

BJ Free k/λ Dipstick

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



Codice MH81200

Confezione 25 test

I. 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 entrambe le 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.

II. PRINCIPIO DEL TEST

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

la prima è costituita dal controllo procedurale (CP), la seconda da antigeni λ (zona λ), la terza 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 dagli 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 rosso-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 rosso-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).

III. REAGENTI E MATERIALI

Dipstick: 1x25 test

Diluente Campione - Flacone contenente 3 mL di tampone 10 mM TRIS pH 9.2, con tensioattivi e conservante Sodio Azide 0,09%.

Istruzioni per l'uso - Il presente documento.

IV. MATERIALE RICHIESTO 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.

V. CONSERVAZIONE E STABILITÀ' DEL KIT

Il kit deve essere conservato a 2 - 30°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.

Il kit deve essere spedito a 2-30°C.

VI. 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.

VII. 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.

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).

VIII. 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 l'ID del paziente o con un numero di riferimento.
3. Dispensare in ogni provetta 100 µl di Diluente 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 FRECCIA VERSO IL BASSO K/λ.
6. Incubare 15 minuti a temperatura ambiente.
7. Eseguire la lettura, vedi paragrafo "Interpretazione dei risultati"

Attenzione! Non interpretare il 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 freccia verso il basso.



DISPENSARE 100 µL DI URINA E
100 µL DI DILUENTE CAMPIONE

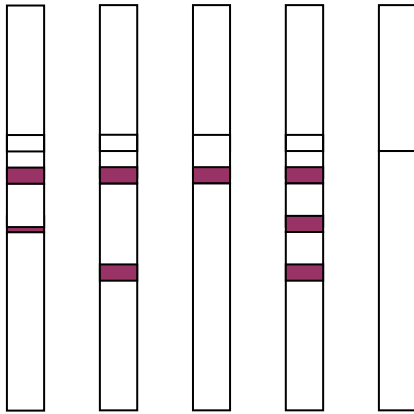
IX. CONTROLLO DI QUALITÀ'

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

X. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

- **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).
- **Nullo:** 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.



POS K **POS λ** **POS Kλ** **NEG** **INVALIDO**
1 **2** **3** **4** **5**

XI. CARATTERISTICHE

Sensibilità - La sensibilità del kit Bence Jones Free K/λ Dipstick 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%.

Precisione - Una serie di campioni negativi, positivi K e positivi λ sono stati testati ripetutamente per valutarne la variabilità inter e intra saggio; tale studio ha permesso di dimostrare una precisione del test del 100%.

Interferenze - 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.

XII. PRECAUZIONI DI SICUREZZA

- I reagenti del kit non sono considerati pericolosi secondo quanto riportato nelle direttive in essere sulla classificazione, l'imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose. Tuttavia i reagenti devono essere trattati con cautela, evitandone 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.

XIII. LIMITI DEL TEST

I risultati ottenuti con l'esecuzione di questo saggio sono solo un aiuto diagnostico. Ciascun medico deve interpretare i risultati del test alla luce della storia del paziente, dei sintomi e di altri test diagnostici.

I livelli di catene kappa e lambda leggere libere nelle urine non sono necessariamente correlati alla gravità dello stato patologico, pertanto non è consigliabile impostare il trattamento terapeutico soltanto sulla base di tale parametro ma occorre tener conto di tutti i dati clinici ed analitici.

XIV. 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:

- Verificare di aver portato 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 (2-30°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') e non considerare valide le bande comparse dopo tale tempo.

XV. BIBLIOGRAFIA

- 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.
- Bridgen ML, Neal ED, McNeely MDD, Hoag GN. The optimum urine collections for the detection and monitoring of Bence Jones proteinuria. AM J Clin Pathol 1990;93:689-93
- Milford Ward A. (1990). Protein reference Unit Handbook of clinical Immunochimistry. 5th edition, Publ.PRU Pub, Sheffield, UK.
- Pezzoli A, Pascali E. urine collection for the detection of Bence Jones proteinuria. Am J Clin Pathol 1991: 95:266-7.
- Girkontatie 1 et al. (1996) A rapid ELISA test for the detection of human Paraproteins, Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem 1996 Apr; 34 (4):349-353.
- Keren DF, Alexanian R, Goeken JA, Gorevic PD, Kyle RA, Tomar RH, Guidelines for clinical and laboratory evaluation of patients with monoclonal gammopathies. Arch Pathol Lab Med 1999;123:106-7.
- Beetham R. Detection of Bence Jones protein in practice. Ann Clin Biochem 2000;37:563-70.
- Graziani MS, Merlini G, Petrini C. Linee guida per la ricerca della proteina di Bence Jones. Bioch Clin 2001.
- Graziani MS, Merlini GP. Measurement of free light chains in urine [Letter] Clin Chem 2001;47:2069

CONFEZIONE:

Dipstick
 Diluente Campione
 Istruzioni per l'uso

REF. MH81200 (25 TEST)

1 tubo contenente 25 stick
 1 flacone contenente 3 mL
 1 pezzo

Codice Ramo **CND W0102160199**

SIMBOLOGIA

Legenda dei Simboli					
	Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso		Test per kit		Produttore
	Unicamente per diagnosi in vitro		Scadenza		Monouso
	Conservare a una temperatura compresa tra 2° e 30°C		Numero di lotto		Codice prodotto

Produttore



Meridian Healthcare srl

Via Caronda, 446 SC/A - 95129 Catania - Italy
 Tel. +39 095 725 68 69 - Fax: +39 095 725 44 54
 info@meridianhealthcare.it
 www.meridianhealthcare.it

