



BÜHLMANN sCAL[®] turbo

Dosaggio turbidimetrico della calprotectina sierica

Kit di reagenti

B-KSCAL-RSET

Versione A1

Per uso diagnostico *in vitro*



Produttore

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Svizzera

Tel.: +41 61 487 1212

Fax: +41 61 487 1234

info@buhlmannlabs.ch

INTENDED USE

BÜHLMANN sCAL[®] turbo è un test diagnostico *in vitro* per la determinazione quantitativa della calprotectina (MRP8/14) in campioni di siero umano. I livelli calprotectina sierica possono essere usati per determinare lo stato infiammatorio dei pazienti. Il test usato insieme ad analizzatori chimico-clinici.

Solo per uso di laboratorio.

PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il test BÜHLMANN sCAL® turbo consiste in un dosaggio immunologico turbidimetrico arricchito con particelle (PETIA) e consente la quantificazione della calprotectina in campioni di siero umano tramite analizzatori chimico-clinici. I campioni possono essere misurati senza alcun ulteriore step di diluizione. I campioni vengono incubati con tampone di reazione e miscelati con nanoparticelle di polistirene rivestite di anticorpi specifici per la calprotectina (immunoparticelle). La calprotectina presente nel campione media l'agglutinazione delle immunoparticelle. La torbidità del campione, misurata come assorbanza della luce, aumenta con la formazione del complesso calprotectina immunoparticella ed è proporzionale alla concentrazione di calprotectina nel siero. Misurando l'assorbanza della luce è possibile quantificare la concentrazione di calprotectina mediante interpolazione con una curva di calibrazione precedentemente determinata.

REAGENTI FORNITI

Reagenti	Quantità	Codice	Preparazione
Tampone di reazione (R1) Tampone salino HEPES	1 provetta 24 mL	B-KSCAL-R1	Pronto all'uso
Immunoparticelle (R2) Sfere di polistirene rivestite con anticorpi policlonali contro la calprotectina umana	1 provetta 7.3 mL	B-KSCAL-R2	Pronto all'uso

Tabella 1: Reagenti forniti

CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

Reagenti non aperti
Conservare a 2-8°C. Non usare il kit dopo la data di scadenza stampata sulle etichette.
Stabilità on board
Conservare a 2-15°C per un periodo massimo di 55 giorni.

Tabella 2: Conservazione e stabilità dei reagenti

I reagenti non vanno congelati!

MATERIALI OCCORRENTI MA NON FORNITI

Reagenti	Quantità	Codice
BÜHLMANN sCAL® turbo Kit di calibratori Calibratori 1-6 per la determinazione di una curva di calibrazione a sei punti	1 x 6 provette 1 mL/ provetta	B-KSCAL-CASET
BÜHLMANN sCAL® turbo Kit di controlli Controlli, basso e alto	3 x 2 provette 1 mL/ provetta	B-KSCAL-CONSET

Tabella 3: Materiali occorrenti ma non forniti

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Questo test è solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Si raccomanda l'utilizzo del test da parte di personale qualificato, in conformità con le Buone Pratiche di Laboratorio (GLP).
- Le immunoparticelle contengono sostanze di origine animale potenzialmente infettive e devono essere maneggiate adottando le precauzioni del caso. Lo smaltimento di tutti i materiali di scarto deve avvenire in conformità alla legislazione locale.
- R2 contiene nanoparticelle di polistirene.
- La soluzione inutilizzata deve essere smaltita nel rispetto delle disposizioni locali, regionali e nazionali in materia.

Precauzioni tecniche

- Non mescolare reagenti R1 e R2 di lotti di reagenti diversi né invertire i tappi dei reagenti.
- Il trasferimento di residui di campione (carry-over) dipende dall'analizzatore di chimica clinica. Per maggiori informazioni, consultare le note applicative specifiche dell'analizzatore.
- Il reagente R2 se congelato non è più utilizzabile. Il congelamento di R2 comporterà minore sensibilità e precisione dell'analisi dei campioni con livelli bassi e, nel caso peggiore, livelli misurati inferiori.
- Prima di effettuare la misurazione, equilibrare reagenti, controlli, calibratori e campioni per 30 minuti a temperatura ambiente prima di avviare l'analisi.
- Prima di eseguire il test, accertarsi che nei campioni non vi siano bolle.

- L'evaporazione dei calibratori e dei controlli sull'analizzatore potrebbe compromettere la correttezza dei risultati. Eseguire l'analisi subito dopo aver caricato l'analizzatore.

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Prelevare il sangue in provette senza additivi o in provette con gel di separazione come da istruzioni del produttore ed evitare l'emolisi.

Centrifugare la provetta per prelievo venoso a 1.800 x g per 15 minuti a temperatura ambiente (18-28°C) e **trasferire il siero** in provette senza additivi **entro 6 ore** dal prelievo di sangue. Evitare di trasferire anche le cellule ematiche. Non inattivare i campioni con il calore.

Trasporto e conservazione dei campioni

I campioni di siero separato possono essere conservati a una temperatura ambiente non superiore a 28°C per 15 giorni. I campioni di siero separato possono essere conservati a 2-8°C al massimo per 16 giorni. Se devono essere conservati più a lungo, mantenere i campioni di siero non diluiti a $\leq -20^\circ\text{C}$. Questi campioni sono stabili per almeno 1 mese a $\leq -20^\circ\text{C}$. Sono sconsigliati più di 6 cicli di congelamento-scongelo.

PROCEDURA DEL DOSAGGIO

Note applicative / Installazione dell'analisi

Le procedure analitiche per BÜHLMANN sCAL® turbo sono state determinate su diversi analizzatori di chimica clinica. Le note applicative convalidate che descrivono l'installazione e l'analisi su specifici strumenti sono disponibili richiedendole a BÜHLMANN. Si deve consultare il manuale relativo al proprio strumento per informazioni specifiche su impostazioni, manutenzione, funzionamento e precauzioni.

Preparazione dei reagenti

I reagenti forniti sono pronti all'uso. Miscelare con delicatezza prima di caricarli nello strumento. Trasferire il contenuto dei reagenti nei flaconi specifici dello strumento.

Determinazione della curva di calibrazione

Il Kit di calibratori BÜHLMANN sCAL® turbo viene utilizzato per stabilire una curva di calibrazione a sei punti secondo il manuale dello strumento. I valori dei calibratori sono lotto specifici. È necessario determinare una nuova curva di calibrazione per ogni nuovo lotto di calibratori e di reagenti. Altrimenti, la calibrazione deve essere eseguita ogni 1-2 mesi secondo quanto specificato

nelle note applicative specifiche dello strumento. Consultare la scheda dati-QC allegata al Kit di calibratori BÜHLMANN sCAL® turbo per i valori dei calibratori assegnati. Se non è possibile eseguire la calibrazione senza errori, rivolgersi al servizio di assistenza di BÜHLMANN.

Controlli QC

Per convalidare la curva di calibrazione, il Kit di controlli BÜHLMANN sCAL® turbo deve essere analizzato tutti i giorni prima di eseguire il test sui campioni di siero dei pazienti. Ai controlli sono stati assegnati i range di valori indicati sulla scheda dati-QC allegata a ogni lotto del Kit di controlli BÜHLMANN sCAL® turbo. Perché i risultati dell'analisi dei campioni di siero dei pazienti siano considerati validi, le misurazioni dei controlli devono rientrare nei range dei valori indicati.

Se i valori dei controlli non sono validi, ripetere la misurazione utilizzando controlli freschi. Se i valori dei controlli continuano a non essere validi, ricalibrare il dosaggio. Se i valori dei controlli validi non sono riproducibili, dopo aver eseguito i passaggi descritti sopra, rivolgersi al servizio di assistenza di BÜHLMANN.

Misurazione del siero dei pazienti

Una volta che la curva di calibrazione è stata stabilita e convalidata con i controlli, è possibile passare alla misurazione del siero dei pazienti. Eseguire la misurazione del siero dei pazienti seguendo alla nota applicativa e al manuale dello strumento.

Risultati

I risultati sono calcolati automaticamente dall'analizzatore di chimica-clinica e presentati in µg/mL.

STANDARDIZZAZIONE

Il dosaggio BÜHLMANN sCAL® turbo è standardizzato rispetto a un materiale di riferimento interno (calprotectina nativa purificata). I valori dei calibratori e dei controlli sono assegnati in base a un protocollo di trasferimento dei valori (Rif. 1, 2) per garantire la tracciabilità metrologica.

L'intervallo di misurazione dell'analisi mediante BÜHLMANN sCAL® turbo, stabilito con lo strumento Mindray BS-480, è di 0,23-15,0 µg/mL.

LIMITAZIONI

- I campioni lipemici ed emolizzati mostrano interferenze. Per maggiori informazioni consultare il capitolo Sostanze interferenti. I campioni lipemici possono essere evitati chiedendo ai pazienti di digiunare per almeno 12 ore prima del prelievo del campione.
- I risultati del test devono essere interpretati congiuntamente alle informazioni cliniche ottenute dalla valutazione clinica del paziente e da altre procedure diagnostiche.

INTERVALLO DI RIFERIMENTO

L'intervallo di riferimento del test BÜHLMANN sCAL[®] turbo è stato stabilito conformemente alle linee guida EP28-A3 del CLSI con 160 campioni di siero di soggetti auto-dichiaratisi sani: adulti di entrambi i sessi nella fascia di età 18-83 anni. I campioni sono stati prelevati in provette senza additivi o in provette con gel di separazione e processati entro 3,4 ore dal prelievo. I risultati sono riportati nella tabella 4.

Matrice	N	Limite di riferimento del 95%* [µg/mL]	Intervallo di riferimento		
			2,5 – 97,5 Percentile [µg/mL]	Intervallo di confidenza al 90% Limite di riferimento inferiore	Limite di riferimento superiore
Siero (provetta senza additivi)	160	1,77	0,24 – 2,01	0,11 – 0,31	1,78 – 2,74
Siero (gel di separazione)	160	1,10	0,19 – 1,80	0,06 – 0,23	1,10 – 2,07

Tabella 4: Intervallo di riferimento di BÜHLMANN sCAL[®] turbo; *a una coda

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le caratteristiche prestazionali presentate sono state determinate utilizzando lo strumento Mindray BS-480, salvo diversamente indicato. Consultare le note applicative specifiche dell'analizzatore utilizzato per conoscere le caratteristiche prestazionali con altri analizzatori chimico-clinici.

Confronto tra metodi:

BÜHLMANN sCAL[®] turbo vs test GCAL[®] (Gentian AS)

Lo studio di confronto tra metodi è stato condotto secondo le linee guida EP09-A3 del CLSI. Sono stati misurati centoundici (111) campioni usando 3 lotti di BÜHLMANN sCAL[®] turbo nell'arco di 3 giorni. I valori medi di riferimento, con concentrazioni di calprotectina all'interno del range di misurazione di 0,5-10,3 µg/mL, sono stati determinati usando 1 lotto del test

GCAL[®] con lo strumento Roche cobas c501. Il bias è stato determinato usando l'analisi di regressione lineare di Passing-Bablok e l'analisi di Bland-Altman.

Analisi di Bland-Altman			Analisi di regressione di Passing-Bablok		
Bias medio (IC 95%)	Limite concordanza inferiore (IC 95%)	Limite concordanza superiore (IC 95%)	Pendenza (IC 95%)	Intercetta [$\mu\text{g/mL}$] (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

Riproducibilità: CV 2,9 – 11,1%

La riproducibilità è stata determinata secondo le linee guida EP05-A3 del CLSI applicando il seguente disegno di studio: 3 x strumenti/lotti/operatori x 5 giorni x 5 replicati e un criterio di accettabilità corrispondente a un CV del 15%. I test sono stati eseguiti con gli strumenti Roche cobas c501, Beckman Coulter AU480 e Mindray BS-480. Sono stati analizzati quattro campioni di siero.

#	Media [$\mu\text{g/mL}$]	n	Nella singola analisi		Tra giorni		Tra lotti/strumenti/operatori		Totale	
			DS [$\mu\text{g/mL}$]	CV (%)	DS [$\mu\text{g/mL}$]	CV (%)	DS [$\mu\text{g/mL}$]	CV (%)	DS [$\mu\text{g/mL}$]	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

Ripetibilità: CV 0,5 – 3,9%

Precisione intra-laboratorio: CV 0,7 – 5,1%

La ripetibilità e la precisione intra-laboratorio sono state determinate secondo le linee guida EP05-A3 del CLSI usando il seguente disegno standardizzato: x 20 giorni x 2 analisi x 2 replicati. Sono stati testati quattro campioni di siero (#1-4) con concentrazioni di calprotectina all'interno dell'intervallo di misurazione dell'analisi (AMI) (0,66 – 10,41 $\mu\text{g/mL}$) del dosaggio e tre campioni di siero (#5-7) con concentrazioni all'interno dell'intervallo di misurazione esteso (EMI) (20,62 – 166,5 $\mu\text{g/mL}$).

#	Media [µg/mL]	n	Ripetibilità		Tra analisi		Tra giorni		Intra-laboratorio	
			DS [µg/mL]	CV (%)	DS [µg/mL]	CV (%)	DS [µg/mL]	CV (%)	DS [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

Intervallo di misurazione esteso (EMI): 15,0 – 225 µg/mL

L'intervallo di misurazione esteso (EMI) del test BÜHLMANN sCAL® turbo è stato determinato secondo le linee guida EP34 del CLSI. I campioni con concentrazione nota all'interno dell'EMI sono stati diluiti, applicando il fattore di diluizione raccomandato di 1:15, con acqua demineralizzata da parte di un operatore e analizzati con 2 strumenti e utilizzando 2 lotti diversi di reagenti. Sono stati misurati quattro replicati per diluizione con ciascuno strumento e per ciascun lotto. Era consentito un recupero massimo della diluizione di $\pm 20\%$.

Recupero: 92,0 – 112,8%

Sei campioni di siero con livelli di calprotectina variabili da 0,38 µg/mL a 8,8 µg/mL sono stati arricchiti (spiking) con 1,5 µg/mL di calprotectina in materiale dei calibratori. Lo spiking è stato eseguito al 10% del volume del campione. I campioni "basali" sono stati arricchiti con il corrispondente volume di campione privo dell'analita. I campioni "basali" e "basali + arricchiti" sono stati misurati in quattro replicati.

Carry-over dei campioni

Il carry-over dei campioni è stato determinato secondo le linee guida EP10-A3 del CLSI. L'esecuzione del test BÜHLMANN sCAL® turbo su uno strumento Mindray BS-480 non ha comportato un carry-over statisticamente significativo.

Limite di rilevabilità (LoD): 0,11 µg/mL

Il LoD è stato determinato secondo le linee guida EP17-A2 del CLSI usando l'approccio classico, l'analisi parametrica e un **limite del bianco (LoB) di 0,07 µg/mL**, determinato usando un'analisi non parametrica.

Limite di quantificazione (LoQ) inferiore: 0,23 µg/mL

Il LoQ è stato determinato secondo le linee guida EP17-A2 del CLSI, basandosi su 60 determinazioni e un obiettivo di precisione in termini di coefficiente di variazione (CV) del 20%.

Range di linearità: 0,16 – 15,1 µg/mL

Il range lineare di BÜHLMANN sCAL® turbo è stato determinato secondo le linee guida EP06-Ed2 del CLSI. Per la calprotectina sierica è stata dimostrata la linearità del metodo da 0,16 a 15,1 µg/mL, entro una deviazione ammissibile di $\pm 20\%$ / $\pm 0,2$ µg/mL in questo intervallo.

Effetto “hook” delle concentrazioni elevate

I campioni con concentrazioni di calprotectina fino a 91,2 µg/mL sono stati misurati con tre (3) lotti di reagenti sullo strumento Mindray BS-480 senza limitare il limite di quantificazione superiore (ULoQ) del dosaggio.

Sostanze interferenti:

La sensibilità del dosaggio BÜHLMANN sCAL® turbo a farmaci orali e iniettabili e a sostanze endogene è stata analizzata secondo le linee guida EP07-A3 del CLSI. Nei risultati, un bias eccedente il 20% è stato considerato interferenza.

Le sostanze endogene come emoglobina, intralipid, fattori reumatoidi e campioni emolizzati hanno mostrato interferenza. Sono misurabili correttamente campioni con livelli massimi di fattori reumatoidi pari a 88,3 U/mL. Al di sopra di questo valore, si otterranno risultati positivi errati per la calprotectina. Sono misurabili correttamente campioni con livelli massimi di intralipid pari a 9,2 mg/mL. Al di sopra di tale concentrazione, saranno misurati risultati negativi errati per la calprotectina.

Non sono emerse interferenze con le seguenti sostanze, fino alle concentrazioni indicate: ibuprofene (0,22 mg/mL), naprossene (0,36 mg/mL), metotressato (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), desametasone (Fortecortin®) (12 µg/mL), ciprofloxacina (12 µg/mL), lansoprazolo (1,0 µg/mL), trigliceride (9,2 mg/mL), bilirubina coniugata (0,40 mg/mL), bilirubina non coniugata (0,40 mg/mL) e fattori reumatoidi (88,3 U/mL).

RIFERIMENTI

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

SEGNALAZIONE DI INCIDENTI NEGLI STATI MEMBRI UE

Si prega di segnalare immediatamente al produttore e alle autorità competenti del proprio paese eventuali incidenti gravi avvenuti in relazione all'uso di questo dispositivo.

DANNI DOVUTI ALLA SPEDIZIONE

Informare il proprio distributore se il prodotto è stato ricevuto danneggiato.

REACH

Nessuno dei materiali e reagenti nel kit richiede una scheda di dati di sicurezza dei materiali (MSDS) in base al regolamento CLP (CE) N. 1272/2008 e alla direttiva CE 1907/2006 (REACH).

LEGENDA DEI SIMBOLI

BÜHLMANN utilizza i simboli e i segni elencati e descritti nella norma ISO 15223-1.

