

Gentian GCAL[®] Calprotectin Reagent Kit

ref. št. 1201 in ref. št. 1202

Za diagnostično uporabo *in vitro* s strani laboratorijskih delavcev.

Ta dokument opisuje splošno uporabo zgoraj navedenega izdelka. Za specifične nastavitve naprave si oglejte opombe o uporabi, ki jih lahko na zahtevo pridobite na e-naslovu marketing@gentian.com.

Predvideni namen

Gentian Calprotectin Immunoassay je turbidimetrični imunski test za *in vitro* kvantitativno določanje kalprotektina, tj. nevtrofilne beljakovine, ki je vnetni označevalec, v vzorcih človeške plazme z litijevim heparinom in seruma. Imunski test Gentian Calprotectin Immunoassay je namenjen uporabi z avtomatiziranimi kliničnimi analizatorji s strani laboratorijskih delavcev. Imunski test Gentian Calprotectin se uporablja skupaj z drugimi laboratorijskimi ugotovitvami in kliničnimi ocenami, in sicer kot pomoč pri zaznavanju in oceni vnetja in vnetnega odziva na okužbo.

Povzetek in razlaga testa

Kalprotektin je heterodimerna beljakovina S100A8/A9 z molekularno maso 24 kDa, sestavljena iz dveh beljakovin S100A8 in S100A9 (imenovanih tudi beljakovini MRP8 in MRP14), ki vežeta Ca²⁺. Kalprotektin najdemo pretežno v nevtrofilcih, kjer predstavlja približno 50 % vsebnosti beljakovin v citosolu [1]. Nevtrofilni granulociti so celice, ki se med prvimi odzovejo na vnetje in bakterijsko okužbo [3]. Kalprotektin se sprosti iz aktiviranih nevtrofilcev, nato pa sta njegova glavna biološka učinka izločitev ionov [3] ter vezava na tolični receptor 4 (TLR4) in receptor za napredne končne produkte glikacije (RAGE – receptor of advanced glycation endproducts), kar sproži vnetni odziv [1, 2, 4]. Količina kalprotektina v krvi se v nekaj urah poveča do 100-krat (kot odziv na bakterije ali endotoksin [5]), kar velja za pomemben kazalnik vnetja [1, 2, 5–7].

Kalprotektin je veliko občutljivejši označevalec aktivacije fagocitov od konvencionalnih vnetnih parametrov [4]. To pomeni, da je močno povezan z vnetjem pri različnih akutnih in kroničnih boleznih, zaradi česar ta beljakovina predstavlja občutljiv parameter za oceno aktivnosti bolezni in odziva posameznega bolnika na zdravljenje [4].

Standardizacija kalibratorja

Za kalprotektin mednarodni standard ni na voljo. Zato je sledljivost določena v skladu s poglavjem 5.6 standarda ISO 17511 [20], kjer je proizvajalčev izbrani postopek meritve najvišja raven meroslovja. Kalibrator je mogoče slediti do izredno čiste rekombinantne raztopine kalprotektina, vrednosti, dodeljene z določitvijo skupne vsebnosti beljakovin s spektrofotometrijo z UV₂₈₀, in znanim ekstinkcijskim koeficientom. Delujoči kalibrator čistega rekombinantnega materiala v matrici kalibratorja se v proizvajalčevih uveljavljenih postopkih meritev uporablja za dodelitev vrednosti kalibratorjem izdelka na podlagi objavljenih protokolov za prenos vrednosti [8].

Načelo testiranja

Gentian Calprotectin Immunoassay je z delci izboljšan turbidimetrični imunski test (PETIA – Particle-Enhanced Turbidimetric Immunoassay). Vzorec plazme z litijevim heparinom ali seruma se zmeša z imuno delci kalprotektina. Kalprotektin iz vzorca in protitelesa proti kalprotektinu iz raztopine imuno delcev se vežejo v agregate, ki povečajo turbidnost raztopine. Stopnja turbidnosti je sorazmerna s koncentracijo kalprotektina, ki jo je mogoče kvantificirati z uveljavljeno standardno umeritveno krivuljo.

Deli kompleta za testiranje

Priloženi izdelki	
Gentian GCAL [®] Calprotectin Reagent Kit	REF 1201
- R1 Assay Buffer (54 mL) - R2 Immunoparticles (9 mL)	
Gentian GCAL [®] Calprotectin Reagent Kit S	REF 1202
- R1 Assay Buffer (30 mL) - R2 Immunoparticles (5 mL)	
Drugi razpoložljivi izdelki (niso priloženi)	
Gentian GCAL [®] Calprotectin Calibrator Kit (6 levels x 1 mL)	REF 1251
Gentian GCAL [®] Calprotectin Control Kit (2 levels x 1 mL)	REF 1219

Vsi izdelki so pripravljeni za uporabo.

Sestava

Reakcijski pufer 1 (R1, 54 ml neaktivne sestavine): Gentian Calprotectin Assay Buffer. R1 je fiziološka raztopina s pufrom MOPS [3-(N-morfolino)-propansulfonska kislina], ki vsebuje beljakovine perutnine in konzervans ProClin[®] 950.

Reakcijski pufer 2 (R2, 9 ml aktivne sestavine): Gentian Calprotectin Immunoparticles. R2 vsebuje prečiščeno frakcijo imunoglobulina, ki deluje proti človeškemu kalprotektinu in je kovalentno vezana na nanodelce polistirena. Raztopina vsebuje konzervans ProClin[®] 950.

Določitev nevarnosti



Piktogrami za nevarnost (CLP):

GH507

Opozorilna beseda (CLP): Opozorilo

Vsebuje: 2-metilizotiazol-3(2H)-on

Stavek o nevarnosti (CLP):

H317 – Lahko povzroči alergijski odziv kože.

Previdnostni stavki (CLP):

P280 – Nositi zaščito za oči, zaščitne rokavice, zaščitno obleko. P302+P352 – PRI STIKU S KOŽO: Umiti z veliko mila in vode. P305+P351+P338 – PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.

P337+P313 – Če draženje oči ne preneha: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo. P333+P313 – Če nastopi draženje kože ali se pojavi izpuščaj: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.

P362+P364 – Sleči kontaminirana oblačila in jih oprati pred ponovno uporabo.

Za pridobitev varnostnega lista stopite v stik z družbo Gentian na e-naslovu marketing@gentian.com.

Opozorila in varnostni ukrepi

- Vsebuje snovi človeškega in živalskega izvora, zato velja za potencialno kužni material. Rokujte previdno in zavržite skladno z lokalnimi predpisi.
- Reagenti, ki vsebujejo MOPS/Tween (R1) in EDTA (R2), lahko dražijo oči, dihala in kožo. Rokujte previdno in ne zaužijte.

3. R1 vsebuje beljakovine perutnine. Rokujte previdno, da preprečite alergijski odziv kože.
4. Izpostavljenost lahko povzroči draženje kože in oči.
5. Izogibajte se stiku z nezdružljivimi materiali.
6. Preprečite izpostavljenost toploti in neposredni sončni svetlobi.

Dodatne informacije o rokovanju

1. Ta test je namenjen izključno uporabi *in vitro* in z njim lahko rokujejo samo laboratorijski delavci.
2. Uporabljajte ga samo s potrjenimi in odobrenimi napravami.
3. Izdelka ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti.
4. Ne mešajte reagentov različnih serij in ne menjavajte pokrovčkov reagentov, kontrol, kalibratorjev in serij.
5. Po uporabi reagentov, kalibratorjev in kontrol tesno privijte pokrovčke, da preprečite izhlapevanje.

Skladiščenje in stabilnost reagenta

Vse izdelke za imunski test Gentian Calprotectin Immunoassay hranite pri temperaturi 2–8 °C. Datum izteka roka uporabnosti je natisnjen na nalepkah. Ob uporabi naprave Architect c4000 (Abbott) je bila v študiji naprav na podlagi smernic CLSI EP25 [14] stabilnost kompleta reagenta Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit med uporabo vsaj 4 tedne.

Zbiranje vzorcev in rokovanje

Potreben vzorčni material je plazma z litijevim heparinom ali serum. Družba Gentian priporoča uporabo plazme z litijevim heparinom in epruvet brez gela. Priporočena je analiza čim bolj svežih vzorcev. Pred obdelavo vzorcev seruma je treba počakati 30 minut. Vzorec je treba centrifugirati v 2 urah od odvzema krvi in frakcijo plazme ali seruma nemudoma prenesti v drugo epruveto. V postopku hkrati ne uporabljajte epruvet z gelom in brez njega. Preskušanje stabilnosti vzorca je pokazalo, da je bil kalprotektin pri temperaturi 2–8 °C stabilen vsaj 48 ur po centrifugiranju. Pred analizo je treba vzorce dobro premešati.

Značilnosti učinkovitosti

Če ni navedeno drugače, se rezultati nanašajo na glavno potrditev imunskega testa Gentian Calprotectin Immunoassay z napravo Architect c4000 (Abbott) na enem mestu uporabe naprave s tremi serijami reagentov, kontrol in kalibratorjev. Za značilnosti učinkovitosti za specifično napravo si oglejte opombe o uporabi specifične naprave.

Meritveno območje

Meritveno območje imunskega testa Gentian Calprotectin Immunoassay je približno 0,4–20,3 mg/l tako v vzorcih z litijevim heparinom kot vzorcih seruma, varnostno območje pa do 95 mg/l. Natančno meritveno območje je odvisno od kalibratorja in naprave; za vrednosti kalibratorja, specifične za serijo, si oglejte list z analitičnimi vrednostmi (na voljo na naslovu www.gentian.com) ter opombe o uporabi specifične naprave.

Analitična občutljivost

Analiza analitične občutljivosti imunskega testa Gentian Calprotectin Immunoassay je bila preskušena v študiji na podlagi smernic CLSI EP17 [15]. Meja določljivosti (LoQ – Limit of Quantification) je opredeljena kot najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče zanesljivo zaznati in pri kateri skupna napaka ustreza zahtevam glede natančnosti. Izmerjena vrednost LoQ je bila 0,31 mg/l v vzorcih plazme z litijevim heparinom in 0,30 mg/l v vzorcih seruma. Za vrednost LoQ, specifično za napravo, si oglejte opombe o uporabi specifične naprave.

Natančnost

Skupna natančnost imunskega testa Gentian Calprotectin Immunoassay je bila v študiji na podlagi smernic CLSI EP05 [16] izmerjena s koeficientom variacije (CV) < 4,0 % za vzorce > 1 mg/l. Za skupno natančnost, specifično za napravo, si oglejte opombe o uporabi specifične naprave.

Analitična specifičnost in omejitve

Za ta izdelek v študiji na podlagi smernic CLSI EP07 [17] pri preskušanih koncentracijah niso zaznali motenj v povezavi s hemoglobinom,

intralipidom ali bilirubinom. Za motnje, specifične za napravo, si oglejte opombe o uporabi specifične naprave. Motnje s preskušanimi zdravili na podlagi priporočil avtorjev Sonntag and Scholer [9] niso bile zaznane. Ker so protitelesa imunskega testa Gentian Calprotectin Immunoassay perutninskega izvora, v vzorcih ne prihaja do motenj zaradi revmatoidnega faktorja [10]. Navzkrižna reaktivnost z MRP8, MRP14 in S100A12 je bila v študiji na podlagi smernic CLSI EP07 enaka < 1 %.

Primerjava metod

Rezultate, pridobljene z imunskim testom Gentian Calprotectin Immunoassay na napravi Architect c4000 (Abbott), so v študiji z 1 serijo reagentov na podlagi smernic CLSI EP09 [18] primerjali z rezultati testa IDK® Calprotectin ELISA Test™ (Immundiagnostik) na spektrofotometru Multiskan 60 (Thermo Fisher). Zaradi odsotnosti mednarodnih kalibratorjev ali referenčnih postopkov je bil ocenjen zgolj determinacijski koeficient R².

Vrsta vzorca	n	Razpon vzorcev [mg/l]	Koeficient R ²
Plazma z litijevim heparinom	78	0,7–31,9	0,83
Serum	99	0,6–27,8	0,89

Testni postopek

Opombe o uporabi

Uporabe imunskega testa Gentian Calprotectin Immunoassay so bile potrjene z več kliničnimi kemičnimi analizatorji. Podrobne in potrjene opombe o uporabi, ki opisujejo postopke za namestitve in analizo s specifičnimi napravami, so na zahtevo na voljo na e-naslovu marketing@gentian.com. Za navodila o namestitvi na novi napravi si oglejte priročnik naprave. Upoštevati morate navodila o vzdrževanju, uporabi in varnostnih ukrepih, ki so navedena v priročniku specifične naprave.

Priprava reagentov

Reagenti so pripravljeni za uporabo. Preden jih postavite na mesta, namenjena reagentom, jih nežno premešajte. Če v opombah o uporabi ni navedeno drugače, lahko stekleničke z reagenti postavite neposredno v napravo.

Določitev umeritvene krivulje

Oglejte si navodila za uporabo kompleta kalibratorja Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (REF 1251), ki so na voljo na naslovu www.gentian.com.

Nadzor kakovosti

Oglejte si navodila za uporabo kontrolnega kompleta Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (REF 1219), ki so na voljo na naslovu www.gentian.com.

Merjenje vzorcev bolnikov

Po določitvi veljavne umeritvene krivulje in ko so kontrolne vrednosti v veljavnem razponu, je mogoče analizirati vzorec plazme z litijevim heparinom ali vzorec seruma. Zagotovite, da je v posodicah/epruvetah za vzorce minimalni volumen vzorca, in vzorce testirajte skladno z navodili v priročniku naprave.

Rezultati

Rezultate za vse uporabe, določene za imunski test Gentian Calprotectin Immunoassay, samodejno izračuna naprava. Rezultati so navedeni v mg/l.

Klinična učinkovitost

Klinična učinkovitost imunskega testa Gentian Calprotectin Immunoassay je bila ocenjena v kliničnih študijah [11–13]. Spodaj so povzete specifične mejne vrednosti in značilnosti klinične učinkovitosti. Klinične specifikacije, vključno z mejnimi vrednostmi in značilnostmi učinkovitosti, so odvisne od vrste vzorca in področja bolezni. Zato se priporoča, da vsak laboratorij določi lokalne mejne vrednosti, saj se lahko vrednosti razlikujejo glede na vrsto vzorca, testirano populacijo in točko klinične odločitve.

Havelka A, et al. Scientific reports. 2020 [11].

Razlikovanje med bolniki z bakterijsko pljučnico in virusnimi okužbami dihal

Parameter	Vrednost	95-odstotni IZ
Mejna vrednost [mg/l]	2,37	
Površina pod ROC	0,775	[0,667; 0,861]
Občutljivost [%]	60	[44; 75]
Specifičnost [%]	79	[63; 90]
LR+	2,9	[1,5; 5,6]
LR–	0,5	[0,3; 0,8]
PPV [%]	84*	
NPV [%]	53*	

Okrajšave: ROC: krivulja delovanja sprejemnika, LR+: pozitivno verjetnostno razmerje, LR–: negativno verjetnostno razmerje.

*Izračunano na podlagi razširjenosti bakterijskih okužb v študijskem vzorcu: 64 % (71/((71 + 40))

Razlikovanje med bolniki z mikoplazemsko pljučnico in virusnimi okužbami dihal

Parameter	Vrednost	95-odstotni IZ
Mejna vrednost [mg/l]	2,37	
Površina pod ROC	0,883	[0,774; 0,952]
Občutljivost [%]	91	[71; 99]
Specifičnost [%]	77	[67; 93]
LR+	3,9	[2,2; 7,1]
LR–	0,12	[0,03; 0,4]
PPV [%]	70*	
NPV [%]	93*	

Okrajšave: ROC: krivulja delovanja sprejemnika, LR+: pozitivno verjetnostno razmerje, LR–: negativno verjetnostno razmerje.

*Izračunano na podlagi razširjenosti mikoplazemskih okužb v študijskem vzorcu: 38 % (24/((24 + 40))

V študiji je sodelovalo 279 preiskovancev (144 asimptomatskih zdravih kontrolnih preiskovancev, 71 preiskovancev z bakterijskimi okužbami, 24 preiskovancev z mikoplazemskimi okužbami in 40 preiskovancev z virusnimi okužbami). Merila za vključitev bolnikov v študijo so bila vročina > 38 °C in znaki ter simptomi okužbe dihal.

Vrsta vzorca: plazma z litijevim heparinom

Naprava: Mindray BS380

de Guadiana Romualdo LG, et al. J Infect. 2020 [12].

Napoved smrtnosti bolnikov s COVID-19

Parameter	Vrednost	95-odstotni IZ
Mejna vrednost [mg/l]	3,9	
Površina pod ROC	0,801	[0,691; 0,894]
Neprilagojeno razmerje OR	13,30	[1,53; 116]

Okrajšave: ROC: krivulja delovanja sprejemnika, OR: razmerje verjetnosti.

V tej študiji je sodelovalo 66 bolnikov s potrjeno okužbo z virusom SARS-CoV-2, ki so bili zaporedno sprejeti v bolnišnico. 8 od 66 bolnikov s COVID-19 je umrlo med hospitalizacijo in 9 od 66 bolnikov s COVID-19 je potrebovalo mehansko ventilacijo.

Vrsta vzorca: serum

Naprava: Roche Cobas c502

de Guadiana Romualdo LG, et al. Inflamm. Res. 2022 [13].

Napoved potrebe po mehanski ventilaciji

Parameter	Vrednost	95-odstotni IZ
Mejna vrednost* [mg/l]	2,98	
Površina pod ROC	0,723	[0,652; 0,790]
Občutljivost [%]	73,7	[60,3; 84,5]
Specifičnost [%]	60,4	[54,9; 65,6]
PPV [%]	23,9	[17,8; 30,9]
NPV [%]	93,2	[89,0; 96,1]

Okrajšave: ROC: krivulja delovanja sprejemnika.

*Optimalna mejna vrednost glede na Youdenov indeks.

Izključitev potrebe po mehanski ventilaciji

Parameter	Vrednost	95-odstotni IZ
Mejna vrednost* [mg/l]	2,23	
Občutljivost [%]	86,0	[74,2; 93,7]
NPV [%]	94,7	[89,7; 96,4]

Okrajšave: ROC: krivulja delovanja sprejemnika.

* Optimalna mejna vrednost za izključitev potrebe po mehanski ventilaciji

V tej multicentrični študiji je sodelovalo 395 bolnikov s potrjeno okužbo z virusom SARS-CoV-2, ki so bili zaporedno sprejeti v bolnišnice. 57 od teh bolnikov s COVID-19 je potrebovalo mehansko ventilacijo.

Vrsta vzorca: serum

Naprava: Roche Cobas c702

Zgornja referenčna mejna vrednost

Pričakovane vrednosti kalprotektina v normalni odrasli populaciji so bile določene v študiji z uporabo protokola, ki je temeljil na smernicah CLSI C28 [19], in sicer z napravo Cobas c501 (Roche). Referenčni interval je bil osnovan na populaciji domnevno zdravih preiskovancev. Skupaj je bilo analiziranih 416 vzorcev posameznikov (52 % moških, 48 % žensk), starih od 16 do 80 let. Uporabljeni so bili vzorci plazme z litijevim heparinom in seruma tako v epruvetah z gelom kot brez njega (51 vzorcev z litijevim heparinom v epruvetah brez gela, 163 vzorcev z litijevim heparinom v epruvetah z gelom, 51 vzorcev seruma v epruvetah brez gela, 151 vzorcev seruma v epruvetah z gelom). Zgornja referenčna mejna vrednost je bila izračunana parametrično, in sicer tako, da predstavlja zgornjih 97,5 % populacije. Priporoča se, da vsak laboratorij določi lokalno referenčno mejno vrednost, saj se lahko vrednosti razlikujejo glede na testirano populacijo.

Vrsta vzorca	Vrednost
Plazma z litijevim heparinom, brez gela	< 0,97 mg/l
Plazma z litijevim heparinom, z gelom	< 1,69 mg/l
Serum, brez gela	< 1,41 mg/l
Serum, z gelom	< 1,75 mg/l

Legenda simbolov

	Mejna vrednost temperature
	Rok uporabnosti
	Oglejte si navodila za uporabo
	Proizvajalec
	Oznaka CE s številko priglasenega organa
	Oznaka UKCA
	Pooblaščen zastopnik v Švici
	<i>In vitro</i> diagnostični medicinski pripomoček
	Številka serije
	Kataloška številka
	Edinstveni identifikator pripomočka
	Vsebina
	Analizni pufer R1
	Imuno delci R2
	Opozorilo



Bjornasveien 5
N-1596 Moss
Norveška
TEL: +47 99 33 99 05
www.gentian.com



Zastopniki

Odgovorna oseba
v ZK

Emergo Consulting (UK) Limited
c/o Cr360 – UL International
Compass House, Vision Park Histon
Cambridge CB24 9BZ
Združeno kraljestvo



MedEnvoy Switzerland
Gotthardstrasse 28
6302 Zug
Švica

Viri

1. Stríz I, Trebichavský I. *Physiol Res.* 2004;53(3):245-53.
2. Wang S, et al. *Front Immunol.* 2018;9:1298.
3. Teng TS, et al. *J Immunol Res.* 2017;2017:9671604.
4. Zackular JP, et al. *J Biol Chem.* 2015;290(31):18991-8.
5. Johne B, et al. *Mol Pathol.* 1997;50(3):113-23.
6. Pruenster M, et al. *Pharmacol Ther.* 2016;167:120-31.
7. Foell D, et al. *Clin Chim Acta.* 2004;344(1-2):37-51.
8. Blirup Jensen et al. *Clin Chem Lab Med* 2008;46(10):1470-1479
9. Sonntag O, Scholer A. *Ann Clin Biochem* 2001;38:376-85.
10. Larsson A, et al. *Poultry Science* 1993;72:1807-18
11. Havelka A, et al. *Scientific reports.* 2020;10(1):4208-.
12. de Guadiana Romualdo LG, et al. *J Infect.* 2020:S0163-4453(20)30543-0.
13. de Guadiana-Romualdo LG, et al. *Inflamm. Res.* 2022;71(1):57-67.
14. CLSI. Evaluation of Stability of In Vitro Diagnostic Reagents; Approved Guideline. CLSI document EP25-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
15. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute ;2012
16. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2014
17. CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry. 3rd ed. CLSI guideline EP07. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2018.
18. CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. 3rd ed. CLSI guideline EP09c. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
19. CLSI. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document C28-A3c. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2008
20. EN ISO 17511:2021 In vitro diagnostic medical devices — Requirements for establishing metrological traceability of values assigned to calibrators, trueness control materials and human samples. (ISO 17511:2020).

Resni zapleti

V primeru resnih zapletov v povezavi s pripomočkom obvestite proizvajalca in pristojni organ.

Spremembe glede na predhodno različico

- Novi podatki o klinični učinkovitosti iz leta 2022, vir 13.
- Dodana številka priglasenega organa k oznaki CE.
- Dodana oznaka UKCA.
- Dodano poglavje »Zastopniki«.
- Dodani viri CLSI 14–19 in vir ISO 20.
- Dodane točke 4–6 v poglavju Opozorila in varnostni ukrepi.
- Manjše redakcijske spremembe in popravki v celotnem dokumentu.

Datum izdaje

1. 3. 2023