

BÜHLMANN sCAL[®] turbo

Turbidimetrischer Test auf Serum-Calprotectin

Reagenzien Kit

B-KSCAL-RSET

Version A1

Für den Gebrauch in der *In-vitro*-Diagnostik



Hersteller

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch
Schweiz
Tel.: +41 61 487 1212
Fax: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

VERWENDUNGSZWECK

Der BÜHLMANN sCAL[®] turbo ist ein *in-vitro*-Diagnosetest, der für die quantitative Bestimmung von Calprotectin (MRP8/14) in humanen Serumproben ausgelegt ist. Calprotectin-Spiegel in Serum können verwendet werden, um den Entzündungsstatus von Patienten zu ermitteln. Der Test wird in Kombination mit klinisch-chemischen Analysegeräten verwendet

Nur für den Laborgebrauch.

TESTPRINZIP

Der BÜHLMANN sCAL® turbo Test ist ein partikelverstärkter turbimetrischer Immuntest (PETIA), der die Quantifizierung von Calprotectin in humanen Serumproben auf klinisch-chemischen Analysegeräten ermöglicht. Die Proben können ohne zusätzliche Verdünnungsstufen gemessen werden. Die Proben werden mit Reaktionspuffer inkubiert und mit Polystyrol-Nanopartikeln, die mit Calprotectin-spezifischen Antikörpern (Immunpartikel) beschichtet sind, vermischt. Das in den Proben verfügbare Calprotectin vermittelt die Verklumpung der Immunpartikel. Die Trübheit der Probe, die mittels Lichtabsorption gemessen wird, erhöht sich mit der Bildung des Calprotectin-Immunpartikel-Komplexes und ist proportional zur Calprotectinkonzentration im Serum. Mit der gemessenen Lichtabsorption kann die Calprotectinkonzentration über Interpolation mit einer erstellten Kalibrierkurve quantifiziert werden.

MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	Menge	Code	Vorbereitung
Reaktionspuffer (R1) HEPES-gepufferte Kochsalzlösung	1 Fläschchen 24 mL	B-KSCAL-R1	Gebrauchsfertig
Immunpartikel (R2) Polystyrolkugelchen, beschichtet mit polyklonalen Antikörpern gegen humanes Calprotectin	1 Fläschchen 7.3 mL	B-KSCAL-R2	Gebrauchsfertig

Tabelle 1: Mitgelieferte Reagenzien

LAGERUNG UND HALTBARKEIT DER REAGENZIEN

Nicht geöffnete Reagenzien
Bei 2-8 °C aufbewahren. Das Kit nicht über das Verfallsdatum (siehe Etikett) hinaus verwenden.
Stabilität auf dem Analysegerät für die klinische Chemie
Bis zu 55 Tage bei 2-15 °C aufbewahren

Tabelle 2: Lagerung und Stabilität der Reagenzien

Reagenzien nicht einfrieren!

ERFORDERLICHE NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

Reagenzien	Menge	Code
BÜHLMANN sCAL® turbo Kalibrator-Kit Kalibratoren 1-6 zum Erstellen einer 6-Punkt-Kalibrierkurve	1 x 6 Fläschchen 1 mL/ Fläschchen	B-KSCAL-CASET
BÜHLMANN sCAL® turbo Kontrollen-Kit Kontrollen, Niedrig und Hoch	3 x 2 Fläschchen 1 mL/ Fläschchen	B-KSCAL-CONSET

Tabelle 3: Erforderliche Materialien, nicht im Lieferumfang enthalten

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Dieser Test ist nur für den *In-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Der Test sollte durch qualifiziertes Personal gemäss Gute Laborpraxis (GLP) gehandhabt werden.
- Die Immunpartikel enthalten potenziell infektiöse Substanzen tierischer Herkunft und sollten mit Vorsicht gehandhabt werden. Die Entsorgung von verworfenen Materialien muss gemäss den lokalen Vorschriften erfolgen.
- R2 enthält Polystyrol-Nanopartikel.
- Ungebrauchte Lösungen sollten gemäss den gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Technische Vorsichtsmassnahmen

- Reagenzien R1 und R2 verschiedener Chargen dürfen nicht gemischt werden. Die Deckel der Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Das Ausmass der Probenverschleppung hängt vom klinisch-chemischen Analysegerät ab. Für weitere Informationen siehe spezifisches Applikationsprotokoll für das Analysegerät.
- Zeitweise eingefrorenes Reagenz R2 kann nicht mehr verwendet werden. Das Einfrieren von R2 wird zu einer verringerten Empfindlichkeit und Präzision bei Niedrigspiegel-Proben und im schlimmsten Fall zu verringerten Messkonzentrationen führen.
- Vor der Messung bitte die Reagenzien, Kontrollen, Kalibratoren und Proben für 30 Minuten bei Raumtemperatur äquilibrieren, bevor die Analyse begonnen wird.

- Vor der Durchführung des Tests muss sichergestellt werden, dass die Proben keine Blasen enthalten.
- Die Verdunstung der Kalibratoren und Kontrollen auf dem Analysegerät kann zu falschen Ergebnissen führen. Der Test muss unmittelbar nach dem Beladen des Analysegeräts durchgeführt werden.

PROBENENTNAHME UND LAGERUNG

Blut in Röhrcchen ohne Zusatzstoffe oder in Gel-Separator-Röhrcchen gemäss den Anweisungen des Herstellers sammeln und eine Hämolyse vermeiden. Das Venenpunktionröhrcchen bei 1800 x g für 15 Minuten bei Raumtemperatur (18-28 °C) zentrifugieren und **das Serum innerhalb von 6 Stunden** nach Blutentnahme in Röhrcchen ohne Zusatzstoffe **überführen**. Das Überführen (Verschleppung) von Blutzellen vermeiden. Die Proben nicht Hitze-inaktivieren.

Transport und Lagerung der Proben

Die getrennten Serumproben können bei Umgebungstemperaturen von bis zu 28 °C für 15 Tage gelagert werden. Die getrennten Proben können bei 2-8 °C für bis zu 16 Tage gelagert werden. Bei längerer Lagerung die unverdünnten Serumproben bei ≤ -20 °C aufbewahren. Diese Proben sind bei ≤ -20 °C mindestens 1 Monat stabil. Mehr als 6 Frier-Tau-Zyklen werden nicht empfohlen.

TESTDURCHFÜHRUNG

Applikationsprotokolle / Installation des Tests

Die Testdurchführungen für den BÜHLMANN sCAL[®] turbo wurden auf mehreren klinisch-chemischen Analysegeräten etabliert. Validierte Applikationsprotokolle, die die Installation und Analyse auf den jeweiligen Geräten beschreiben, sind bei BÜHLMANN auf Anfrage erhältlich. Entsprechende Gerätehandbücher müssen zum Einrichten des Geräts, der Wartung, der Bedienung und für Vorsichtsmassnahmen herangezogen werden.

Vorbereiten der Reagenzien

Die bereitgestellten Reagenzien sind gebrauchsfertig. Vor dem Beladen des Geräts die Reagenzien vorsichtig mischen. Die im Lieferumfang enthaltenen Reagenzien in gerätespezifische Flaschen überführen.

Erstellung der Kalibrierkurve

Der BÜHLMANN sCAL[®] turbo Kalibrator-Kit wird zum Erstellen einer 6-Punkt-Kalibrierkurve gemäss dem Gerätehandbuch verwendet. Kalibratorwerte sind chargenspezifisch. Für jede neue Kalibrator- und Reagenzcharge muss erneut eine Kalibrierung durchgeführt werden. Ansonsten sollte die Kalibrierung alle 1 bis 2 Monate gemäss des gerätespezifischen Applikationsprotokolls vorgenommen werden. Die Kalibratorwerte können Sie dem QC-Datenblatt entnehmen. Falls die Kalibrierung nicht fehlerfrei durchgeführt werden kann, wenden Sie sich bitte an den Support von BÜHLMANN.

QC-Kontrollen

Das BÜHLMANN sCAL[®] turbo Kontrollen-Kit muss täglich vor der Messung der Patientenserumproben geprüft werden, um die Kalibrierkurve zu validieren. Die Kontrollen haben festgelegte Wertebereiche, die auf dem mit jeder Charge des BÜHLMANN sCAL[®] turbo Kontrollen-Kits mitgelieferten QC-Datenblatt angegeben sind. Die Kontrollmessungen müssen innerhalb des angegebenen Wertebereichs liegen, um gültige Ergebnisse für die Serumproben der Patienten zu erhalten.

Wenn die Kontrollwerte nicht valide sind, ist die Messung mit frischen Kontrollen zu wiederholen. Wenn die Kontrollwerte weiterhin nicht valide sind, bitte den Test erneut kalibrieren. Nehmen Sie Kontakt mit dem Support von BÜHLMANN auf, falls gültige Kontrollwerte nicht reproduzierbar sind.

Messung der Serumproben der Patienten

Nachdem die Kalibrierkurve erstellt und mit den Kontrollen validiert ist, können die Patientenserumproben gemessen werden. Die Messung der Patientenserumproben ist gemäss dem Applikationsprotokoll und dem Gerätehandbuch durchzuführen.

Ergebnisse

Das Analysegerät berechnet die Ergebnisse automatisch und gibt sie in µg/mL an.

STANDARDISIERUNG

Der BÜHLMANN sCAL[®] turbo wurde gegen ein internes Referenzmaterial standardisiert (gereinigtes, natives Calprotectin). Die Kalibrator- und Kontrollwerte werden gemäss einem Werteübertragungsprotokoll zugewiesen (Ref. 1, 2), um eine metrologische Rückführbarkeit zu gewährleisten.

Der analytische Messintervall des BÜHLMANN sCAL® turbo, der auf dem Mindray BS-480 Gerät ermittelt wurde, beträgt 0,23-15,0 µg/mL.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Lipämische und hämolytische Proben weisen Störeinflüsse auf. Weitere Informationen sind im Kapitel „Störsubstanzen“ aufgeführt. Lipämische Proben lassen sich vermeiden, indem die Patienten gebeten werden, für mindestens 12 Stunden vor Abnahme der Probe zu fasten.
- Die Testergebnisse sollten zusammen mit Informationen, die aus der klinischen Beurteilung des Patienten und anderer diagnostischer Verfahren verfügbar sind, interpretiert werden.

REFERENZINTERVALL

Der Referenzintervall des BÜHLMANN sCAL® turbo Test wurde gemäss CLSI C28-A3 mit 160 Serumproben von selbsterklärt gesunden Personen, erwachsene Männer und Frauen im Alter von 18 bis 83 Jahren, ermittelt. Die Proben wurde entweder in Röhrchen ohne Zusatzstoffe oder in Gel-Separator-Röhrchen gesammelt und innerhalb von 3,4 Stunden nach der Entnahme bearbeitet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Matrix	N	95 % Referenzgrenze* [µg/mL]	2,5 – 97,5 Perzentile [µg/mL]	Referenzintervall	
				90% Konfidenzintervall Untere Referenzgrenze	Obere Referenzgrenze
Serum (Röhrchen ohne Zusatzstoffe)	160	1.77	0.24 – 2.01	0.11 – 0.31	1.78 – 2.74
Serum (Gel-Separator-Röhrchen)	160	1.10	0.19 – 1.80	0.06 – 0.23	1.10 – 2.07

Tabelle 4: Referenzintervall des BÜHLMANN sCAL turbo®; *einseitig

LEISTUNGSMERKMALE

Die dargestellten Leistungsmerkmale wurden auf einem Mindray BS-480 Gerät ermittelt, sofern nicht anders angegeben. Für die Leistungsmerkmale auf anderen klinisch-chemischen Analysegeräten, siehe die speziellen Anwendungshinweise für das Analysegerät.

Methodenvergleich:

BÜHLMANN sCAL® turbo vs GCAL® Test (Gentian AS)

Die Methodenvergleichsstudie wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP09-A3 durchgeführt. Einhundertelf (111) Proben wurden mithilfe von 3 Chargen des BÜHLMANN sCAL® turbo über 3 Tage gemessen. Die durchschnittlichen

Referenzwerte bei Calprotectinkonzentrationen im Messbereich von 0,5 – 10,3 µg/mL wurden mit 1 Charge des GCAL® Tests auf dem Roche cobas c501 ermittelt. Die Verzerrung wurde mit Hilfe der linearen Regression nach Passing-Bablok und der Bland-Altman-Analyse bestimmt.

Bland-Altman-Analyse			Regressionsanalyse nach Passing-Bablok		
Durchschnittliche Verzerrung (95% KI)	Untere LoA (95% KI)	Obere LoA (95% KI)	Steigung (95% KI)	Schnittpunkt [µg/mL] (95% KI)	r
12.5% (9.8%, 15.1%)	-15.2% (-19.8%, - 10.7%)	40.1% (35.6%, 44.7%)	1.16 (1.13, 1.20)	-0.065 (-0.112, -0.022)	0.990

Reproduzierbarkeit: 2,9 – 11,1% VK

Die Reproduzierbarkeit wurde gemäss CLSI-Leitlinie EP05-A3 mit dem Studiendesign 3 Geräte/Chargen/Bediener x 5 Tage x 5 Replikate und einem Akzeptanzkriterium von 15% VK ermittelt. Die Tests wurden auf Roche cobas c501, Beckman Coulter AU480 und Mindray BS-480 Geräten durchgeführt. Vier Serumproben wurden bestimmt.

#	Mittelwert [µg/mL]	n	Intra-Test		Zwischen verschiedenen Tagen		Zwischen verschiedenen Chargen/ Gerät/Bediener		Gesamt-	
			SD [µg/mL]	%VK	SD [µg/mL]	%VK	SD [µg/mL]	%VK	SD [µg/mL]	%VK
1	0.62	75	0.03	5.2	0.01	2.0	0.03	4.6	0.04	7.2
2	1.43	75	0.02	1.5	0.04	2.8	0.09	6.4	0.10	7.2
3	4.03	75	0.06	1.4	0.06	1.5	0.44	10.9	0.45	11.1
4	10.44	75	0.09	0.9	0.12	1.1	0.27	2.5	0.31	2.9

Wiederholbarkeit: 0,5 – 3,9% VK

Laborinterne Präzision: 0,7 – 5,1% VK

Die Wiederholbarkeit und laborinterne Präzision wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP05-A3 mit dem standardisierten Studiendesign 20 Tage x 2 Läufe x 2 Replikate ermittelt. Vier Serumproben (Nr. 1-4) mit Calprotectinkonzentrationen im analytischen Messintervall (AMI) (0,66 – 10,41 µg/mL) des Tests und drei Serumproben (Nr. 5-7) mit Konzentrationen im erweiterten Messintervall (EMI) (20,62 – 166,5 µg/mL) wurden getestet.

#	Mittelwert [µg/mL]	n	Wiederholbarkeit		Zwischen verschiedenen Tests		Zwischen verschiedenen Tagen		Laborintern	
			SD [µg/mL]	%VK	SD [µg/mL]	%VK	SD [µg/mL]	%VK	SD [µg/mL]	%VK
1	0.66	80	0.03	3.9	0.02	3.2	0.00	0.0	0.03	5.1
2	1.47	80	0.01	0.9	0.01	0.7	0.00	0.0	0.02	1.2
3	4.16	80	0.04	0.9	0.01	0.3	0.00	0.0	0.04	0.9
4	10.41	80	0.05	0.5	0.05	0.5	0.00	0.0	0.07	0.7
5	20.63	80	0.27	1.3	0.31	1.5	0.19	0.9	0.46	2.2
6	90.88	80	0.75	0.8	0.92	1.0	0.46	0.5	1.27	1.4
7	166.47	80	1.49	0.9	1.92	1.2	0.00	0.0	2.43	1.5

Erweiterter Messintervall (EMI): 15,0 – 225 µg/mL

Der erweiterte Messintervall (EMI) des BÜHLMANN sCAL® turbo wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP34 bestimmt. Proben mit bekannter Konzentration innerhalb des EMI wurden von einem Bediener auf 2 Geräten und 2 verschiedenen Reagenzienchargen mit dem empfohlenen Verdünnungsfaktor 1:15 mit entmineralisiertem Wasser verdünnt. Es wurden vier Replikate pro Verdünnung auf jedem Gerät und bei jeder Charge gemessen. Eine maximale Verdünnungswiederfindung von $\pm 20\%$ war zugelassen.

Wiederfindung: 92,0 – 112,8%

Sechs Serumproben mit Calprotectinspiegel im Bereich zwischen 0,38 µg/mL und 8,8 µg/mL wurden mit 1,5 µg/mL Calprotectin in Kalibriermaterial gespikt. Das Spiking wurde mit 10% des Probenvolumens durchgeführt. Die „Baseline“ Proben wurden mit dem entsprechenden Volumen der analytfreien Probe gespikt. Die „Baseline“ und „Baseline + Spike“ Proben wurden in vier Replikaten gemessen.

Probenverschleppung

Die Probenverschleppung wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP10-A3 ermittelt. Auf dem Mindray BS-480 Gerät wurde mit dem BÜHLMANN sCAL® turbo Test keine statistisch signifikante Verschleppung nachgewiesen.

Nachweisgrenze (LoD): 0,11 µg/mL

Die LoD wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP17-A2 mittels einer herkömmlichen Methode, parametrischen Analyse und einer **LoB von 0,07 µg/mL** ermittelt, die mittels einer nichtparametrischen Analyse bestimmt wurde.

Untere Bestimmungsgrenze (LoQ): 0,23 µg/mL

Die LoQ wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP17-A2 basierend auf 60 Bestimmungen und einem Präzisionsziel von 20% VK ermittelt.

Linearitätsbereich: 0,16 – 15,1 µg/mL

Der Linearitätsbereich des BÜHLMANN sCAL® turbo wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP06-Ed2 bestimmt. Für Serum-Calprotectin wurde nachgewiesen, dass die Methode von 0,16 bis 15,1 µg/mL innerhalb einer zugelassenen Abweichung von $\pm 20\%$ / $\pm 0,2$ µg/mL in diesem Intervall linear ist.

Hochdosis Hook-Effekt

Proben mit Calprotectinkonzentrationen von bis zu 91,2 µg/mL wurden mit drei (3) Reagenzienchargen auf dem Mindray BS-480 ohne Begrenzung der oberen Bestimmungsgrenze (ULoQ) des Tests gemessen.

Störsubstanzen:

Die Anfälligkeit des BÜHLMANN sCAL® turbo Tests für orale und injizierbare Pharmazeutika sowie endogene Substanzen wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP07-A3 beurteilt. Eine Verzerrung der Ergebnisse von mehr als 20% wurde als Störeinfluss betrachtet.

Endogene Substanzen wie Hämoglobin, Intralipid, Rheumafaktoren und hämolysierte Proben hatten einen Störeinfluss. Proben mit Rheumafaktoren von bis zu 88,3 E/mL können korrekt gemessen werden. Über diesem Bereich treten falsche positive Calprotectin-Ergebnisse auf. Proben mit Intralipid bis zu 9,2 mg/mL können gemessen werden. Über dieser Konzentration werden falsche negative Calprotectin-Ergebnisse gemessen.

Mit den folgenden Substanzen wurde bis zu den aufgeführten Konzentrationen kein Störeinfluss nachgewiesen: Ibuprofen (0,22 mg/mL), Naproxen (0,36 mg/mL), Methotrexat (1,36 mg/mL), Adalimumab (Humira®) (36 µg/mL), Infliximab (Remicade®) (277 µg/mL), Tofacitinib (116 ng/mL), Prednison (99 ng/mL), Prednisolon (99 ng/mL), Dexamethason (Fortecortin®) (12 µg/mL), Ciprofloxacin (12 µg/mL), Lansoprazol (1,0 µg/mL), Triglyzerid (9,2 mg/mL), konjugiertes Bilirubin (0,40 mg/mL), nicht konjugiertes Bbilirubin (0,40 mg/mL) und Rheumafaktoren (88,3 U/mL).

REFERENZEN

1. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2001; 39, 1110-22
2. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2008; 46, 1470-9
3. Ometto F, et al.: Exp Biol Med 2017; 242(8): 859–873
4. Jarlborg M, et al.: Arthritis Res Ther. 2020; 22(1):105
5. La C, et al. RMD Open 2021;7:e001646

invalid

MELDUNG VON ZWISCHENFÄLLEN IN EU-MITGLIEDSSTAATEN

Falls sich ein ernsthafter Zwischenfall in Zusammenhang mit diesem Produkt ereignet hat, bitte melden Sie dies umgehend dem Hersteller und der zuständigen Behörde Ihres Mitgliedsstaates.

SCHÄDEN BEIM VERSAND

Bitte informieren Sie Ihren Vertriebspartner, falls dieses Produkt beim Empfang beschädigt war.

REACH

Gemäss CLP-Verordnung (EG) 1272/2008 und der Richtlinie EG 1907/2006 (REACH) benötigen keine der Materialien und Reagenzien im Kit ein Sicherheitsdatenblatt (MSDS).

invalid

SYMBOLE

BÜHLMANN verwendet Symbole und Zeichen, die in ISO 15223-1 aufgeführt und beschrieben sind.

invalid

