

### BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents		
B8201	200 / 600	R1	2 x	15 ml
		R2	2 x	7 ml
B8203	300 / 600*	R1	2 x	15 ml
		R2	2 x	7 ml

\*only for instruments with a reagent tray for 20 / 70ml bottles

### Intended use:

Immunoturbidimetric assay for the in vitro quantitative determination of bound and free immunoglobulins of the kappa light chain type in human serum and plasma.

### Summary:

Measurement of the various amounts of the different types of light chains aids in the diagnosis of multiple myeloma (cancer of antibody-forming cells), lymphocytic neoplasms (cancer of lymphoid tissue), Waldenstrom's macro-globulinemia (increased production of large immunoglobulins) and connective tissue diseases such as rheumatoid arthritis or systemic lupus erythematosus.

Every plasma cell clone produces a uniform immunoglobulin molecule of the kappa or lambda light chain type. The kappa:lambda ratio in serum is normally around 2:1. Pathological increases of a cell clone lead to elevated formation of monoclonal immunoglobulin fragments (free light chains), which bring about a change in the kappa:lambda ratio. A kappa:lambda ratio outside the normal range is indicative of monoclonal gammopathy. The high molecular weight of intact immunoglobulin prevents their passage into the urine, whereas the free light chains of the immunoglobulins are, due to their low molecular weight, able to pass through the glomerulus and are resorbed in the tubule. For this reason light chain concentration in urine is usually very low. When overproduction occurs, the concentration of free light chains exceeds the resorption capacity of the tubulus, hence leading to excretion in the urine. The appearance of free light chains in urine (Bence-Jones protein) is an important indicator of monoclonal gammopathy.

This test encompasses both bound and free light chain types. For the determination in urine, therefore, a confirmatory procedure must also be performed in order to distinguish between the free light chains (Bence-Jones protein) and intact immunoglobulins which can appear in urine as a result of renal damage.

Furthermore, the occurrence of two monoclonal gammopathies producing different light chain types could theoretically lead to a  $\kappa/\lambda$  ratio in the normal range. Accordingly, quantitative determination of the  $\kappa$  and  $\lambda$  light chains cannot completely replace high-resolution electrophoresis, immunoelectrophoresis, or immunofixation electrophoresis. The quantitative determination of light chains is indicated in particular for diagnosis and for monitoring the course of the disease.

### Test principle:

Immunoturbidimetric assay

Anti-kappa antibodies react with the antigen in the sample to form an antibody/antigen complex. Following agglutination this is measured turbidimetrically.

### Reagent concentration:

#### R1:

TRIS*/HCl buffer pH 7,8	100 mmol/l
NaCl	150 mmol/l
PEG	4.5 %
Preservative	

#### R2:

Polyclonal anti-human kappa antibody (goat)	dependent on titer
TRIS*/HCl buffer pH 7,8	80 mmol/l
NaCl	150 mmol/l
Preservative	

\*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethane

### Preparation and stability:

R1: Ready for use.

R2: Ready for use.

Unopened kit components: Up to the expiration date at 2-8°C

Onboard stability at 2-8°C:	R1	90 days
	R2	90 days

### Specimen:

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

#### Serum/plasma

Collect serum using standard sampling tubes

Li-heparin or EDTA-Plasma

Stability:	at +2°C - +8°C	4 days
	at - 20°C	6 months

### Notes:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>. Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

### Limitations - interference:

Criterion: Recovery within  $\pm 10\%$  of initial value.

Icterus: No significant interference up to a bilirubin concentration of 100 mg/dl.

Hemolysis: No significant interference up to a haemoglobin concentration of 1200 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to a triglycerides concentration of 3600 mg/dl. There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

No high-dose hook-effect was observed up to a  $\kappa$ -chain concentration of 35 g/l

Rheumatoid factors < 200 IU/l do not interfere.

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

### Testing procedure:

#### Materials provided

• Working solutions as described above

#### Additional materials required

- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

### Measuring/reportable range:

#### Serum/plasma

40-700 mg/dl

At higher concentrations, dilute the sample with 0.9% NaCl using the rerun function.

### Expected values:

	kappa	kappa/lambda ratio
Serum	1,38 – 3,75 g/l	1,17 - 2,93
Urine	-----	0,75 - 4,50

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient's population and determine its own reference range if necessary. For diagnostic purposes the kappa results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

### Analytical sensitivity (lower detection limit):

#### Serum/plasma

Detection limit: -24 mg/dl

### Imprecision:

#### Serum/plasma

Reproducibility was determined using controls in an internal protocol (n = 20). The following results were obtained:

Within run			
	MW (g/l)	SD (g/l)	CV %
Sample 1	127.98	3.269	2.6
Sample 2	289.60	3.819	1.3
Sample 3	429.10	8.445	2.0

#### Run to run

	MW (g/l)	SD (g/l)	CV %
Sample 1	262.20	4.911	1.9
Sample 2	444.66	9.393	2.1
Sample 3	421.91	9.202	2.2

### Method comparison:

A comparison of the Analyticon Turbitex Kappa (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result (g/l).

$$y = 0.9634x + 0.5921; \quad r = 0.9845$$

### Quality control:

Protein Control Level 1	3 x 1 ml	#7661
Protein Control Level 2	3 x 1 ml	#7662

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

### Calibration:

Standardization: The kappa method was standardized against the CRM 470 standard using the Lievens equation.

Calibration Type: Logit-Log

S1-S5: BioCal® P Calibration Set 5 x 1 ml #14705

### Preparation of calibrator for multi-point calibration:

Prepare a fresh 1:16 dilution of each level of the Bio Cal® P Calibration Set with 0.9 % NaCl solution:

S1: 1:16	e.g. 15 µl Bio Cal® P R1 + 225 µl 0.9% NaCl
S2: 1:16	e.g. 15 µl Bio Cal® P R2 + 225 µl 0.9% NaCl
S3: 1:16	e.g. 15 µl Bio Cal® P R3 + 225 µl 0.9% NaCl
S4: 1:16	e.g. 15 µl Bio Cal® P R4 + 225 µl 0.9% NaCl
S5: 1:16	e.g. 15 µl Bio Cal® P R5 + 225 µl 0.9% NaCl

Calculate calibration values from the package insert of the calibrator by dividing the given values of the individual levels by 16.

### Calibration frequency:

Full calibration is recommended is recommended

- after lot change
- as required following quality control procedures

### Disposal:

Please note the legal regulations.

Text passages with grey background were changed in the latest revision of this package insert.

### Literature:

1. Brouwer J et al. Clin Chim Acta 1985;150:267-274
2. Duc J, Morel B, Peitrequin R, Frei PC. Identification of monoclonal gammopathies: a comparison of immunofixation, immunoelectrophoresis and measurements of kappa- and lambda- immunoglobulin levels. J. Clin Chem Biochem.1988;26:141-146
3. Glinck MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
4. Hafner G, Endler T, Oppitz M et al. Effects of standardization with the new international reference preparation for proteins in human serum on method comparability and reference values, Clin Lab 1995;41:743-748
5. Jones RG, Aguzzi F, Bienbenu J et al. Use of immunoglobulin to investigate monoclonal components:I. Detection. Clin Chem 1991;37:1917-1921
6. Jones RG, Aguzzi F, Bienbenu J et al. Use of Immunoglobulin to investigate Monoclonal components:II. Classification by use of Computer-based algorithms. Clin Chem 1991;37:1922-1926
7. Keren DF, Warren JS, Lowe JB. Strategy to diagnose monoclonal gammopathies in serum: high-resolution electrophoresis, immunofixation and kappa/lambda quantification. Clin Chem 1988;34:2196-2201
8. Lavarda F, Rizza V, Bazzi C et al. Marker proteici urinari, Cefar course"Le proteine: dal laboratorio alla clinica" 1994
9. Lievens M. 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;27:519-523
10. Skvaril F, Barandum S, Morell A, Fuffer, Probst M. Imbalances of Kappa/Lambda immunoglobulin light chain ratios in normal individuals and in immunodeficient patients. In: Proteides of biological fluids, Peeters H (Hrsg.) 1975; 23:415-420
11. Sun T, de Szalay H, Lien YY, Chang V. Quantitation of kappa and lambda light chains for the detection of monoclonal gammopathy. J Clin Lab Anal 1988; 2: 84-90
12. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. Philadelphia, Pe: WB Saunders 1995: 396-397
13. Whicher JT, Ritchie RF, Johnson AM et al. New international reference preparation for proteins in human serum (RPPHS). Clin Chem 1994;40:934-938
14. Whicher JT, Wallage M, Fifield R. Use of immunoglobulin heavy and light-chain measurements compared with existing techniques as a means of typing monoclonal immunoglobulins. Clin Chem 1987;33:1771-1773

### BioLyzer® Bestellinformationen:

Katalog-Nr.	BioLyzer	Inhalt
B8201	200 / 600	R1 2 x 15 ml
		R2 2 x 7 ml
B8203	300 / 600*	R1 2 x 15 ml
		R2 2 x 7 ml

\*nur für Instrumente mit Reagenzteller für 20 / 70ml Flaschen

### Anwendungszweck:

Immunologischer Trübungstest zur quantitativen in vitro Bestimmung der gebundenen und freien Immunglobuline vom Leichtkettentyp Kappa in Humanserum und -plasma.

### Zusammenfassung:

Die Bestimmung der Leichtkettentypen Kappa ( $\kappa$ ) und Lambda ( $\lambda$ ) unterstützt die Diagnose des Multiplen Myeloms, lymphozytischer Neoplasmen, M. Waldenström und weiterer Erkrankungen, wie Rheumatoide Arthritis oder Systemischer Lupus Erythematodes.

Jeder Plasmazellklon bildet ein einheitliches Immunglobulinmolekül der Leichtkettentypen  $\kappa$  oder  $\lambda$ . Das normale Verhältnis des  $\kappa/\lambda$ -Quotienten im Serum liegt ungefähr bei 2:1. Die pathologische Vermehrung eines Zellklons führt zur erhöhten Bildung von monoklonalen Immunglobulinen oder Immunglobulinfragmenten (freie Leichtketten), die eine Änderung des Kappa/Lambda-Quotienten bewirken. Ein  $\kappa/\lambda$ -Quotient außerhalb des normalen Bereichs weist auf eine monoklonale Gammopathie hin. Bei den intakten Immunglobulinen verhindert das hohe Molekulargewicht die Ausscheidung in den Urin. Die freien Leichtketten der Immunglobuline passieren aufgrund ihres niedrigen Molekulargewichts das Glomerulum und werden wieder im Tubulus reabsorbiert. Deshalb ist die Immunglobulinkonzentration üblicherweise im Urin sehr gering. Im Fall einer Überproduktion übersteigt die Konzentration an freien Leichtketten die Resorptionsfähigkeit des Tubulus. Dies führt zur Ausscheidung in den Urin. Das Auftreten freier Leichtketten im Urin (Bence-Jones-Protein) ist ein wichtiger Nachweis auf monoklonale Gammopathien.

Dieser Test erfasst sowohl gebundene als auch freie Leichtketten. Deshalb muss bei der Bestimmung im Urin eine Bestätigungsmethode mitgeführt werden, um zwischen den freien Leichtketten (Bence-Jones-Protein) und den intakten Immunglobulinen, die infolge von Nierenschäden im Urin vorhanden sein können, zu unterscheiden. Weiterhin kann das Auftreten von zwei monoklonalen Gammopathien, welche verschiedene Leichtkettentypen bilden, theoretisch zu einem  $\kappa/\lambda$ -Quotienten im normalen Bereich führen. Daher kann die quantitative Bestimmung der  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Leichtketten nicht vollständig die hochauflösende Elektrophorese, die Immunelektrophorese oder die Immunfixations-Elektrophorese ersetzen. Die quantitative Bestimmung der Leichtketten ist besonders zur Diagnose und Kontrolle des Krankheitsverlaufs angezeigt.

### Testprinzip:

Immunologischer Trübungstest  
Anti-Kappa-Antikörper reagieren mit dem Antigen aus der Probe unter Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes, der nach Agglutination turbidimetrisch gemessen wird.

### Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

**R1:**  
TRIS\*/HCl-Puffer pH 7,8 100 mmol/l  
Natriumchlorid 150 mmol/l  
PEG 4,5 %  
Konservierungsmittel

**R2:**  
Polyklonaler Anti-Human-Kappa-Antikörper (Ziege) abhängig vom Titer  
TRIS/HCl-Puffer pH 7,8 80 mmol/l  
Natriumchlorid 150 mmol/l  
Konservierungsmittel

\*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethan-hydrochlorid

### Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig.  
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig.

Ungeöffnet: bei +2°C bis +8°C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.

Onboard Stabilität bei 2-8°C: R1: 90 Tage  
R2: 90 Tage

### Untersuchungsgut:

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

### Serum/Plasma

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen

Li-Heparinat- oder EDTA-Plasma

Haltbarkeit: bei 2 - 8°C 4 Tage  
bei -20°C 6 Monate

### Hinweis:

In vitro Diagnostikum.

Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

### Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

#### Serum/Plasma

Als Bewertung gilt: Wiederfindung  $\pm 10\%$  vom Ausgangswert.

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Bilirubin-Konzentration von 100 mg/dl.

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Hämoglobin-Konzentration von 1200 mg/dl.

Lipämie: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Triglycerid-Konzentration von 3600 mg/dl. Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Rheumafaktoren < 200 IU/ml stören nicht.

Es wurde kein High-Dose-Hook-Effekt bis zu einer  $\kappa$ -Konzentration von 35 g/l beobachtet.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

### Testverfahren:

#### Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben

#### zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterialien wie nachfolgend beschrieben

• NaCl-Lösung (0,9%)

### Messbereich:

#### Serum/Plasma

40-700 mg/dl

### Referenzbereich:

	Kappa	Quotient Kappa/Lambda
Serum	1,38 - 3,75 g/l	1,17 - 2,93
Urin	-----	0,75 - 4,50

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die Kappa-Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

### Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

#### Serum/Plasma

Nachweisgrenze: -24 mg/dl

### Präzision:

#### Serum/Plasma

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben (n = 20) nach einem internen Protokoll bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

In der Serie			
	MW g/l	SD g/l	VK %
Probe 1	127,98	3,269	2,6
Probe 2	289,60	3,819	1,3
Probe 3	429,10	8,445	2,0

Tag / Tag			
	MW g/l	SD g/l	VK %
Probe 1	262,20	4,911	1,9
Probe 2	444,66	9,393	2,1
Probe 3	421,91	9,202	2,2

### Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Turbitex Kappa (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten (g/l):

$$y = 0,9634x + 0,5921; \quad r = 0,9845$$

### Qualitätskontrolle:

Protein Control Level 1 3 x 1 ml #7661  
Protein Control Level 2 3 x 1 ml #7662

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

### Kalibration:

Standardisierung: Die Kappa-Methode wurde an der Referenzpräparation CRM 470 unter Berücksichtigung der Lievensformel abgeglichen.

Kalibrations Typ: Logit-Log

S1-S5: Bio Cal® P Calibration Set 5 x 1 ml #1475

### Vorbereitung des Kalibrators für Mehrpunktkalibration:

Bereiten Sie je eine frische 1:16 Verdünnung der Level des Bio Cal® P Calibration Set mit 0.9 % NaCl Lösung zu:

S1: 1:16	z.B. 15 µl Bio Cal® P R1 + 225µl 0,9% NaCl
S2: 1:16	z.B. 15 µl Bio Cal® P R2 + 225 µl 0,9% NaCl
S3: 1:16	z.B. 15 µl Bio Cal® P R3 + 225 µl 0,9% NaCl
S4: 1:16	z.B. 15 µl Bio Cal® P R4 + 225 µl 0,9% NaCl
S5: 1:16	z.B. 15 µl Bio Cal® P R5 + 225 µl 0,9% NaCl

Die Kalibrationswerte errechnen sich aus den in der Packungsbeilage des Kalibrators angegebenen Werten, der jeweiligen Level, dividiert durch 16.

### Kalibrationshäufigkeit

Eine Vollkalibration wird empfohlen:

- Bei Reagenzchargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

### Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Grau hinterlegte Textpassagen wurden in der letzten Überarbeitung dieser Gebrauchsanweisung geändert.

### Literatur:

1. Brouwer J et al. Clin Chim Acta 1985;150:267-274
2. Duc J, Morel B, Peitrequin R, Frei PC, Identification of monoclonal gammopathies: a comparison of immunofixation, immunoelectrophoresis and measurements of kappa- and lambda- immunoglobulin levels. J. Clin Chem Biochem.1988;26:141-146
3. Glinck MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
4. Hafner G, Endler T, Oppitz M et al. Effects of standardization with the new international reference preparation for proteins in human serum on method comparability and reference values, Clin Lab 1995;41:743-748
5. Jones RG, Aguzzi F, Bienbenu J et al. Use of Immunoglobulin to investigate Monoclonal components:I. Detection. Clin Chem 1991;37:1917-1921
6. Jones RG, Aguzzi F, Bienbenu J et al. Use of Immunoglobulin to investigate Monoclonal components:II. Classification by use of Computer-based algorithms. Clin Chem 1991;37:1922-1926
7. Keren DF, Warren JS, Lowe JB. Strategy to diagnose monoclonal gammopathies in serum: high-resolution electrophoresis, immunofixation and kappa/lambda quantification. Clin Chem 1988;34:2196-2201
8. Lavarda F, Rizza V, Bazzi C et al. Marker proteici urinari, Cefar course"Le proteine: dal laboratorio alla clinica" 1994
9. Lievens M. 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;27:519-523
10. Skvaril F, Barandum S, Morell A, fuffer, Probst M. Imbalances of Kappa/Lambda immunoglobulinlight chain ratios in normal individuals and in immunodeficient patients. In: Proteides of biological fluids, Peeters H (Hrsg.) 1975; 23:415-420
11. Sun T, de Szalay H, Lien YY, Chang V. Quantitation of kappa and lambda light chains for the detection of monoclonal gammopathy. J Clin Lab Anal 1988; 2: 84-90
12. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. Philadelphia, Pe: WB Saunders 1995: 396-397
13. Whicher JT, Ritchie RF, Johnson AM et al. New international reference preparation for proteins in human serum (RPPHS). Clin Chem 1994;40:934-938
14. Whicher JT, Wallage M, Fifield R. Use of immunoglobulin heavy and light-chain measurements compared with existing techniques as a means of typing monoclonal immunoglobulins. Clin Chem 1987;33:1771-1773