



Greiner Bio-One Speichelquantifizierungskit

Gebrauchsanweisung



1. Hersteller

Greiner Bio-One GmbH, Bad Haller Straße 32, 4550 Kremsmünster, Österreich

2. Zweckbestimmung

Der Greiner Bio-One Speichelquantifizierungskit ist ein *in vitro*-Diagnostikum, welches ausschließlich der Bestimmung des Speichelanteils in der Speichelprobe, die mit dem Greiner Bio-One Speichelsammelsystem gewonnen wurde, dient. Die Kenntnis des Speichelanteils ist notwendig, um die ursprüngliche Analytkonzentration bestimmen zu können.

Die Speichelsammlung mit dem Greiner Bio-One Speichelsammelsystem bedingt eine individuelle Verdünnung der gewonnenen Speichelprobe durch das Spülen der Mundhöhle mit Speichelsammellösung und verändert damit die ursprüngliche Analytkonzentration.

Der Greiner Bio-One Speichelquantifizierungskit erlaubt keine direkte Bestimmung von Analyten aus Speichel. Erst in Kombination mit spezifischen *in vitro*-Diagnostika ermöglicht der Greiner Bio-One Speichelquantifizierungskit Untersuchungen aus Speichel, welche Informationen über die Zusammensetzung des Speichels geben.

3. Produktbeschreibung und Zusammensetzung

| | |
|--------------------------------------|---|
| Greiner Bio-One Speichelkalibrator 1 | 1 Fläschchen; 4 mL; 11 U/mL*; gebrauchsfertig; enthält verdünnte Speichelsammellösung, 1,9 mg/mL Ammoniumsulfat und 1 mg/mL Natriumazid |
| Greiner Bio-One Speichelkalibrator 2 | 1 Fläschchen; 4 mL; 27 U/mL*; gebrauchsfertig; enthält verdünnte Speichelsammellösung, 1,9 mg/mL Ammoniumsulfat und 1 mg/mL Natriumazid |
| Greiner Bio-One Speichelkalibrator 3 | 1 Fläschchen; 4 mL; 46 U/mL*; gebrauchsfertig; enthält verdünnte Speichelsammellösung, 1,9 mg/mL Ammoniumsulfat und 1 mg/mL Natriumazid |
| Greiner Bio-One Speichelkalibrator 4 | 1 Fläschchen; 4 mL; 66 U/mL*; gebrauchsfertig; enthält verdünnte Speichelsammellösung, 1,9 mg/mL Ammoniumsulfat und 1 mg/mL Natriumazid |
| Greiner Bio-One Speichelkalibrator 5 | 1 Fläschchen; 4 mL; 85 U/ mL*; gebrauchsfertig; enthält verdünnte Speichelsammellösung, 1,9 mg/mL Ammoniumsulfat und 1 mg/mL Natriumazid |
| Greiner Bio-One Speichelkontrolle 1 | 1 Fläschchen; 4 mL; 30 U/mL*; gebrauchsfertig; enthält humanen Speichel, Speichelsammellösung, 1,9 mg/mL Ammoniumsulfat und 1 mg/mL Natriumazid |
| Greiner Bio-One Speichelkontrolle 2 | 1 Fläschchen; 4 mL; 70 U/mL*; gebrauchsfertig; enthält humanen Speichel, Speichelsammellösung, 1,9 mg/mL Ammoniumsulfat und 1 mg/mL Natriumazid |

* 1 U/mL entspricht 1 Volumsprozent Speichel.

4. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Alle Kitkomponenten enthalten 1 mg/mL giftiges Natriumazid. Haut und Augenkontakt vermeiden, nicht verschlucken und beim Arbeiten Handschuhe tragen. Nach Berührung mit Haut oder Augen mindestens 15 Minuten mit Wasser spülen. Bei Verschlucken oder Augenkontakt Arzt aufsuchen.

Natriumazid kann in Kombination mit Schwermetallen, im Besonderen mit Blei und Kupfer (Abflussrohre) explosive Metallazide bilden. Bei der Entsorgung darauf achten, dass sich keine Azidansammlung bildet und mit ausreichend Wasser nachspülen.

Die Speichelkontrollen 1 und 2 enthalten humanen Speichel, welcher mittels Nukleinsäurenachweis auf Hepatitis-B-Virus (HBV), Hepatitis-C-Virus (HCV) und Humanes Immunodefizienzvirus Typ 1 (HIV-1) untersucht und als "nicht nachweisbar" befundet wurde.

Auf Grund fehlender sicherer Nachweismethoden zum Ausschluss von Pathogenen müssen die Speichelkontrollen als potenziell infektiöses Material angesehen werden und dürfen nur von entsprechend geschultem Personal verwendet werden.

5. Lagerung und Haltbarkeitsdauer

Lagerung: Licht geschützt bei 4°C bis 25°C. Kit vor Frost schützen, nicht einfrieren.

Haltbarkeit: Siehe Etikett auf der Verpackung. Nach Öffnen der Kalibratoren/Kontrollen sind diese noch 3 Monate haltbar, nach Anbruch verschlossen bei 4°C lagern.

6. Prinzip der Methode

Die mit dem Greiner Bio-One Speichelsammelsystem gewonnenen Proben enthalten den Lebensmittelfarbstoff Tartrazin als internen Standard. Mit Hilfe der Speichelkalibratoren wird der interne Standard in den Speichelproben photometrisch bestimmt und anschließend auf den Speichelanteil rückgerechnet.

7. Untersuchungsmaterial

Es dürfen ausschließlich Speichelproben, welche mit dem Greiner Bio-One Speichelsammelsystem gewonnen wurden, zur Analyse mit dem Greiner Bio-One Speichelquantifizierungskit verwendet werden.

8. Erforderliche Laborgeräte und Hilfsmittel

- Klinischer Analyser, Küvetten-Photometer oder Platten-Photometer mit Messwellenlängen von 450 nm und 520 nm (Küvetten, Mikrotiterplatten oder dergleichen, je nach Anforderung des Photometers).
- Gegebenenfalls variable Mikropipette (100 – 1000 µL) und Einmalspitzen.

9. Vorbereitung der Reagenzien und des Untersuchungsmaterials

- Die Speichelproben sind vor der Analyse auf Raumtemperatur zu bringen.
- Vor der Bestimmung des Speichelanteils müssen die Speicheltransferröhrchen, welche die Speichelprobe enthalten, **10 min. bei 2200xg** zentrifugiert werden. Danach dürfen die zentrifugierten Proben nicht mehr aufgeschüttelt werden, andernfalls ist die Zentrifugation zu wiederholen.

10. Durchführung der Speichelquantifizierung

10.1. Kalibrierung

Speichelkalibratoren 1 - 5 bei 450 nm und 520 nm messen und durch Subtraktion die Extinktionsdifferenz ermitteln.

$$\Delta \text{Extinktion}_{\text{Kalibrator}} = \text{Extinktion } 450 \text{ nm}_{\text{Kalibrator}} - \text{Extinktion } 520 \text{ nm}_{\text{Kalibrator}}$$

Bei klinischen Analysern dient das Systemwasser als Küvettenleerwert. Bei Küvetten- bzw. Platten-Photometern wird empfohlen, deionisiertes Wasser als Küvetten- bzw. Platten-Leerwert einzusetzen. Dabei ist darauf zu achten, dass je nach Herstellerspezifikation bzw. Gerätetyp genügend Volumen für die Messung verwendet wird. Bei Küvettenphotometern sollten 1 cm-Küvetten verwendet werden. Bei der Verwendung einer 96-well Mikrotiterplatte wird empfohlen, 150 – 200 µL für die Messung einzusetzen.

10.2. Messung der Proben

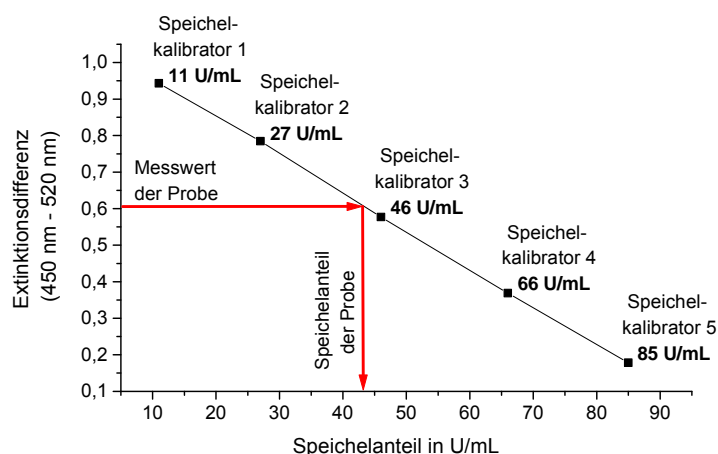
Anschließend erfolgt die Messung der zentrifugierten Speichelproben, welche mit dem Greiner Bio-One Speichelsammelsystem gewonnen wurden, gleich wie die der Kalibratoren.

Hinweis: Auf www.gbo.com/preanalytics können die aktuellen Protokolle zur automatisierten Bestimmung des Speichelanteils auf verschiedenen klinischen Analysern abgerufen werden.

11. Berechnung des Speichelanteils

Durch Auftragen der gemessenen Extinktionsdifferenz gegen die Einheiten der Kalibratoren wird eine Kalibriergerade erstellt (Abb.1). Mit Hilfe dieser Kalibriergerade wird über die Formel der linearen Regression der Speichelanteil (U/mL) in der Probe berechnet. Dabei gilt: 1 U/mL entspricht 1 Volumsprozent Speichel.

Abb. 1: Beispieldiagramm Kalibration und Auswertung einer Speichelprobe. Diese Abbildung darf nicht zur Bestimmung von Patientenproben herangezogen werden.



12. Interne Qualitätskontrolle

Zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung müssen die mitgelieferten Speichelkontrollen 1 und 2 vor der Messung einer oder mehrerer Speichelproben bestimmt werden. Dabei müssen die ermittelten Konzentrationen innerhalb des angegebenen Sollwertintervalls liegen (Tab. 1). Liegen die Werte nicht innerhalb des Sollwertintervalls, ist die Bestimmung nicht valide.

Tab.1: Sollwertintervalle der mitgelieferten Speichelkontrollen.

| Kontrolle | Sollwertintervall (U/mL) |
|---------------------|--------------------------|
| Speichelkontrolle 1 | 28 - 32 |
| Speichelkontrolle 2 | 68 - 72 |

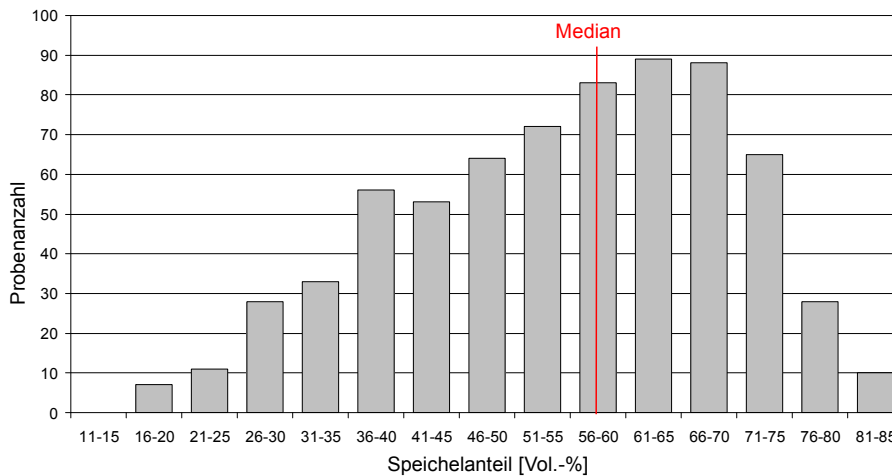
13. Leistungsmerkmale und Grenzen der Methode

13.1. Analytische Leistungsmerkmale

13.1.1. Quantifizierungsbereich

Der Quantifizierungsbereich liegt zwischen 11 und 85 U/mL. Messwerte außerhalb des Quantifizierungsbereichs sind als nicht valide zu betrachten.

Abb. 2: Verteilung des Speichelanteils bei Jugendlichen und Erwachsenen (Alter: 15 – 92 Jahre; n=687; ♀ : ♂ = 40% : 60%).



13.1.2. Genauigkeit

Die Abweichung vom jeweiligen Zielwert wurde durch Einzelbestimmung des Speichelanteils von Speichelproben mit unterschiedlichen Speichelanteilen auf einem klinischen Analyzer (Olympus AU 400) ermittelt (Tab.2).

13.1.3. Richtigkeit

Die Abweichung vom jeweiligen Zielwert wurde durch Mehrfachbestimmung des Speichelanteils von Speichelproben mit unterschiedlichen Speichelanteilen auf einem klinischen Analyzer (Olympus AU 400) ermittelt (Tab.3).

Tab.2: Testgenauigkeit.

| Zielwert (U/mL) | Abweichung vom Zielwert (%) |
|-----------------|-----------------------------|
| 35 | ± 9 |
| 45 | ± 4 |
| 55 | ± 4 |
| 65 | ± 2 |
| 75 | ± 1 |

Tab.3: Testrichtigkeit.

| Zielwert (U/ml) | Abweichung vom Zielwert (%) |
|-----------------|-----------------------------|
| 35 | ± 9 |
| 45 | ± 4 |
| 55 | ± 3 |
| 65 | ± 2 |
| 75 | ± 1 |

13.2. Analytische Spezifität, Matrixinterferenzen und Grenzen der Methode

Verunreinigungen durch Lebensmittelreste oder Blut in der gewonnenen Speichelprobe können zu falschen Analysenergebnissen führen. Auch Lebensmittelfarbstoffe in Süßwaren, Getränken oder Medikamenten sind in diesem Zusammenhang zu beachten. Der dabei auftretende Fehler hängt von der Art und Menge der Verunreinigung ab. Bei der ordnungsgemäßen Gewinnung der Speichelproben mit dem Greiner Bio-One Speichelsammelsystem ist diese Form der Matrixinterferenz im Normalfall aber nicht gegeben.

Proben, die Verunreinigungen nach der Zentrifugation oder Verfärbungen aufweisen, müssen im Hinblick auf ein falsches Analysenergebnis verworfen werden.

14. Nachfolgende Analytbestimmung und Assaykompatibilität

Die mit dem Greiner Bio-One Speichelsammelsystem gewonnenen Speichelproben befinden sich in einer Matrix, die nicht mit Serum/Plasma oder Urin vergleichbar ist. Untersuchungen zeigten, dass viele etablierte Bestimmungsmethoden zum Nachweis von Analyten aus Serum/Plasma oder Urin adaptiert werden müssen, um valide Analysenergebnisse zu erhalten.

Systembedingt sind folgende Analyten nicht bestimmbar: BUN, Harnstoff, Natrium.

Bisherige Erfahrungen zeigten, dass Kalium und Chlorid mittels ionenselektiver Elektrode (ISE) nicht valide bestimmbar sind und beim Nachweis von viralen Nukleinsäuren Inhibierungen auftreten können.

15. Literatur

- Haeckel R. Speicheldiagnostik. Weinheim. GIT Verlag, 1988.
- Haeckel R. Walker RF. Colic D. Reference ranges for mixed saliva collected from the literature. J Chem Clin Biochem. 1989 Apr;27(4):249-52.
- Thomas L. Labor und Diagnose. Frankfurt/Main. TH-Books, 6. Aufl. 2005.
- Raggam RB et al. Evaluation of a novel standardized system for collection and quantification of oral fluid. Clin Chem Lab Med. 2008;46(2):287–291

16. Datum der Ausgabe

Version 01 vom 25.01.2008



greiner bio-one

Headquarter: Greiner Bio-One GmbH, 4550 Kremsmünster, Austria
Greiner Vacuette North America Inc., 4238 Capital Drive, Monroe, NC 28112, U.S.A.
www.gbo.com