

Gentian GCAL[®] Calprotectin Reagent Kit

REF 1201 y REF 1202

Para uso en diagnóstico *in vitro* por profesionales de laboratorio.

En el presente documento se describe el uso general del producto arriba mencionado. Para conocer los ajustes específicos de los instrumentos, consulte las notas de aplicación solicitándolas a través de marketing@gentian.com.

Uso previsto

El Gentian Calprotectin Immunoassay es un ensayo inmunoturbidimétrico destinado a la determinación cuantitativa *in vitro* de la calprotectina, una proteína neutrófila que es un marcador de inflamación, en muestras de plasma de heparina y suero humano. El Gentian Calprotectin Immunoassay está destinado a utilizarse en analizadores clínicos automatizados por usuarios profesionales de laboratorio. Utilizado junto con otros hallazgos de laboratorio y evaluaciones clínicas, Gentian Calprotectin está destinado a utilizarse como una ayuda en la detección y evaluación de la inflamación y la respuesta inflamatoria a las infecciones.

Resumen y explicación de la prueba

La calprotectina es una proteína heterodimérica S100A8/A9 con una masa molecular de 24 kDa, formada por las dos proteínas de unión al Ca²⁺ S100A8 y S100A9 [también denominadas proteínas mieloides relacionadas 8 y 14 (MRP8 y MRP14)]. La calprotectina se encuentra predominantemente en los neutrófilos, donde representa aproximadamente el 50 % del contenido proteico del citosol [1]. Los granulocitos neutrófilos son una de las primeras respuestas a la inflamación y la infección bacteriana [3]. La calprotectina se libera a partir de los neutrófilos activados, tras lo cual sus principales efectos biológicos son el secuestro de iones [3] y la unión al receptor tipo Toll 4 (TLR4) y al receptor de productos finales de glicación avanzada (RAGE), lo que desencadena una respuesta inflamatoria [1, 2, 4]. La calprotectina aumenta en la sangre en cuestión de horas hasta 100 veces (en respuesta a bacterias o endotoxinas[5]) y se considera un importante marcador de inflamación [1, 2, 5-7].

La calprotectina indica la activación de los fagocitos de forma más sensible que los parámetros convencionales de inflamación [4]. Por consiguiente, existe una fuerte correlación con la inflamación de diversos trastornos agudos y crónicos, lo que hace de esta proteína un parámetro sensible para el control de la actividad de la enfermedad y la respuesta al tratamiento en pacientes individuales [4].

Normalización del calibrador

No existe ninguna norma internacional para la calprotectina. Por lo tanto, la trazabilidad se establece de acuerdo con la sección 5.6 de la norma ISO 17511 [20], según la cual el nivel de entrada metrológico más alto es el procedimiento de medición seleccionado por el fabricante. El calibrador se puede rastrear hasta una solución de calprotectina recombinante de alta pureza, valor asignado por la determinación de la proteína total por UV₂₈₀ y el coeficiente de extinción conocido. Un calibrador de trabajo del material recombinante puro en la matriz del calibrador se utiliza con los procedimientos de medición de la duración del fabricante para asignar valor a los calibradores del producto a través de un protocolo de transferencia de valor publicado [8].

Principio del ensayo

El Gentian Calprotectin Immunoassay es un inmunoensayo turbidimétrico mejorado por partículas (PETIA). La muestra de plasma o suero con heparina de litio se mezcla con las inmunopartículas de calprotectina. La calprotectina de la muestra y los anticuerpos contra la calprotectina de la solución de inmunopartículas se unen para formar agregados que aumentan la turbidez de la solución. El grado de turbidez

es proporcional a la concentración de calprotectina, que puede cuantificarse mediante una curva de calibración estándar establecida.

Componentes del kit de ensayo

Productos proporcionados	
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) 	
Otros productos disponibles (no incluidos)	
Gentian GCAL [®] Calprotectin Calibrator Kit (6 niveles x 1 mL)	REF 1251
Gentian GCAL [®] Calprotectin Control Kit (2 niveles x 1 mL)	REF 1219

Todos los productos están listos para su uso.

Composición

Tampón de reacción 1 (R1, 54 mL de ingrediente inactivo): Solución amortiguadora El R1 es una solución salina tamponada con MOPS [ácido sulfónico 3-(N-Morfolino)-propano], que contiene proteínas aviares y se conserva con ProClin[®] 950.

Tampón de reacción 2 (R2, 9 mL de ingrediente activo): Gentian Calprotectin Inmunopartículas. El R2 contiene una fracción de inmunoglobulina purificada dirigida contra la calprotectina humana, que se une covalentemente a las nanopartículas de poliestireno. La solución se conserva con ProClin[®] 950.

Identificación de los peligros



Pictogramas de peligro (CLP):

GHS07

Palabra de advertencia (CLP): Atención

Contiene: 2-Metilisotiazol-3(2H)-ona

Indicaciones de peligro (CLP):

H317 - Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

Consejos de prudencia (CLP):

P280 - Llevar gafas de protección, guantes de protección, prendas de protección.

P302+P352 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

P305+P351+P338 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P337+P313 - Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

P333+P313 - En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

P362+P364 - Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

Para obtener la SDS (hoja de datos de seguridad), póngase en contacto con Gentian a través de marketing@gentian.com.

Advertencias y precauciones

1. Contiene sustancias de origen humano o animal y ha de considerarse material potencialmente infeccioso. Manipular con precaución y desechar según la normativa local.
2. Los reactivos que contienen MOPS/Tween (R1) y EDTA (R2) pueden causar irritación en los ojos, en las vías respiratorias y en la piel. Manipular con la debida precaución y no ingerir.
3. R1 contiene proteínas aviares. Manipular con la debida precaución para evitar una reacción alérgica en la piel.
4. La exposición puede causar irritación en la piel y los ojos.
5. Evitar el contacto con materiales incompatibles.
6. Evitar la exposición al calor y a la luz directa del sol

Instrucciones adicionales de manipulación

1. Esta prueba es solo para el uso *in vitro* y debe ser manipulada por profesionales de laboratorio.
2. Utilice solo aplicaciones de instrumentos validados y aprobados.
3. No utilice los productos una vez superada la fecha de caducidad.
4. No mezcle reactivos de lotes distintos ni intercambie los tapones de los reactivos, controles, calibradores y lotes.
5. Vuelva a colocar los tapones con cuidado una vez utilizados los reactivos, calibradores y controles para evitar la evaporación.

Almacenamiento y estabilidad del reactivo

Todos los productos previstos para el Gentian Calprotectin Immunoassay deben almacenarse a 2-8 °C. La fecha de caducidad se encuentra impresa en las etiquetas. Utilizando un instrumento Architect c4000 (Abbott), se comprobó que la estabilidad durante el uso del Gentian Calprotectin Reagents era de al menos 4 semanas en un estudio basado en la directriz EP25 del CLSI [14].

Toma y manejo de muestras

El material de muestra requerido es plasma de heparina de litio o suero. Gentian recomienda plasma de heparina de litio y tubos sin gel. Se recomienda analizar muestras lo más recientes posible. Hay que esperar 30 minutos para el procesamiento de las muestras de suero. Centrifugue la muestra en un máximo de 2 horas desde la extracción de sangre y transferir la fracción de plasma o suero inmediatamente a otro tubo. No utilice los tubos de gel y los que no son de gel indistintamente. Las pruebas de estabilidad de la muestra indicaron que la calprotectina era estable durante al menos 48 horas después de la centrifugación a 2-8 °C. Mezcle bien las muestras antes de analizarlas.

Características de rendimiento

Los resultados se refieren a la validación principal del Gentian Calprotectin Immunoassay en un instrumento Architect c4000 (Abbott) en un sitio de instrumentos con 3 lotes de reactivos, controles y calibradores, a menos que se indique lo contrario. Para las características de rendimiento específicas del instrumento, consulte las notas de aplicación específicas del instrumento.

Rango de medición

El rango de medición del Gentian Calprotectin Immunoassay es de aproximadamente 0,4-20,3 mg/L tanto en muestras de heparina de litio como de suero, con una zona de seguridad de hasta 95 mg/L. El rango de medición exacto es específico del calibrador y del instrumento; consulte la hoja de valores analíticos para conocer los valores del calibrador específicos del lote (disponible en www.gentian.com) y las notas de aplicación específicas del instrumento.

Sensibilidad analítica

El análisis de la sensibilidad analítica del Gentian Calprotectin Immunoassay se probó en un estudio basado en la directriz EP17 del CLSI [15]. El límite de cuantificación (LDQ) se define como la concentración más baja de un analito que puede detectarse de manera fidedigna y en la que el error total cumple los requisitos de exactitud. El LDQ se midió como 0,31 mg/L en plasma de heparina de litio y 0,30 mg/L en muestras de suero. Para conocer el coeficiente de rendimiento específico del

instrumento, consulte las notas de aplicación específicas del instrumento.

Precisión

La precisión total del Gentian Calprotectin Immunoassay se midió con un CV del <4,0 % para muestras >1 mg/L en un estudio basado en la directriz EP05 del CLSI [16]. Para la precisión total específica del instrumento, consulte las notas de aplicación específicas del instrumento.

Especificidad y limitaciones analíticas

No se detecta ninguna interferencia de este producto con la hemoglobina, el intralípido o la bilirrubina en las concentraciones probadas en un estudio basado en la directriz EP07 del CLSI [17]. Para las interferencias específicas del instrumento, consulte las notas de aplicación específicas del instrumento. No se ha detectado ninguna interferencia con los medicamentos probados en las recomendaciones de Sonntag and Scholer [9]. Como los anticuerpos del Gentian Calprotectin Immunoassay son de origen aviar, no hay interferencias debidas al Factor Reumatoide en las muestras [10]. La reactividad cruzada con MRP8, MRP14 y S100A12 resultó ser <1 % en un estudio que incluía 4 muestras utilizando un protocolo basado en la directriz EP07 del CLSI.

Comparación de métodos

Los resultados obtenidos con el Gentian Calprotectin Immunoassay en el instrumento Architect c4000 (Abbott) se compararon con los resultados del IDK® Calprotectin ELISA Test™ (Immundiagnostik) en el instrumento Multiskan 60 espectrofotómetro (Thermo Fisher) en un estudio con 1 lote de reactivos basado en la directriz EP09 del CLSI [18]. Debido a la falta de calibradores o procedimientos de referencia internacionales, solo se evaluó el coeficiente de determinación R².

Tipo de muestra	n	Rango de muestras [mg/L]	R ² Coeficiente
Plasma Li-Hep	78	0,7 - 31,9	0,83
Suero	99	0,6 - 27,8	0,89

Procedimiento del ensayo

Notas de aplicación

Las aplicaciones del Gentian Calprotectin Immunoassay se han establecido en varios analizadores de química clínica. Las notas de aplicación detalladas y validadas que describen los procedimientos para la instalación y el análisis en instrumentos específicos se pueden solicitar a través de marketing@gentian.com. Para conocer las instrucciones sobre cómo instalar una nueva aplicación, consulte el manual del instrumento. Las operaciones de mantenimiento, funcionamiento y precauciones han de realizarse siguiendo el manual específico del instrumento.

Preparación del reactivo

Los reactivos están listos para su uso. Mezcle suavemente los reactivos antes de colocarlos en las posiciones de reactivo correspondientes. Los frascos de reactivos pueden encajar directamente en el instrumento, a menos que se indique lo contrario en las notas de aplicación.

Determinación de la curva de calibración

Consulte las instrucciones de uso del Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (REF 1251) disponible en www.gentian.com.

Controles del control de calidad

Consulte las instrucciones de uso del Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (REF 1219) disponible en www.gentian.com.

Medición de muestras de pacientes

Cuando se ha establecido una curva de calibración válida y los valores de control están dentro del rango válido, se puede medir la muestra de plasma o suero de heparina de litio. Asegúrese de que el volumen mínimo de muestra está presente en los vasos/tubos de muestra y analice las muestras de acuerdo con las instrucciones proporcionadas en el manual del instrumento.

Resultados

El instrumento calcula automáticamente los resultados para todas las aplicaciones establecidas para el Gentian Calprotectin Immunoassay. Los resultados se presentan en mg/L.

Rendimiento clínico

El rendimiento clínico del Gentian Calprotectin Immunoassay se ha evaluado a través de estudios clínicos [11-13]. A continuación, se resumen los puntos de corte específicos y las características de rendimiento clínico.

Las especificaciones clínicas, incluidas las características de corte y rendimiento, dependen del tipo de muestra y del área de la enfermedad. Por lo tanto, se recomienda que cada laboratorio determine los valores de corte locales, ya que los valores pueden variar según el tipo de muestra, la población analizada y el punto de decisión clínica.

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

Discriminación entre pacientes con neumonía bacteriana e infecciones respiratorias virales

Parámetro	Valor	IC DEL 95 %
Corte [mg/L]	2,37	
Área ROC	0,775	[0,667; 0,861]
Sensibilidad [%]	60	[44; 75]
Especificidad [%]	79	[63; 90]
LR+	2,9	[1,5; 5,6]
LR-	0,5	[0,3; 0,8]
PPV [%]	84*	
NPV [%]	53*	

Abreviaturas: ROC: curva operativa del receptor, LR+: ratio de probabilidad positiva, LR-: ratio de probabilidad negativa

*Calculado en base a la prevalencia de infecciones bacterianas de la muestra del estudio: 64% (71/(71+40))

Discriminación entre pacientes con neumonía por micoplasma e infecciones respiratorias virales

Parámetro	Valor	IC DEL 95 %
Corte [mg/L]	2,37	
Área ROC	0,883	[0,774; 0,952]
Sensibilidad [%]	91	[71; 99]
Especificidad [%]	77	[67; 93]
LR+	3,9	[2,2; 7,1]
LR-	0,12	[0,03; 0,4]
PPV [%]	70*	
NPV [%]	93*	

Abreviaturas: ROC: curva operativa del receptor, LR+: ratio de probabilidad positiva, LR-: ratio de probabilidad negativa

*Calculado en base a la prevalencia de infecciones por micoplasma de la muestra del estudio: 38% (24/(24+40))

El estudio incluyó a 279 sujetos (144 controles sanos asintomáticos, 71 con infecciones bacterianas, 24 con infecciones por micoplasma y 40 con infecciones víricas). Los criterios de inclusión de los pacientes en el estudio fueron fiebre de >38 °C y signos y síntomas de infección respiratoria.

Tipo de muestra: Plasma de heparina de litio

Instrumento: Mindray BS380

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

Predicción de la mortalidad en los pacientes de COVID-19

Parámetro	Valor	IC DEL 95 %
Corte [mg/L]	3,9	
Área ROC	0,801	[0,691; 0,894]
Ratio de OR no ajustada	13,30	[1,53; 116]

Abreviaturas: ROC: curva de operaciones del receptor, OR: cociente de probabilidades

En este estudio se incluyeron 66 pacientes consecutivos ingresados en el hospital con una infección confirmada por SARS-CoV-2. 8 de los 66

pacientes de COVID-19 murieron durante la estancia hospitalaria y 9 de los 66 pacientes de COVID-19 necesitaron ventilación mecánica.

Tipo de muestra: Suero

Instrumento: Roche c502

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

Predicción de la necesidad de ventilación mecánica

Parámetro	Valor	IC DEL 95 %
Corte* [mg/L]	2,98	
Área ROC	0,723	[0,652; 0,790]
Sensibilidad [%]	73,7	[60,3; 84,5]
Especificidad [%]	60,4	[54,9; 65,6]
PPV [%]	23,9	[17,8; 30,9]
NPV [%]	93,2	[89,0; 96,1]

Abreviaturas: ROC: curva operativa del receptor

* Determinación óptima del valor de corte conforme al índice Youden

Para descartar la necesidad de ventilación mecánica

Parámetro	Valor	IC DEL 95 %
Corte* [mg/L]	2,23	
Sensibilidad [%]	86,0	[74,2; 93,7]
NPV [%]	94,7	[89,7; 96,4]

Abreviaturas: ROC: curva operativa del receptor

* Determinación óptima del valor de corte para descartar la necesidad de ventilación mecánica invasiva

En este estudio multicéntrico se incluyeron 395 pacientes consecutivos ingresados en los hospitales con infección por SARS-CoV-2 confirmada. De estos pacientes de COVID-19, 57 requirieron ventilación mecánica invasiva.

Tipo de muestra: Suero

Instrumento: Roche Cobas c702

Límite superior de referencia

Los valores previstos de calprotectina en una población adulta normal se determinaron en un estudio que seguía un protocolo basado en la directriz C28 [19] del CLSI en un Cobas c501 (Roche). El intervalo de referencia se determinó a partir de una población de sujetos presumiblemente sanos. Se obtuvo un total de 416 muestras de individuos (52 % hombres, 48 % mujeres) de entre 16 y 80 años. Se utilizaron muestras de plasma con heparina de litio y de suero utilizando tubos con y sin gel (51 de heparina de litio sin gel, 163 de heparina de litio con gel, 51 de suero sin gel, 151 de suero con gel). El límite superior de referencia se calculó paramétricamente para representar al 97,5 % superior de la población. Se recomienda que cada laboratorio determine un límite de referencia local ya que los valores pueden variar según el tipo de población analizada.

Tipo de muestra	Valor
Plasma Li-Hep sin gel	<0,97 mg/L
Plasma Li-Hep con gel	<1,69 mg/L
Suero sin gel	<1,41 mg/L
Suero con gel	<1,75 mg/L

Significado de los símbolos

	Límite de temperatura
	Fecha de caducidad
	Consultar las instrucciones de uso
	Fabricante
	Marcado CE y número del Organismo Notificado
	Marcado UKCA
	Representante autorizado en Suiza
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Número de lote
	Número de catálogo
	Identificador único de dispositivo
	Contenido
	R1 solución amortiguadora
	R2 Inmunopartículas
	Atención

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

Representantes

Responsable en el Reino Unido: Emergo Consulting (UK) Limited
 c/o Cr360 – UL International
 Compass House, Vision Park Histon
 Cambridge CB24 9BZ
 Reino Unido

MedEnvoy Switzerland
 Gotthardstrasse 28
 6302 Zug
 Suiza

Referencias

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)

Incidentes graves

Por favor, notifique al fabricante y a la autoridad competente si se han producido incidentes graves en relación con el dispositivo.

Modificación de la versión anterior

- Nuevos datos de eficacia clínica de 2022, referencia 13.
- Se ha añadido el número del Organismo Notificado al marcado CE.
- Se ha añadido el marcado UKCA.
- Se ha añadido el apartado «Representantes».
- Se han añadido las referencias 14-19 del CLSI y la referencia 20 de la ISO.
- Se han añadido 4-6 en Advertencias y precauciones.
- Se han hecho pequeños cambios de redacción y correcciones en todo el documento.

Fecha de publicación

2023-03-01