



BÜHLMANN sCAL[®] turbo

Dosage turbidimétrique de la calprotectine sérique

Coffret de réactifs

B-KSCAL-RSET

Version A1

Pour utilisation en diagnostic *in vitro*



Fabricant

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Suisse

Tél.: +41 61 487 1212

Fax: +41 61 487 1234

info@buhlmannlabs.ch

UTILISATION PRÉVUE

Le dosage BÜHLMANN sCAL[®] turbo est un test de diagnostic *in vitro* pour la détermination quantitative de la calprotectine (MRP8/14) dans les échantillons de sérum humain. Les niveaux sériques de calprotectine peuvent servir à déterminer le statut inflammatoire des patients. Le test est utilisé en combinaison avec les analyseurs de chimie clinique.

Pour utilisation en laboratoire uniquement.

PRINCIPE DU DOSAGE

Le test BÜHLMANN sCAL[®] turbo est un immunodosage turbidimétrique amplifié par particules (PETIA) et permet la quantification de la calprotectine dans les échantillons de sérum humain sur des analyseurs de chimie clinique. Les échantillons peuvent être mesurés sans étape de dilution supplémentaire. Les échantillons sont incubés avec du tampon de réaction avant d'être mélangés à des nanoparticules de polystyrène revêtues d'anticorps spécifiques de la calprotectine (immunoparticules). La calprotectine présente dans les échantillons permet à l'agglutination des immunoparticules. La turbidité de l'échantillon, mesurée par absorbance de la lumière, augmente avec la formation de complexes calprotectine-immunoparticule et est proportionnelle à la concentration en calprotectine dans le sérum. L'absorbance détectée permet la quantification de la concentration en calprotectine par interpolation sur une courbe d'étalonnage établie.

RÉACTIFS FOURNIS

Réactifs	Quantité	Code	Préparation
Tampon de réaction (R1) Solution saline tamponnée HEPES	1 flacon 24 mL	B-KSCAL-R1	Prêt à l'emploi
Immunoparticules (R2) Billes de polystyrène revêtues d'anticorps polyclonaux contre la calprotectine humaine	1 flacon 7.3 mL	B-KSCAL-R2	Prêt à l'emploi

Tableau 1 : Réactifs fournis

STOCKAGE ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Réactifs non ouverts
Stocker à 2-8 °C. Ne pas utiliser le kit au-delà de la date de péremption figurant sur les étiquettes.
Stabilité dans l'appareil
Stocker à 2-15 °C jusqu'à 55 jours.

Tableau 2 : Stockage et stabilité des réactifs

Ne pas congeler les réactifs !

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Réactifs	Quantité	Code
BÜHLMANN sCAL® turbo Coffret de calibrateurs Calibrateurs 1 à 6 pour la détermination d'une courbe d'étalonnage en six points	1 x 6 flacons 1 mL/ flacon	B-KSCAL-CASET
BÜHLMANN sCAL® turbo Coffret de contrôles Contrôles haut et bas	3 x 2 flacons 1 mL/ flacon	B-KSCAL-CONSET

Tableau 3 : Matériel requis mais non fourni

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Ce test est exclusivement destiné à un usage diagnostique *in vitro*.
- Il est recommandé que le test soit réalisé par un personnel qualifié, conformément aux Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).
- Les immunoparticules contiennent des substances potentiellement infectieuses d'origine animale et doivent être manipulées avec prudence. L'élimination des déchets doit être conforme aux exigences locales.
- Le réactif R2 contient des nanoparticules de polystyrène.
- Toute solution non utilisée doit être éliminée conformément aux réglementations locales et nationales en vigueur.

Précautions techniques

- Ne pas mélanger les réactifs R1 et R2 issus de lots différents et ne pas intervertir les bouchons des réactifs.
- La contamination inter-échantillons dépend de l'analyseur de chimie clinique. Pour plus d'informations, consulter la note d'application spécifique à l'analyseur.
- Une fois congelé, le réactif R2 ne peut plus être utilisé. La congélation de R2 entraîne une diminution de la sensibilité et de la précision dans les échantillons de niveau faible et, dans le pire scénario, une diminution des niveaux de mesure.
- Avant toute mesure, équilibrer réactifs, contrôles, calibrateurs et échantillons pendant 30 minutes à température ambiante avant de démarrer l'analyse.

- Vérifier que les échantillons sont exempts de bulles avant l'exécution du test.
- L'évaporation des calibrateurs et des contrôles de l'analyseur peut entraîner des résultats incorrects. Exécuter le dosage immédiatement après le chargement de l'analyseur.

COLLECTE ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

Prélever le sang dans des tubes sans additif ou dans des tubes à gel séparateur selon les instructions du fabricant et éviter toute hémolyse.

Centrifuger le tube de ponction veineuse à 1800 x g pendant 15 minutes à température ambiante (18-28 °C) et **transférer le sérum** dans des tubes simples **dans les 6 heures** qui suivent le prélèvement sanguin. Éviter de co-transférer des cellules sanguines de tout type. Ne pas inactiver à la chaleur les échantillons.

Transport et stockage des prélèvements

Les échantillons de sérum séparés peuvent être stockés à température ambiante jusqu'à 28 °C pendant 15 jours. Les échantillons séparés peuvent être stockés à 2-8 °C jusqu'à 16 jours. Pour un stockage de plus longue durée, conserver les échantillons de sérum non dilués à $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Ces échantillons sont stables pendant au moins 1 mois à $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Il n'est pas recommandé de pratiquer plus de 6 cycles de congélation-décongélation.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Notes d'application / installation du dosage

La procédure de dosage du test BÜHLMANN sCAL[®] turbo a été établie sur plusieurs analyseurs de chimie clinique. Les notes d'application validées qui décrivent l'installation et l'analyse sur des instruments spécifiques sont disponibles auprès de BÜHLMANN sur simple demande. Les manuels d'instruments correspondants doivent être pris en compte pour la configuration, la maintenance, l'utilisation et les précautions relatives aux instruments.

Préparation des réactifs

Les réactifs fournis sont prêts à l'emploi. Mélanger avec précaution avant chargement dans l'instrument. Transférer le contenu des réactifs dans des flacons spécifiques à l'instrument.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Le coffret de calibrateurs BÜHLMANN sCAL[®] turbo sert à établir une courbe d'étalonnage en six points conformément au manuel de l'instrument. Les valeurs des calibrateurs sont spécifiques à chaque lot. Une nouvelle calibration doit être réalisée pour chaque nouveau lot de calibrateurs et de réactifs. Autrement, effectuer une calibration tous les un à deux mois conformément aux notes d'application spécifiques à l'instrument. Se référer à la fiche de données de contrôle qualité fournie avec le coffret de calibrateurs BÜHLMANN sCAL[®] turbo pour obtenir les valeurs des calibrateurs attribuées. Contacter l'assistance de BÜHLMANN si la calibration ne peut être effectuée sans erreur.

Contrôles CQ

Le coffret de contrôles BÜHLMANN sCAL[®] turbo doit être analysé tous les jours avant l'analyse des échantillons sériques de patients pour valider la courbe d'étalonnage. Les contrôles ont des plages de valeurs attribuées indiquées sur la fiche de données de contrôle qualité fournie avec chaque lot de coffret de contrôles BÜHLMANN sCAL[®] turbo. Les mesures des contrôles doivent se situer dans les plages de valeurs indiquées pour obtenir des résultats valides pour les échantillons sériques de patients.

Si les valeurs de contrôles ne sont pas valides, répéter la mesure avec des contrôles frais. Si les valeurs des contrôles ne sont toujours pas valides, calibrer à nouveau le dosage. S'il est impossible de reproduire des valeurs de contrôles valides, après avoir suivi les étapes décrites ci-dessus, contacter l'assistance de BÜHLMANN.

Mesure des échantillons sériques de patients

Une fois la courbe de calibration établie et validée à l'aide des contrôles, les échantillons sériques de patients peuvent être analysés. Effectuer la mesure des échantillons sériques de patients conformément à la note d'application et au manuel de l'instrument.

Résultats

Les résultats sont calculés automatiquement sur l'analyseur de chimie clinique et présentés en µg/mL.

STANDARDISATION

Le dosage BÜHLMANN sCAL[®] turbo est normalisé par rapport à un matériel de référence interne (calprotectine native purifiée). Les valeurs des étalons et des contrôles sont attribuées selon un protocole de transfert de valeur (réf. 1, 2), pour garantir la traçabilité métrologique.

L'intervalle de mesure analytique du dosage BÜHLMANN sCAL® turbo, établi sur l'instrument BS-480 de Mindray est de 0,23-15,0 µg/mL.

LIMITATIONS

- Les échantillons lipémiques et hémolytiques entraînent des interférences. Consulter le chapitre Substances interférentes pour plus d'informations. Les échantillons lipémiques peuvent être évités en demandant aux patients de jeûner pendant au moins 12 heures avant le prélèvement de l'échantillon.
- Les résultats des tests doivent être interprétés en conjonction avec les informations issues de l'évaluation clinique du patient et des autres procédures diagnostiques.

INTERVALLE DE REFERENCE

L'intervalle de référence du test BÜHLMANN sCAL® turbo a été établi selon la ligne directrice C28-A3 du CLSI avec 160 échantillons sériques d'individus s'auto-déclarant sains : des hommes et des femmes adultes âgés de 18 à 83 ans. Les échantillons ont été prélevés dans un tube natif ou dans un tube avec gel séparateur, avant d'être traités dans les 3,4 heures suivant le prélèvement. Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

Matrice	N	95% Limite de référence* [µg/mL]	Intervalle de référence		
			2,5 – 97,5 Centile [µg/mL]	Intervalle de confiance à 90% Limite inférieure de référence	Limite supérieure de référence
Sérum (tube natif)	160	1,77	0,24 – 2,01	0,11 – 0,31	1,78 – 2,74
Sérum (gel séparateur)	160	1,10	0,19 – 1,80	0,06 – 0,23	1,10 – 2,07

Tableau 4 : Intervalle de référence du dosage BÜHLMANN sCAL® turbo ; *un seul côté

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Les caractéristiques de performance présentées ont été établies sur un instrument BS-480 de Mindray, sauf indication contraire. Pour prendre connaissance des caractéristiques de performance sur d'autres analyseurs de chimie clinique, consulter les notes d'applications spécifiques à l'analyseur utilisé.

Comparaison des méthodes :

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

L'étude de comparaison des méthodes a été réalisée en suivant la ligne directrice EP09-A3 du CLSI. Cent onze (111) échantillons ont été analysés en

utilisant 3 lots de tests BÜHLMANN sCAL® turbo sur 3 jours. Les valeurs de référence moyennes, avec des concentrations en calprotectine de 0,5-10,3 µg/mL incluses dans la plage de mesure, ont été établies avec 1 lot du test GCAL® sur un cobas c501 de Roche. Le biais a été déterminé en utilisant une régression linéaire de Passing-Bablok et une analyse de Bland-Altman.

Analyse de Bland-Altman			Analyse par régression de Passing-Bablok		
Biais moyen (IC 95 %)	LoA inférieure (IC 95 %)	LoA supérieure (IC 95 %)	Pente (IC 95 %)	Ordonnée à l'origine [µg/mL] (IC 95 %)	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

Reproductibilité : 2,9– 11,1 % CV

La reproductibilité a été établie conformément à la ligne directrice EP05-A3 du CLSI en utilisant un modèle d'étude 3 instruments/lots/opérateurs x 5 jours x 5 répliques et un critère d'acceptabilité de 15% CV. Les analyses ont été effectuées sur des instruments cobas c501 de Roche, AU480 de Beckman Coulter et BS-480 de Mindray. Quatre échantillons sériques ont été analysés.

N°	Moyenne [µg/mL]	n	Intra-analyse		Jour-à-jour		Entre lots/ instruments/opérateurs		Total	
			ET [µg/mL]	% CV	ET [µg/mL]	% CV	ET [µg/mL]	% CV	ET [µg/mL]	% CV
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

Répétabilité : 0,5 – 3,9 % CV

Précision intra-laboratoire : 0,7 – 5,1 % CV

La répétabilité et la précision intra-laboratoire ont été établies en suivant la ligne directrice EP05-A3 du CLSI en utilisant un modèle d'étude normalisé de 20 jours x 2 analyses x 2 répliques. Quatre échantillons sériques (n° 1-4) avec des concentrations en calprotectine couvrant l'intervalle de mesure analytique (IMA) (0,66 – 10,41 µg/mL) du dosage et trois échantillons sériques (n° 5-7) avec des concentrations couvrant l'intervalle de mesure étendu (IME) (20,62 – 166,5 µg/mL) ont été analysés.

N°	Moyenne [µg/mL]	n	Répétabilité		Entre analyses		Jour-à-jour		Intra-laboratoire	
			ET [µg/mL]	% CV	ET [µg/mL]	% CV	ET [µg/mL]	% CV	ET [µg/mL]	% CV
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

Intervalle de mesure étendu (IME) : 15,0 – 225 µg/mL

L'intervalle de mesure étendu (IME) du dosage BÜHLMANN sCAL[®] turbo a été déterminé en suivant la ligne directrice EP34 du CLSI. Les échantillons ayant une concentration connue dans l'IME ont été dilués du facteur de dilution recommandé de 1:15 avec de l'eau déminéralisée par un opérateur sur 2 instruments et avec 2 lots de réactifs différents. Quatre réplicats ont été effectués pour chaque dilution sur chaque instrument et pour chaque lot. Une récupération de dilution maximale de ± 20% était autorisée.

Récupération : 92,0 – 112,8 %

Six échantillons sériques avec des niveaux de calprotectine allant de 0,38 µg/mL à 8,8 µg/mL ont été additionnés de 1,5 µg/mL de calprotectine dans le matériel de calibration. L'addition a été réalisée à 10% du volume du spécimen. Les échantillons « de ligne de base » ont été additionnés du volume correspondant de prélèvement sans analyte. Les échantillons « de ligne de base » et « de ligne de base + addition » ont été mesurés en quatre réplicats.

Contamination inter-échantillons

La contamination inter-échantillons a été établie en suivant la ligne directrice EP10-A3 du CLSI. Aucune contamination inter-échantillons statistiquement significative n'a été détectée dans le test BÜHLMANN sCAL[®] turbo sur un instrument BS-480 de Mindray.

Limite de détection (LoD) : 0,11 µg/mL

La LoD a été établie selon la ligne directrice EP17-A2 du CLSI en suivant l'approche classique, une analyse paramétrique et une **LoB de 0,07 µg/mL**, déterminée à l'aide d'une analyse non paramétrique.

Limite de quantification (LoQ) inférieure : 0,23 µg/mL

La LoQ a été établie en suivant la ligne directrice EP17-A2 du CLSI en se basant sur 60 déterminations et un objectif de précision de 20% CV.

Plage de linéarité : 0,16 – 15,1 µg/mL

La plage linéaire du dosage BÜHLMANN sCAL® turbo a été déterminée en suivant la ligne directrice EP06-Ed2 du CLSI. Pour la calprotectine sérique, il a été démontré que la méthode est linéaire entre 0,16 et 15,1 µg/mL, avec un écart autorisé de $\pm 20\%$ / $\pm 0,2$ µg/mL dans cet intervalle.

« Effet crochet » à dose élevée

Des échantillons avec des concentrations en calprotectine allant jusqu'à 91,2 µg/mL ont été mesurés sur trois (3) lots de réactifs sur un analyseur BS-480 de Mindray sans restreindre la limite de quantification supérieure (ULoQ) du dosage.

Substances interférentes :

La sensibilité du dosage BÜHLMANN sCAL® turbo aux produits pharmaceutiques oraux et injectables ainsi qu'aux substances endogènes a été évaluée en suivant la ligne directrice EP07-A3 du CLSI. Un biais dans les résultats dépassant 20% était considéré comme une interférence.

Des substances endogènes telles que l'hémoglobine, l'intralipide, les facteurs rhumatoïdes et les échantillons hémolysés manifestaient une interférence. Les échantillons contenant des facteurs rhumatoïdes jusqu'à 88,3 U/mL peuvent être analysés correctement. Au-dessus de cette valeur, les résultats de calprotectine positifs seront incorrects. Des échantillons contenant de l'intralipide jusqu'à 9,2 mg/mL peuvent être analysés correctement. Au-dessus de cette concentration, les résultats de calprotectine négatifs seront incorrects.

Aucune interférence n'a été détectée avec les substances suivantes jusqu'à la concentration indiquée : ibuprofène (0,22 mg/mL), naproxène (0,36 mg/mL), méthotrexate (1,36 mg/mL), adalimumab (Humira®) (36 µg/mL), infliximab (Remicade®) (277 µg/mL), tofacitinib (116 ng/mL), prednisone (99 ng/mL), prednisolone (99 ng/mL), dexaméthasone (Fortecortin®) (12 µg/mL), ciprofloxacine (12 µg/mL), lansoprazole (1,0 µg/mL), triglycérade (9,2 mg/mL), bilirubine conjuguée (0,40 mg/mL), bilirubine non conjuguée (0,40 mg/mL) et facteurs rhumatoïdes (88,3 U/mL).

RÉFÉRENCES

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

RAPPORTS D'INCIDENTS DANS LES ÉTATS MEMBRES DE L'UE

En cas d'incident grave en lien avec ce dispositif, signalez-le sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État Membre.

DOMMAGES PENDANT L'EXPEDITION

Veillez notifier votre distributeur si vous avez reçu un produit endommagé.

REACH

Aucun des matériels et réactifs du coffret n'exige de Fiche de Données Sécurité (FDS) selon le règlement (CE) n° 1272/2008, ou CLP, et le règlement CE 1907/2006 (REACH).

SYMBOLES

BÜHLMANN utilise des symboles et des signes énumérés et décrits dans l'ISO 15223-1.

