



Dipstick BENCE JONES Free K/λ Test

Test immunocromatografico a competizione per la rilevazione delle catene leggere libere K e λ nelle urine



20 test Ref GD68000 00

IVD



LOT

Sull'etichetta esterna



2 - 8°C

SIGNIFICATO CLINICO E DESTINAZIONE D'USO

La presenza di catene leggere libere K e/o λ nelle urine è indice di gammopatia policlonale o monoclonale a seconda che nelle urine vi sia immunoprecipitazione di entrambi i tipi di catene immunoglobuliniche o di una sola delle due. Tale patologia è caratterizzata dalla proliferazione indiscriminata di cloni di Linfociti B che incrementano dunque la loro produzione immunoglobulinica tipica. Questa produzione immunochimica delle cellule B viene eliminata nelle urine e prende il nome di Proteinuria di Bence Jones. La presenza di catene leggere K o λ nelle urine è associata a patologie come mieloma multiplo, macroglobulinemia di Waldenström, amiloidosi da catene leggere monoclonali (AL) e malattia da deposizione di catene leggere.

PRINCIPIO DEL METODO

Il Kit MINIAS GLOBE DIAGNOSTICS Dipstick Bence Jones Free K/λ è un test immunocromatografico competitivo su membrana di nitrocellulosa, senza effetto prozona e con 3 zone di reazione:

1. la prima è costituita dal controllo procedurale (CP)
2. la seconda è costituita da antigeni λ (zona λ)
3. la terza è costituita da antigeni K (zona K)

Quando il dipstick viene immerso nell'urina diluita, gli anticorpi anti-K e anti-λ coniugati con oro colloidale si solubilizzano e vanno a legarsi, qualora siano presenti, alle catene leggere libere presenti nel campione. I siti liberi degli anticorpi coniugati verranno così occupati e l'anticorpo, migrando lungo la membrana, non potrà legarsi al rispettivo antigene fissato sulla membrana stessa. Se nel campione di urina sono presenti catene K o λ libere, esse si legheranno rispettivamente agli anticorpi coniugati anti-K o anti-λ, occupandone tutti i siti di legame disponibili. I complessi anticorpo coniugato-catena leggera sia K che λ formati inizieranno a migrare lungo la membrana; giunti in prossimità della zona reattiva K gli anticorpi anti-K complessati alla catena leggera K non potranno legarsi; lo stesso avverrà per gli anticorpi complessati con le catene leggere λ, che non saranno in grado di legarsi alle catene leggere λ presenti nella zona reattiva. L'assenza di colorazione delle bande nelle zone K e λ indica quindi un risultato positivo del test. In caso di assenza di una o di entrambe le catene leggere K e λ, gli anticorpi coniugati anti-K e anti-λ rimarranno liberi e pertanto sarà possibile il loro legame con gli antigeni presenti sulla membrana, originando così la classica banda rossa-violacea di avvenuta reazione che indica la negatività del test.

Nel caso sia presente una sola delle catene leggere, ad esempio K, l'anticorpo complessato non sarà in grado di legarsi nella zona K del test agli antigeni presenti sulla membrana. Pertanto non si svilupperà alcuna banda rossa-violacea, indicando la positività del test, mentre gli anticorpi anti-λ, migrando lungo la membrana, saranno liberi di legarsi agli antigeni λ e complessandosi dare luogo allo sviluppo della colorazione della banda corrispondente, indicante la negatività del test.

L'avvenuta reazione verrà sempre indicata dalla formazione della banda colorata all'estremità superiore del dipstick (CP).

CONTENUTO DEL KIT

Confezione Dipstick - confezione da 20 dipstick contenente 2 essiccanti.

Quantità: 1x20 test Ref CD20 Ref US20MI

Diluyente Campione - Flacone contenente soluzione tampone 10 mM TRIS pH 9.2, con tensioattivi e conservante Sodio Azide 0,09%.

Volume: 3 ml Ref DCBJ03 Ref US20MI

Istruzioni d'uso - (Ref INSBJMI) - Il presente documento

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

I seguenti materiali non sono contenuti nel kit, ma sono richiesti per l'esecuzione del test:

- Provette per preparazione dei campioni.
- Pipette di precisione da 100, 200 µl con appositi puntali monouso.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REATTIVI

- Il kit deve essere conservato a 2 - 8°C, utilizzato entro la data di scadenza riportata sull'etichetta e trattato in modo da ridurre le contaminazioni ambientali.
- Chiudere la confezione subito dopo l'uso in modo da rendere minimo il contatto degli stick con l'umidità.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI CAMPIONI

- Utilizzare le prime urine del mattino o quelle raccolte nelle 24 ore.
- Poiché la presenza di proteasi endogene e/o esogene può determinare alterazioni strutturali delle immunoglobuline complete con liberazione di vari frammenti o denaturazione delle catene leggere libere, si consiglia di inserire nel contenitore per la raccolta delle urine delle 24 ore un preparato antiproteasi o stabilizzare con sodio azide (1%).
- Il campione può essere conservato per massimo 2 giorni a 2-8°C o 1 mese a -20°C, non ricongelare. Poiché spesso il congelamento provoca il deterioramento degli inibitori delle proteasi, si consiglia di utilizzare immediatamente i campioni scongelati.
- I campioni di urina torbidi devono essere lasciati sedimentare prima dell'utilizzo.

PRECAUZIONI DI SICUREZZA

- I reagenti del kit non sono considerati pericolosi secondo quanto riportato dalle direttive CEE 67/548/EEC, 88/379/EEC, 76/769/CEE e del D.M.09/09/2002 sulla classificazione, l'imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose. Tuttavia i reagenti devono essere trattati con cautela, evitando l'ingestione, il contatto con la pelle, gli occhi e le membrane mucose.
- Tutti i reattivi presenti nel kit sono **esclusivamente per uso diagnostico in vitro**.
- Per l'uso dei reattivi e del materiale del laboratorio attenersi alla Buona Pratica del Laboratorio (GLP).
- Utilizzare per l'analisi guanti protettivi monouso. I campioni devono essere maneggiati con cura ed eliminati come agenti potenzialmente pericolosi perché potrebbero trasmettere infezioni.
- Gli oggetti venuti a contatto diretto con materiale biologico e controlli devono essere trattati come potenzialmente infettivi.
- Tutti i materiali di scarto devono essere smaltiti a norma di legge come rifiuti potenzialmente infetti.

PRECAUZIONI TECNICHE

- La procedura deve essere eseguita con attenzione per ottenere risultati corretti, rispettando scrupolosamente i tempi indicati
- Non utilizzare il kit o i suoi componenti oltre la data di scadenza riportata sulle etichette
- Non mescolare reagenti di lotti diversi.
- Prima dell'uso condizionare tutti i reattivi del kit per 30 minuti a temperatura ambiente.
- Mescolare la soluzione diluente prima dell'uso.
- Evitare ogni contaminazione dei reattivi al momento del prelievo dai flaconi. Si raccomanda di utilizzare pipette con puntali monouso.
- Richiudere tutti i flaconi con il tappo corrispondente.

UTILIZZATORE PREVISTO

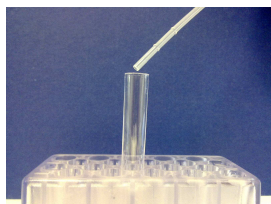
Il dispositivo è destinato ad essere utilizzato esclusivamente da parte di professionisti della diagnostica di laboratorio (tecnici laureati o diplomati in discipline attinenti la microbiologia e l'immunochimica).

PROCEDURA OPERATIVA

1. Selezionare i campioni da analizzare, attendere che siano giunti a temperatura ambiente nel caso siano stati refrigerati o accertarsi del totale scongelamento se preventivamente congelati.
2. Disporre su un rack un numero di provette sufficiente per i campioni da analizzare, contrassegnarle con il ID del paziente o con un numero di riferimento.
3. Dispensare in ogni provetta 100 µl di Diluyente Campione
4. Dispensare in ogni provetta 100 µl di campione di urina da testare.
5. Inserire un dipstick in ogni provetta, avendo cura di immergere lo stick tenendolo dal lato che presenta la scritta MGD K/λ (vedi immagine).
6. Incubare 15 minuti (±1 min.) a temperatura ambiente.
7. Eseguire la lettura, confrontando i risultati ottenuti con il *Regolo di lettura* fornito nel kit.

Ref	Rev	Data	Pag
INSBJMI	01	2010/07/07	1 / 4

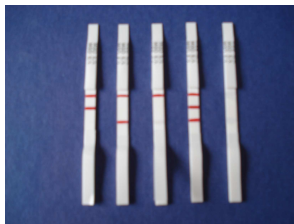
Attenzione! Non effettuare la lettura del risultato del test oltre 20 minuti dal termine della reazione, i risultati così ottenuti non sono da considerare validi - **Non toccare mai la membrana con le dita.** Tenere il dipstick dal lato che presenta la scritta MGD K/λ.



DISPENSARE 100 µL DI URINA E 100 µL DI DILUENTE CAMPIONE



INSERIRE IL DIPSTICK NELLA PROVETTA



INTERPRETARE IL RISULTATO

CRITERI DI ACCETTABILITÀ

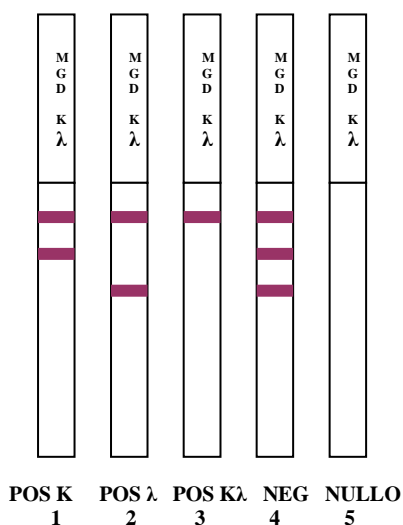
La prova è da ritenersi valida se compare la banda corrispondente al controllo procedurale, ovvero la banda di colore rosso-violaceo nella parte alta del dipstick.

INTERPRETAZIONE DEL RISULTATO

Utilizzare il *Regolo di lettura fornito nel kit.*

- **Positività K:** presenza della banda di colore rosso-violaceo in prossimità della seconda zona di reazione (1).
- **Positività λ:** presenza della banda di colore rosso-violaceo in prossimità della terza zona di reazione (2).
- **Positività K e λ:** assenza di entrambe le bande di reazione, presenza della sola banda di controllo procedurale (3).
- **Negatività K e λ:** presenza di tutte e tre le bande (4).
- **Nulla:** assenza di tutte le bande, compresa quella del controllo procedurale (5).

ATTENZIONE: la presenza di una differente intensità di colore tra la banda del controllo procedurale e quella della zona di reazione non influisce sull'interpretazione dei risultati.



TROUBLESHOOTING

1. Migrazione del campione difficoltosa/non omogenea:

- Verificare che il pad assorbente e l'adesivo bianco all'estremità inferiore del dipstick siano ben adesi alla membrana.
- Verificare che il pad assorbente e l'adesivo colorato e serigrafato all'estremità superiore del dipstick siano ben adesi alla membrana.
- Verificare che la membrana non sia rovinata.
- Verificare che il volume dei reagenti sia sufficiente.
- Verificare che l'urina campione sia limpida; se ricca di materiale in sospensione/particolato lasciare depositare o centrifugare il campione prima di prelevare la quantità necessaria.

2. Mancata apparizione delle bande, compreso il controllo procedurale:

- Portare a temperatura ambiente reagenti e campioni.
- Verificare che il pad assorbente e l'adesivo bianco all'estremità inferiore del dipstick siano ben adesi alla membrana.
- Verificare che il pad assorbente e l'adesivo colorato e serigrafato all'estremità superiore del dipstick siano ben adesi alla membrana.
- Verificare che la membrana non sia stata danneggiata.
- Verificare che il volume dei reagenti sia sufficiente.

3. Bande poco leggibili/difficoltà di interpretazione del risultato:

- Verificare le condizioni di conservazione del kit (2-8°C).
- Verificare la data di scadenza del kit.
- Vedere punto 1.

4. Comparsa di bande dopo il tempo massimo di lettura :

- Verificare di aver letto la reazione entro il tempo consentito (15-20')

CARATTERISTICHE DEL TEST

Sensibilità - La sensibilità del kit MINIAS GLOBE DIAGNOSTICS Dipstick Bence Jones è stata calcolata utilizzando campioni di urina positiva K e λ a concentrazione nota (dosaggio nefelometrico), diluiti in modo scalare. La sensibilità del kit per le catene leggere libere K e λ è di 30 mg/l.

Specificità - Uno studio eseguito su una casistica di 10 campioni negativi, 10 campioni positivi K e 10 campioni positivi λ ha permesso di identificare un valore di specificità del 100 %.

Riproducibilità - Una serie di campioni negativi, positivi K e positivi λ, sono stati testati ripetutamente per determinare valori statistici di precisione e riproducibilità, valutandone la variabilità inter e intra saggio.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Si è dimostrata l'assenza di interferenze con analiti potenzialmente presenti nelle urine in quantità elevata, come albumina, chetoni, glucosio, acidi organici. Anche eventuali variazioni di pH non interferiscono sul risultato finale del test.

SMALTIMENTO

Fare riferimento alle leggi localmente in vigore.



AMS S.p.A. – Sede legale e stabilimento

Via E. Barsanti 17/A
00012 Guidonia (Roma) – Italia
Tel. + 39 0774 354441 r.a.
Fax + 39 0774 578035
www.ams-analyzers.com
info@ams-analyzers.com

Produzione Diagnostici

Via Galileo Galilei, 38
Seggiano di Pioltello (MI) - Italia
Tel. + 39 02 929189.1
Fax + 39 02 929189.39
www.gdsrl.com
infodiagnosics@ams-analyzers.com

Ref	Rev	Dat	Pag
GD680000	01	2011/12/01	2 / 4



Dipstick BENCE JONES Free K/λ Test

Competitive immunochromatographic test for the detection of free light chains K and λ in urine

20 det Ref GD68000 00

IVD



LOT on labels



2 - 8°C

SUMMARY AND EXPLANATION

The presence of light-chains specific free K/λ in urine may be an indication of a mono or polyclonal gammopathy. This pathology, called Bences Jones Proteinuria, is characterized by the indiscriminate proliferation of B-cell lymphocytes which are detectable in the urine as free K & λ proteins. The pathology is associated with Multiple Myeloma, Waldenström's Macroglobulinemia, monoclonal light chain amyloidosis and light chain deposition disease.

PRINCIPLE OF METHOD

The MINIAS GLOBE DIAGNOSTICS Dipstick Bence Jones Free K/λ kit is a competitive, immuno-chromatographic assay, based on lateral flow nitrocellulose membrane technology. The assay has 3 reaction zones without prozone effect:

1. The first zone (closest to dipstick tab) represents the procedural control (CP).
2. The second zone (middle) line striped with free λ antigens.
3. The third zone (lowest) line striped with free K antigens.

During the incubation of the dipstick device in unconcentrated, diluted urine, free light chains bind to the colloidal gold conjugated antibodies present in the nitrocellulose membrane, resulting in the formation of antigen-conjugate complexes in the presence of free light chain proteins. During the lateral flow the sample starts to migrate along the three test zone and the free light chain proteins, if present in the sample, will be bound to the specific conjugated antibody. The sample continues to migrate to the control zone which is specific against the capture conjugate to indicate proper test function.

CONTENTS OF KIT

Dipstick - containing 2 desiccants

Quantity: 1x20 det Ref CD20 Ref US20MI

Sample Diluent – vial containing pH 9.2 buffered solution 10mM TRIS, with surfactants and preservative Sodium Azide 0,09%.

Volume: 3 ml Ref DCBJ03 Ref US20MI

Product Instructions – (Ref INSBJMI) - Present document

MATERIALS NECESSARY BUT NOT PROVIDED

- Clean test tubes and tube rack.
- Precision pipettes with disposable tips for dispensing 100 and 200µl.

CONSERVATION AND STABILITY OF REAGENTS

- The kit must be stored at 2 - 8°C and use not after the expiry date printed on the labels.
- Rapidly remove the required dipsticks from their wrapping and avoid extended exposure to the ambient relative humidity.

CONSERVATION AND STABILITY OF SAMPLES

- Use the first-morning- urines or within 24 hours collection.
- As the presence of endogenous/exogenous protease in the sample may lead to the denaturation and fragmentation of the Ig it is recommended to add an anti-protease inhibitor or Sodium Azide 1%, at the beginning of the urine collection.
- Samples must be stored at 2 - 8°C for 2 days or at - 20°C for 1 month, thaw only once.
- Turbid urine samples need sedimentation.

SAFETY PRECAUTIONS

- The reagents are not considered dangerous according to the 67/548/EEC, 88/379/EEC and 76/769/CEE directives about classification, packaging and labelling of dangerous substances. However, they should be handled with caution, avoiding swallowing and contact with skin, eyes and mucous membranes.
- All reagents contained in the kit are for *in vitro* diagnostic use.
- At all times follow Good Laboratory Practice (GLP) guidelines.
- Handle all test specimens with utmost care to avoid infection with potentially hazardous fluids. Avoid skin contact by wearing protective disposable gloves.
- Sodium Azide (NaN₃) contained in some of the kit reagents may react with lead or copper plumbing and form highly explosive metal azides. When disposing reagents flush with large amounts of water to avoid a build-up.
- Dispose of all used materials into appropriate bio-hazard waste containers.

TECHNICAL PRECAUTIONS

- Follow carefully instructions for use described in the test procedure.
- Do not use reagents beyond the expiry date printed on each component label and do not mix reagents from different kit lots.
- Avoid all cross-contamination of samples by using disposable pipette tips.
- Prior to their use, let all reagents equilibrate 30 minutes at ambient temperature.

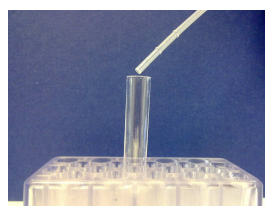
INTENDED END USER

This diagnostic device is to be used exclusively by laboratory diagnostic professionals (graduated or qualified technicians in Microbiology and Immunochemistry).

PROCEDURE

1. Select urine samples to be tested and equilibrate at room temperature.
2. Prepare equivalent number of sample tubes and mark them with patient ID's.
3. Pipette into each sample tube 100 µl of Sample Diluent.
4. Pipette into each sample tube 100 µl of urine.
5. Insert one dipstick into each sample tube keeping it with fingers by the MGD logo side (see image below).
6. Incubate 15 minutes (±1 min.) at room temperature.
7. Read and match results comparing them with *Reading-ruler* included in the kit.

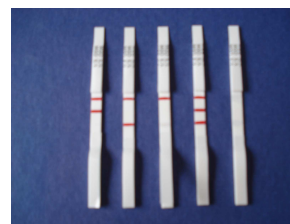
Notes – Important! - Do not read test results over 20 minute, beyond this time results are invalid; - Do not touch membrane with finger, handle the dipstick by MINIAS K/λ logo side;



PIPETTE 100 µl URINE SAMPLE AND 100 µl SAMPLE DILUENT



INSERT THE DIPSTICK INTO SAMPLE TUBE



RESULTS INTERPRETATION

Ref	Rev	Dat	Pag
GD680000	01	2011/12/01	3 / 4

ACCEPTABILITY CRITERIA

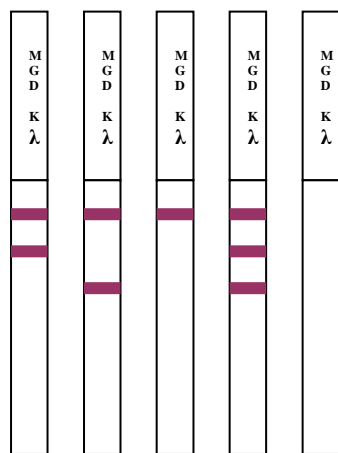
The purple line closest to the dipstick tab, representing the procedural control, must be visible to consider the assay result valid.

INTERPRETATION OF RESULTS

Use the Reading-ruler included in the kit.

- **Positive K:** Presence of purple line in the second reaction zone of membrane (plus procedural control line) (1).
- **Positive λ :** Presence of purple line at the lowest reaction zone of membrane (plus procedural control line) (2).
- **Positive K e λ :** Presence of purple line at the first reaction zone of membrane only (procedural control line) (3).
- **Negative K e λ :** Presence of purple line in second and third reaction zone (plus procedural control line) (4).
- **Invalid:** Absence of three purple lines.

ATTENTION: a different colour intensity of the procedural control line respect to the reaction zones does not influence the final result and its interpretation.



POS K 1 POS λ 2 POS K λ 3 NEG 4 INVALID 5

TROUBLESHOOTING

1. **Sample migration is not homogeneous:**
 - adsorbent pad and white adhesive at dipstick base-hedge are not fully fixed onto the membrane: repeat the assay with a new dipstick
 - adsorbent pad and coloured/serigraphated adhesive at the dipstick top-hedge are not fully fixed onto the membrane: repeat the assay with a new dipstick
 - the membrane is damaged: repeat the assay with a new dipstick
 - sample volume is not adequate: repeat the assay using the correct amount of sample and diluent
 - turbid urine sample: centrifugate urine and repeat assay
2. **Bands do not appear - procedural control do not appear**
 - Reagents and/or sample temperature is too low: allow all reagents and sample to reach room temperature
 - adsorbent pad and white adhesive at dipstick base-hedge are not fully fixed onto the membrane: repeat the assay with a new dipstick
 - the membrane is damaged: repeat the assay with a new dipstick
 - sample volume is not adequate: repeat the assay using the correct amount of sample and diluent
3. **Bands shape is not well defined:**
 - storage condition of reagents has been not correct: store at 2-8° C;
 - reagents has been used beyond expire date: repeat assay using a new kit
 - see point 1.
4. **Bands appear after 20'**
 - Results obtained beyond 20 minutes are not valid

TEST PERFORMANCE

Sensitivity – The sensitivity of the MINIAS GLOBE DIAGNOSTICS Dipstick Bence Jones assay was assessed testing positive K and λ serially

diluted urine samples, by nephelometry: the sensitivity of the test is 30 mg/l for K and λ free light chains.

Specificity – A study with 10 negative, 10 K and 10 λ positive samples showed 100 % specificity.

Reproducibility – A series of negative and positive K and λ samples were repeatedly tested and acceptable inter-and intra assay CVs were obtained.

LIMITATION OF PROCEDURE

It has been demonstrated that high levels of albumin, glucose and organic acids don't interfere with the assay.

Also pH variations don't interfere with the final test result.

WASTE DISPOSAL

Refer to local law.

BIBLIOGRAFIA/REFERENCES

1. Girkontatie I et al. (1996) A rapid ELISA test for the detection of human Paraproteins, Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochemm 1996 Apr; 34 (4):349-353.
2. Guinan JE et al. (1986) Detection and typing of serum paraproteins with the Quantimetric kappa: lambda ratio test. Clin. Chem. 1986 Oct; 32 (10) 1981-1982.
3. Rowe DS (1968) Quantitative estimation of immunoglobulins and other serum proteins by immunological methods Clin. Chem. Acta 1968 Sep, 22 (1):43.
4. Milford Ward A. (1990). Protein reference Unit Handbook of clinical Immunochemistry. 5th edition, Publ.PRU Publications, Sheffield, UK.
5. Alfonso E. (1964) Quantitative immunoelectrophoresis of serum proteins Clin. Chem. Acta 10, 114-122.

Legend of the symbols used on the labels:/

Legenda simbologia impiegata sulle etichette:



AMS S.p.A. – Sede legale e stabilimento

Via E. Barsanti 17/A
00012 Guidonia (Roma) – Italia
Tel. + 39 0774 354441 r.a.
Fax + 39 0774 578035
www.ams-analyzers.com
info@ams-analyzers.com

Produzione Diagnostici

Via Galileo Galilei, 38
Seggiano di Pioltello (MI) - Italia
Tel. + 39 02 929189.1
Fax + 39 02 929189.39
www.gdsrl.com
infodiagnosics@ams-analyzers.com

Ref	Rev	Dat	Pag
GD680000	01	2011/12/01	4 / 4