



# Quantum Blue<sup>®</sup> Calprotectin Ascites

**Quantitative  
Lateral Flow Assay**

LF-ASC25      25 tests

Revision date: 2013-03-28

## ENGLISH

### INTENDED USE

The Quantum Blue® Calprotectin Ascites, LF-ASC25, is a quantitative test designed for the determination of elevated Calprotectin concentrations in human ascites in combination with the Quantum Blue® Reader. The test has been designed for point of care testing for patients suffering from liver cirrhosis or other diseases accompanied by ascites accumulation in the peritoneum. It is used as a marker for elevated polymorphonuclear cell count (PMN).

It is used as an aid to diagnose the development of spontaneous bacterial peritonitis (SBP) (1).

For professional use only\*.

\*Canada, Taiwan: For laboratory use only.

### PRINCIPLE OF THE ASSAY

The test is designed for the selective measurement of Calprotectin (MRP8/14) antigen by sandwich immunoassay. A monoclonal capture antibody (mAb) highly specific for Calprotectin is coated onto the test membrane. A second monoclonal detection antibody conjugated to gold colloids is deposited onto the conjugate release pad and released into the reaction system after addition of the diluted ascites sample. The Calprotectin/anti-Calprotectin gold conjugate binds to the anti-Calprotectin antibody coated on the test membrane (test line; test band) and the remaining free anti-Calprotectin gold conjugate binds to the goat anti-mouse antibody coated on the test membrane (control line; control band). The signal intensities of the test line and the control line are measured quantitatively by the BÜHLMANN Quantum Blue® Reader.

### REAGENTS SUPPLIED AND PREPARATION

Reagents	Quantity	Code	Comments
<b>Test Cartridge</b> vacuum-sealed in a foil bag	25 pieces	B-CAL-TC	
<b>Chase Buffer</b>	1 bottle 10 ml	B-ASC-CB	Ready to use
<b>RFID Chip Card</b>	1 piece	B-ASC-RCC	White plastic card

Table 1

### STORAGE AND SHELF LIFE OF REAGENTS

All kit components are stable at 2-8°C until the expiration date printed on the labels.

### PRECAUTIONS

#### SAFETY PRECAUTIONS

- None of the reagents of this test contains components of human origin.
- Patient specimens should be handled as if capable of transmitting infections and should be handled in accordance with good laboratory practices using appropriate precautions.
- Unused solution should be disposed of according to local State and Federal regulations.

#### TECHNICAL PRECAUTIONS

##### Kit components

- All reagents and test samples must be equilibrated at room temperature (18-28°C) before starting the assay. Mix well (vortex) the reagents before use.
- Components must not be used after the expiry date printed on the labels.
- Do not mix different lots of reagents.
- Test Cassettes cannot be re-used.

### Test Procedure

- Read carefully the instructions prior to carrying out the test. Test performance will be adversely affected, if reagents are incorrectly diluted, handled or stored under conditions other than those as detailed in this instruction for use.
- Use the white RFID Chip Card in order to change lot-specific test parameters.
- The Quantum Blue® Reader must be switched on and programmed for the Quantum Blue® Calprotectin Ascites assay before starting the assay (see Quantum Blue® Reader Manual).
- Patient samples that are not properly handled may cause inaccurate results.
- Diluted samples should be used within several hours and cannot be stored for a longer time period.
- Undiluted ascites samples can be stored at < -20°C for at least 3 months.

### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Quantum Blue® Reader available from BÜHLMANN (order code: BI-POCTR-ABS)
- Precision pipettes with disposable tips: 10-200 µl
- Centrifuge for microtubes
- Eppendorf tubes for dilution of the samples
- Timer
- Gloves and Lab coat

### SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

Collect ascites samples into clean tubes and store refrigerated at 2-8°C for up to 7 days.

For longer storage freeze the samples at <-20°C. The samples are stable for at least 3 months.

**Important:** The sample must be collected without any chemical or biological additions in the collection device.

### ASSAY PROCEDURE

#### Sample Dilution

- Dilute ascites samples prior to using them for analysis 1:5 with Chase Buffer (e.g. 20 µl sample and 80 µl Chase Buffer).
- Vortex.

#### Lateral Flow Assay Procedure and Readout

There are two alternative methods available on the Quantum Blue® Reader: <ASC\_720> and <ASC\_0>. Select one of these methods before starting the experiments.

Load the lot specific parameters from the RFID Chip Card.

##### 1. Method <ASC\_720> with internal timer

- Load the test cassette onto the test cassette holder of the Reader
- Add 60 µl of diluted ascites sample onto the sample loading port of the test cassette
- Close the cassette holder and start the measurement by pressing the start button
- The scan starts automatically after 12 minutes (720 seconds).

##### 2. Method <ASC\_0> without internal timer

- Add 60 µl of diluted ascites sample onto the sample loading port of the test cassette
- Incubate for 12 minutes +/- 1 minute (set a timer manually)
- Load the test cassette onto the test cassette holder of the Reader

- Scan the cassette with the Quantum Blue® Reader by pressing the start (<ENTER>) button immediately.

**Remark:** Please refer to the Quantum Blue® Reader Manual to learn about the basic functions and how to initialize and operate the Reader, especially how to select test methods, and how to load lot specific parameters from the RFID Chip Card in order to get the samples measured.

#### QUALITY CONTROL

- If the precision of the assay does not correlate with the established limits and repetition excludes errors in technique, check the following issues: i) pipetting, temperature controlling and timing devices, ii) expiration dates of reagents and iii) storage and incubation conditions.
- Result of the self-test of the Quantum Blue® Reader performed at startup of the instrument has to be valid.

#### VALIDATION OF RESULTS

- For a valid test result, the Control Line (C) must be visible in any case (see Appendix I, Figures 1A and 1B). It is used as functional test control only and cannot be used for the interpretation of the Test Line (T). If the Test Line (T) is not detectable after 12 minutes of incubation time (Figure 1A), the concentration of Calprotectin present in the ascites sample is below the detection limit. If a Test Line (T) is detectable after 12 minutes of incubation time (Figure 1B), the Calprotectin concentration present in the ascites sample is calculated by the Quantum Blue® Reader.
- If only the Test Line (T) is detectable after 12 minutes of incubation time (Figure 1C), the test result is invalid and the Calprotectin assay has to be repeated using another test cassette.
- If neither the Control Line (C) nor the Test Line (T) are detectable after 12 minutes of incubation time (Figure 1D), the test result is invalid and the assay has to be repeated using another test cassette.
- As the Quantum Blue® Reader allows for a quantitative evaluation of the Test (T) and Control (C) Lines, an additional validity check of the Control Line (C) is undertaken. If the signal intensity of the Control Line (C) is below a lot-specific threshold after 12 minutes of incubation time, the test result is also invalid and the Calprotectin Ascites assay has to be repeated using another test cassette.

#### STANDARDIZATION AND INTERPRETATION OF RESULTS

- The Lateral Flow Assay is calibrated with the BÜHLMANN Calprotectin ELISA (order code: EK-CAL).
- The BÜHLMANN Quantum Blue® Reader uses a lot-specific standard curve to calculate the Calprotectin Ascites concentration. This lot-specific standard curve is generated with the median values ( $n \geq 10$  measurements each) from  $\geq 10$  calibration points obtained from different samples with known Calprotectin Ascites concentrations. The assay range is between 0.18 and 1.8 µg/mL.
- For quantitative measurements of samples reading above 1.8 µg/mL dilute the ascites samples 1:50 (instead of 1:5) with chase buffer and test them again according to the procedure. The measured

concentration must then be multiplied by the volume factor x 10 to obtain the final result.

#### LIMITATIONS

- The reagents supplied with this kit are optimized to measure human Calprotectin in ascites samples.
- The BÜHLMANN Quantum Blue® Calprotectin Ascites rapid test can be used to obtain results earlier than PMN count. It should not replace PMN count but can aid in establishing the diagnosis. However, a negative result does not exclude disease progression to spontaneous bacterial peritonitis, SBP.
- Results obtained with the BÜHLMANN Quantum Blue® Calprotectin Ascites rapid assay should be confirmed by measuring other biomarkers (such as counting polymorphonuclear cells PMN in ascites) and the anamnesis of the patient, before any decision concerning therapy or medical intervention is being made.
- Ascites samples contaminated with erythrocytes or hemoglobin might cause false positive results and should not be used.

#### RESULTS & INTERPRETATION

The Calprotectin ascites rapid test helps quickly establish a first estimate if an elevated PMN count is to be expected and thus could be helpful to the clinician.

A clinical pilot study (1), using the BÜHLMANN Quantum Blue® rapid test showed that it is useful to predict levels.

According to data shown by Burri et al. (1) we recommend the following reference intervals for interpretation of calprotectin results:

PMN count  $\leq 250$  cells ( $n=111$ ):

Median: 0.38 µg/mL,  
IQR 0.38-0.562.

PMN count  $\geq 250$  cells ( $n=19$ ):

Median: 2.78 µg/mL,  
IQR 2.05-5.37.

At a cut of 0.51 µg/mL calprotectin, a sensitivity of 100% and a specificity of 84.7% was reached, with 6.53 LR+ and 0.0 LR-. The overall accuracy des Testes was 87.7%. NPV of calprotectin testing in ascites was 100%. In this study, none of the patients with elevated PMN count would have been missed by the rapid test (refer to Figure 3).

Recommended interpretation of calprotectin results:

<0.51 µg/mL: PMN counts of > 250 are rarely possible.

$\geq 0.51$  µg/mL: PMN counts of > 250 potentially occur.

#### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Limit of Blank (LoB):** <0.044 µg/mL calprotectin.

**Limit of Detection (LoD):** <0.09 µg/mL calprotectin.

**Repeatability: 19% CV.** The repeatability of the Quantum Blue® Calprotectin assay was calculated from 6 ascites samples containing 0.18 and 1.6 µg/g calprotectin. Each sample was tested according to the assay procedure in one run of 20 replicates set up within 10 minutes. The mean values of three different lots of Test Cassettes are presented in (Table 6). The repeatability varied between 13.7-34.5 % CV.

**Linearity: 0.18 to 1.8 µg/mL.** Four ascites samples with elevated Calprotectin concentrations were diluted with an ascites sample with a low level of calprotectin. Each dilution was subsequently assayed according to the assay procedure. The results showed linearity within the indicated measuring range of 0.18 to 1.8 µg/mL of the Quantum Blue® Calprotectin Ascites assay for all 4 samples (R2 = 0.986 - 0.995).

**Method Comparison: R<sup>2</sup> = 0.82; y=1.001x-0.090 µg/mL**  
49 ascites samples within the indicated measuring range of the Quantum Blue® Calprotectin Ascites assay were analyzed according to the assay procedure and compared with the values obtained by the BÜHLMANN Calprotectin ELISA. The correlation data are illustrated in Figure 4.

**Limit of Quantification (LoQ): Lower LoQ: ≤0.18 µg/mL calprotectin; Upper LoQ: ≥1.8 µg/mL calprotectin.** The LoQ has been established with twelve ascites samples at concentrations between 0.12 and 2.46 µg/mL. The samples were measured with 20 replicates each. The resulting precision profile is shown in Figure 2. The limit of quantification corresponds to the concentration of Calprotectin with an imprecision below 25% CV allowing a quantitative measurement within the range from 0.18 (lower LoQ) to 1.8 µg/mL (upper LoQ).

**ANWENDUNGSZWECK**

Der Quantum Blue® Calprotectin Ascites, LF-ASC25, ist ein Immunoassay zur quantitativen Bestimmung von Calprotectin in humanen Ascitesproben. Der Test wird in Kombination mit dem Quantum Blue® Reader eingesetzt. Der Test wurde entwickelt, um Patienten mit Leberzirrhose und anderen Erkrankungen, die mit Aszitesbildung im Peritoneum einhergehen am Point of Care zu untersuchen. Er wird als Marker für eine erhöhte Zahl polymorphkerniger Zellen und zur Unterstützung der Diagnose bei der Entwicklung einer spontanen bakteriellen Peritonitis eingesetzt.

Nur für zur Anwendung durch medizinisches Fachpersonal geeignet\*.

\*Canada, Taiwan: Nur für Laborzwecke geeignet.

**PRINZIP DER METHODE**

Das Testprinzip beruht auf der selektiven Messung von Calprotectin mittels Sandwich Immunoassay. Ein monoklonaler Fangantikörper (mAk), der hoch spezifisch für Calprotectin ist, wird auf eine Testmembran gebunden. Ein zweiter monoklonaler Nachweisantikörper, welcher mit Goldkolloide konjugiert ist, wird auf dem „Conjugate Release Pad“ aufgebracht. Nach der Zugabe der extrahierten und verdünnten Aszitesprobe wird er in das Reaktions-System freigesetzt. Der Calprotectin/Anti-Calprotectin-Goldkonjugat Komplex bindet an den auf der Membran gebundenen Anti-Calprotectin Antikörper (Testbande). Das verbleibende nicht gebundene Anti-Calprotectin Goldkonjugat wird von einem Ziege-Anti-Maus Antikörper gebunden, welcher ebenfalls auf die Membran gebunden wurde (Kontrollbande). Die Signalintensität der Testbande und der Kontrollbande wird durch den Quantum Blue® Reader quantifiziert.

**GELIEFERTE REAGENZIEN UND VORBEREITUNG**

Reagenz	Menge	Art.-Nr.	Kommentar
<b>Test Kassette</b> In Folientasche vakuumiert	25 Stück	B-CAL-TC	
<b>Lauf-Puffer</b>	1 Flasche 10 ml	B-ASC-CB	Gebrauchsfertig
<b>RFID Chipkarte</b>	1 Stück	B-ASC-RCC	Weisse Plastikkarte

Table 2

**LAGERUNG UND HALTBARKEIT DER REAGENZIEN**

Sämtliche Kitkomponenten sind bei 2-8°C bis zum angegebenen Ablaufdatum haltbar.

**VORSICHTSMASSNAHMEN**

**SICHERHEITSMASSNAHMEN**

- Keiner der Kitbestandteile enthält Material menschlicher Herkunft.
- Alle Patientenproben sollten gemäss Good Laboratory Practice als potentiell infektiös behandelt werden und die entsprechenden Sicherheitsvorkehrungen sollten getroffen werden.
- Ungebrauchte Lösungen sollten gemäss der gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

## TECHNISCHE VORSICHTSMASSNAHMEN

- Reagenzien und Proben sollten vor dem Testansatz auf Raumtemperatur (18-28°C) äquilibriert werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Mischen Sie nicht Reagenzien verschiedener Kit lots.
- Die Testkassetten dürfen nicht wiederverwendet werden.

### Testablauf

- Lesen Sie die Arbeitsanleitung sorgfältig vor der Testdurchführung. Die Testqualität kann negative beeinflusst werden, wenn die Reagenzien nicht korrekt verdünnt oder behandelt werden sowie nicht entsprechend der in dieser Anleitung angegebenen Lagerungsbedingungen gelagert werden.
- Benutzen Sie die weisse RFID Chip Karte, um die lot-spezifischen Testparameter zu ändern.
- The Quantum Blue® Reader angeschaltet und der Quantum Blue® Calprotectin Ascites Test darauf programmiert werden, bevor der Assay gestartet wird (siehe Quantum Blue® Reader Manual).
- Patientenproben, die nicht ordnungsgemäss behandelt werden, können ungenaue Ergebnisse verursachen.
- Verdünnte Proben sollten innerhalb kurzer Zeit eingesetzt werden. Sie können nicht über längere Zeit gelagert werden.
- Unverdünnte Aszitesproben können bei  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  mindestens 3 Monate gelagert werden.

## ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Quantum Blue® Reader bei BÜHLMANN erhältlich (Art.-Nr.: BI-POCTR-ABS)
- Präzisionspipetten mit Einwegspitzen: 10-200  $\mu\text{l}$
- Zentrifuge für Mikroröhrchen
- Eppendorf Röhrchen für die Probenverdünnung
- Laborwecker (optional)
- Handschuhe und Laborkittel

## PROBENSAMMLUNG UND LAGERUNG

Aszitesproben werden in Röhrchen gesammelt und können bei 2-8 °C bis zu 7 Tage gelagert werden.

Für eine längere Lagerung sollten die Proben bei  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  gelagert werden. Tiefgefrorene Proben sind für mindestens 3 Monate stabil.

**Wichtig:** Die Proben dürfen nicht mit chemischen oder biologischen Zusätzen versetzt werden.

## ARBEITSANLEITUNG

### Probenverdünnung

- Die Aszitesproben 1:5 mit Laufpuffer verdünnen, bevor Sie im Assay eingesetzt werden. (z.B. 20  $\mu\text{l}$  Probe und 80  $\mu\text{l}$  Laufpuffer)
- Vortexen

### Lateral Flow Testablauf und Quantifizierung

Es sind zwei alternative Methoden auf dem Quantum Blue® Reader gespeichert: <ASC\_720> und <ASC\_0>. Wählen Sie eine dieser Methoden aus, bevor Sie den Assay starten.

Laden Sie die testspezifischen Parameter von der RFID Chipkarte

1. Methode <ASC\_720> mit internem Zeitmesser
  - Kassette auf den Kassettenhalter des Readers laden
  - 60  $\mu\text{l}$  verdünnte Aszitesprobe auf die Ladevorrichtung der Kassette aufbringen

- Den Kassettenhalter schliessen und den Start (<ENTER>) Knopf drücken
  - Der Lesevorgang startet automatisch nach 12 Minuten (720 Sek.)
2. Methode <ASC\_0> ohne internen Zeitmesser
    - 60  $\mu\text{l}$  verdünnte Aszitesprobe auf die Ladevorrichtung der Kassette aufbringen
    - Die Kassette für 12 +/- 1 Minute inkubieren (einen Wecker manuell einstellen)
    - Kassette auf den Kassettenhalter des Readers laden und auslesen durch Drückendes Start (<ENTER>) Knopfes.

Hinweis: Nehmen Sie das Reader Manual zu Hilfe, wenn Sie mehr über die Basisfunktionen (Inbetriebnahme und Bedienung) erfahren wollen, insbesondere wie Testmethoden ausgewählt werden und wie lotspezifische Parameter von der RFID Chipkarte geladen werden, um die Proben messen zu können.

## QUALITÄTSKONTROLLE

- Falls die Ergebnisse des Testes nicht innerhalb der erwarteten Bereiche liegen und wiederholte Messungen einen Durchführungsfehler ausschließen, sind folgende Bedingungen zu überprüfen: i) Pipetten, Thermometer und Uhren/Laborwecker, ii) Verfallsdaten der Reagenzien, iii) Lagerung- und Inkubationsbedingungen.
- Der Selbsttest des Gerätes muss ein valides Ergebnis ausweisen.

## VALIDIERUNG DER RESULTATE

- Damit das Testresultat als gültig bewertet wird, muss die Kontrollbande (C) klar ersichtlich sein (siehe Figuren 1A und 1B). Diese wird nur als Funktionskontrolle verwendet und kann nicht zur Interpretation der Testbande (T) benutzt werden. Falls die Testbande (T) nach 12 Minuten Inkubation nicht nachweisbar ist (Figur 1A), bedeutet dies, dass Calprotectin nicht nachweisbar ist. Falls die Testbande (T) nach der Inkubation nachweisbar ist, wird die Calprotectin Konzentration in der Aszitesprobe durch den Quantum Blue® Reader berechnet.
- Falls nach der Inkubation nur die Testbande (T) sichtbar ist (Figur 1C), ist das Resultat ungültig und der Test muss mit einer neuen Testkassette wiederholt werden.
- Falls weder die Kontrollbande (C) noch die Testbande (T) nach 12 Minuten nachweisbar sind (Figur 1D), ist das Resultat ungültig und der Test muss mit einer neuen Testkassette wiederholt werden.
- Da der Quantum Blue® Reader eine quantitative Bestimmung der Test (T) und der Kontrollbande (C) erlaubt, wird eine zusätzliche Validitätsprüfung durchgeführt. Falls die Signalintensität der Kontrollbande (C) nach 12 Minuten einen bestimmten Wert unterschreitet, ist das Resultat ungültig und der Test muss mit einer neuen Testkassette wiederholt werden.

## STANDARDISIERUNG UND INTERPRETATION DER RESULTATE

- Der Lateral Flow Test wurde mit Hilfe des BÜHLMANN Calprotectin ELISA kalibriert (Art.-Nr.: EK-CAL).
- Der BÜHLMANN Quantum Blue® Reader verwendet für die Berechnung der Calprotectin Konzentration eine Lot-spezifische Standardkurve. Diese Standardkurve wird über den Median ( $n \geq 10$  Messungen) von 10 Kalibrationspunkten von unterschiedlichen Proben mit einer

bekanntem Calprotectin Konzentration berechnet. Der messbare Bereich liegt zwischen 0.18 und 1.8 µg/mL.

- Um ein quantitatives Messergebnis zu erhalten, können Proben mit einer Konzentration oberhalb von 1.8 µg/mL mit Laufpuffer 1:50 (statt 1:5) verdünnt und erneut gemessen werden. Die gemessene Konzentration muss mit einem Faktor von 10 multipliziert werden, um das Endergebnis zu erhalten.

### EINSCHRÄNKUNGEN

- Die in diesem Kit gelieferten Reagenzien sind zur Bestimmung von humanem Calprotectin in Aszitesproben optimiert.
- Der BÜHLMANN Quantum Blue® Calprotectin Ascites Schnelltest kann eingesetzt werden, um das Ergebnis vor Eintreffen der PNM-Auszählung zu erhalten. Es sollte die PNM-Auszählung nicht ersetzen, aber eine Hilfestellung bei der Diagnoseerstellung leisten. Ein negatives Ergebnis schließt aber ein Fortschreiten der Erkrankung und die Bildung einer spontanen bakteriellen Peritonitis (SBP) nicht aus.
- Ergebnisse, die mit dem BÜHLMANN Quantum Blue® Calprotectin Ascites Schnelltest erstellt wurden, sollten mit anderen Biomarkern wie z.B. Zählung der polymorphkernigen Zellen, PMN, in Aszites) und der Anamnese des Patienten bestätigt werden, bevor eine Entscheidung betreffend der Therapie oder eines medizinischen Eingriffes getroffen wird.
- Aszites Proben, die mit Erythrozyten oder Hämoglobin kontaminiert sind, können falsch positive Ergebnisse verursachen und sollten nicht benutzt werden.

### INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die Bestimmung von Calprotectin in Aszitesproben ist eine verlässliche und einfache Methode, um eine erste Abschätzung vorzunehmen, ob ein erhöhter PMN Wert erwartet werden kann.

In einer Pilotstudie (1) wurde gezeigt, dass der Quantum Blue® Schnelltests hilfreich ist, um erhöhte PMN Werte vorherzusagen.

Nach diesen von Burri et al. gezeigten Daten empfehlen wir die folgenden Referenzbereiche zur Beurteilung der Ergebnisse:

PMN-Zellzahl ≤ 250 Zellen (n=111):

Median: 0.38 µg/mL,

IQR 0.38-0.562.

PMN-Zellzahl ≥ 250 Zellen (n=19)

Median: 2.78 µg/mL,

IQR 2.05-5.37.

Bei einem Cut off von 0.51 µg/mL Calprotectin, lag die Sensitivität 100% und die Spezifität 84.7%, mit 6.53 LR+ und 0.0 LR-. Die Overall Accuracy des POC Testes war bei 87.7%. Der negative Vorhersagewert der Calprotectinbestimmung in Aszites war 100%. In dieser Studie, ist keiner der Patienten mit erhöhten PMN-Zellzahlen vom Schnelltest nicht erkannt worden (siehe Figure 3).

Empfehlung zur Interpretation der Calprotectin Ergebnisse:

<0.51 µg/mL: Eine PMN-Zellzahl von > 250 ist unwahrscheinlich.

≥0.51 µg/mL: Eine PMN-Zellzahl von > 250 ist möglich

### LEISTUNGSDATEN

**Limit of Blank (LoB): <0.044 µg/mL Calprotectin.**

**Limit of Detection (LoD): 0.09 µg/mL Calprotectin.**

**Repeatability: 19% CV.** Die Repeatability des Quantum Blue® Calprotectin Tests wurde mit Hilfe von 6 Aszitesproben mit Calprotectingehalten von 0.18 bis 1.6 µg/mL berechnet. Jede Probe wurde gemäß der Testanleitung in je 20 Replikaten innerhalb von 10 Minuten angesetzt und gemessen. Die Mittelwerte von 3 verschiedenen Lots von Testkassetten werden in (Table 6) dargestellt. Die Repeatability lag zwischen 13.7-34.5 % CV.

**Linearität:** 4 Aszitesproben mit erhöhtem Calprotectingehalt wurden mit einer Aszitesprobe mit niedrigem Calprotectingehalt verdünnt. Jede verdünnte Probe wurde dann gemäß der Anleitung angesetzt und gemessen. Der Mittelwert für jeden Messpunkt wurde berechnet. Die Ergebnisse zeigten eine Linearität der Ergebnisse innerhalb des angegebenen Messbereiches von 0.18 bis 1.8 µg/g. für alle 4 Proben. ( $R^2 = 0.986 - 0.995$ ).

**Methodenvergleich:  $R^2 = 0.82$ ,  $y=1.001x-0.09$  µg/mL.** 49 Aszitesproben von Patienten, die Messwerte innerhalb des angegebenen Quantum Blue® Calprotectin Messbereiches zeigten, wurden gemäß der Anleitung angesetzt, gemessen und verglichen mit den Ergebnissen, die im BÜHLMANN Calprotectin ELISA (Bestellcode: EK-CAL) gewonnen wurden. Die Korrelation wird in Figure 4 dargestellt.

**Limit of Quantification (LoQ): Unterer LoQ: ≤0.18 µg/mL Calprotectin; Oberer LoQ: ≥1.8 µg/mL Calprotectin.** Die LoQ wurde ermittelt mit Hilfe von 12 Aszitesproben mit Konzentrationen zwischen 0.12 und 2.46 µg/g. Die Proben wurden mit je 20 Replikaten gemessen und gemittelt. Das entsprechende Präzisionsprofil ist in Figure 2 dargestellt. Die Nachweisgrenze entspricht derjenigen Calprotectinkonzentration, die eine Streuung von <25% CV zeigt und damit eine quantitative Bestimmung innerhalb eines Bereiches von 0.18 (unterer LoQ) bis 1.8 µg/g (oberer LoQ) ermöglicht.

# FRANCAIS

## UTILISATION PRÉVUE

Le test de calprotectine dans l'ascite Quantum Blue<sup>®</sup>, LF-ASC25, est un test quantitatif conçu pour déterminer des concentrations élevées de calprotectine dans les ascites humaines à l'aide du Quantum Blue<sup>®</sup> Reader. Ce test a été conçu pour être réalisé sur le lieu de prise en charge des patients souffrant de cirrhose du foie ou de toute autre maladie s'accompagnant d'une accumulation de liquide dans la cavité péritonéale. Il sert de marqueur d'un nombre élevé de polynucléaires neutrophiles (PNN).

Il aide à diagnostiquer le développement d'une péritonite bactérienne spontanée (PBS) (1).

Uniquement pour utilisation professionnelle\*.

\*Canada, Taïwan : utilisation en laboratoire uniquement.

## PRINCIPE DU TEST DE DOSAGE

Le test permet la mesure sélective de l'antigène de la calprotectine (MRP8/14) par un dosage immunologique de type sandwich. Un anticorps monoclonal (mAb) de capture hautement spécifique de la calprotectine est déposé sur la membrane de test. Un second anticorps monoclonal de détection conjugué à de l'or colloïdal est déposé dans le dispositif de libération du conjugué, puis libéré dans le système réactionnel après adjonction de l'échantillon d'ascite dilué. Le conjugué calprotectine/anti-calprotectine +or se lie à l'anticorps anti-calprotectine déposé sur la membrane de test (ligne de test) et le restant du conjugué or + anti-calprotectine qui n'a pas réagi se lie à l'anticorps de chèvre anti-souris déposé sur la membrane de test (ligne de contrôle). Les intensités de signal de la ligne de test et de la ligne de contrôle sont mesurées quantitativement par le Quantum Blue<sup>®</sup> Reader de BÜHLMANN.

## RÉACTIFS FOURNIS ET PRÉPARATION

Réactifs	Quantité	Code	Remarque
Cartouche de test scellées sous vide dans un sachet	25 pièces	B-CAL-TC	
Tampon de dilution	1 flacon 10 ml	B-ASC-CB	Prêt à l'emploi
Carte à puce RFID	1 pièce	B-ASC-RCC	Carte en plastique blanche

Table 3

## STOCKAGE ET DURÉE DE CONSERVATION DES RÉACTIFS

Tous les composants du kit sont stables entre 2 et 8 °C jusqu'à la date d'expiration imprimée sur les étiquettes.

## PRÉCAUTIONS

### PRÉCAUTIONS DE SÉCURITÉ

- Aucun des réactifs de ce test ne contient de composants d'origine humaine.
- Les échantillons des patients doivent être manipulés en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et avec les précautions requises, comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des infections.
- La solution non utilisée doit être éliminée conformément aux réglementations locales et nationales en vigueur.

### PRÉCAUTIONS TECHNIQUES

#### Composants du kit

- Tous les réactifs et échantillons à tester doivent être équilibrés à température ambiante (18 à 28 °C) avant de démarrer le dosage. Bien mélanger les réactifs au vortex avant utilisation.

- Les constituants ne doivent pas être utilisés au-delà de la date d'expiration imprimée sur les étiquettes.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Les cartouches de test sont à usage unique.

## PROCÉDURE DE TEST

- Lire attentivement les instructions avant d'effectuer le test. Les performances du test peuvent être dégradées en cas de dilution incorrecte des réactifs, ou bien si ces derniers sont manipulés ou stockés dans des conditions autres que celles spécifiées.
- Utiliser la carte à puce RFID blanche pour modifier les paramètres du test spécifiques pour chaque lot.
- Le Quantum Blue<sup>®</sup> Reader doit être allumé et programmé pour le dosage de la calprotectine dans l'ascite avant de commencer le test (voir le mode d'emploi du Quantum Blue<sup>®</sup> Reader).
- Une manipulation incorrecte des échantillons à tester peut entraîner des faux résultats.
- Les échantillons dilués doivent être utilisés dans un délai de quelques heures et ne peuvent être conservés plus longtemps.
- Les échantillons d'ascite non dilués peuvent être conservés plus de trois mois à une température inférieure à -20 °C.

## MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Quantum Blue<sup>®</sup> Reader, disponible auprès de BÜHLMANN (référence BI-POCTR-ABS)
- Pipettes de précision à embouts jetables : de 10 à 200 µL
- Centrifugeuse pour microtubes
- Tubes Eppendorf pour la dilution des échantillons
- Minuteur
- Gants et blouse de laboratoire

## RECUEIL ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

Recueillir les échantillons d'ascite dans des tubes propres et conserver au réfrigérateur entre 2 et 8 °C pendant 7 jours maximum.

Pour un stockage prolongé, congeler les échantillons à une température inférieure à -20 °C. Les échantillons sont stables au moins 3 mois.

**Important :** l'échantillon doit être recueilli sans adjonction chimique ou biologique dans le dispositif de recueil

## PROCÉDURE OPÉRATOIRE DE DOSAGE

### Dilution des échantillons

- Diluer les échantillons au 1/5e avant analyse avec du tampon de dilution (par ex., 20 µL d'échantillon dans 80 µL de tampon).
- Vortexer.

### Dosage en flux latéral et lecture du résultat

Le lecteur Quantum Blue<sup>®</sup> Reader propose deux méthodes : <ASC\_720> et <ASC\_0>. Choisir l'une des méthodes avant de procéder à l'essai.

Charger les paramètres spécifiques au lot de réactif au moyen de la carte à puce RFID.

#### 1. Méthode <ASC\_720> avec minuteur interne

- Charger la cartouche de test dans le tiroir du lecteur.
- Ajouter 60 µL d'échantillon dilué via l'orifice de chargement de la cartouche de test.
- Fermer le tiroir et lancer l'analyse en appuyant sur le bouton de démarrage.
- La lecture démarre automatiquement après un délai de 12 minutes (720 s).

#### 2. Méthode <ASC\_0> sans minuteur interne

- Ajouter 60 µL d'échantillon dilué via l'orifice de chargement de la cartouche d'essai.
- Incuber pendant (12 +/- 1) minutes en utilisant un incubateur externe.
- Charger la cartouche de test dans le tiroir du lecteur.
- Lancer immédiatement la lecture de la cartouche en appuyant sur le bouton de démarrage <ENTER> du lecteur Quantum Blue®.

**Remarque :** consulter le mode d'emploi du Quantum Blue® Reader pour plus de détails concernant les fonctions de base, l'initialisation et l'utilisation du lecteur, en particulier comment choisir la méthode de test et charger les paramètres de lot de la carte à puce RFID en vue de mesurer des échantillons.

### CONTRÔLE QUALITÉ

- Si la précision du dosage n'est pas corrélée avec les limites établies et que la répétition exclut toute erreur technique, on vérifiera les paramètres suivants : i) pipetage, dispositifs de contrôle de la température et du temps, ii) dates d'expiration des réactifs et iii) conditions de stockage et d'incubation.
- Le test d'auto-diagnostic du Quantum Blue® Reader réalisé au démarrage de l'instrument doit être valide.

### VALIDATION DES RÉSULTATS

- Pour qu'un résultat de test soit valable, la ligne de contrôle (C) doit toujours être visible (voir l'Annexe I, Figures 1A et 1B). Cette ligne est uniquement utilisée comme contrôle fonctionnel du test et ne peut servir à l'interprétation de la ligne de test (T). Si la ligne de test (T) n'est pas détectable au bout de 12 minutes d'incubation (Figure 1A), cela signifie que la concentration de calprotectine dans l'échantillon est inférieure à la limite de détection. Si la ligne de test (T) est détectable au bout de 12 minutes d'incubation (Figure 1B), la concentration de calprotectine dans l'échantillon est calculée par le Quantum Blue® Reader.
- Si seule la ligne de test (T) est détectable après 12 minutes d'incubation (Figure 1C), le résultat du test n'est pas valable et le dosage de la calprotectine doit être répété en utilisant une cartouche de test neuve.
- Si ni la ligne de test (T), ni la ligne de contrôle (C) ne sont détectables après 12 minutes d'incubation (Figure 1D), le résultat du test n'est pas valable et le dosage doit être répété en utilisant une cartouche de test neuve.
- Étant donné que le Quantum Blue® Reader permet une évaluation quantitative des lignes de test (T) et de contrôle (C), une vérification supplémentaire de la ligne de contrôle (C) est effectuée. Si l'intensité du signal de la ligne de contrôle (C) inférieure à un seuil spécifique au lot après 12 minutes d'incubation, le résultat du test est également non valable et le dosage de la calprotectine doit être répété en utilisant une cartouche de test neuve.

### ÉTALONNAGE ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- Le dosage en flux latéral est étalonné au moyen du test ELISA pour la calprotectine des laboratoires BÜHLMANN (référence EK-CAL).
- Le Quantum Blue® Reader de BÜHLMANN utilise une courbe étalon spécifique au lot pour calculer la concentration de calprotectine dans l'ascite. Cette courbe, spécifique au lot, est générée avec les valeurs médianes ( $n \geq 10$  mesures à chaque fois) provenant de 10 points

d'étalonnage au moins obtenus à partir de d'échantillons de concentration connue en calprotectine. La plage de mesure du dosage se situe entre 0,18 et 1,8 µg/mL.

- Les échantillons d'ascite contenant plus de 1,8 µg/mL de calprotectine doivent être dilués au 1/50e (au lieu de 1/5e) avec le tampon de dilution, et dosés de nouveau conformément à la présente procédure. La concentration mesurée doit ensuite être multipliée par 10 pour obtenir le résultat final.

### LIMITATIONS

- Les réactifs fournis dans le kit sont optimisés pour le dosage de la calprotectine humaine dans les échantillons d'ascite.
- Le dosage rapide de la calprotectine dans les ascites Quantum Blue® de BÜHLMANN permet d'obtenir plus rapidement des résultats que la numération des PNN. Il ne doit pas remplacer la numération des PNN mais peut contribuer à établir le diagnostic. Un résultat négatif ne saurait exclure une évolution de la maladie vers une péritonite bactérienne spontanée (PBS).
- Les résultats obtenus grâce au dosage rapide de la calprotectine Quantum Blue® de BÜHLMANN doivent être confirmés par la mesure d'autres biomarqueurs (par exemple la numération des polynucléaires neutrophiles (PNN) dans l'ascite et l'anamnèse du patient, avant toute décision de traitement ou d'intervention médicale.
- Les échantillons d'ascites contaminés par des érythrocytes ou de l'hémoglobine peuvent entraîner des faux positifs et ne doivent pas être utilisés.

### RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

Le dosage rapide de la calprotectine aide à obtenir rapidement une première estimation confirmant ou non une quantité élevée de PNN et peut à ce titre être utile au praticien.

Une étude clinique pilote (1) utilisant le dosage rapide Quantum Blue® de BÜHLMANN a montré que le test est utile pour prédire le nombre de cellules.

Selon les données obtenues par Burri et al. (1), nous recommandons les intervalles de référence suivants pour interpréter les résultats de la calprotectine :

Numération de PNN  $\leq 250$  cellules ( $n = 111$ ) :

Médiane : 0,38 µg/mL,  
IQR 0.38-0.562.

Numération de PNN  $\geq 250$  cellules ( $n = 19$ ) :

Médiane : 2,78 µg/mL,  
IQR 2.05-5.37.

À la valeur de seuil de 0,51 µg/mL de calprotectine, une sensibilité de 100 % et une spécificité de 84,7 % sont obtenues, avec 6,53 LR+ et 0.0 LR-. L'exactitude globale des essais s'établit à 87,7 %. La VPN du dosage de la calprotectine dans les ascites est de 100 %. Lors de cette étude, chaque patients présentant une quantité élevée de PMN n'aurait été non détecté par le dosage rapide ( voir la Figure 3).

Interprétation recommandée des résultats de la calprotectine :

< 0,51 µg/mL : une quantité de PNN > 250 est peu probable.

$\geq 0,51$  µg/mL : une quantité de PNN > 250 peut survenir.



## CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

**Limite de blanc (LOB) :** < 0,044 µg/mL de calprotectine.

**Limite de détection (LOD) :** < 0,09 µg/mL de calprotectine.

**Répétabilité : 19 % du CV.** La répétabilité du dosage Quantum Blue® de la calprotectine a été calculée à partir de 6 échantillons d'ascites contenant 0,18 et 1,6 µg/g de calprotectine. Chaque échantillon a été analysé selon la procédure de dosage, en une analyse de 20 réplicats dans un délai de 10 minutes. Les valeurs moyennes pour trois lots différents de cartouches de test sont présentées dans le Table 6. La répétabilité varie entre 13,7 et 34,5 % de CV.

**Linéarité : 0,18 à 1,8 µg/mL.** Quatre échantillons d'ascites contenant des concentrations élevées de calprotectine ont été dilués avec un échantillon d'ascites contenant un faible taux de calprotectine. Chaque dilution a ensuite été dosée conformément au présent mode opératoire. Les résultats démontrent une linéarité sur l'intervalle de mesure de 0,18 à 1,8 µg/mL indiqué pour le dosage Quantum Blue® de la calprotectine, pour les quatre échantillons ( $R^2 = 0,986 - 0,995$ ).

**Comparaison des méthodes :**  $R^2 = 0,82$  ;  $y = 1,001x - 0,090$  µg/mL

49 échantillons d'ascites dans la plage de mesure du dosage Quantum Blue® de la calprotectine ont été analysés selon le présent mode opératoire. Les résultats obtenus ont été comparés aux valeurs obtenues avec le dosage ELISA calprotectine de BÜHLMANN. Les données de corrélation sont présentées sur la Figure 4.

**Limite de quantification (LOQ) :** **LOQ inférieure :** ≤ 0,18 µg/mL de calprotectine ; **LOQ supérieure :** ≥ 1,8 µg/mL de calprotectine. La limite de quantification a été déterminée au moyen de 12 échantillons d'ascites à des concentrations comprises entre 0,12 et 2,46 µg/mL. Les échantillons ont été mesurés à raison de 20 réplicats chacun. Le profil de précision en résultant est présenté sur la Figure 2. La limite de quantification correspond à la concentration de calprotectine ayant une imprécision inférieure à 25 % du CV. Il est donc possible d'obtenir une mesure quantitative entre 0,18 µg/mL (LOQ inf.) et 1,8 µg/mL (LOQ sup.).

## ITALIANO

### USO PREVISTO

Quantum Blue® Calprotectin Ascites, LF-ASC25, è un test quantitativo progettato per la determinazione di elevate concentrazioni di calprotectina nelle asciti umane in combinazione con il Quantum Blue® Reader. Il test è stato progettato come point-of-care testing (POCT) per i pazienti che soffrono di cirrosi epatica o altre malattie accompagnate da accumulazione di asciti nel peritoneo. È utilizzato come marcatore per un'elevata conta di cellule polimorfonucleari (PMN).

È utilizzato come aiuto alla diagnosi dello sviluppo di peritonite batterica spontanea (SBP) (1).

Solo per uso professionale\*.

\*Canada, Taiwan: Solo per uso in laboratorio.

### PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il test è stato progettato per la misurazione selettiva dell'antigene Calprotectina (MRP8/14) mediante il dosaggio immunologico diretto (a sandwich). Un anticorpo monoclonale di cattura (mAb) altamente specifico per la calprotectina riveste la membrana di rilevazione. Un secondo anticorpo monoclonale di rilevazione, coniugato a oro colloidale, è depositato sul supporto di rilascio del coniugato e rilasciato nel sistema di reazione dopo l'aggiunta del campione diluito di asciti. Il complesso calprotectina/anti-calprotectina coniugato con oro si lega all'anticorpo anti-calprotectina legato alla membrana (linea di rilevazione; banda di rilevazione) e l'anti-calprotectina coniugato con oro in eccesso si lega all'anticorpo di capra anti-topo legato alla membrana (linea di controllo; banda di controllo). Le intensità di segnale della banda di rilevazione e della banda di controllo vengono misurate quantitativamente con il BÜHLMANN Quantum Blue® Reader.

### REAGENTI FORNITI E PREPARAZIONE

Reagenti	Quantità	Codice	Commenti
<b>Cassetta di test</b> sigillata a vuoto in busta laminata	25 unità	B-CAL-TC	
<b>Chase Buffer</b>	1 fialone 10 ml	B-ASC-CB	Pronto per l'uso
<b>Carta chip RFID</b>	1 unità	B-ASC-RCC	Carta bianca in plastica

Tabella 4

### CONSERVAZIONE E VALIDITÀ DEI REAGENTI

Tutti i componenti del kit sono stabili a 2-8 °C fino alla data di scadenza riportata sulle etichette.

### PRECAUZIONI

#### PRECAUZIONI DI SICUREZZA

- Nessuno dei reagenti di questo test contiene componenti di origine umana.
- I campioni dei pazienti vanno gestiti a come potenzialmente infettivi, adottando le precauzioni appropriate in conformità alle buone pratiche di laboratorio.
- Smaltire la soluzione inutilizzata nel rispetto delle disposizioni locali, regionali e nazionali in materia.

#### PRECAUZIONI tecniche

##### Componenti del kit

- Tutti i reagenti e i campioni devono essere portati a temperatura ambiente (18-28 °C) prima di iniziare l'analisi. Mescolare vortexando i reagenti prima dell'uso.
- I componenti non devono essere utilizzati dopo la data di scadenza riportata sulle etichette.

- Non mescolare lotti diversi di reagenti.
- Le cassette di test non vanno riutilizzate.

### Procedura del test

- Leggere attentamente le istruzioni prima di eseguire il test. Le prestazioni del test subiranno un effetto negativo se si utilizzano reagenti diluiti in modo errato, manipolati o conservati diversamente da come specificato nelle presenti istruzioni per l'uso.
- Per modificare i parametri di test specifici per il lotto, utilizzare la carta chip RFID bianca.
- Il Quantum Blue® Reader deve essere acceso e programmato per il dosaggio di Quantum Blue® Calprotectin Ascites prima di iniziare il dosaggio (vedere il manuale del Quantum Blue® Reader).
- I campioni manipolati in modo scorretto possono dare origine a risultati inesatti.
- I campioni diluiti devono essere utilizzati entro alcune ore e non possono essere conservati più a lungo.
- I campioni di asciti non diluiti possono essere conservati a < -20 °C per almeno 3 mesi.

### MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Quantum Blue® Reader disponibile da BÜHLMANN (codice per ordinazioni: BI-POCTR-ABS)
- Pipette di precisione con puntali monouso: 10-200 µl
- Centrifuga per microprovette
- Provette Eppendorf per la diluizione dei campioni
- Timer
- Guanti e camice da laboratorio

### RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Raccogliere i campioni di asciti in provette pulite e conservare a una temperatura di 2-8 °C per un massimo di 7 giorni.

Per conservarli più a lungo, congelare i campioni a < -20 °C. I campioni sono stabili per almeno 3 mesi.

**Importante:** Il campione deve essere prelevato senza l'aggiunta di sostanze chimiche o biologiche nel dispositivo di raccolta.

### PROCEDURA DEL TEST

#### Diluizione del campione

- Diluire i campioni di ascite 1:5 con Chase Buffer prima di usarli per l'analisi (ad es. 20 µl di campione e 80 µl di Chase Buffer).
- Vortexare.

#### Dosaggio a flusso laterale e lettura

Esistono due metodi alternativi disponibili sul Quantum Blue® Reader: <ASC\_720> e <ASC\_0>. Prima di iniziare gli esperimenti, selezionare uno di questi metodi.

Caricare i parametri specifici del lotto dalla carta chip RFID.

##### 1. Metodo <ASC\_720> con timer interno

- Caricare la cassetta di test sul relativo supporto per cassetta di test del Reader
- Aggiungere 60 µl di campione di asciti diluito sulla porta di carico del campione della cassetta di test
- Chiudere il supporto per cassetta e iniziare la misurazione premendo il pulsante di avvio
- La scansione inizia automaticamente dopo 12 minuti (720 secondi).

##### 2. Metodo <ASC\_0> senza timer interno

- Aggiungere 60 µl di campione di asciti diluito sulla porta di carico del campione della cassetta di test
- Incubare per 12 minuti +/- 1 minuto (impostare un timer manuale)

- Caricare la cassetta di test sul relativo supporto per cassetta di test del Reader
- Scansionare la cassetta con il Quantum Blue® Reader premendo il pulsante (<ENTER>) immediatamente.

**Nota:** Per informazioni sulle funzioni di base e su come avviare e mettere in funzione il Reader, in particolare per informazioni sulla selezione dei metodi di test e su come caricare i parametri specifici del lotto dalla carta chip RFID per ottenere i campioni misurati, consultare il manuale del Quantum Blue® Reader.

### CONTROLLO DI QUALITÀ

- Se la precisione del dosaggio non correla con i limiti stabiliti e la ripetizione del test esclude errori tecnici, si controllino gli aspetti seguenti: i) dispositivi di pipettaggio, controllo della temperatura e timer, ii) data di scadenza dei reagenti e iii) condizioni di conservazione e incubazione.
- Il risultato dell'autotest del Quantum Blue® Reader eseguito all'avvio dello strumento deve essere valido.

### VALIDAZIONE DEI RISULTATI

- Per un risultato valido, la banda di controllo (C) deve in ogni caso essere visibile (vedere Appendice I, Figure 1A e 1B). Tale banda rappresenta unicamente un controllo funzionale del test e non può essere utilizzata per interpretare la banda di rilevazione (T). Se la banda di rilevazione (T) non è rilevabile dopo 12 minuti di incubazione (Figura 1A), nel campione di asciti non sono presenti quantità rilevabili di calprotectina. Se la banda di rilevazione (T) è rilevabile dopo 12 minuti di incubazione (Figura 1B), la quantità di calprotectina presente nel campione di asciti è calcolata tramite il Quantum Blue® Reader.
- Se solo la banda di rilevazione (T) è rilevabile dopo 12 minuti di incubazione (Figura 1C), il risultato non è valido e il dosaggio della calprotectina deve essere ripetuto con un'altra cassetta di test.
- Se né la banda di controllo (C), né la banda di rilevazione (T) sono rilevabili dopo 12 minuti di incubazione (Figura 1D), il risultato non è valido e il dosaggio deve essere ripetuto con un'altra cassetta di test.
- Dal momento che il Quantum Blue® Reader effettua una valutazione quantitativa delle bande di rilevazione (T) e controllo (C), ciò costituisce un'ulteriore verifica della banda di controllo (C). Se l'intensità di segnale della banda di controllo (C) è inferiore alla soglia specifica per ogni lotto dopo 12 minuti di incubazione, il risultato non è valido e il dosaggio degli asciti di calprotectina deve essere ripetuto utilizzando un'altra cassetta di test.

### STANDARDIZZAZIONE E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

- Il dosaggio a flusso laterale è stato calibrato utilizzando il saggio BÜHLMANN Calprotectin ELISA (codice di ordinazione: EK-CAL).
- Il BÜHLMANN Quantum Blue® Reader utilizza una curva standard lotto specifica per calcolare la concentrazione di asciti di calprotectina. Tale curva standard lotto specifica viene generata con i valori mediani (n≥10 misurazioni ciascuno) da ≥ 10 punti di calibrazione ottenuti da campioni diversi con concentrazioni note di asciti di calprotectina. L'intervallo rilevabile del dosaggio è compreso fra 0,18 e 1,8 µg/ml.

- Per le misurazioni quantitative di campioni con letture superiori a 1,8 µg/ml è necessario diluire i campioni di asciti 1:50 (anziché 1:5) con il chase buffer e ripeterne il test in conformità alla procedura. La concentrazione misurata deve quindi essere moltiplicata per il fattore volumetrico 10 al fine di ottenere il risultato finale.

#### LIMITAZIONI

- I reagenti forniti con questo kit sono ottimizzati per la misura della calprotectina umana in campioni di asciti.
- Il test rapido BÜHLMANN Quantum Blue® Calprotectin Ascites può essere utilizzato per ottenere risultati prima del conteggio PMN. Non sostituisce il conteggio PMN, ma può essere d'aiuto nella formulazione della diagnosi. Tuttavia, un risultato negativo non esclude un'evoluzione della malattia nella peritonite batterica spontanea (PBS).
- I risultati ottenuti con il dosaggio rapido BÜHLMANN Quantum Blue® Calprotectin Ascites devono essere confermati misurando altri biomarcatori (ad esempio contando le cellule polimorfonucleari PMN negli asciti) ed effettuando l'anamnesi del paziente prima di prendere qualsiasi decisione in merito alla terapia o all'intervento medico.
- I campioni di asciti contaminati da eritrociti o emoglobina possono causare risultati falsi positivi e non vanno utilizzati.

#### RISULTATI E INTERPRETAZIONE

Il test rapido BÜHLMANN Quantum Blue® Calprotectin Ascites aiuta a effettuare rapidamente una prima stima qualora sia previsto un conteggio PMN elevato e può rivelarsi pertanto utile al medico.

Uno studio clinico pilota (1), effettuato con il test rapido BÜHLMANN Quantum Blue®, ne ha dimostrato l'utilità nella previsione dei livelli.

In conformità ai dati esposti da Burri et al. (1), è consigliabile attenersi ai seguenti intervalli di riferimento per l'interpretazione dei risultati della calprotectina:

Conteggio PMN ≤ 250 celle (n=111):

Mediana: 0,38 µg/ml,

IQR 0,38-0,562.

Conteggio PMN ≥ 250 celle (n=19)

Mediana: 2,78 µg/ml,

IQR 2,05-5,37.

Utilizzando un cut-off di 0,51 µg/ml di calprotectina sono state ottenute una sensibilità del 100% e una specificità dell'84,7%, con 6,53 LR+ e 0,0 LR-. L'accuratezza complessiva dei test è risultata pari all'87,7%. Il valore NPV dei test sulla calprotectina negli asciti è risultato 100%. In questo studio, nessuno dei pazienti con conteggio PMN elevato non è stato rilevato dal test rapido (vedere Figure 3).

Interpretazione consigliata dei risultati della calprotectina:

<0,51 µg/ml: i conteggi PMN > 250 sono raramente possibili.

≥0,51 µg/ml: possono verificarsi conteggi PMN > 250.

#### CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE

**Limite di Blank (LoB): <0,044 µg/ml** di calprotectina.

**Limite di rilevabilità (LoD): <0,09 µg/ml** di calprotectina.

**Ripetibilità: 19% CV.** La ripetibilità del saggio Quantum Blue® Calprotectin è stata calcolata da 6 campioni di asciti contenenti 0,18 e 1,6 µg/g di calprotectina. Ciascun campione è stato controllato con la procedura prevista per il dosaggio in un run di 20 repliche programmate entro 10 minuti. I valori medi di tre diversi lotti delle cassette di test sono presentati in (Table 6). La ripetibilità variava fra 13,7 e 34,5% CV.

**Linearità: da 0,18 a 1,8 µg/ml.** Quattro campioni di ascite con concentrazioni di calprotectina elevate sono stati diluiti con un campione di asciti con un basso livello di calprotectina. Ciascuna diluizione è stata successivamente dosata in conformità alla procedura di dosaggio. I risultati hanno dimostrato la linearità nell'intervallo di misurazione indicato (0,18 - 1,8 µg/ml) del saggio Quantum Blue® Calprotectin Ascites per tutti i 4 campioni (R2 = 0,986 - 0,995).

**Confronto dei metodi: R<sup>2</sup> = 0,82; y = 1,001x-0,090 µg/ml**  
49 campioni di asciti rientranti nell'intervallo di misurazione indicato per il saggio Quantum Blue® Calprotectin Ascites sono stati analizzati in conformità alla procedura di dosaggio e confrontati con i valori ottenuti da BÜHLMANN Calprotectin ELISA. I dati di correlazione sono illustrati in Figure 4.

**Limite di quantificazione (LoQ): LoQ inferiore: ≤0,18 µg/ml** di calprotectina; **LoQ superiore: ≥1,8 µg/ml** di calprotectina. Il LoQ è stato stabilito con dodici campioni di asciti con concentrazioni comprese tra 0,12 e 2,46 µg/ml. I campioni sono stati misurati con 20 repliche ognuno. Il profilo di precisione risultante è mostrato in Figure 2. Il limite di quantificazione corrisponde alla concentrazione di calprotectina con un'imprecisione inferiore a 25% CV e permette pertanto una misurazione quantitativa nell'intervallo tra 0,18 (LoQ inferiore) e 1,8 µg/ml (LoQ superiore).

**INDICACIONES DE USO**

El análisis de calprotectina en líquido ascítico, LF-ASC25, Quantum Blue® es una prueba cuantitativa diseñada para la determinación de concentraciones elevadas de calprotectina en líquido ascítico humano en combinación con el lector Quantum Blue® Reader. La prueba ha sido diseñada para realizar análisis de cabecera de pacientes con cirrosis hepática u otras enfermedades que llevan asociada la acumulación de líquido ascítico en el peritoneo. Se utiliza como marcador de recuentos de leucocitos polimorfonucleares (PMN) elevados.

Sirve de ayuda para diagnosticar el desarrollo de una peritonitis bacteriana espontánea (PBE) (1).

Sólo para uso por profesionales\*.

\* Canadá, Taiwán: Para uso de laboratorio únicamente.

**PRINCIPIO DEL ANÁLISIS**

La prueba ha sido diseñada para la determinación selectiva del antígeno calprotectina (MRP8/14) mediante un inmunoensayo de tipo sándwich. La membrana de análisis lleva un recubrimiento de un anticuerpo de captura monoclonal altamente específico para calprotectina. Un segundo anticuerpo de detección monoclonal, conjugado con coloides de oro, se deposita en la almohadilla de liberación del conjugado y se libera en el sistema de reacción tras la adición de la muestra de líquido ascítico diluida. El conjugado de oro anti-calprotectina con calprotectina se une al anticuerpo anti-calprotectina que recubre una zona de la membrana de análisis (línea de test; banda de test) mientras que el resto del conjugado de oro anti-calprotectina libre se une al anticuerpo de cabra antirratón que recubre asimismo otra zona de la membrana de análisis (línea de control; banda de control). Las intensidades de señal de la línea de test y la línea de control se miden cuantitativamente con el lector Quantum Blue® Reader de BÜHLMANN.

**REACTIVOS SUMINISTRADOS Y PREPARACIÓN**

Reactivos	Cantidad	Código	Comentarios
Casete de prueba sellado al vacío en una bolsa de aluminio	25 unidades	B-CAL-TC	
Tampón de detección	1 frasco 10 ml	B-ASC-CB	Listo para usar
Tarjeta chip RFID	1 unidad	B-ASC-RCC	Tarjeta de plástico blanca

Tabla 5

**CONSERVACIÓN Y PERÍODO DE VALIDEZ DE LOS REACTIVOS**

Todos los componentes del kit permanecen estables a una temperatura de entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad impresa en las etiquetas.

**PRECAUCIONES**

**PRECAUCIONES DE SEGURIDAD**

- Ninguno de los reactivos de esta prueba tiene componentes de origen humano.
- Las muestras de pacientes se deben manejar como si pudieran transmitir infecciones, manipulándose conforme a buenas prácticas de laboratorio tomando las precauciones apropiadas.
- La solución no utilizada se debe desechar conforme a las normativas locales, estatales y federales.

**PRECAUCIONES TÉCNICAS**

**Componentes del kit**

- Todos los reactivos y las muestras para análisis deben equilibrarse a temperatura ambiente (entre 18 y 28 °C)

antes de iniciar el ensayo. Mezclar bien (mediante vórtex) los reactivos antes de usarlos.

- Los componentes no se deben utilizar más allá de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas.
- No se deben mezclar reactivos de lotes diferentes.
- Los casetes de prueba no pueden ser reutilizados.

**Procedimiento de análisis**

- Lea atentamente las instrucciones antes de llevar a cabo el análisis. El rendimiento de la prueba se verá adversamente afectado si los reactivos se diluyen o se manipulan de manera incorrecta o se conservan en condiciones distintas de las indicadas en estas instrucciones de uso.
- Utilice la tarjeta chip RFID blanca para cambiar parámetros de la prueba específicos del lote.
- El lector Quantum Blue® Reader debe ponerse en funcionamiento y programarse para el análisis de calprotectina en líquido ascítico Quantum Blue® antes de iniciar el ensayo (véase el manual del lector Quantum Blue® Reader).
- Una manipulación incorrecta de las muestras de pacientes puede dar lugar a la obtención de resultados inexactos.
- Las muestras diluidas deberán utilizarse en un plazo de varias horas y no pueden conservarse durante un tiempo más prolongado.
- Las muestras de líquido ascítico sin diluir pueden conservarse a < -20 °C durante por lo menos 3 meses.

**MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS**

- Lector Quantum Blue® Reader obtenible de BÜHLMANN (código para pedidos: BI-POCTR-ABS)
- Pipetas de precisión con puntas desechables: 10 a 200 µl
- Centrífuga para microtubos
- Tubos de Eppendorf para la dilución de las muestras
- Cronómetro
- Guantes y bata de laboratorio

**RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS**

Recoja muestras de líquido ascítico en tubos limpios y consérvelas refrigeradas a una temperatura de entre 2 y 8 °C hasta un máximo de 7 días.

Si se precisa un período de conservación más largo, congele las muestras a < -20 °C. Las muestras son así estables durante por lo menos 3 meses.

**Importante:** La muestra debe recogerse sin ningún aditivo químico o biológico en el dispositivo de recogida.

**PROCEDIMIENTO DE ENSAYO**

**Dilución de las muestras**

- Diluya las muestras de líquido ascítico antes de someterlas a análisis en proporción 1:5 con tampón de detección (p.ej. 20 µl de muestra y 80 µl de tampón de detección).
- Sométalas a vórtex.

**Procedimiento de ensayo de flujo lateral y lectura de los resultados**

En el lector Quantum Blue® Reader hay dos métodos alternativos disponibles: <ASC\_720> y <ASC\_0>. Seleccione uno de esos métodos antes de iniciar los experimentos.

Cargue los parámetros específicos del lote desde la tarjeta chip RFID.

1. Método <ASC\_720> con cronómetro interno

- Cargue el casete de prueba en el portacasetes de prueba del lector.
- Añada 60 µl de muestra de líquido ascítico diluida en el puerto de carga de muestra del casete de prueba.
- Cierre el portacasetes e inicie la medición pulsando el botón de inicio.
- El barrido se inicia automáticamente pasados 12 minutos (720 segundos).

#### 2. Método <ASC\_0> sin cronómetro interno

- Añada 60 µl de muestra de líquido ascítico diluida en el puerto de carga de muestra del casete de prueba.
- Incube la muestra durante 12 minutos +/- 1 minuto (arranque un cronómetro manualmente).
- Cargue el casete de prueba en el portacasetes de prueba del lector.
- Inicie el barrido del casete con el lector Quantum Blue® Reader pulsando el botón de inicio (<ENTER>) inmediatamente.

**Observación:** Consulte el manual del lector Quantum Blue® Reader para conocer sus funciones básicas y saber cómo ponerlo en marcha y manejarlo, especialmente cómo seleccionar métodos de prueba y cómo cargar parámetros específicos del lote desde la tarjeta chip RFID para llevar a cabo análisis de las muestras.

### CONTROL DE CALIDAD

- Si la precisión del ensayo no se correlaciona con los límites establecidos y su repetición permite excluir errores en la técnica, compruebe los aspectos siguientes: i) dispositivos de pipeteo, control de la temperatura y medición del tiempo, ii) fechas de caducidad de los reactivos, y iii) condiciones de conservación e incubación.
- Es necesario haber obtenido un resultado válido en el procedimiento de autocomprobación del lector Quantum Blue® Reader que se lleva a cabo al poner en funcionamiento el instrumento.

### VALIDACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Para la obtención de un resultado válido de la prueba, la línea de control (C) debe ser visible en cualquier caso (véanse las figuras 1A y 1B del Apéndice I). Se usa sólo como control funcional de la prueba y no puede usarse para la interpretación de la línea de test (T). Si la línea de test (T) no es detectable después de 12 minutos de incubación (figura 1A), la concentración de calprotectina presente en la muestra de líquido ascítico está por debajo del límite de detección. Si la línea de test (T) es detectable después de 12 minutos de incubación (figura 1B), el lector Quantum Blue® Reader calcula la concentración de calprotectina presente en la muestra de líquido ascítico.
- Si sólo la línea de test (T) es detectable después de 12 minutos de tiempo de incubación (figura 1C), el resultado de la prueba no es válido y el análisis de calprotectina debe repetirse utilizando otro casete de prueba.
- Si ni la línea de control (C) ni la línea de test (T) se detectan después de 12 minutos de tiempo de incubación (figura 1D), el resultado de la prueba no es válido y el análisis debe repetirse utilizando otro casete de prueba.
- Como el lector Quantum Blue® Reader permite la evaluación cuantitativa de las líneas de test (T) y control (C), se realiza una comprobación adicional de la validez de la línea de control (C). Si la intensidad de señal de la línea de control (C) es inferior a un umbral específico del

lote después de 12 minutos de tiempo de incubación, el resultado de la prueba tampoco es válido y el análisis de calprotectina en líquido ascítico debe repetirse utilizando un casete de prueba nuevo.

### ESTANDARIZACIÓN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- El ensayo de flujo lateral se calibra con la prueba BÜHLMANN según el método ELISA para calprotectina (código para pedidos: EK-CAL).
- El lector Quantum Blue® Reader de BÜHLMANN utiliza una curva estándar de calibración específica del lote para calcular la concentración de calprotectina en líquido ascítico. Esta curva estándar específica del lote se genera con los valores medianos ( $n \geq 10$  mediciones cada uno) de  $\geq 10$  puntos de calibración obtenidos de diferentes muestras de líquido ascítico con concentraciones conocidas de calprotectina. El rango de ensayo es entre 0,18 y 1,8 µg/mL.
- Para obtener mediciones cuantitativas de muestras con lecturas por encima de 1,8 µg/mL, diluya las muestras de líquido ascítico en proporción 1:50 (en lugar de 1:5) con tampón de detección y ensáyelas de nuevo siguiendo el procedimiento. La concentración medida debe multiplicarse entonces por el factor de corrección del volumen x10 para obtener el resultado final.

### LIMITACIONES

- Los reactivos incluidos en este kit están optimizados para medir calprotectina humana en muestras de líquido ascítico.
- El análisis rápido de calprotectina en líquido ascítico Quantum Blue® de BÜHLMANN se puede utilizar para obtener resultados iniciales previos a un recuento de PMN. No se debe utilizar en lugar del recuento de PMN pero puede ayudar a establecer el diagnóstico. No obstante, un resultado negativo no excluye la progresión de la enfermedad hacia una peritonitis bacteriana espontánea (PBE).
- Los resultados obtenidos con el análisis rápido de calprotectina en líquido ascítico Quantum Blue® de BÜHLMANN deberían confirmarse obteniendo otros biomarcadores (por ejemplo, un recuento de células polimorfonucleares PMN en líquido ascítico) y la anamnesis del paciente antes de tomar ninguna decisión relativa a tratamientos o intervenciones de carácter médico.
- Las muestras de líquido ascítico contaminadas con eritrocitos o hemoglobina pueden dar resultados falsos positivos, por lo que no deben utilizarse.

### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

El análisis rápido de calprotectina en líquido ascítico ayuda a establecer rápidamente una primera estimación de si cabe esperar un recuento de PMN elevado y por tanto puede ser útil para el médico.

Un estudio clínico piloto (1) en el que se utilizó el análisis rápido Quantum Blue® de BÜHLMANN mostró que resulta útil para predecir niveles.

De acuerdo con los datos mostrados por Burri et al. (1), recomendamos los siguientes intervalos de referencia para la interpretación de los resultados de calprotectina:

Recuento de PMN  $\leq$  250 células (n=111):

Mediana: 0,38  $\mu\text{g/mL}$ ,  
IQR 0,38-0,562.

Recuento de PMN  $\geq$  250 células (n=19)

Mediana: 2,78  $\mu\text{g/mL}$ ,  
IQR 2,05-5,37.

A un valor de corte de 0,51  $\mu\text{g/mL}$  de calprotectina, se alcanzaron una sensibilidad del 100% y una especificidad del 84,7%, con 6,53 LR+ y 0,0 LR-. La exactitud global del análisis fue del 87,7%. El valor predictivo negativo del análisis de calprotectina en líquido ascítico fue del 100%. En este estudio, ninguno de los pacientes con recuento de PMN elevado hubiera pasado desapercibido con la utilización del análisis rápido (véase la Figure 3).

Interpretación recomendada de los resultados de calprotectina:

$<0,51 \mu\text{g/mL}$ : Sería raro que hubiera recuentos de PMN  $> 250$ .

$\geq 0,51 \mu\text{g/mL}$ : Podría haber recuentos de PMN  $> 250$ .

### CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

**Límite para el blanco (LoB):  $<0,044 \mu\text{g/mL}$**  de calprotectina.

**Límite de detección (LoD):  $<0,09 \mu\text{g/mL}$**  de calprotectina.

**Repetibilidad: 19% CV.** La repetibilidad del análisis de calprotectina Quantum Blue<sup>®</sup> se calculó a partir de 6 muestras de líquido ascítico que contenían 0,18 y 1,6  $\mu\text{g/g}$  de calprotectina. Cada muestra se analizó según el procedimiento de ensayo en una tanda de lectura de 20 réplicas configurada en un intervalo de 10 minutos. Los valores medios de tres lotes diferentes de casetes de prueba se presentan en la Table 6. La repetibilidad osciló entre 13,7 y 34,5% CV.

**Linealidad: De 0,18 a 1,8  $\mu\text{g/mL}$ .** Cuatro muestras de líquido ascítico con concentraciones de calprotectina elevadas se diluyeron con otra muestra de líquido ascítico con un nivel bajo de calprotectina. Cada una de esas diluciones se analizó posteriormente según el procedimiento de ensayo. Los resultados mostraron linealidad dentro del rango de medición indicado de 0,18 a 1,8  $\mu\text{g/mL}$  del análisis de calprotectina en líquido ascítico Quantum Blue<sup>®</sup> para la totalidad de las 4 muestras ( $R^2 = 0,986 - 0,995$ ).

**Comparación de métodos:  $R^2 = 0,82$ ;  $y=1,001x-0,090 \mu\text{g/mL}$**

Se analizaron 49 muestras de líquido ascítico con valores dentro del rango de medición indicado del análisis de calprotectina en líquido ascítico Quantum Blue<sup>®</sup> según el procedimiento de ensayo del análisis y se compararon los resultados con los valores obtenidos con la prueba BÜHLMANN según el método ELISA para calprotectina. Los datos de correlación se ilustran en Figure 4

**Límite de cuantificación (LoQ): LoQ inferior:  $\leq 0,18 \mu\text{g/mL}$**  de calprotectina; **LoQ superior:  $\geq 1,8 \mu\text{g/mL}$**  de calprotectina. El LoQ se ha establecido con doce muestras de líquido ascítico con concentraciones de entre 0,12 y 2,46  $\mu\text{g/mL}$ . Las muestras se midieron con 20 réplicas cada una. En la Figure 2 se muestra el perfil de precisión resultante. El límite de cuantificación corresponde a la concentración de calprotectina con una imprecisión inferior a 25% CV, permitiendo mediciones cuantitativas en el rango de 0,18 (LoQ inferior) a 1,8  $\mu\text{g/mL}$  (LoQ superior).

Figure 1

Test Results

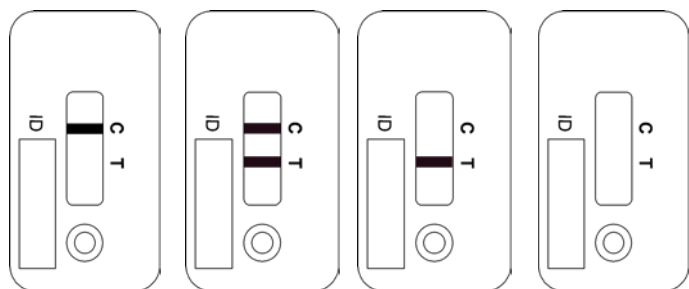


Figure 1A

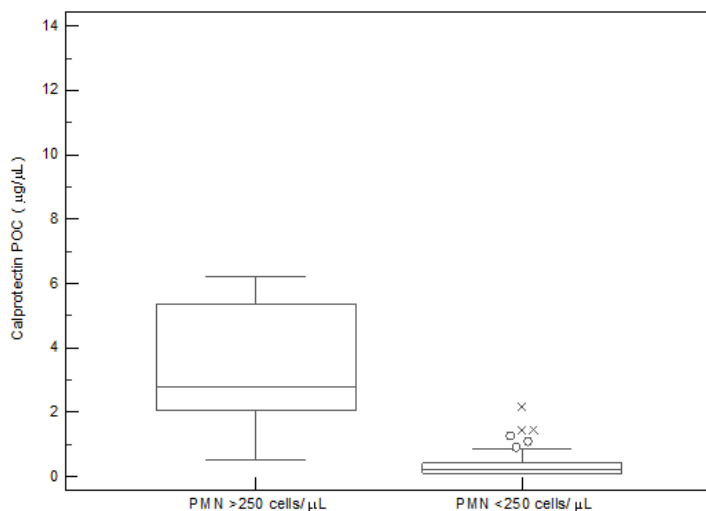
Figure 1B

Figure 1C

Figure 1D

Figure 3

Calprotectin in ascites and PMN count



Box Plot: Calprotectin levels in ascites, classified according to the patients PMN count: >250 or < 250 cells/ml.

Table 6

Precision (Repeatability)

Sample	Concentration on mean [µg/mL]	Repeatability [CV]	Total Precision [CV]
ASC1	0.19	16.7%	18.8%
ASC2	0.32	12.9%	13.7%
ASC3	0.53	11.1%	18.8%
ASC4	0.75	21.0%	23.7%
ASC5	1.28	26.2%	26.2%
ASC6	1.60	32.7%	34.5%
<b>Mean</b>		<b>20.1%</b>	<b>22.6%</b>

Figure 2

Precision Profile

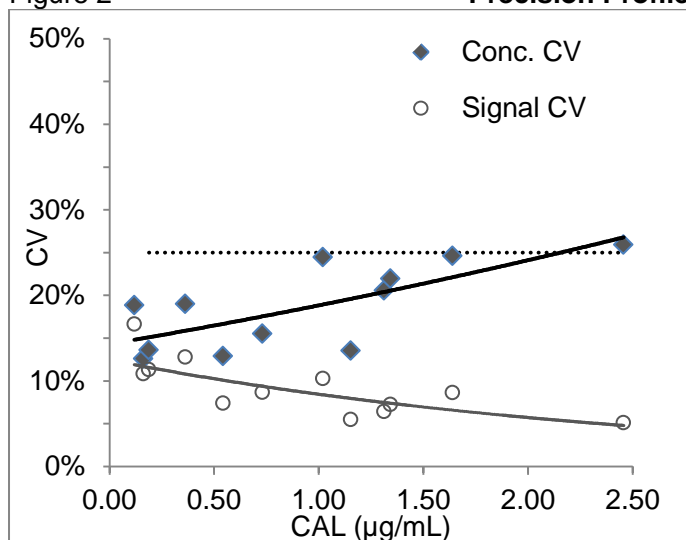
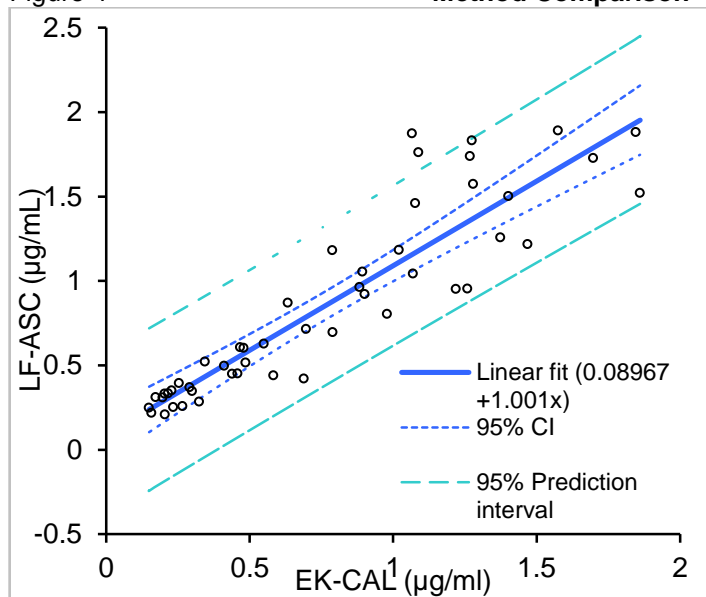


Figure 4

Method Comparison













## REFERENCES/ LITERATURREFERENZEN/ REFERENCES/ RIFERIMENTI/ REFERENCIAS

1. Burri E. et al: *Measurement of calprotectin in ascitic fluid to identify elevated polymorphonuclear cell count*; World J. Gastroenterol., 2013 April 7; 19(13):2028-2036
2. Homann C. et al.: *Ascites fluid and plasma calprotectin concentrations in liver disease*. Scand J Gastroenterol 2003; **38**(4): 415-420.
3. Erwin Biecker et al.: *Diagnosis and therapy of ascites in liver cirrhosis*; World J Gastroenterol 2011 March 14; 17(10): 1237-1248.
4. Garcia-Tsao G. *Current management of the complications of cirrhosis and portal hypertension: variceal hemorrhage, ascites, and spontaneous bacterial peritonitis*. Gastroenterology 2001; 120(3): 726-748
5. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. *Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies*. J Hepatol 2006; 44(1): 217-231
6. Rimola A, et al. *Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document*. International Ascites Club. J Hepatol 2000; 32(1): 142-153.
7. Runyon BA. *Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update*. Hepatology 2009; **49**(6): 2087-2107.
8. Gines P et al.: *EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis*. J Hepatol 2010; **53**(3): 397-417
9. Ebanna et al.: *Fluid level of Calprotectin in chronic liver disease - Malignant and Non Malignant*; Bull. Alex. Fac. Med. 44 No.3, 2008

## APPENDIX III

## SYMBOLS/ SYMBOLE/ SYMBOLES/ SIMBOLI/ SIMBOLOS

Symbol	Explanation
	Use By Verwendbar bis Utiliser jusqu'au Utilizzare entro Fecha de caducidad
	Catalogue number Bestellnummer Référence du catalogue Numero di catalogo Número de catálogo
	Batch code Chargenbezeichnung Code du lot Codice del lotto Codigo de lote
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device <i>In Vitro</i> Diagnostikum Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Contains sufficient for <n> tests Ausreichend für "n" Ansätze Contenu suffisant pour „n“ tests Contenuto sufficiente per „n“ saggi Contenido suficiente para <n> ensayos
	Consult Instructions for Use- Gebrauchsanweisung beachten Consulter le mode d'emploi Consultare le istruzioni per l'uso Consulte las instrucciones de uso

Symbol	Explanation
	Temperature limitation Zulässiger Temperaturbereich Limites de température Limiti di temperatura Limite de temperatura
	Test Cassette Test Kassette Cartouche de testi Card di rilevazione Cartucho de prueba
	Chase Buffer Lauf-Puffer Tampon de chase Tampone di chase Tampón de chase
	RFID Chip card RFID Chipkarte RFID Carte à puce RFID Carta chip RFID Tarjeta chip

