



Quantum Blue[®] sCAL

Quantitative Lateral Flow Assay

LF-MRP25

25 tests

Revision date: 2016-11-23

ENGLISH

INTENDED USE

The Quantum Blue® sCAL lateral flow assay is an immunoassay designed for the quantitative determination of MRP8/14 in human serum in combination with the Quantum Blue® Reader.

MRP8/14 serum levels can be used to determine the inflammatory status of patients with chronic inflammatory diseases such as Rheumatoid Arthritis (RA) e.g. to monitor the treatment efficiency of drugs such as anti-TNF alpha antibodies.

For professional use only.

*Canada, Taiwan: For laboratory use only.

PRINCIPLE OF THE ASSAY

The test is designed for the selective measurement of MRP8/14 antigen by sandwich immunoassay. A monoclonal capture antibody which is highly specific for MRP8/14 is lined onto the 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 serum. The antibody-gold-conjugate reacts with the MRP8/14 of the sample and then binds to the anti-MRP8/14 antibody which is lined onto the membrane (Test Line). The remaining free MRP8/14-gold-conjugate binds to the goat anti-mouse antibody which is lined onto the membrane (Control Line). The signal intensities of the Test Line and the Control Line, respectively, are measured quantitatively by the Quantum Blue® Reader.

REAGENTS SUPPLIED AND PREPARATION

Reagents	Quantity	Code	Comments
Test Cassette	25 pieces	B-LFCALUS-TC	In vacuum-sealed foil bag pouch
Chase Buffer	1 bottle 10 mL	B-LFMRP-CB	Ready to use
Controls Low* / High*	2 vials 0.5 mL/vials	B-LFMRP- CONSET	Ready to use
RFID Chip Card	1 piece	B-LFMRP-RCC	White plastic card

Table 1

* The controls contain lot specific amounts of MRP8/14. Refer to the additional QC data sheet for actual concentrations.

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 practice (GLP) using appropriate precautions.

- Unused solution should be discarded 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 (vortex) the reagents well before use.
- The chase buffer might show flocculation which does not have any influence on the quality of the test and the test result.
- 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.

Assay Procedure

- Read carefully the instructions prior to carrying out the assay. Assay 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® sCAL 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 serum samples can be stored at ≤ -20 °C for at least 2 years.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Quantum Blue® Reader available at BÜHLMANN (order code: BI-POCTR-ABS).
- Timer
- Precision pipettes with disposable tips: 1-10 μ L and 100-1000 μ L
- Centrifuge for micro tubes
- Disposable polystyrene or polypropylene tubes for dilution of samples
- Gloves and laboratory coat

SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

Collect blood into plain venipuncture tubes without any additives, avoid hemolysis, and let the serum clot at room temperature (18-28 °C) for at least 20 and for up to 60 minutes. Centrifuge at room temperature and at $\sim 2'000$ g for 15 minutes. Decant the serum. Serum samples can be stored refrigerated at 2-8 °C for up to 1 month. For longer storage, keep serum samples at ≤ -20 °C. The samples are stable for at least 2 years at ≤ -20 °C.

ASSAY PROCEDURE

1. Dilution of Serum Samples

- Prior to the measurement, dilute serum samples 1:10 with chase buffer (B-LFMRP-CB) (e.g. mix 20 µL sample with 180 µL chase buffer) in a test tube.
- Mix well (e.g. using a vortex mixer).

2. Lateral Flow Assay Procedure and Readout

- Load the lot specific parameters from the RFID chip card.
- Add 60 µL of diluted sample onto the sample loading port of the Test Cassette.
- Incubate for 12 minutes (set a timer manually).
- Load the Test Cassette onto the Test Cassette holder of the reader.
- Scan the Test Cassette with the Quantum Blue® Reader by pressing the start (“ENTER”) button immediately.
- For Low / High Controls: Repeat step 2 using 60 µL of Control instead of diluted serum.

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, exclude errors in technique, and check the following issues: i) pipets, thermometers and timers, ii) expiration date of reagents, 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 (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 the incubation (Figure 1A), the concentration of MRP8/14 present in the sample is below the detection limit. If a Test Line (T) is detectable after the incubation (Figure 1B), the MRP8/14 concentration in the sample is calculated by the Quantum Blue® Reader.
- If only the Test Line (T) is detectable after the incubation (Figure 1C), the test result is invalid and the MRP8/14 assay has to be repeated using another Test Cassette.
- If neither the Control Line (C) nor the Test Line (T) are detectable after the incubation (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 the incubation

time, the test result is also invalid and the MRP8/14 assay has to be repeated using another Test Cassette.

STANDARDIZATION AND INTERPRETATION OF RESULTS

- The lateral flow assay is calibrated against the BÜHLMANN sCAL ELISA (order code: EK-MRP8/14).
- The Quantum Blue® Reader uses a lot-specific standard curve to calculate the MRP8/14 concentration. The assay range is defined being between 0.5 and 10 µg/mL.
- For quantitative measurements of samples reading above 10 µg/mL dilute the serum samples additionally 1:10 (total 1:100) and test it again according to the assay procedure. The measured concentration must then be multiplied by the reciprocal volume factor to obtain the final result.

LIMITATIONS

- The reagents supplied with this kit are optimized to measure human MRP8/14 in serum samples.
- MRP8/14 results can be used supplementary to other information in order to establish the diagnosis.

RESULTS & INTERPRETATION

The Quantum Blue® sCAL test helps quickly establish a first estimate of the acute inflammatory status of the patient.

The following reference values might help characterize the inflammatory status of a patient. Patients with RA* (n = 20) show mean levels of serum MRP8/14 of 6.25 µg/mL (SD: 3.43 µg/mL) whereas patients responding to treatment (n = 20) showed mean levels of 2.92 µg/mL (SD: 1.45 µg/mL) (ref 1,2).

MRP8/14 normal values were determined using serum samples from apparently healthy and asymptomatic blood donors (adult men and woman at the age 18-70 years). 122 serum samples were analysed by EK-MRP8/14 due to the good correlation ($R^2 = 0.94$, slope = 0.93) with the LF-MRP25.

The MRP8/14 levels of patients with RA were significantly higher compared to healthy controls (n = 122) with a median serum MRP8/14 concentration of 1.16 µg/mL and the 95th percentile at a concentration of 2.92 µg/mL.

*RA (Rheumatoid arthritis)

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Limit of Blank (LoB): 0.25 µg/mL MRP8/14

Limit of Detection (LoD): 0.42 µg/mL MRP8/14

Repeatability: 17.2 % CV. The repeatability of the Quantum Blue® sCAL assay was calculated from 10 samples within 20 days. Each sample was tested in duplicates twice a day according to the assay procedure. The repeatability varied between 11.9 and 25.4 %.

Linearity: 0.5 to 10 µg/mL. Four serum samples with elevated MRP8/14 concentrations were diluted with chase buffer, B-LFMRP-CB. Each dilution was subsequently assayed according to the assay procedure. The results showed linearity within the indicated measuring range of 0.5 to 10 µg/mL of the Quantum Blue® sCAL assay.

High Dose Hook Effect: A high dose hook effect was not observed up to a concentration of 146 µg/mL MRP8/14.

Serum Indices: No interference is detected with the following substances up to the listed concentrations: Triglycerides (Intralipid® 1320 mg/dL; equivalent to 37 mmol/L triglyceride), conjugated bilirubin (342 µmol/L; 29 mg/dL), unconjugated bilirubin (342 µmol/L; 20 mg/dL) or haemoglobin (2 g/L (= 200 mg/dL)).

Method Comparison: $R^2 = 0.94$; $y = 0.93x + 0.51$ µg/mL

29 samples within the indicated measuring range of the Quantum Blue® sCAL assay were analyzed 10 x each according to the assay procedure and compared with the values of 1-4 x duplicates obtained with the BÜHLMANN sCAL ELISA. The correlation data are illustrated in Figure 3.

Limit of Quantification (LoQ):

Lower LoQ: 0.42 µg/mL MRP8/14

Upper LoQ: >10 µg/mL MRP8/14

The LoQ has been established with fifteen samples. The samples were measured with 10 replicates each. The resulting precision profile is shown in Figure 2. The limit of quantification corresponds to the concentration of MRP8/14 with an imprecision below 25 % CV allowing a quantitative measurement within the range from 0.42 µg/mL (lower LoQ) to >10 µg/mL (upper LoQ).

ANWENDUNGSZWECK

Der Quantum Blue® sCAL ist ein Immunoassay zur quantitativen Bestimmung von MRP8/14 in humanen Serumproben. Der Test wird in Kombination mit dem Quantum Blue® Reader eingesetzt.

Die MRP8/14 Bestimmung im Serum kann verwendet werden, um den Entzündungsstatus von Patienten mit chronisch entzündlichen Erkrankungen zu ermitteln. So kann z.B. die Effizienz einer medikamentösen Behandlung mit Medikamenten wie Anti-TNF-alpha-Antikörpern überwacht werden.

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 MRP8/14 mittels Sandwich Immunoassay. Ein monoklonaler Fangantikörper (mAk), der hoch spezifisch für MRP8/14 ist, wird auf eine Testmembran gebunden. Ein zweiter monoklonaler Nachweisantikörper, welcher mit Goldkolloiden konjugiert ist, wird auf dem „Conjugate Release Pad“ aufgebracht. Nach der Zugabe der verdünnten Serumprobe wird er in das Reaktions-System freigesetzt. Der MRP8/14/Anti-MRP8/14-Goldkonjugat Komplex bindet an den auf der Membran gebundenen Anti-MRP8/14 Antikörper (Testbande). Das verbleibende nicht gebundene Anti-MRP8/14 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
Testkassette	25 Stück	B-LFCALUS-TC	In vakuumdichten Folienbeutel
Laufpuffer	1 Flasche 10 mL	B- LFMRP - CB	Gebrauchsfertig
Kontrollen Tief* / Hoch*	2 Fläschchen 0.5 mL/Fläschchen	B-LFMRP-CONSET	Gebrauchsfertig
RFID Chipkarte	1 Stück	B-LFMRP-RCC	Weisse Plastikkarte

Tabelle 2

* Die Kontrollen enthalten lotspezifische MRP8/14 Konzentrationen. Die genauen Konzentrationen werden auf dem QC Datenblatt angegeben.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT DER REAGENZIEN

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

Sicherheitsmassnahmen

- Keiner der Kitbestandteile enthält Material menschlicher Herkunft.
- Alle Patientenproben sollten gemäss Guter Laborpraxis (GLP) als potentiell infektiös behandelt werden und die entsprechenden Sicherheitsvorkehrungen sollten getroffen werden.
- Ungebrauchte Lösungen sollten gemäss der lokalen gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Technische Vorsichtsmassnahmen

Kitkomponente

- Reagenzien und Proben sollten vor dem Testansatz auf Raumtemperatur (18-28 °C) äquilibriert werden.
- Der Laufpuffer kann Ausflockungen aufweisen. Diese haben weder einen Effekt auf die Qualität des Testes noch auf das Testergebnis.
- 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 vor der Testdurchführung sorgfältig durch. Die Testqualität kann negativ 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.
- Der Quantum Blue® Reader muss angeschaltet sein und der Quantum Blue® sCAL 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 Serumproben können bei ≤-20 °C mindestens 2 Jahre gelagert werden.

ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Quantum Blue® Reader bei BÜHLMANN erhältlich (Art.-Nr.: BI-POCTR-ABS)
- Laborwecker
- Präzisionspipetten mit Einwegspitzen: 1-10 µL und 100-1000 µL
- Zentrifuge für Mikroröhrchen
- Einwegröhrchen aus Polystyrol oder Polypropylen für die Probenverdünnung
- Handschuhe und Laborkittel

PROBENSAMMLUNG UND LAGERUNG

Blut aus der Vene in ein Röhrchen ohne chemische oder biologische Zusätze abnehmen. Dabei Hämolyse vermeiden und bei Raumtemperatur (18-28 °C) für mindestens 20 bis zu maximal 60 Minuten gerinnen lassen. Bei ~2000 x g für 15 Minuten zentrifugieren. Das Serum abgessen. Serumproben können bei 2-8 °C bis zu 1 Monat gelagert werden.

Für eine längere Lagerung sollten die Proben bei $\leq -20^{\circ}\text{C}$ gelagert werden. Tiefgefrorene Proben sind für mindestens 2 Jahre stabil.

TESTDURCHFÜHRUNG

1. Probenverdünnung

- Die Serumproben 1:10 mit Laufpuffer verdünnen, bevor Sie im Test eingesetzt werden (z.B. 20 μL Probe und 180 μL Laufpuffer).
- Gut mischen (vortexen)

2. Lateral Flow Testablauf und Quantifizierung

- Laden Sie die testspezifischen Parameter von der RFID Chipkarte.
- 60 μL verdünnte Serumprobe auf die Ladevorrichtung der Kassette aufbringen.
- Die Testkassette für 12 Minuten inkubieren (einen Wecker manuell einstellen)
- Testkassette auf den Kassettenhalter des Readers laden und auslesen durch Drücken des Start (<ENTER>) Knopfes.
- Für die Kontrollen Tief / Hoch: Wiederholen Sie den Schritt 2 mit 60 μL Kontrollen anstelle der verdünnten Serumprobe.

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

- Für ein gültiges Testresultat muss die Kontrollbande (C) klar erkennbar sein (siehe Figuren 1A und 1B im Anhang). 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 (Abbildung 1A), liegt MRP8/14 unterhalb der Nachweisgrenze. Falls die Testbande (T) nach der Inkubation nachweisbar ist (Abbildung 1B), wird die MRP8/14 Konzentration in der

Serumprobe durch den Quantum Blue® Reader berechnet.

- Falls nach der Inkubation nur die Testbande (T) sichtbar ist (Abbildung 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 (Abbildung 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 sCAL ELISA kalibriert (Art.-Nr.: EK-MRP8/14).
- Der Quantum Blue® Reader verwendet für die Berechnung der MRP8/14 Konzentration eine lot-spezifische Standardkurve. Der messbare Bereich liegt zwischen 0.5 und 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
- Um ein quantitatives Messergebnis zu erhalten, können Proben mit einer Konzentration oberhalb von 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ zusätzlich 1:10 mit Laufpuffer verdünnt (Gesamtverdünnung 1:100) und erneut gemessen werden. Die gemessene Konzentration muss mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden, um das Endergebnis zu erhalten.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Die in diesem Kit gelieferten Reagenzien sind zur Bestimmung von humanem MRP8/14 in Serumproben optimiert.
- MRP8/14 Werte sollten in Verbindung mit anderen Informationen interpretiert werden, um eine Diagnose zu erstellen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Der Quantum Blue® sCAL test kann schnell eine erste Einschätzung des aktuellen Entzündungsstatus des Patienten liefern.

Die folgenden Werte können zur Bestimmung des Entzündungsstatus dienen. Patienten mit RA* (n = 20) zeigen mittlere MRP8/14 seren Werte von 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (SD: 3.43 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Patienten, die auf die Behandlung ansprechen (n = 20), zeigten mittlere Werte von 2.92 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (SD: 1.45 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (Literatur: 1,2).

Die MRP8/14 Normalwerte wurden unter Verwendung von Serumproben von offensichtlich gesunden und asymptomatischen Blutspendern (erwachsene Männer und Frauen im Alter von 18-70 Jahren) bestimmt. 122 Serumproben wurden durch EK-MRP8/14 aufgrund der guten Korrelation ($R^2 = 0,94$, Steigung = 0,93) mit dem LF-MRP25 analysiert.

Die MRP8/14 Werte von Patienten mit RA waren im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen (n = 122) mit einer medianen Serum MRP8/14 Konzentration von 1.16 µg/mL und dem 95. Perzentil bei einer Konzentration von 2.92 µg/mL signifikant höher.

* RA (Rheumatoide Arthritis)

LEISTUNGSDATEN

Limit of Blank (LoB): 0.25 µg/mL MRP8/14

Limit of Detection (LoD): 0.42 µg/mL MRP8/14

Repeatability: 17.2 % CV. Die Repeatability des Quantum Blue® sCAL Tests wurde mit Hilfe von 10 Serumproben über 20 Tage jeweils in Duplikaten angesetzt und gemessen. Die Repeatability lag zwischen 11.9 und 25.4 % CV.

Linearität: 0.5-10 µg/mL. 4 Serumproben mit erhöhtem MRP8/14-Gehalt wurden mit Laufpuffer, B-LFMRP-CB, 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 0.5 bis 10.0 µg/mL für alle 4 Proben.

High Dose Hook Effekt: Ein High Dose Hook Effekt wurde bis zu einer Konzentration von 146 µg/mL nicht beobachtet.

Interferenzen: Bis zu den nachfolgend genannten Konzentrationen wurde für die folgenden Substanzen keine Interferenz nachgewiesen: Triglyzerid (Intralipid® 1320 mg/dL; äquivalent zu 37 mmol/L Triglyzeride), konjugiertes Bilirubin (342 µmol/L; 29 mg/dL), unkonjugiertes Bilirubin (342 µmol/L; 20 mg/dL) und Hämoglobin (2 g/L (=200 mg/dL)).

Methodenvergleich: $R^2 = 0.94$ $y = 0.93x + 0.51$ µg/mL

29 Serumproben von Patienten, mit Messwerten innerhalb des angegebenen Messbereiches wurden gemäß der Anleitung angesetzt, gemessen und mit den Ergebnissen verglichen, die im BÜHLMANN sCAL ELISA (Bestellcode: EK-MRP8/14) gewonnen wurden. Die Korrelation ist in Abbildung 3 dargestellt.

Limit of Quantification (LoQ):

Unterer LoQ: 0.42 µg/mL MRP8/14

Oberer LoQ: >10 µg/mL MRP8/14

Der LoQ wurde mit Hilfe von 15 Proben ermittelt. Die Proben wurden mit je 10 Replikaten gemessen und gemittelt. Das entsprechende Präzisionsprofil ist in Abbildung 2 dargestellt. Die Nachweisgrenze entspricht derjenigen MRP8/14-konzentration, die eine Streuung von <25 % CV zeigt und damit eine quantitative Bestimmung innerhalb eines Bereiches von 0.42 (unterer LoQ) bis >10 µg/mL (oberer LoQ) ermöglicht.

UTILISATION PRÉVUE

Le test de dosage immunologique, Quantum Blue® sCAL, est conçu pour la détermination quantitative de la MRP8/14 dans le serum humain à l'aide du Quantum Blue® Reader.

Le dosage de la MRP8/14 dans le serum peut être utilisé pour déterminer l'état inflammatoire de patients atteints de maladies inflammatoires chroniques comme la polyarthrite rhumatoïde (PR). Il peut, par exemple, permettre de suivre l'efficacité d'un traitement médicamenteux comme les anticorps anti-TNF alpha.

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 MRP8/14 par un dosage immunologique de type sandwich. Un anticorps monoclonal (mAb) de capture hautement spécifique de la MRP8/14 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 de sérum dilué. Le conjugué MRP8/14/anti-MRP8/14 or se lie à l'anticorps anti-MRP8/14 déposé sur la membrane de test (ligne de test) et le restant du conjugué or anti-MRP8/14 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® Reader.

RÉACTIFS FOURNIS ET PRÉPARATION

Réactifs	Quantité	Code	Remarque
Cassette de test	25 pièces	B-LFCALUS-TC	scellées sous vide dans un sachet
Tampon de dilution	1 flacon 10 mL	B- LFMRP -CB	Prêt à l'emploi
Contrôles Bas*/ Elevé*	2 flacons 0,5 mL/flacons	B-LFMRP- CONSET	Prêts à l'emploi
Carte à puce RFID	1 pièce	B-LFMRP-RCC	Carte en plastique blanche

Tableau 3

* Les concentrations en MRP8/14 des contrôles varient en fonction des lots. Vous référer à la fiche de contrôle qualité pour les concentrations effectives.

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 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 (BPL) 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.
- Le tampon de dilution peut présenter de fines particules en suspension qui n'ont aucune influence sur la qualité du test et des résultats.
- 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 cassettes 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® Reader doit être allumé et programmé pour le dosage de la MRP8/14 dans le sérum avant de commencer le test (voir le mode d'emploi du Quantum Blue® 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 de sérum non dilués peuvent être conservés plus de 2 ans à une température inférieure à ≤ -20 °C.

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Quantum Blue® Reader, disponible auprès de BÜHLMANN (référence BI-POCTR-ABS)
- Pipettes de précision à embouts jetables : de 1-10 et 100-1000 µL
- Centrifugeuse pour micro tubes
- Tubes de polystyrène ou de polypropylène, pour la dilution des échantillons
- Minuteur
- Gants et blouse de laboratoire

RECUEIL ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

- Prélever le sang dans des tubes prévus à cet usage sans adjonction chimique ou biologique dans le dispositif de recueil en évitant l'hémolyse. Laisser coaguler à température ambiante (18-28 °C) entre 20 minutes et 1 heure, centrifuger, à environ 2'000 g à température ambiante pendant 15 minutes.
- Recueillir les échantillons de sérum dans des tubes propres et conserver au réfrigérateur entre 2 et 8 °C pendant 1 mois maximum.
- Pour un stockage prolongé, congeler les échantillons à une température ≤ -20 °C. Les échantillons sont stables au moins 2 ans à ≤ -20 °C.

PROCÉDURE OPÉRATOIRE DE DOSAGE

1. Dilution des échantillons

- Diluer les échantillons au 1 :10e avant analyse avec du tampon de dilution (par ex., 20 μ L d'échantillon dans 180 μ L de tampon).

- Vortexer

2. Dosage en flux latéral et lecture du résultat

- Charger les paramètres spécifiques au lot de réactif au moyen de la carte à puce RFID.
- Ajouter 60 μ L d'échantillon dilué via l'orifice de chargement de la cassette de test.
- Incuber pendant 12 minutes en utilisant un minuteur externe.
- Charger la cassette de test dans le tiroir du lecteur.
- Lancer immédiatement la lecture de la cassette en appuyant sur le bouton de démarrage <ENTER> du lecteur Quantum Blue®.
- Pour les contrôles bas / haut : Répéter l'étape 2 en utilisant 60 μ L de contrôle à la place de l'échantillon de sérum dilué.

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 MRP8/14 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 MRP8/14 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 MRP8/14 doit être répété en utilisant une cassette 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 cassette 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) est 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 MRP8/14 doit être répété en utilisant une cassette de test neuve.

ÉTALONNAGE ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- Le dosage en flux latéral est étalonné au moyen du test ELISA pour la MRP8/14 des laboratoires BÜHLMANN (référence EK-MRP8/14).
- Le Quantum Blue® Reader utilise une courbe étalon spécifique au lot pour calculer la concentration de MRP8/14 dans sérum. La plage de mesure du dosage se situe entre 0.5 et 10 μ g/mL.
- Les échantillons de sérum contenant plus de 10 μ g/mL de MRP8/14 doivent être dilués encore une fois au 1:10e avec le tampon de dilution (total 1:100), et dosés de nouveau conformément à la présente procédure. La concentration mesurée doit ensuite être multipliée par le facteur de dilution pour obtenir le résultat final.

LIMITATIONS

- Les réactifs fournis dans le kit sont optimisés pour le dosage de la MRP8/14 humaine dans les échantillons de sérum.
- Les valeurs de la MRP8/14 peuvent être considérées comme des indications supplémentaires et permettre au médecin de poser un diagnostic.

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

Le test Quantum Blue® sCAL permet d'obtenir rapidement une première estimation de l'état inflammatoire aigu du patient.

Les valeurs de références suivantes peuvent aider à caractériser l'état inflammatoire d'un patient. Les patients atteints de PR* (n = 20) présentent un taux moyen de MRP8/14 dans le serum de 6.25 µg/mL (SD: 3.43 µg/mL).

Des patients répondant au traitement (n = 20) présentent des concentrations moyennes de MRP8/14 de 2.92 µg/mL (SD: 1.45 µg/mL) (ref 1,2).

Les valeurs normales de MRP8/14 ont été déterminées en utilisant des échantillons de serum provenant de donneurs de sang apparemment sains et asymptomatiques (hommes et femmes adultes, âgés de 18 à 70 ans). 122 échantillons de serum ont été analysés par EK-MRP/8/14 en raison de la bonne corrélation ($R^2 = 0,94$, pente = 0,93) avec le LF-MRP25.

Les concentrations de MRP8/14 chez les patients atteints de PR étaient significativement plus élevées comparativement aux témoins sains (n = 122) avec une concentration médiane de MRP8/14 de 1,16 µg/mL et le 95e percentile à une concentration de 2,92 µg/mL.

* RA (polyarthrite rhumatoïde)

Limite de quantification (LOQ):

LOQ inférieure: 0.42 µg/mL de MRP8/14;

LOQ supérieure: > 10 µg/mL de MRP8/14.

La limite de quantification a été déterminée au moyen de 15 échantillons. Les échantillons ont été mesurés à raison de 10 réplicata chacun. Le profil de précision en résultant est présenté sur la figure 2. La limite de quantification correspond à la concentration de MRP8/14 ayant une imprécision inférieure à 25 % de CV. Il est donc possible d'obtenir une mesure quantitative entre 0.42 µg/mL (LOQ inf.) et >10 µg/mL (LOQ sup.).

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Limite de blanc (LOB) : 0.25 µg/mL de MRP8/14

Limite de détection (LOD) : 0.42 µg/mL de MRP8/14

Répétabilité : 17.2 % de CV. La répétabilité du test Quantum Blue® sCAL a été calculée à partir de 10 échantillons de serum sur 20 jours. Chaque échantillon a été analysé selon la procédure de dosage, en une analyse de 2 réplicata, deux fois par jour. La répétabilité varie entre 11.9 et 25.4 % de CV.

Linéarité: 0.5 à 10 µg/mL. Quatre échantillons de serum contenant des concentrations élevées de MRP8/14 ont été dilués avec le tampon de dilution, B-LFMRP-CB. Chaque dilution a ensuite été dosée selon la procédure de dosage. Les résultats montrent que le test Quantum Blue® sCAL est linéaire sur l'intervalle de mesure de 0.5 à 10 µg/mL.

Effet Hook: Aucun effet Hook n'a pu être observé jusqu'à une concentration de 146 µg/mL de MRP8/14.

Indices sériques: Aucune interférence n'a été détectée avec les substances suivantes jusqu'aux concentrations indiquées: Triglycérides (Intralipid® 1320 mg/dL; équivalent à 37 mmol/L de triglycérides), bilirubine conjuguée (342 µmol/L; 29 mg/dL), bilirubine non conjuguée (342 µmol/L; 20 mg/dL) ou hémoglobine (2 g/L (= 200 mg/dL)).

Comparaison des méthodes : $R^2 = 0.94$

$y = 0.93x + 0.51$ µg/mL

29 échantillons de serum dans la plage de mesure du test Quantum Blue® sCAL ont été analysés selon le présent mode opératoire. Les résultats obtenus ont été comparés aux valeurs obtenues avec le test BÜHLMANN sCAL ELISA. Les données de corrélation sont présentées sur la figure 3.

USO PREVISTO

Quantum Blue® sCAL è un saggio immunologico per la determinazione quantitativa della MRP8/14 nel siero umano in combinazione con il Quantum Blue® Reader.

I livelli serici della MRP8/14 possono essere usati per la determinazione dello stato infiammatorio di pazienti con malattie infiammatorie croniche come l'artrite reumatoide (RA), ad esempio per monitorare l'efficacia del trattamento farmacologico come quello con anticorpi anti TNF alpha.

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 MRP8/14 mediante il dosaggio immunologico diretto (a sandwich). Un anticorpo monoclonale di cattura (mAb) altamente specifico per la MRP8/14 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 siero. Il complesso MRP8/14/anti-MRP8/14 coniugato con oro si lega all'anticorpo anti-MRP8/14 legato alla membrana (banda di rilevazione) e l'anti-MRP8/14 coniugato con oro in eccesso si lega all'anticorpo di capra anti-topo legato alla membrana (banda di controllo). Le intensità di segnale della banda di rilevazione e della banda di controllo vengono misurate quantitativamente con il Quantum Blue® Reader.

REAGENTI FORNITI E PREPARAZIONE

Reagenti	Quantità	Codice	Commenti
Cassetta di test	25 unità	B-LFCALUS-TC	Sigillata a vuoto in busta laminata
Chase Buffer	1 flacone 10 mL	B-LFMRP-CB	Pronto per l'uso
Controlli Basso* / Alto	2 flaconi 0.5 mL/flaconi	B-LFMRP-CONSET	Pronto all'uso
Carta chip RFID	1 unità	B-LFMRP-RCC	Carta bianca in plastica

Tabella 4

* I controlli contengono quantità lotto specifiche di MRP8/14. Per le concentrazioni effettive far riferimento al foglio aggiuntivo QC.

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 come potenzialmente infettivi, adottando le precauzioni appropriate in conformità alle buone pratiche di laboratorio (BPL).

- 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 equilibrati a temperatura ambiente (18-28 °C) prima di iniziare l'analisi. Mescolare vortexando i reagenti prima dell'uso.
- Il Chase Buffer potrebbe mostrare flocculazione, che comunque non comporta alcuna influenza sulla qualità e sul risultato del test.
- 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.
- Il Quantum Blue® Reader deve essere acceso e programmato per il dosaggio di Quantum Blue® sCAL 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 siero non diluiti possono essere conservati a ≤-20 °C per almeno 2 anni.

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Quantum Blue® Reader disponibile da BÜHLMANN (codice per ordinazioni: BI-POCTR-ABS)
- Timer
- Pipette di precisione con puntali monouso: 1 - 10 µL e 100 - 1000 µL
- Centrifuga per micro provette
- Provette polistirolo o polipropilene per la diluizione dei campioni
- Guanti e camice da laboratorio

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Prelevare il sangue in provette secche (senza l'aggiunta di sostanze chimiche o biologiche nel dispositivo di raccolta). Lasciare coagulare a temperatura ambiente (18-28 °C) tra i 20 e i 60 minuti Centrifugare a temperatura ambiente per 15 minuti a ~2'000 g. Decantare il siero. Il siero può essere conservato a una temperatura di 2-8 °C per un massimo di 1 mese.

Per tempi di conservazione più lunghi, tenere i campioni a ≤ -20 °C. I campioni sono stabili per almeno 2 anni a ≤ -20 °C.

PROCEDURA DEL TEST

1. Diluizione del campione

- Diluire i campioni di siero 1:10 con Chase Buffer (B-LFMRP-CB) prima di usarli per l'analisi (ad es. 20 µL di campione e 180 µL di Chase Buffer).
- Mescolare bene (ad esempio usando il vortex).

2. Dosaggio a flusso laterale e lettura

- Caricare i parametri specifici del lotto dalla carta chip RFID.
- Aggiungere 60 µL di campione di siero diluito sulla porta di carico del campione della cassetta di test.
- Incubare per 12 minuti (impostare un timer manuale).
- Caricare la cassetta di test sul relativo supporto per cassetta di test del Reader.
- Scansionare la cassetta con il lettore Quantum Blue® Reader premendo immediatamente il pulsante (<ENTER>).
- Per i controlli basso / alto: Ripetere il punto 2 utilizzando 60 µL di controllo, invece di campione di siero diluito.

Nota: Si prega di consultare il manuale dell'istrumento Quantum Blue® Reader per informazioni sulle funzioni di base e su come avviare e mettere in funzione l'istrumento, in particolare per informazioni sulla selezione dei metodi di analisi e su come caricare i parametri specifici del lotto della carta chip RFID in modo da poter quantificare i campioni.

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 di incubazione.
- I risultati 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 l'incubazione (Figura 1A), nel campione di siero non sono presenti quantità rilevabili di MRP8/14. Se la banda di rilevazione (T) è rilevabile dopo l'incubazione (Figura 1B), la quantità di MRP8/14 presente nel campione di siero è calcolata tramite il Quantum Blue® Reader.
- Se solo la banda di rilevazione (T) è rilevabile dopo l'incubazione (Figura 1C), il risultato non è valido e il dosaggio della MRP8/14 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 l'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), è stata introdotta una ulteriore verifica sulla banda di controllo (C). Se dopo 12 minuti di incubazione l'intensità di segnale della banda di controllo (C) è inferiore alla soglia specifica per ogni lotto, il risultato non è valido e il dosaggio di MRP8/14 deve essere ripetuto utilizzando una nuova cassetta di test.

STANDARDIZZAZIONE E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

- Il dosaggio a flusso laterale è stato calibrato utilizzando il saggio BÜHLMANN sCAL ELISA (codice di ordinazione: EK-MRP8/14).
- Il Quantum Blue® Reader utilizza una curva standard lotto specifica per calcolare la concentrazione di MRP8/14. L'intervallo rilevabile del dosaggio è compreso fra 0.5 e 10 µg/mL.
- Per le misurazioni quantitative di campioni con letture superiori a 10 µg/mL è necessario una ulteriore diluizione 1:10 dei campioni di siero con il chase buffer (1:100 totale) e la ripetizione del test secondo la procedura. La concentrazione misurata deve quindi essere moltiplicata per l'ulteriore fattore di diluizione al fine di ottenere il risultato finale.

LIMITAZIONI

- I reagenti forniti con questo kit sono ottimizzati per la misura della MRP8/14 umana in campioni di siero.
- I risultati della concentrazione della MRP8/14 possono essere usati come dati supplementari alle altre informazioni per stabilire una diagnosi.

RISULTATI E INTERPRETAZIONE

Il test Quantum Blue® sCAL è di aiuto nella rapida valutazione di una prima stima dello stato infiammatorio acuto del paziente.

I seguenti valori di riferimento dovrebbero aiutare a caratterizzare lo stato infiammatorio di un paziente. Pazienti con RA* (n = 20) mostrano valori medi di MRP8/14 serici di 6.25 µg/mL (SD: 3.43 µg/mL). I pazienti rispondenti al trattamento farmacologico (n = 20) hanno mostrato un livello medio di 2.92 µg/mL (SD: 1.45 µg/mL) (ref 1,2).

Valori normali di MRP8/14 sono stati determinati utilizzando campioni di siero di donatori di sangue apparentemente sani e asintomatici (adulti, uomini e donna, all'età tra 18 e 70 anni). 122 campioni di siero sono stati analizzati con EK-MRP8/14 a causa della buona correlazione ($R^2 = 0,94$, pendenza = 0.93) con la LF-MRP25.

I livelli di MRP8/14 di pazienti con RA sono significativamente superiori comparati a quelli dei controlli sani (n = 122) con una concentrazione media di siero MRP8/14 di 1.16 µg/mL e il 95esimo percentile ad una concentrazione di 2.92 µg/mL.

* RA (Artrite Reumatoide)

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE

Limite del Bianco (LoB): 0.25 µg/mL di MRP8/14.

Limite di Rilevabilità (LoD): 0.42 µg/mL di MRP8/14.

Ripetibilità: 17.2 % CV. La ripetibilità del saggio Quantum Blue® sCAL è stata calcolata da 10 campioni di siero. Ciascun campione è stato testato in duplicato con la procedura prevista per il dosaggio due volte per giorno per 20 giorni successivi. La ripetibilità variava fra 11.9 e 25.4 % CV.

Linearità: Da 0.5 a 10 µg/mL. Quattro campioni di siero con elevate concentrazioni di MRP8/14 sono stati diluiti con Chase Buffer, B-LFMRP-CB. Ciascuna diluizione è stata successivamente dosata secondo la procedura del dosaggio. I risultati hanno mostrato una linearità dell'intervallo di misurazione indicato di 0.5-10 µg/mL del saggio Quantum Blue® sCAL.

Effetto Gancio a Dosi Elevate: Non è stato osservato alcun effetto gancio a dosi elevate fino alla concentrazione di 146 µg/mL di MRP8/14.

Parametri sierici: Nessuna interferenza è stata riscontrata per le seguenti sostanze fino alle concentrazioni elencate: Trigliceridi (Intralipid® 1320 mg/dL; equivalenti a 37 mmol/L di trigliceridi), bilirubina coniugata (342 µmol/L; 29 mg/dL), bilirubina libera (342 µmol/L; 20 mg/dL) o emoglobina (2 g/L (= 200 mg/dL)).

Confronto dei metodi: $R^2 = 0.94$; $y = 0.93x + 0.51$ µg/mL

29 campioni di sieri rientranti nell'intervallo di misurazione indicati per il saggio Quantum Blue® sCAL sono stati analizzati 10 volte in conformità alla procedura di dosaggio e confrontati con i valori ottenuti da 1-4 x duplicati con il saggio BÜHLMANN sCAL ELISA. I dati di correlazione sono illustrati in figura 3.

Limite di Quantificazione (LoQ):

LoQ inferiore: 0.42 µg/mL di MRP8/14;

LoQ superiore: >10 µg/mL di MRP8/14.

Il LoQ è stato stabilito con 15 campioni di siero. I campioni sono stati misurati con 10 repliche ognuno. Il profilo di precisione risultante è mostrato in figura 2. Il limite di quantificazione corrisponde alla concentrazione di MRP8/14 con un'imprecisione inferiore a 25 % CV e permette pertanto una misurazione quantitativa nell'intervallo tra 0.42 (LoQ inferiore) e >10 µg/mL (LoQ superiore).

INDICACIONES DE USO

El análisis de MRP8/14 en suero Quantum Blue® sCAL es una prueba cuantitativa diseñada para la determinación de concentraciones elevadas de MRP8/14 en suero humano en combinación con el lector Quantum Blue® Reader.

Los niveles de MRP8/14 en el suero pueden utilizarse para determinar el estado inflamatorio de los pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas como la artritis reumatoide (AR) para supervisar por ejemplo la eficacia del tratamiento de medicamentos tales como anticuerpos anti-TNF alfa.

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 MRP8/14 mediante un inmunoensayo de tipo sándwich. La membrana de análisis lleva un recubrimiento de un anticuerpo de captura monoclonal altamente específico para MRP8/14. 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 suero diluida. El conjugado de oro anti-MRP8/14 con MRP8/14 se une al anticuerpo anti-MRP8/14 que recubre una zona de la membrana de análisis (línea de test; banda de test) mientras que el resto del conjugado de oro anti-MRP8/14 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.

REACTIVOS SUMINISTRADOS Y PREPARACIÓN

Reactivos	Cantidad	Código	Comentarios
Casete de prueba	25 unidades	B-LFCALUS-TC	sellado al vacío en una bolsa de aluminio
Tampón de detección	1 frasco 10 mL	B-LFMRP-CB	Listo para usar
Controles Bajo* / Alto*	2 viales 0.5 mL/viales	B-LFMRP-CONSET	Listo para usar
Tarjeta chip RFID	1 unidad	B-LFMRP-RCC	Tarjeta de plástico blanca

Tabla 5

* Los controles contienen cantidades específicas de lote de MRP8/14. Véase la hoja de datos de QC adicional para las concentraciones reales.

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 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 (BLP) 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.
- El tampón de detección podría mostrar floculación que no tiene ninguna influencia en la calidad y el resultado de la prueba.
- 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 MRP8/14 en suero 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 suero sin diluir pueden conservarse a ≤-20 °C durante por lo menos 2 años.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROVISTO

- Lector Quantum Blue® Reader obtenible de BÜHLMANN (código para pedidos: BI-POCTR-ABS)
- Pipetas de precisión con puntas desechables: 1-10 µL a 100-1000 µL
- Centrífuga para microtubos
- Tubos de poliestirol o polipropileno para la dilución de las muestras
- Cronómetro
- Guantes y bata de laboratorio

RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

- Recoja la sangre en tubos limpios sin ningún aditivo químico o biológico en el dispositivo de recogida, evite la hemólisis, deje coagular durante 20 minutos y una hora, centrifugue durante 15 minutos a unos 2'000 g y recoja el suero.
- Recoja el suero en tubos limpios y consérvelas refrigeradas a una temperatura de entre 2 y 8 °C hasta un máximo de un mes.
- Si se precisa un período de conservación más largo, congele las muestras a ≤ -20 °C. Las muestras son así estables durante por lo menos 2 años.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

1. Dilución de las muestras

- Diluya las muestras de suero antes de someterlas a análisis en proporción 1:10 con tampón de detección (p.ej. 20 μ L de muestra y 180 μ L de tampón de detección).
- Sométalas a vórtex.

2. Procedimiento de ensayo de flujo lateral y lectura de los resultados

- Cargue los parámetros específicos del lote desde la tarjeta chip RFID.
- Añada 60 μ L de muestra de suero diluida en el puerto de carga de muestra del casete de prueba.
- Incube la muestra durante 12 minutos (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.
- Para Controles Bajo / Alto: Repita el paso 2 usando 60 μ L de control en lugar de muestra de suero diluida.

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 MRP8/14 presente en la muestra de suero 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 MRP8/14 presente en la muestra de suero.
- 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 MRP8/14 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 MRP8/14 en suero 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 BÜHLMANN sCAL ELISA (código para pedidos: EK-MRP8/14).
- El lector Quantum Blue® Reader utiliza una curva estándar de calibración específica del lote para calcular la concentración de MRP8/14 en suero. El rango de ensayo es entre 0.5 y 10 μ g/mL.
- Para obtener mediciones cuantitativas de muestras con lecturas por encima de 10 μ g/mL, diluya las muestras de suero adicionalmente en proporción 1:10 con tampón de detección (1:100 en total) y ensáyelas de nuevo siguiendo el procedimiento. La concentración medida debe multiplicarse entonces por el factor de corrección del volumen para obtener el resultado final.

LIMITACIONES

- Los reactivos incluidos en este kit están optimizados para medir MRP8/14 humana en muestras de suero.
- Los resultados obtenidos con el análisis rápido de MRP8/14 en suero Quantum Blue® deberían confirmarse obteniendo otros biomarcadores y la anamnesis del paciente antes de tomar ninguna decisión relativa a tratamientos o intervenciones de carácter médico.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

El examen de Quantum Blue® sCAL podría ayudar a una primera y rápida estimación de la condición inflamatoria aguda del paciente.

Los siguientes valores de referencia podrían ayudar a caracterizar el estado inflamatorio del paciente. Los pacientes con AR* (n=20) muestran los niveles promedios de MRP8/14 de 6.25 µg/mL de suero (SD: 3.43 µg/mL).

Los pacientes bajo tratamiento (n=20) mostraron un nivel promedio de 2.92 µg/mL (SD: 1.45 µg/mL) (ref 1,2).

Los valores normales de MRP8/14 se determinaron utilizando muestras de suero de donantes de sangre aparentemente sanos y asintomáticos (hombres adultos y mujeres de 18 a 70 años de edad). 122 muestras de suero fueron analizadas por EK-MRP/8/14 debido a la buena correlación ($R^2 = 0.94$, pendiente = 0.93) con el LF-MRP25.

Los niveles de MRP8/14 de pacientes con AR fueron significativamente mayores en comparación con los controles sanos (n = 122) con una concentración media de MRP8/14 de 1,16 µg/mL y el percentil 95 con una concentración de 2,92 µg/mL.

* AR (artritis reumatoide)

Límite de cuantificación (LoQ):

LoQ inferior: 0.42 µg/mL de MRP8/14;

LoQ superior: >10 µg/mL de MRP8/14.

El LoQ se ha establecido con 15 muestras. Las muestras se midieron con 10 réplicas cada una. En la figura 2 se muestra el perfil de precisión resultante. El límite de cuantificación corresponde a la concentración de MRP8/14 con una imprecisión inferior a 25 % CV, permitiendo mediciones cuantitativas en el rango de 0.42 (LoQ inferior) a >10 µg/mL (LoQ superior).

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Límite para el blanco (LoB): 0.25 µg/mL de MRP8/14

Límite de detección (LoD): 0.42 µg/mL de MRP8/14

Repetibilidad: 17.2 % CV. La repetibilidad del análisis de Quantum Blue® sCAL se calculó a partir de 10 muestras. Cada muestra se analizó según el procedimiento de ensayo en una tanda de lectura de 2 réplicas dos veces al día durante 20 días consecutivos. La repetibilidad osciló entre 11.9 y 25.4 % CV.

Linealidad: De 0.5 a 10 µg/mL. Cuatro muestras de suero con concentraciones de MRP8/14 elevadas se diluyeron con tampón de detección, B-LFMRP-CB. Cada una de esas diluciones se analizó posteriormente según el procedimiento de ensayo. Los resultados mostraron linealidad dentro del rango de medición indicado de 0.5 a 10 µg/mL del Quantum Blue® sCAL para la totalidad de las 4 muestras.

Efecto Hook Alta Dosis: No se observa efecto hook alta dosis hasta una concentración de 146 µg/mL MRP8/14.

Parametros de suero: No se observa ninguna interferencia de las siguientes sustancias hasta la concentración indicada: Triglicéridos (Intralipid® 1320 mg/dL; equivalentes a 37 mmol/L triglicéridos), bilirubina conjugada (342 µmol/L; 29 mg/dL), bilirubina non conjugada (342 µmol/L; 20 mg/dL) o hemoglobina (2 g/L (= 200 mg/dL)).

Comparación de métodos:

$R^2 = 0.94$; $y = 0.93 + 0.51 \mu\text{g/mL}$

Se analizaron 29 muestras de suero con valores dentro del rango de medición indicado del análisis de MRP8/14 en suero Quantum Blue® según el procedimiento de ensayo del análisis y se compararon los resultados con los valores obtenidos con la prueba BÜHLMANN sCAL ELISA. Los datos de correlación se ilustran en figura 3.

PORTUGUÊS

USO PRETENDIDO

O ensaio de fluxo lateral Quantum Blue® sCAL é um imunoenensaio concebido para a determinação quantitativa de MRP8/14 em soro humano em combinação com o Quantum Blue® Reader.

Os níveis séricos de MRP8/14 podem ser utilizados para determinar o estado inflamatório de doentes com doenças inflamatórias crônicas, tais como artrite reumatóide (RA) e, para monitorizar a eficiência do tratamento de drogas como anticorpos anti-TNF alfa.

Para uso profissional*.

*Canada, Taiwan: só para uso laboratorial.

PRINCÍPIO DO TESTE

O teste foi concebido para a medição seletiva do antígeno MRP8/14 por imunoenensaio sanduíche. Um anticorpo monoclonal de captura que é altamente específico para MRP8/14 é revestido na membrana. Um segundo anticorpo de detecção monoclonal conjugado com colóides de ouro é depositado sobre a almofada de liberação conjugada e liberada para o sistema de reação após a adição do soro diluído. O conjugado anticorpo-ouro reage com o MRP8/14 da amostra e depois liga-se ao anticorpo anti-MRP8/14 que é alinhado na membrana (Linha de Ensaio). O conjugado MRP8/14 livre de ouro liga-se ao anticorpo de cabra anti-camundongo que é alinhado na membrana (Linha de Controle). As intensidades de sinal da Linha de Teste e da Linha de Controle, respectivamente, são medidas quantitativamente pelo Quantum Blue® Reader.

REAGENTES FORNECIDOS E PREPARAÇÃO

Reagentes	Quantidade	Código	Observações
Cassete de Teste	25 unidades	B-LFCALUS-TC	Embalagem selada a vácuo
Tampão de diluição	1 frasco 10 mL	B-LFMRP-CB	Pronto para uso
Controles Baixo* / Alto	2 frascos 0.5 mL/frasco	B-LFMRP-CONSET	Pronto para uso
Cartão Chip RFID	1 unidade	B-LFMRP-RCC	Cartão de plástico branco

Tabela 6

* Os controles contêm quantidades específicas de MRP8/14 no lote. Veja a folha de dados adicional QC para as concentrações reais.

ARMAZENAMENTO E VALIDADE DOS REAGENTES

Todos os componentes do kit são estáveis a 2-8 °C até a data de validade impressa nas etiquetas.

PRECAUÇÕES

Precauções de segurança

- Nenhum reagente deste kit contém componentes de origem humana.
- Amostras dos pacientes devem ser manuseadas como se fossem transmissoras de doenças infecciosas e de acordo com as boas práticas laboratoriais (BPL).

- As soluções não utilizadas devem ser eliminadas de acordo com a Regulamentação das Entidades Governamentais Locais.

Precauções técnicas

Componentes dos kit

- Todos os reagentes e amostras de teste devem ser equilibrados à temperatura ambiente (18-28 °C) antes do teste ser iniciado. Misture bem os reagentes (vortex) antes de usar.
- O tampão de detecção poderá exibir floculação, mas isso não influencia de modo algum a qualidade do teste ou seus resultados.
- Os componentes não devem ser usados após a data de validade impressa nos rótulos.
- Não misture lotes diferentes de reagentes.
- Os cassetes do teste não podem ser reutilizados.

Procedimento do teste

- Leia atentamente as instruções antes de executar o teste. O desempenho do teste será afetado negativamente se os reagentes forem diluídos incorretamente, ou se forem manuseados ou armazenados em condições diferentes daquelas detalhadas nesta instrução de uso.
- Utilize o cartão de chip RFID branco para alterar os parâmetros específicos do lote.
- O Quantum Blue® Reader deve ser ligado e programado para o ensaio Quantum Blue® sCAL antes de iniciar o ensaio (consulte o manual do Quantum Blue® Reader).
- As amostras de pacientes que não forem manuseadas corretamente podem causar imprecisão de resultados.
- As amostras diluídas devem ser usadas dentro de várias horas e não podem ser armazenadas por um período de tempo mais longo.
- As amostras de soro não diluídas podem ser armazenadas a ≤ 20 °C por até 2 anos.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- Quantum Blue® está disponível na BÜHLMANN (referência: BI-POCTR-ABS)
- "Timer" (optativo)
- Pipetas com pontas descartáveis: 1-10 µL e 100-1000 µL
- Centrífuga
- Tubos de poliestireno ou polipropileno para a preparação da diluição das amostras.
- Luvas e jaleco de laboratório

COLETA E ARMAZENAGEM DAS AMOSTRAS

Colete sangue para tubos de punção venosa simples, sem quaisquer aditivos e evitando a hemólise. Deixe o coágulo do sangue à temperatura ambiente (18-28 °C) durante 20 a 60 minutos. Centrifugue à temperatura ambiente, a ~2000 g, durante 15 minutos. Decante o soro.

As amostras de soro podem ser conservadas refrigeradas de 2-8 °C por até 1 mês. Para uma conservação mais prolongada, mantenha as amostras a ≤-20 °C. Estas amostras são estáveis durante pelo menos 2 anos a ≤-20 °C.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

1. Diluição de amostras de soro

- Antes de fazer a medição, dilua as amostras de soro a 1:10 com o tampão de detecção (B-LFMRP-CB) (misture 20 µL da amostra com 180 µL do tampão de detecção, em um tubo de ensaio).
- Misture bem (ex: utilizando um vortex).

2. Procedimento e leitura do teste de fluxo lateral

- Carregue os parâmetros específicos do lote a partir do cartão de chip RFID.
- Adicione 60 µL do amostra diluída no cassete do teste.
- Incube durante 12 minutos +/-1 minuto (usando um cronômetro).
- Coloque o cassete do teste no bandeja do leitor de cassete.
- Valide o cassete do teste no Quantum Blue® Reader e pressione o botão de início (<ENTER>) imediatamente.
- Para controles Baixo / Alto: Repita o passo 2 usando 60 µL do controle em vez da amostra de soro diluída.

Nota: Por favor, leia as instruções do Manual do Quantum Blue® Reader para conhecer as funções, iniciar e operar o leitor; especialmente como selecionar métodos e introduzir os parâmetros através da leitura do cartão RFID.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Se a precisão do teste não se correlacionar com os limites estabelecidos e as repetições excluïrem erros técnicos, verifique o seguinte: i) pipetagem, temperatura e tempo dos diferentes passos, ii) data de validade dos reagentes e iii) condições do armazenamento e incubação.
- A autocalibração quando for iniciado no Quantum Blue® Reader (Verificação de calibração) tem que ser válida.

VALIDAÇÃO DOS RESULTADOS

- Num resultado válido, a Linha de Controle (C) tem que ser sempre visível (ver Figuras 1A e 1B). Este é um teste de controle/validação que não pode ser usado para interpretar a Linha de Teste (T). Se a Linha de Teste (T) não for detectável após os 12 min de incubação (Figura 1A), a concentração de MRP8/14 presente na amostra é inferior ao limite de detecção. Se a Linha de Teste (T) for detectável após os 12 min de incubação (Figura 1B), a concentração da MRP8/14 presente é calculada pelo Quantum Blue® Reader.

- Se apenas a Linha de Teste (T) for detectável após os 12 min de incubação (Figura 1C), o resultado do teste é inválido e o teste de MRP8/14 tem que ser repetido com outro cassete.
- Se a linha de controle (C) e se a linha de ensaio (T) não forem detectáveis após a incubação (figura 1D), o resultado do ensaio é inválido e, o ensaio tem de ser repetido utilizando outro cassete de teste.
- Como o Quantum Blue® Reader permite a avaliação quantitativa das Linhas de Teste (T) e de Controle (C), há uma validação adicional da Linha de Controle (C). Se a intensidade do sinal da Linha de Controle (C) for inferior à determinada para esse lote após os 12 min de incubação, o resultado do teste é inválido e o teste de MRP8/14 tem que ser repetido com outro cassete.

ESTANDARDIZAÇÃO E INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

- O teste de fluxo lateral é calibrado com a sCAL ELISA da BÜHLMANN (código para pedido: EK-MRP8/14).
- O Quantum Blue® Reader utiliza uma curva padrão específica ao lote para calcular a concentração de MRP8/14. O intervalo de teste é definido entre 0,5 e 10 µg/mL.
- Para medições quantitativas de amostras com leitura acima de 10 µg/mL, dilua as amostras de soro mais uma vez a 1:10 (diluição total resultante de 1:100) e teste novamente de acordo com o procedimento de teste. A concentração medida deve então ser multiplicada pelo fator do volume recíproco para se obter o resultado final.

LIMITAÇÕES

- Os reagentes fornecidos com este kit são otimizados para medir MRP8/14 humano em amostras de soro.
- Os resultados de MRP8/14 podem ser utilizados para complementar outras informações para que o diagnóstico possa ser estabelecido.

RESULTADOS E INTERPRETAÇÃO

O teste de Quantum Blue® sCAL ajuda a estabelecer rapidamente uma estimativa inicial da situação inflamatória do paciente.

Os valores de referência a seguir podem ajudar a caracterizar a situação inflamatória de um paciente. Os pacientes com AR* (n = 20) apresentaram níveis médios de MRP8/14 sérico de 6,25 µg/mL (DP: 3,43 µg/mL), enquanto os pacientes que estavam respondendo ao tratamento (n = 20) apresentaram níveis médios de 2,92 µg/mL (DP: 1,45 µg/mL) (ref. 1, 2).

Os valores normais de MRP8/14 foram determinados usando-se amostras de soro de doadores de sangue aparentemente saudáveis e assintomáticos (homens e mulheres adultos na faixa de idade de 18 - 70 anos). No total, 122 amostras de soro foram analisadas com EK-MRP8/14 devido à boa correlação ($R^2 = 0,94$, inclinação = 0,93) com o LF-MRP25.

Os níveis de MRP8/14 dos pacientes com AR se mostraram significativamente mais elevados em comparação aos controles saudáveis (n = 122), com uma concentração de MRP8/14 sérico mediano de 1,16 µg/mL e percentil 95 a uma concentração de 2,92 µg/mL.

*AR (Artrite Reumatoide)

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Limite do Branco (LoB): 0.25 µg/mL MRP8/14

Limite de Detecção (LoD): 0.42 µg/mL MRP8/14

Repetibilidade: 17.2 % do CV. A repetibilidade do teste de Quantum Blue® sCAL foi calculada a partir de 10 amostras em 20 dias. Cada amostra foi testada em duplicata duas vezes por dia, de acordo com o procedimento de teste. A repetibilidade variou entre 11,9 e 25,4 %.

Linearidade: 0.5 to 10 µg/mL. Quatro amostras de soro com concentrações elevadas de MRP8/14 foram diluídas com o tampão de detecção B-LFMRP-CB. Cada diluição foi subsequentemente testada de acordo com o procedimento de teste. Os resultados demonstraram linearidade dentro do intervalo de medição indicado de 0,5 a 10 µg/mL do teste para Quantum Blue® sCAL.

Efeito-gancho (*hook effect*) com doses elevadas: Não foi observado efeito gancho com dose elevada até uma concentração de 146 µg/mL de MRP8/14.

Índices Séricos: Nenhuma interferência foi detectada com as seguintes substâncias até as concentrações listadas: Triglicérides (Intralipid® 1320 mg/dL; equivalente a 37 mmol/L de triglicérides), bilirrubina conjugada (342 µmol/L; 29 mg/dL), bilirrubina não conjugada (342 µmol/L; 29 mg/dL) ou hemoglobina (2 g/L; 200 mg/dL).

Método de Comparação: $R^2 = 0.94$; $y = 0.93x + 0.51$ µg/mL

29 amostras dentro do intervalo de medição indicado do teste de Quantum Blue® sCAL foram analisadas 10 vezes cada de acordo com o procedimento de teste e seus resultados comparados aos valores das duplicatas de 1-4 x obtidas com a sCAL ELISA da BÜHLMANN. Os dados de correlação podem ser vistos na figura 3.

Limite de Quantificação (LoQ):

LoQ inferior: 0.42 µg/mL MRP8/14;

LoQ superior: >10 µg/mL MRP8/14.

O LoQ foi estabelecido com quinze amostras. As amostras foram medidas com 10 replicações, cada. O perfil de precisão resultante é mostrado na figura 2. O limite de quantificação corresponde à concentração de MRP8/14 com uma imprecisão abaixo de 25 % do CV que permite uma medição quantitativa entre 0,42 µg/mL (LoQ inferior) e mais de 10 µg/mL (LoQ superior).

FIGURES / ABBILDUNGEN / FIGURES / FIGURE / FIGURAS

Validation of Results

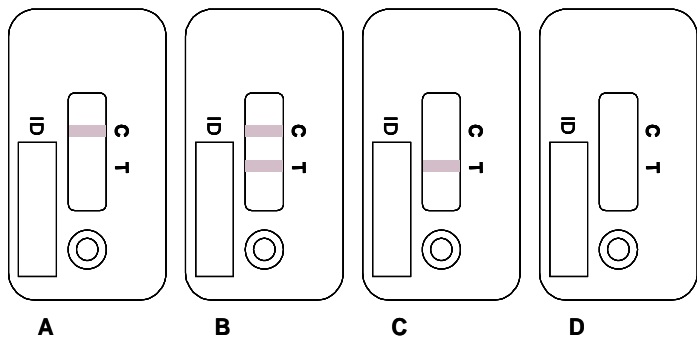


Figure 1

Method Comparison

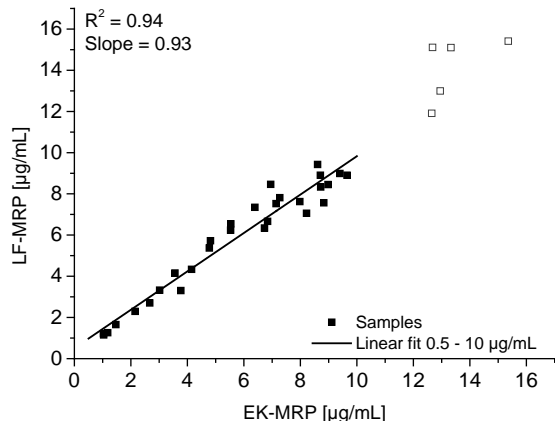


Figure 3

Precision Profile

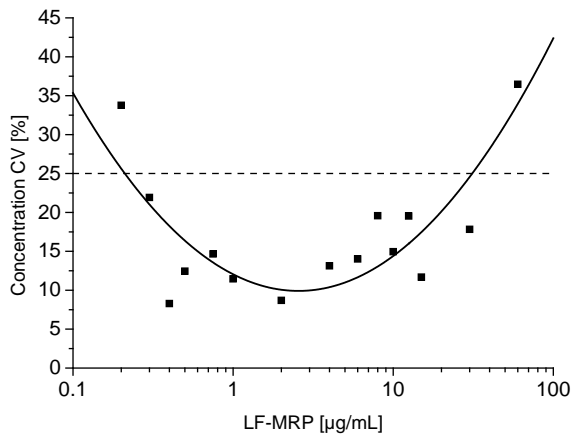














Figure 2

REFERENCES / REFERENZEN / RÉFÉRENCES / RIFERIMENTI / REFERENCIAS / REFERÊNCIAS

1. García-Arias M., Pascual-Salcedo D., Ramiro S., Ueberschlag M-E., Jermann T.M., Cara C., Martín-Mola E., Balsa A. (2013): Association with Disease Activity in a Cross-Sectional and Longitudinal Cohort. *Mol Diag Ther.* Published online
2. Cerezo L.A., Mann H., Pecha O., Pleštilová L., Pavelka L., Vencovsky J., Senolt L. (2011): Decreases in serum levels of S100A8/9 (calprotectin) correlate with improvements in total swollen joint count in patients with new-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy.* **13**: R122

SYMBOLS / SYMBOLE / SYMBOLES / SIMBOLI / SIMBOLOS

Symbol	Explanation
	Use by Verwendbar bis Utiliser jusqu'au Utilizzare entro Fecha de caducidad Data de expiração
	Order Code Bestellnummer Code Codice Código Código
	Batch code Lotbezeichnung Code du lot Codice del lotto Código de lote Código 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> Producto sánitario 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 Contenido suficiente para <n> tests
	Consult Instructions for Use- Gebrauchsanweisung beachten Consulter le mode d'emploi Consultare le istruzioni per l'uso Consulte las instrucciones de uso Leia cuidadosamente as instruções

Symbol	Explanation
	Temperature limitation Zulässiger Temperaturbereich Limites de température Limiti di temperatura Limite de temperatura Limite de temperatura
	Test Cassette Test Kassette Cassette de testi Card di rilevazione Cartucho de prueba Cassete de teste
	Chase Buffer Laufpuffer Tampon de dilution Tampone di diluzione Tampón de incubación Tampão de diluição
	Control Low Kontrolle Tief Contrôle Bas Controllo Basso Control Bajo Controle Baixo
	Control High Kontrolle Hoch Contrôle Élevé Controllo Alto Control Alto Controle Alto
	RFID Chip card RFID Chipkarte RFID Carte à puce RFID Carta chip RFID Tarjeta chip RFID Cartão Chip

