

Evaluation des CRP- Messsystems SMART 546

**LabConsult® Gesellschaft für Laboratoriumsdiagnostik in der
Klinischen Pharmakologie m. b. H., Freiburg**

29. August 2007

Autorin:

**Chr. Rauch,
Projektleitung Krankenhauslabor**

**Elsaesserstr. 2
D-79106 Freiburg**

LabConsult® Gesellschaft für Laboratoriumsdiagnostik in der Klinischen Pharmakologie m.b.H. ·
Geschäftsführer: Prof. Dr. J. Kötting · Wissenschaftlicher Beirat: Prof. Dr. H. Maier-Lenz ·
Bankverbindung: Commerzbank Freiburg (BLZ 680 400 07) · Konto-Nr. 14 02 700
Sitz / Registergericht: Freiburg i. Br. HRB 5212 · USt-ID-Nummer: DE 190937794

SMART 546 Evaluations Report Freiburg

Sponsor:

Sysmex Europe GmbH

Bornbach 1

22848 Norderstedt

Dr. Klaus Hofmann

Tel. 040 52726 145

e-mail Hofmann.Klaus@Sysmex-Europe.com

Evaluations Zentrum Freiburg:

LabConsult GmbH

Zentrale

Tel. +49 761 40 00 60

Fax +49 761 40 00 666

e-mail info@labconsult.de

Chr. Rauch

Labor Sankt-Josefskrankenhaus Freiburg

Tel. 0761 2711 5271

Fax +49 761 2711 2251

e-mail rauch@labconsult.de

1. Beschreibung der Systemkonfiguration SMART 546

2. Installation und Einweisung

Mit dem Eurolyser SMART 546 (Single Methode Automated Reading Technology) soll ein präzises komfortables Messsystem zur schnellen, unmittelbaren Ermittlung der CRP – / hsCRP - Konzentrationen aus Vollblut und Serum als echtes *point-of-care – System* zur Verfügung stehen. Bei dem zur Evaluation zur Verfügung gestellten Gerät (Ser. Nr. Aa0166) handelt es sich um ein Seriengerät, das innerhalb 0,5 Stunden aufgestellt, initialisiert und als *stand-alone* Gerät ohne IT-Anbindung eingerichtet wurde.

Die Schulung des zur Evaluation vorgesehenen Personals (2 MTLA) dauerte 1,0 Stunden und wurde vom Betreuer - Team des Vertreibers (Peter Himmelsbach, Fa. Sysmex) geleistet.

3. Evaluationsumfang und -ziele

1 *Methodenvergleich*

Überprüfung der Übereinstimmung zwischen den CRP-/hsCRP- Messergebnissen des SMART 546 aus Vollblut / EDTA Plasma / Serum und den Resultaten des Klinisch-Chemischen Vollautomaten Cobas 6000 (Roche Diagnostics, Mannheim) aus Serum.

2. *Impräzision*

Charakterisierung der Präzision des SMART 546 in der Serie bei verschiedenen CRP – Konzentrationen.

3. *Linearität*

Bestimmung der Linearität des CRP – Messbereichs des SMART 546.

4. Proben, Reagenzien und Verbrauchsmaterial

Proben

Für den Methodenvergleich wurden aus den nicht mehr benötigten Laborroutine – Proben des Tages (EDTA-)Vollblut-, dazugehörige Serum- und nach Zentrifugation der Vollblutprobe EDTA – Plasma -Aliquote asserviert und am gleichen Tag gemessen.

Material und Methoden

SMART 546

Der SMART 546 mit dem dazugehörigen CRP - Testkit erlaubt quantitative immunturbidimetrische Tests in 2 Konzentrationsbereichen:

Serum/Plasma: 0,5-120 mg/L für hs - CRP

und

Vollblut: 2-200 mg/L für CRP.

Die verwendeten ERS (Eurolyser-Reagent-System) Küvetten sind mit 1000 µL Buffer Reagenz Glycine Buffer 170 mM vorgefüllt, die ERS Kappen, die auf die Küvetten gesetzt werden, sind mit 200 µL Latex Reagenz (Kaninchen antihuman -RP Antikörper, 0,2%) vorgefüllt. Die CRP – Konzentration wird aus der photometrischen Bestimmung der Agglutinationskinetik bei 546 nm gegen humanes CRP berechnet.

Reagenz - Chargen:

s. Tabelle „Lieferung und Verwendung der Reagenzien“, Anhang II.

Die Wiederholungs-Messungen zum Methodenvergleich wurden mit der Charge- Nr. 0629901 (2008-03) durchgeführt.

Kontroll – Materialien:

Low- und High Control „CAL523/02“ (09.2007) / Fa. Eurolyser Diagnostica GmbH

Durchführung:

Für die Messung mit dem SMART 546 werden 5 µL einer Probe in eine ERS (Eurolyser Reagent System) Küvette pipettiert, die ERS Kappe aufgesetzt und die Küvette in das Gerät gestellt. Der SMART 546 misst dann Vollblutproben in Abhängigkeit vom zum zuvor bestimmten und dann eingegebenen Hämatokrit - Wert bzw. Serum- und Plasmaproben ohne diese Information.

Cobas 6000

Das Testprinzip des Cobas 6000 CRPHS (C- Reactive Protein High Sensitive Assay) basiert auf einem Partikel - verstärkten immunologischen turbidimetrischen Test, für den die Reagenzien R1, R2 in gebrauchsfertiger Lösung geliefert werden. Der Messbereich für den Cobas 6000 CRPHS wird mit 0,15 bis 300 mg/L vom Hersteller angegeben. Es wurden hier nur die Serumproben verwendet.

Reagenz - Chargen:

682354 (10/2008)

Kontroll – Materialien:

CRP-T-Control N: Chargen- Nr. 17818802 (01/2010) und Precipath Protein: Chargen- Nr. 17833 (04/2009), (Fa. Roche Diagnostics).

Durchführung:

Für die Messung mit Cobas 6000 werden die Proben in den Rack – Einzug eingeführt und die Messungen via Software angefordert.

Linearität

Zur Ermittlung der Linearität wurden jeweils drei Messungen innerhalb der folgenden Linearitätsbereiche durchgeführt, wobei folgende Verdünnungsreihen angesetzt wurden:

Serum (mit aqua bidest.): >120mg/L, ~100mg/L, ~50mg/L, ~20mg/L, ~5mg/L, ~2mg/L, ~0,5mg/L

Vollblut (mit physiol. Kochsalzlsg.): >200mg/L, ~50mg/L, ~20mg/L, ~5mg/L, ~2mg/L

Die Verdünnungsreihe für die Serumproben wurde so angesetzt:

CRP - Endkonzentration	Volumen Serumprobe	Volumen aqua bidest.
120 mg/L	Ausgangslösung	-----
100 mg/L	50 µL der Ausgangslsg.	10 µL
50 mg/L	40 µL der 100 mg/L Lsg.	40 µL
20 mg/L	50 µL der 50 mg/L Lsg.	75 µL
5 mg/L	50 µL der 20 mg/L Lsg.	150 µL
2 mg/L	20 µL der 5 mg/L Lsg.	30 µL
0,5 mg/L	10 µL der 2 mg/L Lsg.	30 µL

Die Verdünnungsreihe für die Vollblutprobe wurde so angesetzt:

CRP - Endkonzentration	Volumen Vollblutprobe	Volumen NaCl
170 mg/L	Ausgangslösung	-----
107 mg/L	170 µL der Ausgangslsg.	100 µL
52 mg/L	100 µL der 107 mg/L Lsg.	105 µL
20 mg/L	50 µL der 52 mg/L Lsg.	80 µL
5 mg/L	20 µL der 20 mg/L Lsg.	60 µL
2 mg/L	20 µL der 5 mg/L Lsg.	30 µL

5. Auswertung

Die CRP - Resultate wurden über entsprechende Peripherie –Geräte (Cobas 6000: Systemdrucker) bzw. SMART 546 durch händige Eingabe der MTA dokumentiert und zur statistischen Auswertung in ein EXCEL – file transformiert (Vier-Augen-Prinzip).

6. Ergebnisse

Die Aufstellung, Inbetriebnahme und Einweisung im Evaluationslabor verlief zügig, reibungslos und sehr effektiv. Nach 0,5 Stunden ist eine MTLA in der Lage, mit dem SMART 546 CRP – Spiegel zu bestimmen.

6.1 Methodenvergleich

Der Methodenvergleich wurde mit je 50 Proben EDTA – Vollblut, Plasma und Serum über den Konzentrationsbereich von 0,2 – 120 mg/mL im SMART 546 durchgeführt und nach *Passing-Bablok (1)* gegen die Serum – Ergebnisse aus dem Cobas 6000 ausgewertet. Die Rohdaten sind im Anhang aufgelistet. Abb.1 zeigt die Korrelation zwischen den CRP – Bestimmungen aus Serum mit SMART 546 und Cobas 6000.

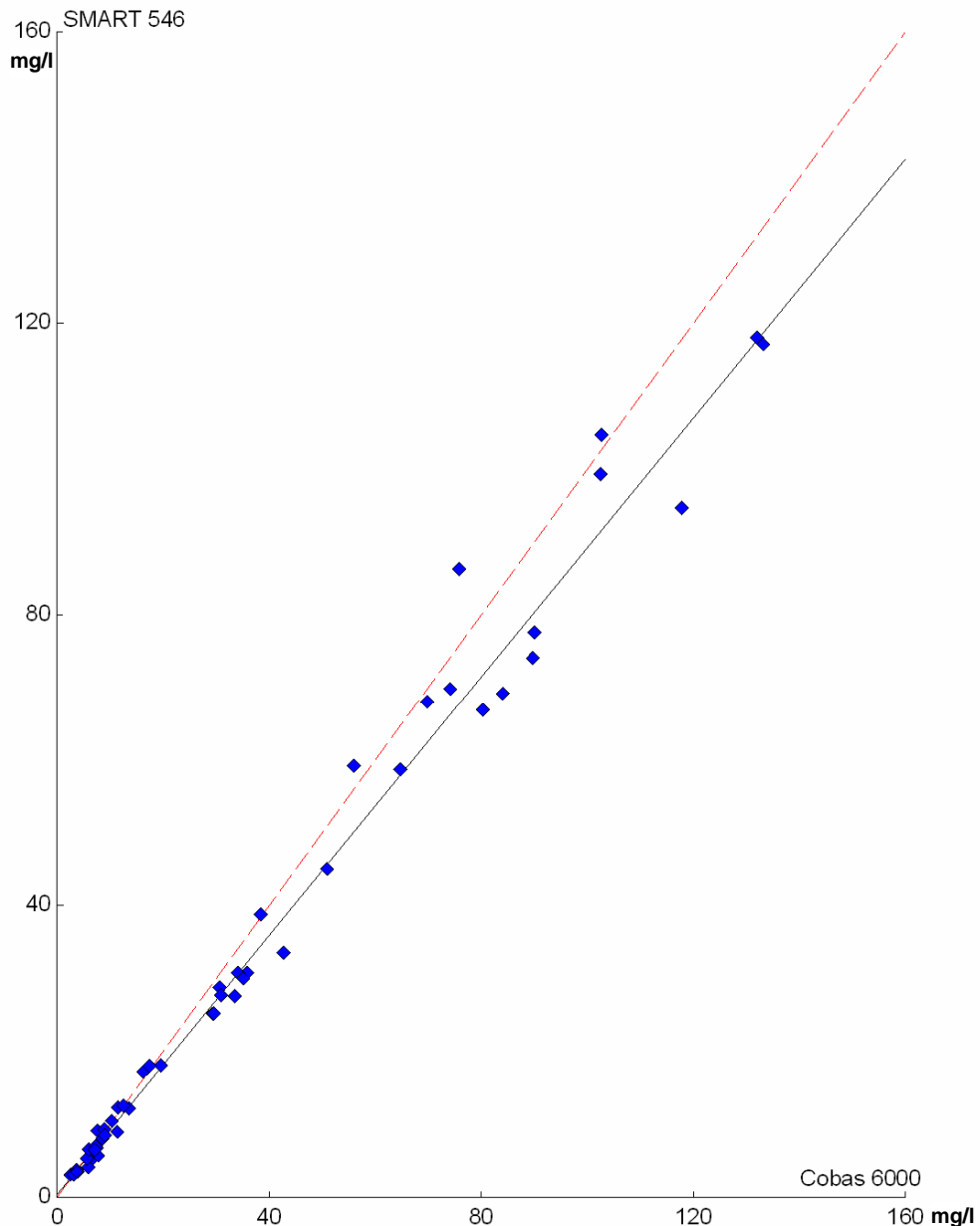


Abb.:1 Vergleich COBAS 6000 (Referenz) und SMART 546 Serum $r=0,991$

Passing-Bablok agreement test N = 50

Slope : 0,889 [0,858 to 0,933]

Intercept : 0,38 [-0,07 to 0,79]

Abbildung 2 zeigt den *Differenzenplot* zwischen den Referenzwerten (Cobas; mean) zu den dazugehörigen SMART 546 Serum - Vergleichswerten.

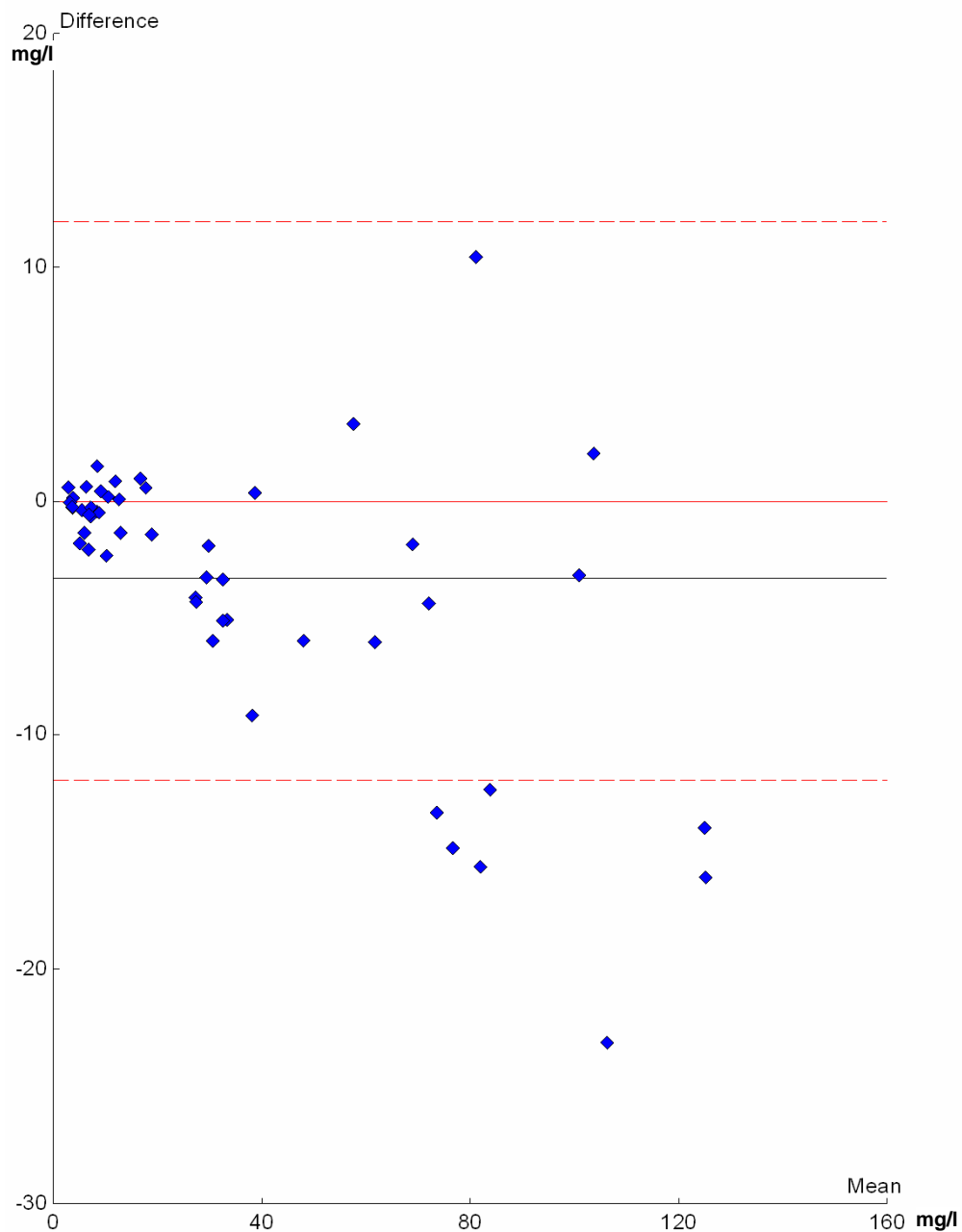


Abb.:2 Vergleich COBAS 6000 (Referenz) und SMART 546 Serum $r=0,991$

Difference plot N = 50
 Mean difference : -3,29 [-4,98 to -1,59]

In Abb. 3 ist die Korrelation zwischen den SMART 546 CRP-Plasma – Ergebnissen und der Cobas 600 Serum – Referenz dargestellt.

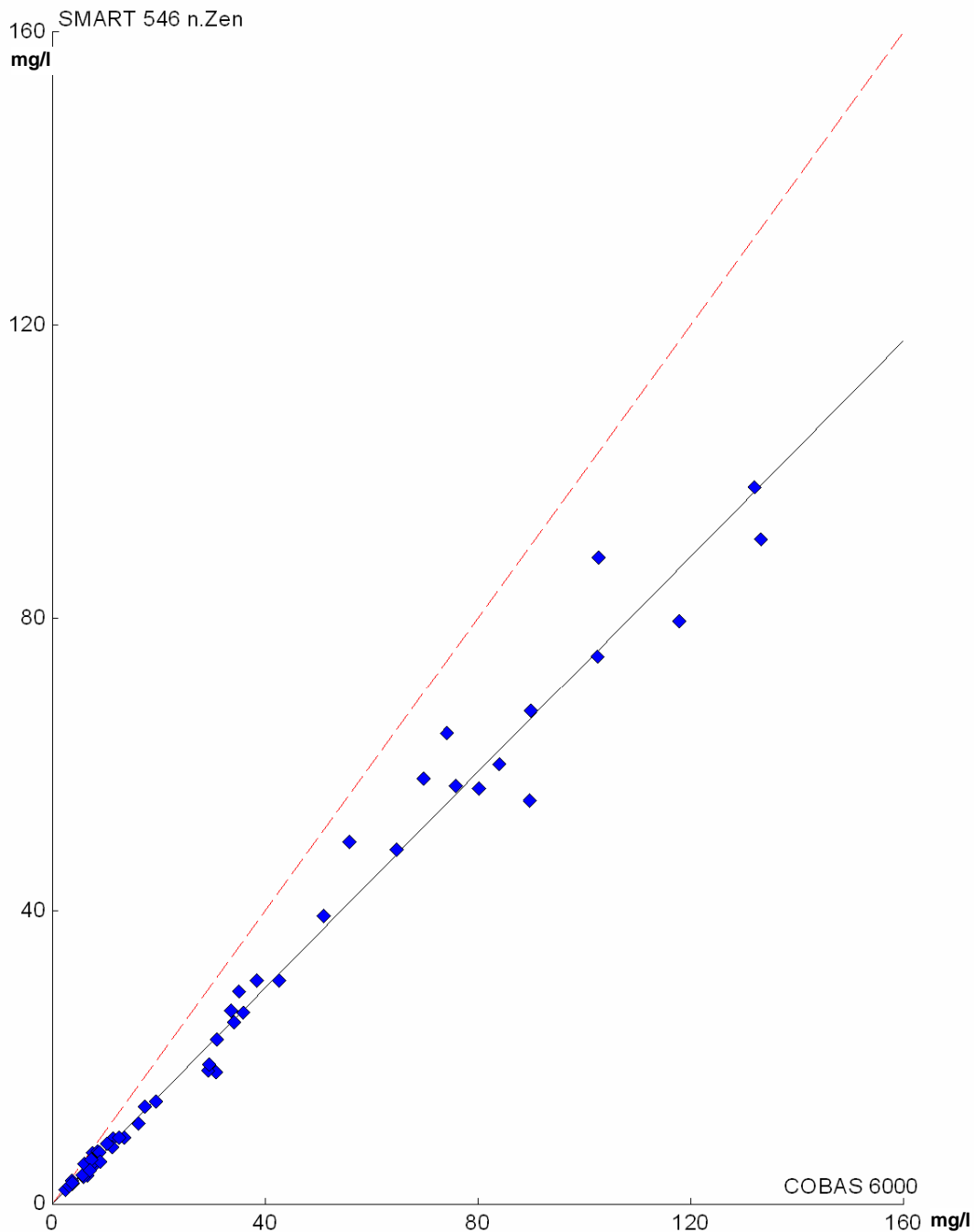


Abb.:3 Vergleich COBAS 6000 (Referenz) und SMART 546 Plasma $r = 0,991$

Passing-Bablok agreement test N = 50
 Slope : 0,737 [0,711 to 0,757]
 Intercept : 0,01 [-0,52 to 0,40]

Abbildung 4 zeigt den *Differenzenplot* zwischen den Referenzwerten (Cobas; mean) zu den dazugehörigen SMART 546 Plasma - Vergleichswerten.

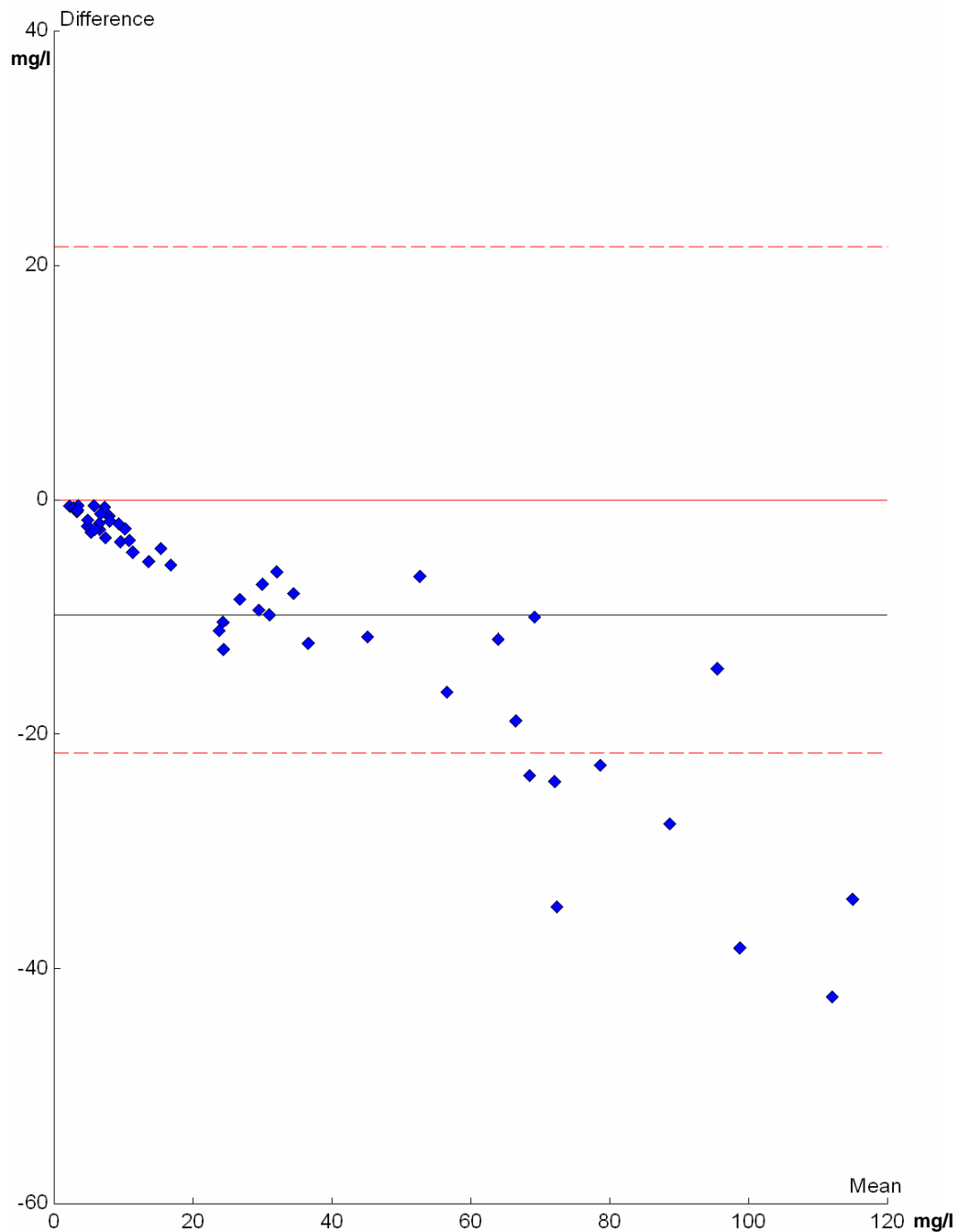


Abb.:4 Vergleich COBAS 6000 (Referenz) und SMART 546 Plasma $r = 0,991$

Difference plot N = 50
 Mean difference : -9,76 [-12,8 to -6,71]

In Abb. 5 ist die Korrelation zwischen den SMART 546 CRP- Vollblut – Ergebnissen und der Cobas 6000 Serum – Referenz dargestellt.

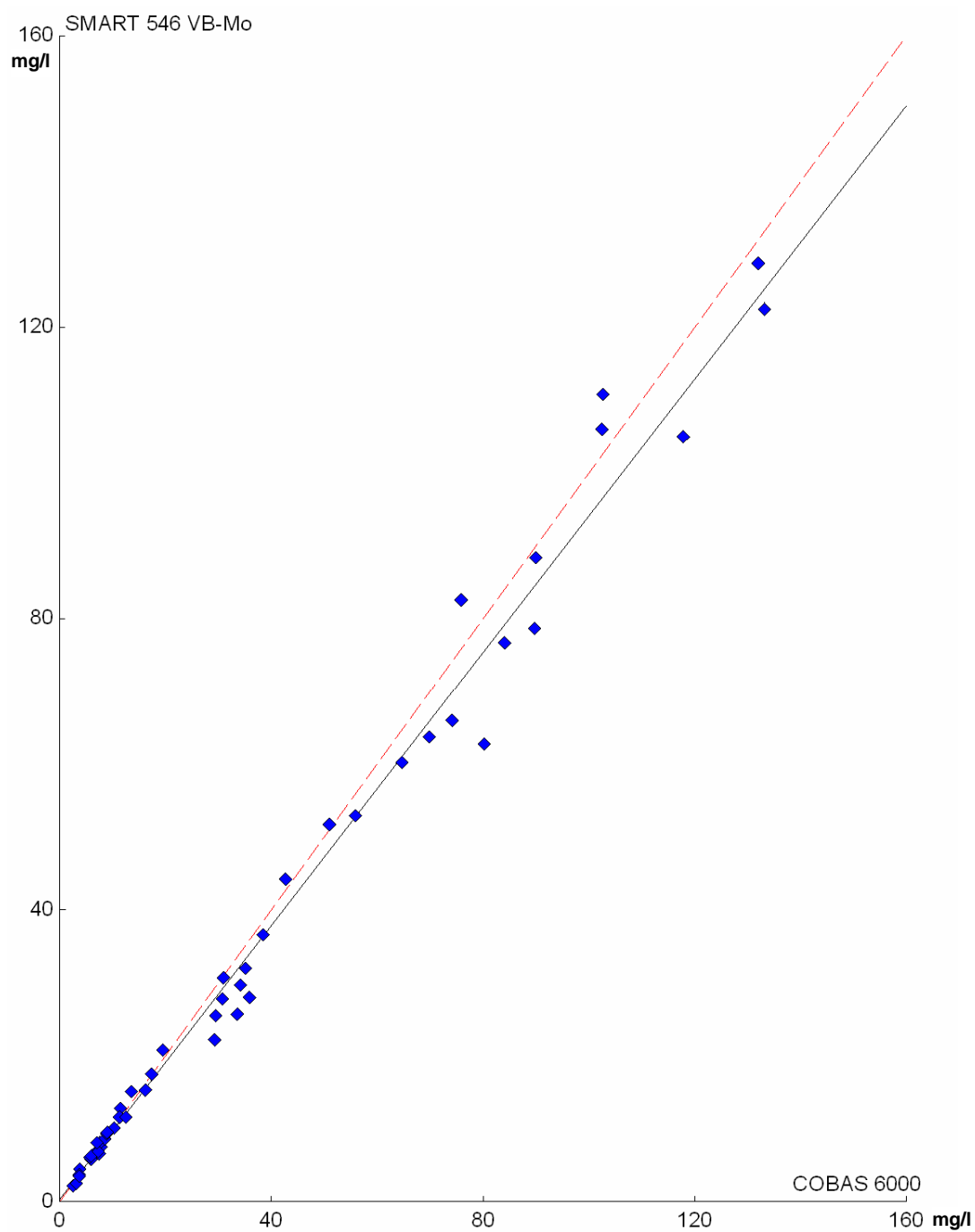


Abb.:5 Vergleich zwischen COBAS 6000 (Referenz) und SMART 546 Vollblut $r = 0,993$

Passing-Bablok agreement test N = 50

Slope : 0,938 [0,906 to 0,981]

Intercept : 0,32 [-0,15 to 0,82]

Abbildung 6 zeigt den *Differenzenplot* zwischen den Referenzwerten (Cobas; mean) zu den dazugehörigen SMART 546 Vollblut - Vergleichswerten.

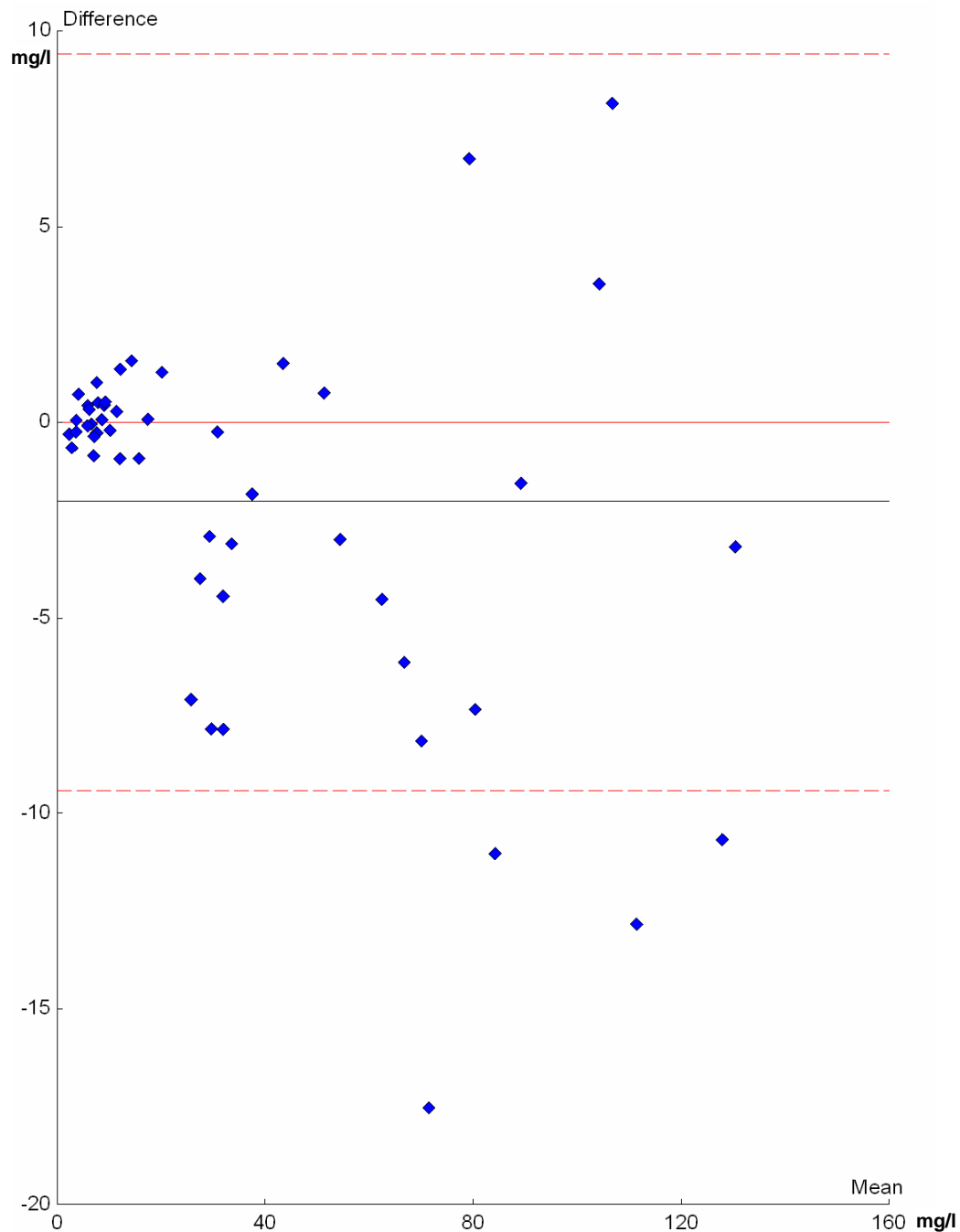


Abb.:6 Vergleich zwischen COBAS 6000 (Referenz) und SMART 546 Vollblut $r = 0,993$

Difference plot N = 50
 Mean difference : -2,02 [-3,35 to -0,683]

6.2 Impräzision

Die Bestimmung der Impräzision der CRP-Messung mit dem SMART 546 wurde in einer Serie von 20 Messungen im Bereich folgender Konzentrationen durchgeführt:

Serum: ~1mg/L, ~5mg/L, ~20mg/L, ~100mg/LI

Vollblut: ~5mg/L, ~20mg/L, ~150-200mg/L

Die Standardabweichungen wurden nach

$$S = \left(\frac{\sum (x_m - x_i)^2}{(n-1)} \right)^{1/2}$$

Wobei x_m = Mittelwert, x_i = Messwert und n = Anzahl der Proben.

Die Berechnung der relativen Standardabweichung S_{rel} erfolgte nach:

$$S_{rel} = (S / x_m) \cdot 100\%$$

In Tabelle 1 sind die CRP-Werte der Impräzisionsmessung von Serum- / Plasma- und Vollblutproben mit dem SMART 546 zusammengefasst.

Tabelle 1: Impräzision der CRP – Bestimmung in drei Konzentrationsbereichen und zwei Matrices mit dem SMART 546

CRP-Konz.	Serum/Plasma				Vollblut		
Datum:	18.06.2007	18.06.2007	18.06.2007	19.06.2007	19.06.2007	19.06.2007	*WH 26.06.07
Bereich	~1mg/L	~5mg/L	~20mg/L	~100mg/L	~5mg/L	~20mg/L	~100-160mg/L
Nr.							
1	1,3	4,2	22,2	106,3	5,0	18,7	124,0
2	1,5	4,1	20,8	98,3	3,8	16,5	134,3
3	1,1	4,4	21,4	104,8	4,8	15,2	128,5
4	1,5	4,2	22,7	105,2	4,5	14,4	136,6
5	1,7	4,6	21,4	103,6	3,8	15,5	125,4
6	1,1	4,5	23,5	96,8	3,8	15,1	129,7
7	1,3	4,5	22,0	101,5	4,6	17,0	137,6
8	1,5	4,2	21,6	105,6	4,5	15,9	141,3
9	1,2	4,0	22,1	97,1	4,1	15,6	134,3
10	1,1	4,5	21,2	109,5	4,4	15,1	137,8
11	1,3	4,6	20,2	101,7	5,1	14,8	135,0
12	1,4	3,9	22,2	104,0	5,0	18,7	138,0
13	1,7	4,5	22,7	99,5	3,7	15,9	120,8
14	1,5	4,5	21,4	102,9	3,8	14,8	137,0
15	1,4	4,2	19,2	105,9	4,2	18,1	143,3
16	1,5	4,4	23,5	97,7	4,4	14,4	137,8
17	1,3	4,6	23,0	101,7	3,7	14,5	135,8
18	1,5	4,1	20,6	98,0	4,4	15,6	143,5
19	1,9	4,1	19,6	100,5	4,5	17,6	148,3
20	1,7	4,5	21,0	97,3	4,6	15,5	128,8
MW (x) [mg/mL]	1,4	4,3	21,6	101,9	4,3	15,9	134,9
S [mg/mL]	0,2	0,2	1,2	3,6	0,4	1,3	6,8
S_{rel} [%]	15,0	5,0	5,3	3,5	10,2	8,4	5,0

*WH = Wiederholung mit Test-Kits LOT-Nr. 629901-02

6.3 Linearität

In der folgenden Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Linearitätsmessung aus Serum dargestellt.

Tabelle 2: Linearität der CRP – Bestimmung mit dem SMART 546 im Serum

Konzentration CRP in mg/L	1.Wert	2.Wert	3.Wert
~120mg/L	114,3	120	117,5
~100mg/L	86,5	86,3	84,3
~50mg/L	54,2	53,8	56,2
~20mg/L	19,3	19,3	21,4
~5mg/L	4,7	3,7	3,4
~2mg/L	1,9	1,5	1,7
~0,5mg/L	0,4	0,4	0,4

Trägt man die tatsächlich mit dem SMART 546 gemessenen CRP - Konzentrationen der verdünnten Serumproben über die theoretisch berechneten auf (Abb. 7) so zeigt sich innerhalb des Pipettierfehlers eine sehr gute Korrelation von $r = 0,998$.

Tabelle 3: Linearität der CRP – Bestimmung mit dem SMART 546 im Vollblut

Konzentration CRP in mg/L	1.Wert	2.Wert	3.Wert
~170mg/L	165,6	173,8	171,2
~107mg/L	105,5	108,3	105,6
~52mg/L	54,2	59,6	57,2
~20mg/L	19,7	23,5	23,8
~5mg/L	6,6	7,5	6,5
~2mg/L	2,5	3	3

Trägt man die tatsächlich mit dem SMART 546 gemessenen CRP - Konzentrationen der verdünnten Vollblutproben über die theoretisch berechneten auf (Abb. 8) so zeigt sich auch hier innerhalb des Pipettierfehlers eine sehr gute Korrelation von $r = 0,999$.

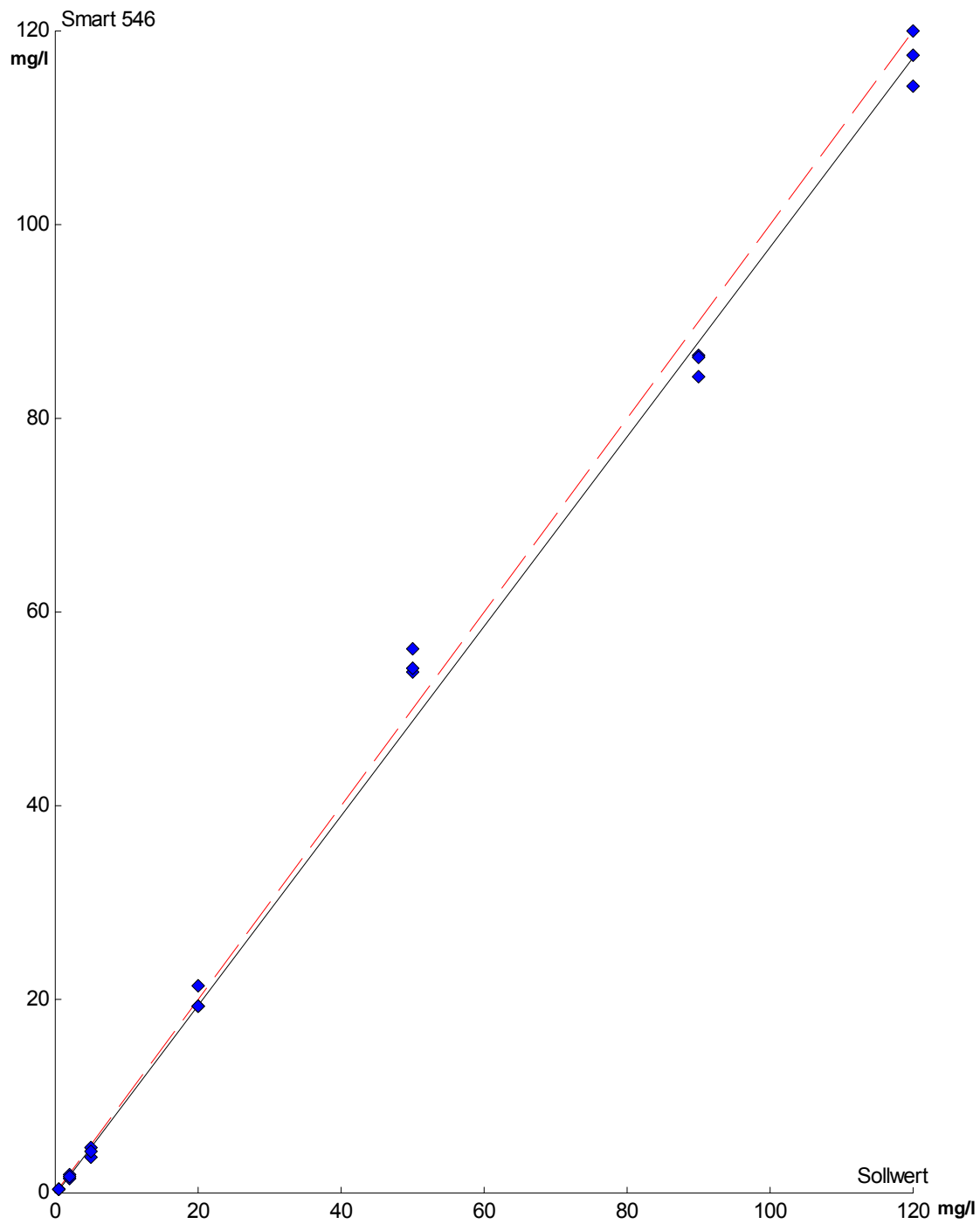


Abb.: 7 Linearitätsüberprüfung bei Serumproben (Smart 546) $r=0,998$

Passing-Bablok agreement test N = 21

Slope : 0,979 [0,960 to 1,033]

Intercept : -0,19 [-0,57 to -0,08]

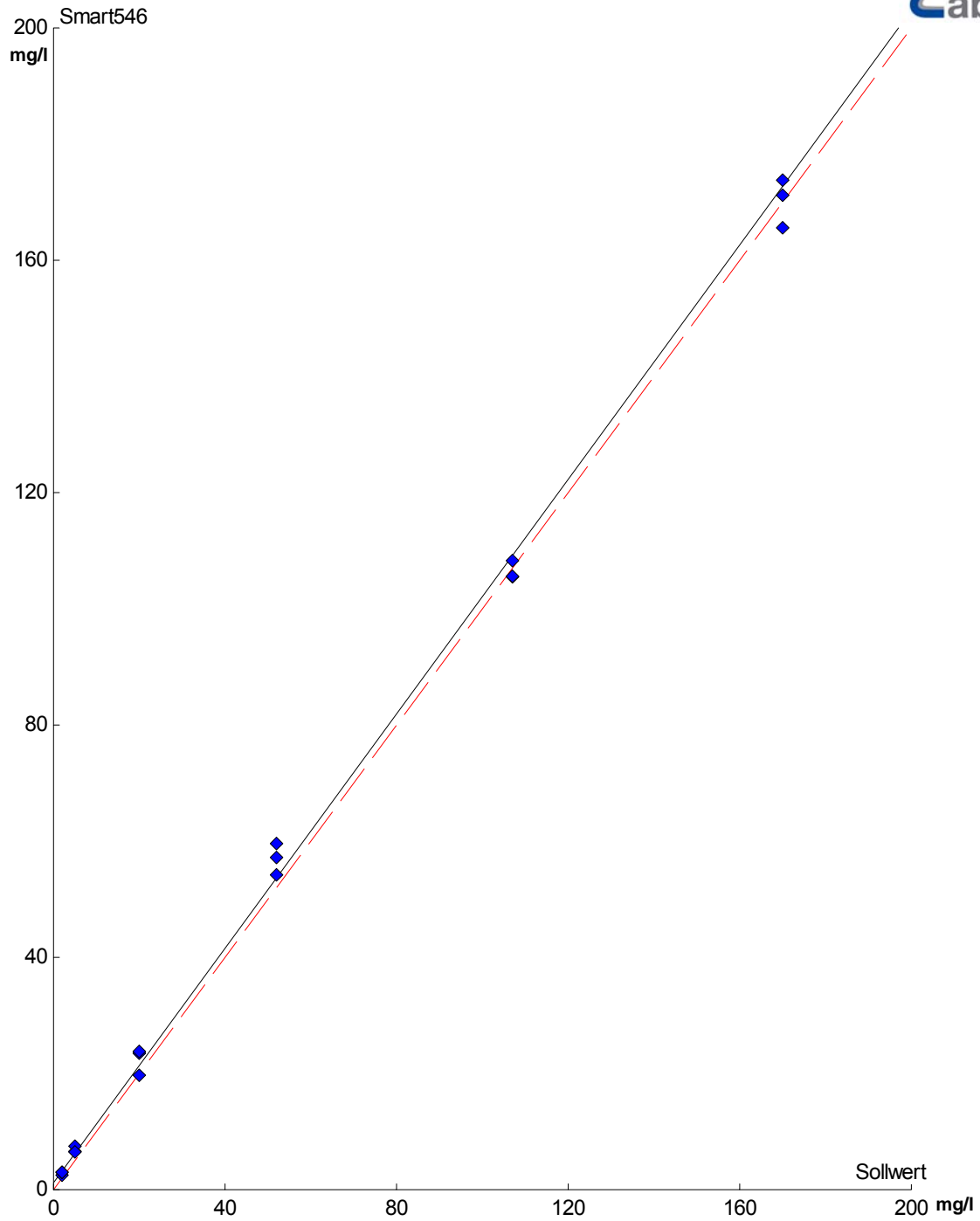


Abb.: 8 Linearitätsüberprüfung bei Vollblutproben (Smart546) $r = 0,999$

Passing-Bablok agreement test N = 18
 Slope : 1,009 [0,977 to 1,084]
 Intercept : 1,22 [0,58 to 2,16]

7. Zusammenfassung

Der SMART 546 ist ein vergleichsweise kompaktes Tischgerät, das für Notfallsituationen, point-of-care – Konzepte und andere Einsatzmöglichkeiten bei dezentral erforderlicher Labordiagnostik konzipiert ist, um quantitative CRP/hsCRP- Werte sowohl aus Vollblut als auch aus Serum / Plasma schnell und valide dem Kliniker zu liefern. Die Handhabung ist leicht erlernbar, die Bedienung einfach und so robust, dass auch Personal außerhalb des Labors mit dem Gerät und den nötigen Kontroll- und Qualitätsmaßnahmen nach entsprechender Einarbeitung zu Recht kommen kann.

Das mit der als Referenz gewählten Cobas 6000 - CRP Messmethode überprüfte Messgerät SMART 546 zeigte bei Messungen im Vollblutmodus die beste Übereinstimmung mit der Serum – Referenz. Aber auch der Vergleich zwischen beiden Serum – Bestimmungsmethoden zeigt eine akzeptable Übereinstimmung. Die Ergebnisse der SMART – Plasma – Messungen liegen deutlich niedriger als die gemessenen Serum- Referenzen. Das SMART 546 kann für die Bestimmung aus Vollblut und Serum als ausgezeichnetes POCT- Messgerät bezeichnet werden.

Die Präzision des SMART 546 ist erwartungsgemäß bei der CRP – Bestimmung aus den Serum- Proben höher als aus den Vollblutproben, allerdings erscheint sie auch hier für praktische Zwecke absolut geeignet.

Die Linearität der gestesteten Geräte- / Reagenzkonstellation ist als sehr gut zu bewerten. Unter Verwendung der neuen Testkits ist es mit dem SMART 546 möglich, in einem Konzentrationsbereich von 0,4 mg/L bis 173,8 mg/L mit der o.g. Präzision zu messen. Außerhalb des Messbereichs wird <0,4 bzw. >173,8 / >200 als Resultat angegeben.

Während der hier beschriebenen Evaluationsphase erschien die Charge der Testkits den größten Einfluss auf die Qualität der Ergebnisse zu haben. Dies scheint mit der neuesten Reagenz – Generation vom Hersteller deutlich verbessert worden zu sein.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass der SMART 546 für die konzipierte Anwendung eine ausgezeichnete Praktikabilität und gute Messcharakteristik aufweist, vor allem bei Messungen aus Vollblutproben. Wir werden deshalb den SMART 546 in unseren Präsenzlaboratorien in Kombination mit dem Blutbildmessgerät KX-21/Sysmex in der Notfalldiagnostik vor Ort einsetzen.

8. Referenzen

- (1) Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-20