

## Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit

REF 1201 i REF 1202

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu od strane laboratorijskih stručnjaka.

Ovaj dokument opisuje opću uporabu gornjeg proizvoda. Za specifične postavke instrumenta, pogledajte napomene za primjenu koje su dostupne na zahtjev na [marketing@gentian.com](mailto:marketing@gentian.com).

## Predviđena namjena

Gentian Calprotectin Immunoassay imunoturbidimetrijska je analiza namijenjena *in vitro* kvantitativnom određivanju kalprotektina, neutrofilnog proteina koji je inflamatorni marker, u uzorcima humane litijeve heparinske plazme i seruma. Analiza Gentian Calprotectin Immunoassay namijenjena je uporabi na automatiziranim kliničkim analizatorima od strane profesionalnih laboratorijskih stručnjaka. Korištena zajedno s drugim laboratorijskim nalazima i kliničkim procjenama, Gentian Calprotectin namijenjena je kao pomoć u otkrivanju i procjeni upale i upalnog odgovora na infekcije.

## Sažetak i objašnjenje pretrage

Kalprotektin je heterodimerni protein S100A8/A9 s molekularnom masom od 24 kDa, koji se sastoji od dva Ca<sup>2+</sup> proteina koji vežu - S100A8 i S100A9 (koji se također nazivaju mijeloidnim proteinima 8 i 14 (MRP8 i MRP14)). Kalprotektin se pretežno nalazi u neutrofilima, gdje on čini približno 50% sadržaja citosola u proteinima [1]. Neutrofilni granulociti jedan su od prvih reaktora na upalu i bakterijsku infekciju [3]. Kalprotektin se oslobađa iz aktiviranih neutrofila nakon čega su njegovi glavni biološki učinci odvajanje iona [3] i vezivanje za tolični receptor 4 (TLR4) i receptor za napredne glikacijske krajnje proizvode (RAGE) koji izazivaju upalni odgovor [1, 2, 4]. Kalprotektin se povećava u krvi u roku od nekoliko sati i do 100 puta (kao odgovor na bakterije ili endotoksin [5]) i smatra se važnim inflamatornim markerom [1, 2, 5-7]. Kalprotektin ukazuje na aktivaciju fagocita osjetljivije od uobičajenih parametara upale [4]. Slijedom toga, postoji snažna korelacija s upalom različitih akutnih i kroničnih poremećaja, što ovaj protein čini osjetljivim parametrom za procjenu aktivnosti bolesti i odgovora na liječenje kod pojedinih pacijenata [4].

## Standardizacija kalibratora

Nije dostupan nijedan međunarodni standard za kalprotektin. Stoga se sljedivost uspostavlja prema odjeljku 5.6 u ISO 17511 [20], gdje je najviša mjeriteljska razina postupak mjerenja koji je odabrao proizvođač. Kalibrator je sljediv do visoko čiste otopine rekombinantnog kalprotektina, vrijednosti dodijeljene određivanjem ukupnog proteina UV<sub>280</sub> i poznatog koeficijenta izumiranja. Radni kalibrator čistog rekombinantnog materijala u matrici kalibratora koristi se s stalnim postupcima mjerenja proizvođača za dodjeljivanje vrijednosti kalibratorima proizvoda putem objavljenog protokola za prijenos vrijednosti [8].

## Načelo analize

Gentian Calprotectin Immunoassay turbidimetrijska je imunološka analiza s pojačanim česticama (PETIA). Uzorak plazme ili seruma litijevog heparina miješa se s imunočesticama kalprotektina. Kalprotektin iz uzorka i anti-kalprotektinska antitijela iz otopine imunočestica vežu se i stvaraju agregate koji povećavaju zamućenost otopine. Stupanj zamućenosti proporcionalan je koncentraciji kalprotektina, koja se može kvantificirati putem utvrđene standardne kalibracijske krivulje.

## Komponente za komplet za ispitivanje

Dostavljeni proizvodi	
Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit	REF 1201
<ul style="list-style-type: none"> <li>R1 Assay Buffer (54 mL)</li> <li>R2 Immunoparticles (9 mL)</li> </ul>	
Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit S	REF 1202
<ul style="list-style-type: none"> <li>R1 Assay Buffer (30 mL)</li> <li>R2 Immunoparticles (5 mL)</li> </ul>	
Ostali dostupni proizvodi (nisu uključeni)	
Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (6 razina x 1 mL)	REF 1251
Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (2 razine x 1 mL)	REF 1219

Svi proizvodi spremni su za uporabu.

## Sastav

Reakcijski pufer 1 (R1, 54 mL neaktivnog sastojka): Gentian Calprotectin Assay Buffer. R1 puferirana je fiziološka otopina MOPS-a [3-(N-morfolino)-propan sulfonske kiseline] koja sadrži ptičje proteine i konzervirana je pomoću ProClin® 950.

Reakcijski pufer 2 (R2, 9 mL neaktivnog sastojka): Gentian Calprotectin Immunoparticles. R2 sadrži pročišćenu frakciju imunoglobulina usmjerenu protiv humanog kalprotektina, koji je kovalentno vezan za nanočestice polistirena. Otopina se konzervira s ProClin® 950.

## Identifikacija opasnosti



Piktogrami opasnosti (CLP):

GHS07

Oznaka opasnosti (CLP): Upozorenje

Sadrži: 2-metilzotiazol-3(2H)-on

Oznake upozorenja (CLP):

H317 - Može izazvati alergijsku reakciju na koži.

Oznake obavijesti (CLP):

P280 - Nositi zaštitu za oči, zaštitne rukavice, zaštitno odijelo.

P302+P352 - U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM: oprati velikom količinom sapuna i vode.

P305+P351+P338 - U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ukoliko ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje.

P337+P313 - Ako nadražaj oka ne prestaje: zatražiti savjet/pomoć liječnika.

P333+P313 - U slučaju nadražaja ili osipa na koži: zatražiti savjet/pomoć liječnika.

P362+P364 - Skinuti zagađenu odjeću i oprati je prije ponovne uporabe.

Da biste dobili SDS (sigurnosni list), kontaktirajte Gentian na [marketing@gentian.com](mailto:marketing@gentian.com).

## Upozorenja i mjere opreza

- Sadrže tvari ljudskog ili životinjskog podrijetla i trebaju se smatrati potencijalno zaraznim materijalima. Rukujte njima oprezno i odložite ih u otpad poštujući lokalne propise.
- Reagensi koji sadrže MOPS/Tween (R1) i EDTA (R2) mogu nadražiti oči, dišne putove i kožu. Rukujte njima uz dužni oprez i ne gutajte.

3. R1 sadrži proteine ptičjeg podrijetla. Rukujte njime oprezno, kako biste izbjegli alergijsku reakciju kože.
4. Izloženost može rezultirati iritacijom kože i očiju.
5. Izbjegavajte kontakt s nekompatibilnim materijalima.
6. Izbjegavajte izlaganje toplini i izravnoj sunčevoj svjetlosti.

## Dodatne upute za rukovanje

1. Ova je pretraga namijenjena samo za uporabu *in vitro* i njome mora rukovati laboratorijski stručnjaci.
2. Koristite jedino ovjerene i odobrene aplikacije instrumenta.
3. Nemojte koristiti proizvode nakon isteka roka valjanosti.
4. Nemojte miješati reagense različitih serija ili zamijeniti poklopce reagensa, kontrola, kalibratora i serija.
5. Ponovno pažljivo pritegnite poklopce nakon uporabe reagensa, kalibratora i kontrola, kako biste izbjegli isparavanje.

## Skladištenje i stabilnost reagensa

Svi proizvodi isporučeni za test Gentian Calprotectin Immunoassay moraju se skladištiti na 2-8 °C. Rok valjanosti otisnut je na naljepnicama. Uporabom instrumenta Architect c4000 (Abbott), utvrđeno je da stabilnost u uporabi Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit iznosi najmanje 4 tjedna u studiji koja temeljen na CLSI smjernici EP25 [14].

## Prikupljanje uzoraka i rukovanje uzorcima

Materijal potreban za uzorke litijeva je heparinska plazma ili serum. Gentian preporučuje litijevu heparinsku plazmu i epruvete bez gela. Preporučuje se da se uzorci analiziraju u najsvježijem dostupnom stanju. Uzorci seruma trebali bi pričekati 30 minuta prije obrade. Uzorak centrifugirajte unutar 2 sata od uzimanja krvi i frakciju plazme ili seruma odmah prenesite u drugu epruvetu. Nemojte koristiti epruvete s gelom i bez gela naizmjenično. Ispitivanje stabilnosti uzorka pokazalo je da je kalprotektin stabilan najmanje 48 sati nakon centrifugiranja na 2-8 °C. Uzorke treba dobro promiješati prije provedbe analize.

## Značajke performansi

Svi se rezultati odnose na validaciju testa Gentian Calprotectin Immunoassay na instrumentu Architect c4000 (Abbott) na jednom mjestu instrumenta s 3 serije reagensa, kontrola i kalibratora, ako nije drukčije navedeno. Za specifične postavke instrumenta, pogledajte napomene o primjeni za određeni instrument.

### Raspon mjerenja

Raspon mjerenja testa Gentian Calprotectin Immunoassay približno je 0,4 - 20,3 mg/L u uzorcima litijeva heparina i seruma, sa sigurnosnom zonom do 95 mg/L. Točan raspon mjerenja specifičan je za kalibrator i instrument; molimo da pogledate analitičku tablicu vrijednosti da doznate vrijednosti kalibratora specifične (dostupno na [www.gentian.com](http://www.gentian.com)) za seriju i bilješke o primjeni za određeni instrument.

### Analitička osjetljivost

Analiza analitičke osjetljivosti testa Gentian Calprotectin Immunoassay ispitivana je u studiji temeljenog na CLSI smjernici EP17 [15]. Granica kvantifikacije (GK) definirana je kao najmanja stvarna količina analita koja se može pouzdano detektirati i pri kojoj ukupna pogreška ispunjava zahtjeve za točnost. GK je izmjeren kao 0,31 mg/L u litijevoj heparinskoj plazmi i 0,30 mg/L u uzorcima seruma. Za GK specifične za instrument, pogledajte napomene o primjeni za određeni instrument.

### Preciznost

Ukupna preciznost testa Gentian Calprotectin Immunoassay izmjerena je s CV od <4,0% za uzorke >1 mg/L u studiji koja je temeljen na CLSI smjernici EP05 [16]. Potpunu preciznost specifičnu za instrument potražite u napomenama o primjeni za određeni instrument.

### Analitička specifičnost i ograničenja

U studiji temeljen na CLSI smjernici EP07 [17] nije otkrivena interferencija ovog proizvoda s hemoglobinom, intralipidom ili bilirubinom u ispitivanim koncentracijama. Za interferencije specifične za instrument, pogledajte napomene o primjeni za određeni instrument.

Nije otkrivena interferencija s lijekovima testiranim po preporuci Sonntag and Scholer [9]. Budući da su antitijela u testu Gentian Calprotectin Immunoassay ptičjeg podrijetla, u uzorcima nema smetnji zbog Reumatoidnog faktora [10]. Utvrđeno je da je unakrsna reaktivnost s MRP8, MRP14 i S100A12 <1% u studiji koja je uključivala 4 uzorka korištenjem protokola temeljenog na CLSI smjernici EP07.

### Usporedba metoda

Rezultati dobiveni testom Gentian Calprotectin Immunoassay na instrumentu Architect c4000 (Abbott) uspoređivani su s rezultatima testa IDK® Calprotectin ELISA Test™ (Immundiagnostik) na instrumentu spektrofotometra Multiskan 60 (Thermo Fisher) u studiji s 1 serijom reagensa temeljenog na CLSI smjernici EP09 [18]. Zbog nedostatka međunarodnih kalibratora ili referentnih postupaka, procijenjen je samo koeficijent determinacije R<sup>2</sup>.

Tip uzorka	n	Raspon uzoraka (mg/L)	R <sup>2</sup> Koeficijent
Li-Hep plazma	78	0,7 - 31,9	0,83
Serum	99	0,6 - 27,8	0,89

## Postupak analize

### Napomene za primjenu

Primjene testa Gentian Calprotectin Immunoassay utvrđene su na nekoliko analizatora kliničke kemije. Detaljne, potvrđene napomene za primjenu koje opisuju postupke instalacije i analize na određenim instrumentima dostupne su na zahtjev od [marketing@gentian.com](mailto:marketing@gentian.com). Za upute o tome kako instalirati novu aplikaciju, pogledajte priručnik za instrument. Održavanje instrumenta, rad i mjere opreza trebaju se provoditi u skladu s konkretnim priručnicima za instrumente.

### Priprema reagensa

Reagensi su spremni za uporabu. Pažljivo pomiješajte reagense prije nego što ih postavite na zadane položaje reagensa. Boce s reagensom mogu se smjestiti izravno u instrument, osim ako je drukčije navedeno u napomenama o primjeni.

### Uspostava kalibracijske krivulje

Molimo pogledajte upute za korištenje Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (REF 1251) dostupnih na [www.gentian.com](http://www.gentian.com).

### Kontrole kvalitete

Molimo pogledajte upute za korištenje Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (REF 1219) dostupne na [www.gentian.com](http://www.gentian.com).

### Mjerenje uzoraka bolesnika

Kada se uspostavi valjana kalibracijska krivulja i kontrolne vrijednosti su unutar valjanog raspona, može se izmjeriti uzorak litijeva heparinske plazme ili seruma. Provjerite je li prisutan minimalan volumen uzorka u šalicama/epruvetama za uzorke i analizirajte uzorke prema uputama koje su navedene u priručniku za instrumente.

### Rezultati

Rezultati se automatski izračunavaju instrumentom za sve aplikacije uspostavljene za test Gentian Calprotectin Immunoassay. Rezultati se prikazuju u mg/L.

## Klinička izvedba

Klinička izvedba testa Gentian Calprotectin Immunoassay ocjenjivana je u kliničkim studijama [11-13]. Specifične granične vrijednosti i značajke kliničkih performansi sažete su u nastavku.

Kliničke specifikacije, uključujući granične vrijednosti i značajke performansi ovise o vrsti uzorka i području bolesti. Stoga se preporučuje da svaki laboratorij odredi lokalne granične vrijednosti, budući da vrijednosti mogu varirati ovisno o vrsti uzorka, testiranoj populaciji i kliničkoj odluci.

Havelka, A. i dr. Scientific reports. 2020 [11].

### Diskriminacija između bolesnika s bakterijskom upalom pluća i virusnim respiratornim infekcijama

Parametar	Vrijednost	95% CI
Granična vrijednost [mg/L]	2,37	
ROC područje	0,775	[0,667; 0,861]
Osjetljivost [%]	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*	

Kratice: ROC: krivulja rada prijemnika, LR +: omjer vjerojatnosti pozitivnog rezultata, LR-: omjer vjerojatnosti negativnog rezultata

\*Izračunato na temelju prevalencije bakterijskih infekcija iz uzorka studije: 64% (71/(71+40))

### Diskriminacija između bolesnika s mikoplazma pneumonijom i virusnim respiratornim infekcijama

Parametar	Vrijednost	95% CI
Granična vrijednost [mg/L]	2,37	
ROC područje	0,883	[0,774; 0,952]
Osjetljivost [%]	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*	

Kratice: ROC: krivulja rada prijemnika, LR +: omjer vjerojatnosti pozitivnog rezultata, LR-: omjer vjerojatnosti negativnog rezultata

\*Izračunato na temelju prevalencije mikoplazma infekcija iz uzorka studije: 38% (24/(24+40))

Studija je obuhvatila 279 ispitanika (144 asimptomatske zdrave kontrole, 71 s bakterijskim infekcijama, 24 s infekcijama mikoplazmom i 40 s virusnim infekcijama). Kriteriji za uključivanje pacijenata u studiju bili su vrućica >38°C te znakovi i simptomi respiratorne infekcije.

Tip uzorka: Litijska heparinska plazma

Instrument: Mindray BS380

de Guadiana Romualdo, L. G. i dr. J Infect. 2020 [12].

### Predviđanje smrtnosti u bolesnika s bolešću COVID-19

Parametar	Vrijednost	95% CI
Granična vrijednost [mg/L]	3,9	
ROC područje	0,801	[0,691; 0,894]
Neprikladni OR omjer	13,30	[1,53; 116]

Kratice: ROC: krivulja rada prijemnika, OR: omjer izgleda

Ova studija obuhvatila je 66 uzastopnih pacijenata primljenih u bolnicu s potvrđenom infekcijom SARS-CoV-2. 8 od 66 bolesnika s bolešću COVID-19 umrlo je tijekom boravka u bolnici, a 9 od 66 bolesnika s bolešću COVID-19 trebalo je mehaničku ventilaciju.

Tip uzorka: Serum

Instrument: Roche c502

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

### Predviđanje potrebe za mehaničkom ventilacijom

Parametar	Vrijednost	95% CI
Granična vrijednost* [mg/L]	2.98	
ROC područje	0.723	[0.652, 0.790]
Osjetljivost [%]	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]

Kratice: ROC: krivulja rada prijemnika

\*Optimalna granična vrijednost u skladu s Youden indeksom

### Isključite potrebu za mehaničkom ventilacijom

Parametar	Vrijednost	95% CI
Granična vrijednost* [mg/L]	2.23	
Osjetljivost [%]	86.0	[74.2, 93.7]
NPV [%]	94.7	[89.7, 96.4]

Kratice: ROC: krivulja rada prijemnika

\*Optimalna granična vrijednost za isključivanje potrebe za mehaničkom ventilacijom

Ovo multicentrično ispitivanje uključivalo je 395 uzastopnih pacijenata primljenih u bolnice s potvrđenom infekcijom SARS-COV-2. Od ovih COVID-19 pacijenata, 57 ih je trebalo invazivnu mehaničku ventilaciju.

Tip uzorka: Serum

Instrument: Roche Cobas c702

## Gornja referentna granica

Očekivane vrijednosti kalprotektina u normalne odrasle populacije određene su studijom koja temeljen na smjernici C28 CLSI-ja [19] u pogledu uporabe na instrumentu Cobas c501 (Roche). Referentni interval određen je iz populacije naizgled zdravih ispitanika. Ispitano je ukupno 416 uzoraka pojedinaca (52 % muškarci, 48 % žene), u dobi od 16 do 80 godina. Iskorišteni su uzorci bili uzorci litij-heparina u plazmi i serumu, pri čemu su rabljene epruvete bez gela i s gelom (51 litij-heparin bez gela, 163 litij-heparina s gelom, 51 serum bez gela, 151 serumu s gelom). Gornja referentna granica izračunata je parametrijski, kako bi predstavljala gornjih 97,5 % populacije. Preporučuje se da svaki laboratorij odredi lokalnu referentnu granicu jer se vrijednosti mogu razlikovati, ovisno o testiranoj populaciji.

Tip uzorka	Vrijednost
Li-Hep plazma bez gela	<0.97 mg/L
Li-Hep plazma s gelom	<1.69 mg/L
Serum bez gela	<1.41 mg/L
Serum s gelom	<1.75 mg/L

## Objašnjenje simbola

	Temperaturno ograničenje
	Rok valjanosti
	Više informacija potražite u uputama za uporabu
	Proizvođač
	Oznaka CE s brojem prijavljenog tijela
	Oznaka UKCA
	Ovlašteni predstavnik u Švicarskoj
	<i>In Vitro</i> dijagnostički medicinski proizvod
	Broj proizvodne serije
	Kataloški broj
	Jedinstveni identifikator uređaja
	Sadržaj
	R1 Pufer uzorka
	R2 Imunočestice
	Upozorenje



Bjornasveien 5  
N-1596 Moss  
Norveška  
TEL: +47 99 33 99 05  
[www.gentian.com](http://www.gentian.com)



## Predstavnici

Odgovorna osoba  
iz UK

Emergo Consulting (UK) Limited  
c/o Cr360 – UL International  
Compass House, Vision Park Histon  
Cambridge CB24 9BZ  
Ujedinjeno Kraljevstvo  
MedEnvoy Switzerland  
Gotthardstrasse 28  
6302 Zug  
Švicarska



## Bibliografija

1. Stríz, I., Trebichavský, I. *Physiol Res.* 2004; 53(3): 245. - 53.
2. Wang, S. i dr. *Front Immunol.* 2018; 9: 1298.
3. Teng, T. S. i dr. *J Immunol Res.* 2017; 2017: 9671604.
4. Zackular, J. P. i dr. *J Biol Chem.* 2015; 290(31): 18991. - 8.
5. Johne, B. i dr. *Mol Pathol.* 1997; 50(3): 113. - 23.
6. Pruenster, M. i dr. *Pharmacol Ther.* 2016; 167: 120. - 31.
7. Foell, D. i dr. *Clin Chim Acta.* 2004; 344(1-2): 37. - 51.
8. Blirup-Jensen i dr. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46(10): 1470. - 1479.
9. Sonntag, O., Scholer, A., *Ann Clin Biochem* 2001; 38: 376. - 85.
10. Larsson, A. i dr. *Poultry Science* 1993.; 72: 1807. - 18.
11. Havelka, A. i dr. *Scientific reports.* 2020; 10(1): 4208. -
12. de Guadiana Romualdo, L. G. i dr. *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)

## Ozbiljni incidenti

Obavijestite proizvođača i svoje nadležno tijelo ako su se dogodili ozbiljni incidenti u vezi s uređajem.

## Promjene u odnosu na prethodnu verziju

- Novi podaci o kliničkoj učinkovitosti iz 2022., referenca 13
- Oznaci CE dodan je broj prijavljenog tijela
- Dodana je UKCA oznaka
- Dodano je poglavlje „Predstavnicima“
- Dodane su CLSI reference 14 – 19 i ISO referenca 20
- Dodani su 4 – 6 u Upozorenjima i mjerama opreza
- Manje uredničke izmjene i ispravci u cijelom dokumentu.

## Datum izdavanja

2023-03-01