Harvey TC and Drayson MT. Serum test for assessment of patients with Bence Jones Myeloma. Lancet. 2003; 361: 489-91.



MDSS  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover,  
Germany



Diazyme Laboratories  
12889 Gregg Court  
Poway, CA 92064, USA  
Tel: (858) 455-4754  
Fax: (858) 455-4750