

Gentian GCAL[®] Calprotectin Reagent Kit

REF 1201 og REF 1202

Til *in vitro* diagnostisk brug af laboratoriepersonale.

Dette dokument beskriver den generelle brug af ovenstående produkt. For instrumentspecifikke indstillinger henvises til anvendelsesnoterne, der kan fås ved henvendelse til marketing@gentian.com.

Tilsigtet formål

Gentian Calprotectin Immunoassay er en immunoturbidimetrisk analyse beregnet til kvantitativ bestemmelse *in vitro* af calprotectin, et neutrofilt protein, der er en markør for inflammation, i humane lithiumheparinplasma- og serumprøver. Gentian Calprotectin Immunoassay er beregnet til brug på automatiserede kliniske analyseapparater af uddannet laboratoriepersonale. Sammen med andre laboratoriefund og kliniske vurderinger er Gentian Calprotectin beregnet til at blive brugt som en hjælp til påvisning og vurdering af inflammation og inflammatorisk respons på infektioner.

Resumé og forklaring af test

Calprotectin er et heterodimerisk protein S100A8/A9 med en molekylmasse på 24 kDa, der består af de to proteiner S100A8 og S100A9, der binder Ca²⁺ (også kaldet myeloid-relaterede proteiner 8 og 14 (MRP8 og MRP14)). Calprotectin findes hovedsageligt i neutrofilerne, hvor det udgør ca. 50 % af cytosolens proteinindhold [1]. Neutrofile granulocytter er nogle af de første til at reagere på inflammation og bakterieinfektion [3]. Calprotectin frigives fra aktiverede neutrofiler, hvorefter dets vigtigste biologiske virkninger er sekvestring af ioner [3] og binding til Toll-like receptor 4 (TLR4) og Receptor of Advanced Glycation Endproducts (RAGE), der udløser en inflammatorisk reaktion [1, 2, 4]. Calprotectin stiger i blodet inden for få timer op til 100 gange (som reaktion på bakterier eller endotoksin [5]), og det anses for at være en vigtig inflammationsmarkør [1, 2, 5-7].

Calprotectin indikerer fagocytivering mere følsomt end konventionelle parametre for inflammation [4]. Derfor er der en stærk sammenhæng med inflammation ved forskellige akutte og kroniske lidelser, hvilket gør dette protein til en følsom parameter for vurdering af sygdomsaktivitet og respons på behandling hos den enkelte patient [4].

Kalibratorstandardisering

Der findes ingen international standard for calprotectin. Derfor etableres sporbarhed i henhold til afsnit 5.6 i ISO 17511 [20], hvor det højeste metrologiske indgangsniveau er producentens valgte måleprocedure. Kalibratoren kan spores til en meget ren rekombinant calprotectinopløsning, værdi tildelt ved total proteinbestemmelse med UV₂₈₀ og kendt ekstinktionskoefficient. En arbejdskalibrator af det rene rekombinante materiale i kalibratormatrix bruges sammen med producentens faste måleprocedurer til at tildele værdi til produktkalibratorerne via en offentliggjort værdioverførselsprotokol [8].

Analyseprincip

Gentian Calprotectin Immunoassay er et partikelforstærket turbidimetrisk immunoassay (PETIA). Lithiumheparinplasma- eller serumprøven blandes med calprotectin-immunopartikler. Calprotectin fra prøven og anti-calprotectin-antistofferne fra immunpartikelopløsningen bindes og danner aggregater, der øger opløsningens turbiditet. Graden af turbiditet er proportional med koncentrationen af calprotectin, som kan kvantificeres via en etableret standardkalibreringskurve.

Analysesætkomponenter

Leverede produkter	
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) 	
Andre tilgængelige produkter (ikke inkluderet)	
Gentian GCAL [®] Calprotectin Calibrator Kit (6 levels x 1 mL)	REF 1251
Gentian GCAL [®] Calprotectin Control Kit (2 levels x 1 mL)	REF 1219

Alle produkter er klar til brug.

Sammensætning

Reaktionsbuffer 1 (R1, 54 ml inaktiv ingrediens): Gentian Calprotectin Assay Buffer. R1 er en MOPS [3-(N-Morpholino)-propansulfonsyre] bufret saltopløsning, der indeholder fugleproteiner og er konserveret med ProClin[®] 950.

Reaktionsbuffer 2 (R2, 9 ml aktiv ingrediens): Gentian Calprotectin Immunoparticles. R2 indeholder en oprenset immunglobulinfraktion rettet mod humant calprotectin, som er kovalent bundet til polystyrennanopartikler. Opløsningen er konserveret med ProClin[®] 950.

Fareidentifikation



Farepiktogrammer (CLP):

GHS07

Signalord (CLP): Advarsel

Indeholder: 2-methylisothiazol-3(2H)-one

Faresætninger (CLP):

H317 - Kan forårsage en allergisk hudreaktion.

Sikkerhedsætninger (CLP):

P280 - Brug øjenbeskyttelse, beskyttelseshandsker og beskyttelsestøj.
 P302+P352 - VED KONTAKT MED HUDEN: Vask med masser af sæbe og vand.
 P305+P351+P338 - VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis det nemt kan gøres. Fortsæt med at skylle.
 P337+P313 - Hvis øjenirritation fortsætter: Søg læge. P333+P313 - Hvis der opstår hudirritation eller udslæt: Søg læge.
 P362+P364 - Tag tilsmudset tøj af, og vask det inden genanvendelse.

Kontakt Gentian på marketing@gentian.com for at få sikkerhedsdatabladet (SDS).

Advarsler og forsigtighedsregler

1. Indeholder stoffer af menneskelig eller animalsk oprindelse og bør betragtes som potentielt smittefarligt materiale. Skal håndteres med forsigtighed og bortskaffes i henhold til lokale bestemmelser.
2. Reagenser, der indeholder MOPS/Tween (R1) og EDTA (R2), kan irritere øjne, luftveje og hud. Skal håndteres med forsigtighed, og må ikke indtages.
3. R1 indeholder fugleproteiner. Skal håndteres med forsigtighed for at undgå allergiske hudreaktioner.

4. Eksponering kan medføre irritation af hud og øjne.
5. Undgå kontakt med uforenelige materialer.
6. Undgå eksponering for varme og direkte sollys.

Yderligere instruktioner om håndtering

1. Denne test er kun til *in vitro*-brug og skal håndteres af uddannet laboratoriepersonale.
2. Brug kun validerede og godkendte instrumentanvendelser.
3. Brug ikke produkter, når udløbsdatoen er overskredet.
4. Bland ikke reagenser fra forskellige lots, og byt ikke hætter på reagenser, kontroller, kalibratorer og lots.
5. Sæt omhyggeligt hættene godt fast efter brug af reagenser, kalibratorer og kontroller for at undgå fordampning.

Reagensopbevaring og stabilitet

Alle produkter, der leveres til Gentian Calprotectin Immunoassay, skal opbevares ved 2-8 °C. Udløbsdatoen er trykt på etiketterne. Ved hjælp af et Architect c4000-instrument (Abbott) blev brugsstabiliteten af Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit fundet at være mindst 4 uger, udført som en on board-undersøgelse baseret på CLSI-retningslinjen EP25 [14].

Indsamling og håndtering af prøver

Nødvendigt prøvemateriale er lithiumheparinplasma eller -serum. Gentian anbefaler lithiumheparinplasma og non-gel-rør. Det anbefales at analysere prøverne så friske som muligt. Serumprøver skal vente 30 minutter før behandling. Centrifuger prøven inden for 2 timer efter blodprøvetagning, og overfør straks plasma- eller serumfraktionen til et andet rør. Brug ikke gel- og non-gel-rør i flæng. Test af prøvestabilitet viste, at calprotectin var stabilt i mindst 48 timer efter centrifugering ved 2-8 °C. Bland prøverne godt før analysering.

Karakteristika for ydeevne

Resultaterne henviser til hovedvalideringen af Gentian Calprotectin Immunoassay på et Architect c4000-instrument (Abbott) på ét instrumentsted med 3 lots reagenser, kontroller og kalibratorer, medmindre andet er angivet. For instrumentspecifikke egenskaber henvises til de instrumentspecifikke anvendelsesnoter.

Måleområde

Måleområdet for Gentian Calprotectin Immunoassay er ca. 0,4-20,3 mg/L i både lithiumheparin- og serumprøver med en sikkerhedszone på op til 95 mg/L. Det nøjagtige måleområde er kalibrator- og instrumentspecifikt, se venligst det analytiske værdiark for de lotspecifikke kalibratorværdier (findes på www.gentian.com) og de instrumentspecifikke anvendelsesnoter.

Analytisk følsomhed

Analysen af den analytiske følsomhed af Gentian Calprotectin Immunoassay blev testet i en undersøgelse baseret på CLSI-retningslinjen EP17 [15]. Kvantificeringsgrænsen (LoQ) defineres som den laveste koncentration af en analyt, der kan detekteres pålideligt, og hvor den samlede fejl opfylder kravene til nøjagtighed. LoQ blev målt til at være 0,31 mg/L i lithiumheparinplasma og 0,30 mg/L i serumprøver. For den instrumentspecifikke LoQ henvises til de instrumentspecifikke anvendelsesnoter.

Præcision

Den samlede præcision af Gentian Calprotectin Immunoassay blev målt med en CV på <4,0 % for prøver >1 mg/L i en undersøgelse baseret på CLSI-retningslinjen EP05 [16]. For den instrumentspecifikke samlede præcision henvises til de instrumentspecifikke anvendelsesnoter.

Analytisk specificitet og begrænsninger

Der er ikke påvist interferens for dette produkt med hæmoglobin, intralipid eller bilirubin ved de testede koncentrationer i en undersøgelse baseret på CLSI-retningslinjen EP07 [17]. For instrumentspecifik interferens henvises til de instrumentspecifikke anvendelsesnoter. Der er ikke fundet nogen interferens med de lægemidler, der er testet i

henhold til anbefalingerne fra Sonntag og Scholer [9]. Da antistofferne i Gentian Calprotectin Immunoassay er af fugleoprindelse, er der ingen interferens på grund af reumafaktor i prøverne [10]. Krydsreaktivitet med MRP8, MRP14 og S100A12 viste sig at være <1 % i en undersøgelse baseret på CLSI-retningslinjen EP07.

Sammenligning af metoder

Resultater opnået med Gentian Calprotectin Immunoassay på Architect c4000 Instrument (Abbott) blev sammenlignet med resultater fra IDK® Calprotectin ELISA Test™ (Immundiagnostik) på Multiskan 60-spektrofotometerinstrumentet (Thermo Fisher) i en undersøgelse med 1 lot reagenser baseret på CLSI-retningslinjen EP09 [18]. På grund af manglen på internationale kalibratorer eller referenceprocedurer blev kun determinationskoefficienten R² evalueret

Prøvetype	n	Udvalg af prøver [mg/L]	R ² Koefficient
Li-Hep-plasma	78	0,7-31,9	0,83
Serum	99	0,6-27,8	0,89

Analyseprocedure

Anvendelsesnoter

Anvendelsen af Gentian Calprotectin Immunoassay er blevet etableret på flere klinisk-kemiske analyseapparater. Detaljerede, validerede anvendelsesnoter, der beskriver procedurerne for installation og analyse på specifikke instrumenter, kan fås ved henvendelse til marketing@gentian.com. Der henvises til instrumentets manual for instruktioner om, hvordan en ny anvendelse installeres. Vedligeholdelse, betjening og forholdsregler skal håndteres i overensstemmelse med den specifikke instrumentmanual.

Forberedelse af reagens

Reagenserne er klar til brug. Bland forsigtigt reagenserne, før de placeres i de tildelte reagenspositioner. Reagensflaskerne kan sættes direkte i instrumentet, medmindre andet er angivet i anvendelsesnoterne.

Etablering af kalibreringskurven

Der henvises til brugsanvisningen til Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (REF 1251), som findes på www.gentian.com.

Kvalitetskontroller

Der henvises til brugsanvisningen til Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (REF 1219), som findes på www.gentian.com.

Måling af patientprøver

Når der er etableret en gyldig kalibreringskurve, og kontrolværdierne er inden for det gyldige område, kan lithiumheparinplasma- eller serumprøven måles. Sørg for, at den mindste prøvevolumen er til stede i prøvekoppe/rørene, og analyser prøverne i henhold til instruktionerne i instrumentmanualen.

Resultater

Resultaterne beregnes automatisk af instrumentet for alle anvendelser, der er etableret for Gentian Calprotectin Immunoassay. Resultaterne præsenteres i mg/L.

Klinisk ydeevne

Den kliniske ydeevne for Gentian Calprotectin Immunoassay blev evalueret i kliniske studier [11-13]. Specifikke cut-offs og kliniske egenskaber er opsummeret nedenfor. Kliniske specifikationer, herunder cut-off og ydeevnekaraktistika, afhænger af prøvetype og sygdomsomsråde. Derfor anbefales det, at hvert laboratorium fastsætter lokale cut-off-værdier, da værdierne kan variere afhængigt af prøvetypen, den testede population og det kliniske beslutningspunkt.

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

Skelen mellem patienter med bakteriel lungebetændelse og virale luftvejsinfektioner

Parameter	Værdi	95% KI
Cut-off [mg/l]	2,37	
ROC-område	0,775	[0,667, 0,861]
Følsomhed [%]	60	[44, 75]
Specifitet [%]	79	[63, 90]
LR+	2,9	[1,5, 5,6]
LR-	0,5	[0,3, 0,8]
PPV [%]	84*	
NPV [%]	53*	

Forkortelser: ROC: receiver operation curve, LR+: positiv sandsynlighedskvotient, LR-: negativ sandsynlighedskvotient

*Beregnet ud fra prævalensen af bakterielle infektioner i undersøgelsesprøve: 64 % (71/((71+40))

Skelen mellem patienter med mycoplasma pneumoniae og virale luftvejsinfektioner

Parameter	Værdi	95% KI
Cut-off [mg/L]	2,37	
ROC-område	0,883	[0,774, 0,952]
Følsomhed [%]	91	[71, 99]
Specifitet [%]	77	[67, 93]
LR+	3,9	[2,2, 7,1]
LR-	0,12	[0,03, 0,4]
PPV [%]	70*	
NPV [%]	93*	

Forkortelser: ROC: receiver operation curve, LR+: positiv sandsynlighedskvotient, LR-: negativ sandsynlighedskvotient

*Beregnet ud fra prævalensen af mycoplasma-infektioner i undersøgelsesprøve: 38 % (24/((24+40))

Undersøgelsen omfattede 279 forsøgspersoner (144 asymptomatiske raske kontrolpersoner, 71 med bakterielle infektioner, 24 med mycoplasma-infektioner og 40 med virusinfektioner). Inklusionskriterierne for patienter i undersøgelsen var feber på >38 °C og tegn og symptomer på luftvejsinfektion.

Prøvetype: Lithiumheparinplasma
Instrument: Mindray BS380

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

Forudsigelse af dødelighed hos COVID-19-patienter

Parameter	Værdi	95% KI
Cut-off [mg/l]	3,9	
ROC-område	0,801	[0,691, 0,894]
Ujusteret OR-forhold	13,30	[1,53, 116]

Forkortelser: ROC: receiver operation curve, OR: odds ratio

Denne undersøgelse omfattede 66 fortløbende patienter indlagt på hospitalet med bekræftet SARS-CoV-2-infektion. 8 ud af 66 COVID-19-patienter døde under indlæggelsen, og 9 ud af 66 COVID-19-patienter havde brug for mekanisk ventilation.

Prøvetype: Serum
Instrument: Roche Cobas c502

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

Forudsigelse af behov for mekanisk ventilation

Parameter	Værdi	95% KI
Cut-off* [mg/l]	2,98	
ROC-område	0,723	[0,652, 0,790]
Følsomhed [%]	73,7	[60,3, 84,5]
Specifitet [%]	60,4	[54,9, 65,6]
PPV [%]	23,9	[17,8, 30,9]
NPV [%]	93,2	[89,0, 96,1]

Forkortelser: ROC: receiver operation curve

*Optimal cut-off i henhold til Youden-indekset

Udelukkelse af behovet for mekanisk ventilation

Parameter	Værdi	95% KI
Cut-off* [mg/l]	2,23	
Følsomhed [%]	86,0	[74,2, 93,7]
NPV [%]	94,7	[89,7, 96,4]

Forkortelser: ROC: receiver operation curve

* Optimal cut-off for at udelukke behov for invasiv mekanisk ventilation

Denne multicenterundersøgelse omfattede 395 på hinanden følgende patienter, der var indlagt på hospitalerne med bekræftet SARS-CoV-2-infektion. Af disse COVID-19-patienter krævede 57 invasiv mekanisk ventilation.

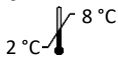
Prøvetype: Serum
Instrument: Roche Cobas c702

Øvre referencegrænse

De forventede værdier for calprotectin i en normal voksenbefolkning blev bestemt i en undersøgelse ved hjælp af en protokol baseret på CLSI-retningslinje C28 [19] på en Cobas c501 (Roche). Referenceintervallet blev bestemt ud fra en population af tilsyneladende raske personer. I alt 416 prøver fra personer (52 % mænd, 48 % kvinder) i alderen 16 til 80 år blev målt. De anvendte prøver var lithiumheparinplasma og serumprøver i både non-gel og gel-rør (51 lithiumheparin non-gel, 163 lithiumheparin gel, 51 serum non-gel, 151 serum gel). Den øvre referencegrænse blev beregnet parametriske for at repræsentere de øverste 97,5 % af befolkningen. Det anbefales, at hvert laboratorium fastsætter en lokal referencegrænse, da værdierne kan variere afhængigt af den testede population.

Prøvetype	Værdi
Li-Hep-plasma non-gel	<0,97 mg/L
Li-Hep-plasma gel	<1,69 mg/L
Serum non-gel	<1,41 mg/L
Serum-gel	<1,75 mg/L

Symboler



Temperaturgrænse



Sidste anvendelsesdato



Læs brugsanvisningen



Producent



CE-mærke med nummer på bemyndiget organ



UKCA-mærke



Autoriseret repræsentant for Schweiz



Medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik



Lotnummer



Katalognummer



Unik enhedsidentifikator



Indhold



R1 Analysebuffer



R2 Immunpartikler



Advarsel



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



Repræsentanter

Ansvarlig person
for Storbritannien

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



MedEnvoy Switzerland
Gotthardstrasse 28
6302 Zug
Schweiz

Referencer

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).

Alvorlige hændelser

Producenten og den kompetente myndighed skal underrettes, hvis der er sket alvorlige hændelser i forbindelse med udstyret.

Ændringer fra tidligere version

- Nye data om klinisk ydeevne fra 2022, reference 13.
- Nummer på det bemyndigede organ til CE-mærket tilføjet.
- UKCA-mærke tilføjet.
- Kapitel "Repræsentanter" tilføjet.
- CLSI-referencer 14-19 og ISO-reference 20 tilføjet.
- 4-6 i Advarsler og forsigtighedsregler tilføjet.
- Mindre redaktionelle ændringer og rettelser i hele dokumentet.

Udstedelsesdato

2023-03-01