

Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit

REF 1201 a REF 1202

Souprava slouží k použití *in vitro* a manipulovat s ní může jen laboratorní odborníci.

Tento dokument popisuje obecné použití výše uvedeného produktu. Specifické nastavení najdete v poznámkách k použití, které jsou na vyžádání k dispozici na adrese marketing@gentian.com.

Zamýšlený účel použití

Gentian Calprotectin Immunoassay je imunoturbidimetrický test určený k použití *in vitro* pro kvantitativní stanovení kalprotektinu, neutrofilního proteinu, který je markerem zánětu, ve vzorcích lidské lithium heparinové plazmy a séra. Gentian Calprotectin Immunoassay je určen pro použití v automatizovaných klinických analyzátoch a pouze kvalifikovanými laboratorními pracovníky. Používá se ve spojení s dalšími laboratorními nálezy a klinickými hodnoceními. Gentian Calprotectin je určen jako pomůcka při detekci a hodnocení zánětu a zánětlivé reakce na infekce.

Souhrn vysvětlení testu

Kalprotektin je heterodimerický protein S100A8/A9 s molekulovou hmotností 24 kDa obsahující dva Ca²⁺ vazebné proteiny S100A8 a S100A9 (označované také jako myeloidní proteiny 8 a 14 (MRP8 a MRP14). Kalprotektin se vyskytuje převážně v neutrofilech, kde tvoří přibližně 50 % obsahu bílkovin v cytosolu [1]. Neutrofilní granulocyty jsou jedním z prvních reagujících na zánět a bakteriální infekci [3]. Kalprotektin se uvolňuje z aktivovaných neutrofilů a jeho hlavními biologickými účinky jsou sekvestrace iontů [3] a vazba na Toll-like receptor 4 (TLR4) a Receptor of Advanced Glycation Endproducts (RAGE) spouštějící zánětlivou reakci [1, 2, 4]. Obsah kalprotektinu v krvi se zvyšuje během hodiny až 100násobně (v reakci na bakterie nebo endotoxin [5]) a je považován za důležitý marker zánětu [1, 2, 5-7]. Kalprotektin indikuje aktivaci fagocytů citlivěji než běžné parametry zánětu [4]. V důsledku toho existuje silná korelace se zánětem různých akutních a chronických poruch, což činí tento protein citlivým parametrem pro hodnocení aktivity onemocnění a stanovení léčby u jednotlivých pacientů [4].

Standardizace kalibrátoru

Pro kalprotektin není k dispozici žádný mezinárodní standard. Návnost je proto stanovena podle části 5.6 normy ISO 17511 [20], kde nejvyšší metrologická vstupní úroveň je výrobcem zvolený postup měření. Kalibrátor je navázán na vysoce čistý rekombinantní roztok kalprotektinu, hodnota je přiřazena stanovením celkového proteinu pomocí UV₂₈₀ a známým molárním absorpčním koeficientem. Pracovní kalibrátor čistého rekombinantního materiálu v matrici kalibrátoru se používá se stálými měřicími postupy výrobce k přiřazení hodnoty kalibrátorům produktu prostřednictvím publikovaného protokolu přenosu hodnot [8].

Princip testu

Gentian Calprotectin Immunoassay je částicový turbidimetrický imunotest (PETIA). Vzorek lithium heparinové plazmy nebo séra se smísí s imunočásticemi kalprotektinu. Kalprotektin ze vzorku a protilátky proti kalprotektinu z roztoku imunočástic agregují, což zvyšuje turbiditu roztoku. Stupeň turbidity je úměrný koncentraci kalprotektinu, kterou lze kvantifikovat pomocí zavedené standardní kalibrační křivky.

Součásti testovací soupravy

Dodané položky	
Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit	REF 1201
<ul style="list-style-type: none"> R1 Assay Buffer (54 mL) R2 Immunoparticles (9 mL) 	
Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit S	REF 1202
<ul style="list-style-type: none"> R1 Assay Buffer (30 mL) R2 Immunoparticles (5 mL) 	
Ostatní dostupné (nezahrnuté) položky	
Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (6 lahvíček s obsahem 1 mL)	REF 1251
Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (2 lahvičky s obsahem 1 mL)	REF 1219

Všechny položky jsou připraveny k použití.

Složení

Reakční pufr 1 (R1, 54 mL neaktivní složky): Gentian Calprotectin Testovací pufr. R1 je fyziologický roztok pufrovaný látkou MOPS [kyselina 3-(N-morfolino)-propansulfonová], obsahující ptačí proteiny a konzervovaný ProClin® 950.

Reakční pufr 2 (R2, 9 mL aktivní složky): Gentian Calprotectin Imunočástice. R2 obsahuje purifikovanou imunoglobulinovou frakci namířenu proti lidskému kalprotektinu, která je kovalentně připojena k polystyrenovým nanočásticím. Roztok je konzervován ProClin® 950.

Identifikace nebezpečnosti



Výstražné symboly nebezpečnosti (CLP):

GHS07

Signální slovo (CLP): Varování

Obsahuje: 2-methylisothiazol-3(2H)-on

Standardní věty o nebezpečnosti (CLP)

H317 - Může vyvolat alergickou kožní reakci.

Pokyny pro bezpečné zacházení (CLP)

P280 - Používejte ochranné brýle, ochranné rukavice, ochranný oděv.
P302+P352 - PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla.
P305+P351+P338 - PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

P337+P313 - Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P333+P313 - Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P362+P364 - Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte.

Chcete-li získat bezpečnostní list SDS, kontaktujte společnost Gentian na adrese marketing@gentian.com.

Upozornění a bezpečnostní opatření

1. Přípravek obsahuje látky lidského nebo živočišného původu; považujte jej za potenciálně infekční materiál. Manipulujte s ním opatrně a zlikvidujte jej podle místních předpisů.
2. Reagencie obsahující MOPS/Tween (R1) a EDTA (R2) mohou dráždit oči, dýchací cesty a pokožku. Manipulujte s nimi opatrně a zabraňte jejich požití.
3. R1 obsahuje protein ptačího původu. Manipulujte s ním opatrně, aby nedošlo k alergické kožní reakci.
4. Při expozici mohou mít za následek podráždění kůže a očí.
5. Zabraňte kontaktu s nekompatibilními materiály.
6. Chraňte před teplem a přímým slunečním zářením.

Další pokyny pro zacházení

1. Tento test je určen pouze pro použití *in vitro* a musí jej provádět laboratorní odborník.
2. Používejte pouze ověřený a schválený materiál.
3. Nepoužívejte produkty po uplynutí doby použitelnosti.
4. Nemíchejte činidla různých šarží ani nezaměňujte víčka čidel, kontrolních vzorků, kalibrátorů a šarží.
5. Po použití čidel, kalibrátorů a kontrolních vzorků opatrně utáhněte příslušné víčko, aby nedošlo k odpařování.

Skladování a stabilita čidel

Všechny produkty poskytnuté pro Gentian Calprotectin Immunoassay musí být uchovávány při teplotě 2-8 °C. Datum expirace je uvedeno na štítku. Ve studii s založeného na pokynu CLSI EP25 [14] byla pomocí přístroje Architect c4000 (Abbott) zjištěna doba provozní stability Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit minimálně 4 týdny.

Odběr a manipulace se vzorky

Požadovaným materiálem vzorku je plazma nebo sérum s obsahem lithium heparinu. Gentian doporučuje plazmu s lithium heparinem a zkumavky bez gelu. Vzorky doporučujeme analyzovat v co nejčerstvějším stavu. Před zpracováním vzorků séra je nutné počkat 30 minut. Vzorek centrifugujte do 2 hodin po odběru krve a okamžitě přeneste frakci plazmy nebo séra do jiné zkumavky. Nezaměňujte zkumavky bez gelu za zkumavky s gelem. Testování stability vzorku prokázalo, že kalprotectin byl stabilní nejméně 48 hodin po centrifugaci při teplotě 2–8 °C. Před testováním vzorky dobře promíchejte.

Výkonnostní charakteristiky

Nebude-li uvedeno jinak, výsledky odkazují na hlavní testování Gentian Calprotectin Immunoassay přístrojem Architect c4000 (Abbott) na jednom místě se 3 šaržemi čidel, kontrolními vzorky a kalibrátory. Specifické výkonnostní charakteristiky přístroje najdete v poznámkách k použití konkrétního přístroje.

Rozsah měření

Rozsah měření Gentian Calprotectin Immunoassay je přibližně 0,4-20,3 mg/L v obou vzorcích lithium heparinového séra s bezpečnostní zónou až 95 mg/L. Přesné rozpětí měření je specifické vzhledem ke kalibrátoru, podrobné informace ke specifickým hodnotám kalibrátoru pro konkrétní šarží najdete v přehledu hodnot pro analýzy, který je k dispozici na stránkách www.gentian.com.

Analytická citlivost

Analýza analytické citlivosti Gentian Calprotectin Immunoassay byla testována ve studii založené na směrnici CLSI EP17 [15]. Mez stanovitelnosti je definována jako nejnížší koncentrace analyzované látky, kterou lze nadějně zjistit a při které celková chyba nepřekračuje limitní požadavky na přesnost. Mez stanovitelnosti byla měřena jako 0,31 mg/L v lithium heparinové plazmě a 0,30 mg/L ve vzorcích séra. Specifickou mez stanovitelnosti přístroje najdete v poznámkách k použití konkrétního přístroje.

Přesnost

Celková přesnost Gentian Calprotectin Immunoassay byla naměřena s CV <4,0 % pro vzorky > 1 mg/L ve studii s založeného na směrnici CLSI EP05 [16]. Specifickou celkovou přesnost přístroje najdete v poznámkách k použití konkrétního přístroje.

Analytická specifita a omezení

Ve studii s použitím protokolu založeného na směrnici CLSI EP07 [17] nebyla u tohoto produktu zjištěna žádná interference s hemoglobinem, intralipidem ani bilirubinem v testovaných koncentracích. Specifickou mez interference najdete v poznámkách k použití konkrétního přístroje. Jak zmiňuje Sonntag and Scholer [9], nebyly zjištěny žádné interference s testovanými léčivými. Protože protilátky v Gentian Calprotectin Immunoassay jsou ptačího původu, nedochází ve vzorcích k interferenci způsobené revmatoidním faktorem [10]. Ve studii obsahující 4 vzorky s založeného na směrnici CLSI EP07 byla zjištěna křížová reaktivita s MRP8, MRP14 a S100A12 < 1 %.

Srovnání metod

Výsledky získané pomocí sady Gentian Calprotectin Immunoassay na přístroji Architect c4000 (Abbott) byly porovnány s výsledky získanými z IDK® Calprotectin ELISA Test™ (Immundiagnostik) na spektrofotometru Multiskan 60 (Thermo Fisher) ve studii s 1 šarží činidla s podle směrnice CLSI EP09 [18]. Kvůli nedostatku mezinárodních kalibrátorů nebo referenčních postupů byl vyhodnocen pouze koeficient stanovení R².

Typ vzorku	n	Rozsah vzorků [mg/L]	R ² Koeficient
Li-Hep plazma	78	0,7 - 31,9	0,83
Sérum	99	0,6 - 27,8	0,89

Postup testu

Poznámky k použití

Aplikace Gentian Calprotectin Immunoassay byly stanoveny na několika analyzátoch pro klinickou chemii. Podrobné ověřené poznámky k použití popisující postupy instalace a analýzy na konkrétních přístrojích jsou k dispozici na vyžádání na adrese marketing@gentian.com. Pokyny k instalaci nové aplikace najdete v návodu k přístroji. Údržba, provoz a bezpečnostní opatření musí být prováděny v souladu s návodem k použití konkrétního přístroje.

Příprava čidel

Činidla jsou připravena k použití. Činidla jemně promíchejte, než je umístíte na přiřazené místo. Lahvičky s činidly se mohou vložit přímo do přístroje, pokud není v poznámkách k aplikaci uvedeno jinak.

Stanovení kalibrační křivky

Přečtěte si prosím návod k použití kalibrátoru Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (REF 1251), který je k dispozici na stránkách www.gentian.com.

Kontrolní vzorky

Přečtěte si návod k použití sady Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (REF 1219), který je k dispozici na stránkách www.gentian.com.

Měření vzorků pacientů

Pokud byla stanovena platná kalibrační křivka a hodnoty kontrolních vzorků se nacházejí v rámci platného rozsahu, mohou se měřit vzorky lithium heparinové plazmy nebo séra. Ujistěte se, že máte minimální objem vzorku, a proveďte testování vzorků podle pokynů uvedených v poznámkách k použití a manuálu přístroje.

Výsledky

Výsledky jsou analyzátoem automaticky vypočítány pro všechny aplikace stanovené pro Gentian Calprotectin Immunoassay. Výsledky jsou uváděny v mg/L.

Klinický výkon

Klinický výkon Gentian Calprotectin Immunoassay byl vyhodnocen v klinických studiích [11-13]. Níže jsou shrnuty specifické mezní hodnoty a klinické výkonnostní charakteristiky.

Klinické specifikace včetně mezní hodnoty a klinické výkonnostní charakteristiky závisí na typu vzorku a oblasti onemocnění. Proto doporučujeme, aby každá laboratoř určila lokální mezní hodnoty, protože hodnoty se mohou lišit v závislosti na typu vzorku, testované populaci a klinickém rozhodujícím bodě.

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

Diskriminace mezi pacienty s bakteriální pneumonií a virovými respiračními infekcemi

Parametr	Hodnota	95 % CI
Mez [mg/L]	2,37	
Oblast ROC	0,775	[0,667; 0,861]
Citlivost [%]	60	[44; 75]
Specifická [%]	79	[63; 90]
LR+	2,9	[1,5; 5,6]
LR-	0,5	[0,3; 0,8]
PPV [%]	84*	
NPV [%]	53*	

Zkratky: ROC: receiver operation curve (křivka provozní charakteristiky přijímače), LR+: positive likelihood ratio (pozitivní věrohodnostní poměr), LR-: negative likelihood ratio (negativní věrohodnostní poměr)

*Vypočteno na základě prevalence bakteriálních infekcí ze studovaného vzorku: 64 % (71/(71+40))

Diskriminace mezi pacienty s mykoplazmovou pneumonií a virovými respiračními infekcemi

Parametr	Hodnota	95 % CI
Mez [mg/L]	2,37	
Oblast ROC	0,883	[0,774; 0,952]
Citlivost [%]	91	[71; 99]
Specifická [%]	77	[67; 93]
LR+	3,9	[2,2; 7,1]
LR-	0,12	[0,03; 0,4]
PPV [%]	70*	
NPV [%]	93*	

Zkratky: ROC: receiver operation curve (křivka provozní charakteristiky přijímače), LR+: positive likelihood ratio (pozitivní věrohodnostní poměr), LR-: negative likelihood ratio (negativní věrohodnostní poměr)

*Vypočteno na základě prevalence mykoplazmových infekcí ze studovaného vzorku: 38 % (24/(24+40))

Studie zahrnovala 279 subjektů (144 asymptomatických zdravých kontrolních vzorků, 71 s bakteriálními infekcemi, 24 s mykoplazmovými infekcemi a 40 s virovými infekcemi). Kritérii pro zařazení pacientů do studie byla horečka > 38 °C a příznaky a symptomy respirační infekce.

Typ vzorku: Lithium heparinová plazma

Přístroj: Mindray BS380

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

Predikce úmrtnosti u pacientů s COVID-19

Parametr	Hodnota	95 % CI
Mez [mg/L]	3,9	
Oblast ROC	0,801	[0,691; 0,894]
Neupravený poměr OR	13,30	[1,53; 116]

Zkratky: ROC: receiver operation curve (křivka provozní charakteristiky přijímače), OR: odds ratio (poměr šancí)

Tato studie zahrnovala 66 po sobě jdoucích pacientů přijatých do nemocnice bez potvrzení nakažení virem SARS-CoV-2. 8 ze 66 pacientů s COVID-19 v průběhu pobytu v nemocnici zemřelo a 9 ze 66 pacientů s COVID-19 potřebovalo mechanickou ventilaci.

Typ vzorku: Sérum

Přístroj: Roche c502

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

Predikce potřeby mechanické ventilace

Parameter	Value	95% CI
Mez* [mg/L]	2.98	
Oblast ROC	0.723	[0.652, 0.790]
Citlivost [%]	73.7	[60.3, 84.5]
Specifická [%]	60.4	[54.9, 65.6]
PPV [%]	23.9	[17.8, 30.9]
NPV [%]	93.2	[89.0, 96.1]

Zkratky: ROC: receiver operation curve (křivka provozní charakteristiky přijímače)

* Optimální mezní hodnota podle Youdenova indexu

Vyloučení potřeby mechanické ventilace

Parameter	Value	95% CI
Mez* [mg/L]	2.23	
Citlivost [%]	86.0	[74.2, 93.7]
NPV [%]	94.7	[89.7, 96.4]

Zkratky: ROC: receiver operation curve (křivka provozní charakteristiky přijímače)

* Optimální mezní hodnota pro vyloučení potřeby invazivní mechanické ventilace

Tato multicentrická studie zahrnovala 395 po sobě jdoucích pacientů přijatých do nemocnic s potvrzenou infekcí SARS-CoV-2. Z těchto pacientů s onemocněním COVID-19 vyžadovalo 57 pacientů invazivní mechanickou ventilaci.

Typ vzorku: Sérum












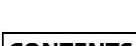



Přístroj: Roche Cobas c702

Horní referenční limit

Očekávané hodnoty kalprotektinu u normální dospělé populace byly stanoveny ve studii podle protokolu na bázi směrnice CLSI C28 [19]; měření probíhalo na přístrojích Cobas c501 (Roche). Referenční interval byl stanoven u populace zjevně zdravých účastníků. Bylo změřeno celkem 416 vzorků od osob ve věku od 16 do 80 let (52 % mužů, 48 % žen). Použity byly vzorky Li-heparinované plazmy a séra ve zkumavkách s gelem či bez něj (51 Li heparin bez gelu, 163 Li heparin s gelem, 51 sérum bez gelu, 151 sérum s gelem). Horní referenční limit byl parametricky vypočítán tak, aby pokrýval horních 97,5 % populace. Hodnoty se mohou lišit podle populace pacientů; doporučujeme proto stanovit referenční limity zvlášť pro každou laboratoř.

Typ vzorku	Hodnota
Li-hep plazma, bez gelu	<0,97 mg/L
Li-hep plazma, gel	<1,69 mg/L
Sérum, bez gelu	<1,41 mg/L
Sérum, gel	<1,75 mg/L

Seznam použitých symbolů

	Teplotní limit
	Datum spotřeby
	Viz návod k použití
	Výrobce
	Označení CE s číslem notifikovaného orgánu
	Označení UKCA
	Autorizovaný zástupce ve Švýcarsku
	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku <i>in vitro</i>
	Číslo šarže
	Katalogové číslo
	Jedinečný identifikátor zařízení
	Obsah
	R1 testovací pufr
	R2 imunočástice
	Varování

 **Gentian AS**

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





Zastoupení

Zodpovědná osoba ve Spojeném království	Emergo Consulting (UK) Limited c/o Cr360 – UL International Compass House, Vision Park Histon Cambridge CB24 9BZ Spojené království
---	---



MedEnvoy Switzerland
Gotthardstrasse 28
6302 Zug
Švýcarsko

Použitá literatura

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)

Vážné incidenty

Pokud dojde k vážnému incidentu v souvislosti se zařízením, informujte prosím výrobce a příslušný úřad.

Změny oproti předchozí verzi

- Nové údaje o klinické výkonnosti z roku 2022, odkaz 13.
- Přidáno číslo úředně oznámeného orgánu pro označení CE
- Přidáno označení UKCA
- Přidána kapitola „Zastoupení“
- Byly přidány odkazy na CLSI 14–19 a odkaz na ISO 20.
- Byly přidány body 4–6 v části Upozornění a opatření.
- Menší redakční změny a opravy v celém dokumentu.

Datum vydání

2023-03-01