

Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit

REF 1201 og REF 1202

For bruk i *in vitro* diagnostikk av laboratorieansatte.

Dette dokumentet beskriver generell bruk av produktet over. For instrumentspesifikke innstillinger, se applikasjonsnoter som er tilgjengelig ved forespørsel til marketing@gentian.com.

Tiltenkt formål

Gentian Calprotectin Immunoassay er en immunturbidimetrisk analyse som er tiltenkt bruk i *in vitro* kvantitativ bestemmelse av kalprotektin, et nøytrofil protein som er en markør for inflammasjon, i prøver av humant litiumheparin-plasma eller serum. Gentian Calprotectin Immunoassay er tiltenkt for bruk i automatiske kliniske analyseenheter av profesjonelle laboratoriebrukere. Sammen med andre laboratoriefunn og kliniske vurderinger, er Gentian Calprotectin tiltenkt å brukes som hjelp til å påvise og vurdere inflammasjon og inflammatorisk respons på infeksjoner.

Oppsummering og forklaring av test

Kalprotektin er et heterodimert protein S100A8/A9 med en molekylvekt på 24 kDa, bestående av de to Ca²⁺ bindingsproteinene S100A8 og S100A9 (også kalt myeloid-relaterte proteiner 8 og 14 (MRP8 og MRP14)). Kalprotektin finnes hovedsakelig i nøytrofile, hvor det utgjør omtrent 50 % av cytosolens proteininnhold [1]. Nøytrofile granulocytter er ofte første respons på inflammasjon og bakteriell infeksjon [3]. Kalprotektin blir utløst fra aktiverte nøytrofiler, og etter dette er deres hovedsakelige biologiske effekt sekvestering av ioner [3] og binding til bom-lignende reseptor 4 (TLR4) og reseptor for avanserte glykerte sluttprodukter (RAGE) som trigger en inflammatorisk respons [1, 2, 4]. Innen timer øker kalprotektin i blodet opp til 100 ganger mer (som respons til bakterier eller endotoksiner [5]) og er regnet som en viktig markør for inflammasjon [1, 2, 5-7].

Kalprotektin indikerer aktivering av fagocytter med mer følsomhet enn konvensjonelle parametere for inflammasjon [4]. Det er derfor sterk korrelasjon til inflammasjon av diverse akutte og kroniske lidelser, som gjør dette proteinet til en følsom parameter for vurderingen av sykdomsaktivitet og respons på behandling i individuelle pasienter [4].

Standardisering av kalibrator

Ingen internasjonal standard er tilgjengelig for kalprotektin. Derfor er sporbarhet etablert i henhold til avsnitt 5.6 i ISO 17511 [20] hvor det høyeste metrologiske inngangsnivået er produsentens valgte måleprosedyre. Kalibratoren er sporbar til en svært ren rekombinant kalprotektin-løsning, verdi tildelt av proteinbestemmelse ved UV₂₈₀ og kjent ekstinksjonskoeffisient. En fungerende kalibrator av rekombinant materiale i en kalibrator-matrise brukes med produsentens gjeldende målingsprosedyrer for å tilegne verdi til produktkalibrator via en publisert verdioverføringsprotokoll [8].

Analyseprinsipp

Gentian Calprotectin Immunoassay er en partikkelforbedret turbidimetrisk immunoassay (PETIA). Prøve av litiumheparin-plasma eller serum blir blandet med kalprotektin-immunpartikler. Kalprotektin fra prøven og anti-kalprotektin-antistoffer fra immunpartikkel-løsningen bindes for å danne aggregater som øker turbiditeten i løsningen. Graden av turbiditet er proporsjonal med konsentrasjonen av kalprotektin som kan kvantifiseres via en etablert standard kalibreringskurve.

Analyse kit komponenter

Leverte 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 tilgjengelige produkter (ikke inkludert)	
Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (6 nivåer x 1 mL)	REF 1251
Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (2 nivåer x 1 mL)	REF 1219

Alle produkter er klare til bruk.

Sammensetning

Reaksjonsbuffer 1 (R1, 54 mL inaktiv ingrediens): Gentian Calprotectin Analysebuffer. R1 er en MOPS [3-(N-Morpholino)-propan sulfonsyre] bufret saltløsning, med hønsseproteiner, konservert med ProClin® 950. Reaksjonsbuffer 2 (R2, 9 mL aktiv ingrediens): Gentian Calprotectin Immunpartikler. R2 inneholder rensert immunglobulin-fraksjon som er rettet mot menneskelig kalprotektin, og som er kovalent bundet til polystyren nanopartikler. Løsningen er konservert med ProClin® 950.

Fareidentifikasjon



Farepiktogrammer (CLP):

GHS07

Signalord (CLP): Advarsel

Inneholder: 2-metylisotiazol-3(2H)-on

Faresetning (CLP)

H317 - Kan utløse en allergisk hudreaksjon.

Sikkerhetssetninger (CLP)

P280 - Benytt vernebriller, vernehansker, verneklær.

P302+P352 - VED HUDKONTAKT: Vask med mye såpe og vann.

P305+P351+P338 - VED KONTAKT MED ØYENENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.

P337+P313 - Ved vedvarende øyeirritasjon: Søk legehjelp.

P333+P313 - Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp.

P362+P364 - Tilsølte klær må fjernes og vaskes før bruk.

For å få en kopi av SDS (sikkerhetsdatablad), ta kontakt med Gentian på marketing@gentian.com.

Advarsler og forholdsregler

- Inneholder stoffer av human eller animalsk opprinnelse og skal betraktes som potensielt infeksjøs materiale. Håndteres med forsiktighet og kastes i samsvar med lokale forskrifter.
- Reagenser som inneholder MOPS/Tween (R1) og EDTA (R2), kan irritere øyne, luftveier og hud. Håndteres med forsiktighet – unngå svelging.
- R1 inneholder fugleproteiner. Håndteres med forsiktighet for å unngå allergiske hudreaksjoner.
- Eksponering kan resultere i irritasjon av hud og øyne.

5. Unngå kontakt med uforenelige materialer.
6. Unngå eksponering av varme og direkte sollys.

Tilleggsveiledning for bruk

1. Denne testen er kun for *in vitro* bruk og må håndteres av profesjonelle laboratorieansatte.
2. Bruk kun validerte og godkjente instrumentapplikasjoner.
3. Produkter skal ikke benyttes etter utløpsdatoen.
4. Reagenser med forskjellige lot nummer må ikke blandes. Korker på reagenser, kontroller, kalibratorer og partier må ikke forveksles.
5. Skru på korkene nøye etter bruk av reagenser, kalibratorer og kontroller for å unngå fordampning.

Lagring og reagensenes holdbarhet

Alle produkter levert for Gentian Calprotectin Immunoassay må oppbevares ved 2-8 °C. Utløpsdatoen finnes på etikettene. Ved bruk av et Architect c4000-instrument (Abbott) fant man at stabiliteten ved bruk av Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit er minst 4 uker (2-8 °C) basert på CLSI-retningslinjen EP25 [14].

Prøvetaking og håndtering

Nødvendig prøvemateriale er litiumheparinplasma eller serum. Gentian anbefaler litiumheparin-plasma uten gel. Det anbefales å analysere prøvene når de er så ferske som mulig. Serumprøver bør vente 30 minutter før behandling. Sentrifuger prøven innen 2 timer etter innsamling av blod og overfør plasma eller serum-fraksjon til et annet rør umiddelbart. Ikke bruk rør med og uten gel om hverandre. Stabilitetstesting av prøver viste at kalprotectin er stabil i minst 48 timer etter sentrifuge ved 2-8 °C. Bland prøvene godt før analysering.

Ytelseskarakteristikk

Alle resultater viser til valideringen av Gentian Calprotectin Immunoassay på et Architect c4000 -instrument (Abbott) på et laboratorium med 3 lotter av reagenser, kontroller og kalibratorer hvis ikke annet er oppgitt. For instrumentspesifikke ytelseskarakteristikk, se instrumentspesifikke applikasjonsnoter.

Måleområde

Måleområdet for Gentian Calprotectin Immunoassay er omtrent 0,4–20,3 mg/L, med en sikkerhetssone på opptil 95 mg/L, i prøver av både litiumheparin-plasma og serum. Det eksakte måleområdet er spesifikt for kalibratoren og instrumentet, se arket for analytiske verdier for de lot-spesifikke kalibratorverdiene (tilgjengelig på www.gentian.com) og de instrumentspesifikke applikasjonsnoter.

Analytisk sensitivitet

Analysen av den analytiske sensitiviteten til Gentian Calprotectin Immunoassay ble testet i en studie basert på CLSI-retningslinjen EP17 [15]. Kvantifiseringsgrensen (LoQ) defineres som den laveste konsentrasjonen av en analytt som pålitelig detekteres der den totale usikkerhet oppfyller kravene til nøyaktighet. LoQ ble målt til 0,31 mg/L i litiumheparin-plasma og 0,30 mg/L i serumprøver. For instrumentspesifikk LoQ, se instrumentspesifikke applikasjonsnoter.

Presisjon

Den totale presisjonen til Gentian Calprotectin Immunoassay ble målt med en CV på <4,0 % for prøver > 1 mg/L i en studie basert på CLSI-retningslinje EP05 [16]. For instrumentspesifikk total presisjon, se instrumentspesifikke applikasjonsnoter.

Analytisk spesifisitet og begrensninger

Ingen interferens er oppdaget for dette produktet med hemoglobin, intralipid eller bilirubin ved de testede konsentrasjonene i en studie basert på CLSI-retningslinjen EP07 [17]. For instrumentspesifikk interferens, se instrumentspesifikke applikasjonsnoter. Det er ingen interferens oppdaget med legemidlene som ble testet på anbefaling fra Sonntag and Scholer [9]. Ettersom antistoffene i Gentian Calprotectin Immunoassay er av avian-opprinnelse, er det ingen interferens grunnet Rheumatoid Factor i prøvene [10]. Kryssreaktivitet med MRP8, MRP14

og S100A12 ble funnet å være <1 % i en studie som inkluderte 4 prøver som brukte en protokoll basert på CLSI-retningslinjen EP07.

Metodesammenlikning

Resultater oppnådd med Gentian Calprotectin Immunoassay på Architect c4000-instrumentet (Abbott) ble sammenlignet med resultater fra IDK® Calprotectin ELISA Test™ (Immundiagnostik) på Multiskan 60 spektrofotometer-instrument (Thermo Fisher) i en studie med 1 lot av reagenser basert på CLSI-retningslinjen EP09 [18]. På grunn av mangelen på internasjonale kalibratorer eller referanseprosedyrer, ble bare koeffisient av påvisning R² evaluert.

Prøvetype	n	Prøve-område [mg/L]	R ² Koeffisient
Li-Hep plasma	78	0,7 - 31,9	0,83
Serum	99	0,6 - 27,8	0,89

Analyseprosedyre

Applikasjonsnoter

Anvendelse av Gentian Calprotectin Immunoassay har blitt etablert på flere kliniske kjemiske analytatorer. Detaljerte, validerte applikasjonsnoter beskriver prosedyrene for installasjon og analyse av spesifikke instrumenter er tilgjengelige ved forespørsel til marketing@gentian.com. For instruksjoner om hvordan man installerer en ny applikasjon, se instrumenthåndboken. Vedlikehold, drifts- og forholdsregler må håndteres i henhold til den spesifikke instrumenthåndboken.

Klargjøring av reagenser

Reagensene er klare for bruk. Bland reagensene forsiktig før de plasseres i de tildelte reagensposisjonene. Reagensflaskene skal passe direkte inn i instrumentene så fremt ikke annet er oppgitt i applikasjonsnotene.

Etablering av kalibreringskurven

Vennligst se brukerveiledning for Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (REF 1251) tilgjengelig på www.gentian.com.

QC kontroller

Vennligst se brukerveiledning for Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (REF 1219) tilgjengelig på www.gentian.com.

Måling av pasientprøver

Når en gyldig kalibreringskurve har blitt etablert og kontrollverdiene er innenfor det gyldige området, kan litiumheparin-plasma eller serumprøven måles. Sjekk at det er et minimumvolum med prøve i prøve-koppene/slangene, og analyser prøvene i henhold til instruksjonene som angitt i instrumenthåndbøkene.

Resultater

Resultatene beregnes automatisk av instrumentet for alle programmer etablert for Gentian Calprotectin Immunoassay. Resultatene presenteres i mg/L.

Klinisk ytelse

Klinisk ytelse av Gentian Calprotectin Immunoassay har blitt evaluert i kliniske studier [11-13]. Spesifikke grenseverdier og kliniske ytelseskarakteristikker er oppsummert under. Kliniske spesifikasjoner, inkludert grenseverdier og ytelseskarakteristikker, avhenger av prøvetype og sykdomsområde. Derfor anbefales det at alle laboratorier bør fastsette lokale grenseverdier, siden verdiene kan variere avhengig av prøvetype, befolkning testet og kliniske vurderingspunkter.

[Havelka A, et al. Scientific reports. 2020 \[11\].](#)

Diskriminering mellom pasienter med bakteriell lungebetennelse og virale luftveisinfeksjoner

Parameter	Verdi	95 % CI
Grenseverdi [mg/L]	2,37	
ROC-område	0,775	[0,667; 0,861]
Følsomhet [%]	60	[44; 75]
Spesifisitet [%]	79	[63; 90]
LR+	2,9	[1,5; 5,6]
LR-	0,5	[0,3; 0,8]
PPV [%]	84*	
NPV [%]	53*	

Forkortelser: ROC: receiver operating characteristic curve, LR+: positivt sannsynlighetsforhold, LR-: negativt sannsynlighetsforhold

*Beregnet basert på forekomst av bakterielle infeksjoner fra studieprøve: 64 % (71/(71+40))

Diskriminering mellom pasienter med mykoplasma-lungebetennelse og virale luftveisinfeksjoner

Parameter	Verdi	95 % CI
Grenseverdi [mg/L]	2,37	
ROC-område	0,883	[0,774; 0,952]
Følsomhet [%]	91	[71; 99]
Spesifisitet [%]	77	[67; 93]
LR+	3,9	[2,2; 7,1]
LR-	0,12	[0,03; 0,4]
PPV [%]	70*	
NPV [%]	93*	

Forkortelser: ROC: receiver operating characteristic curve, LR+: positivt sannsynlighetsforhold, LR-: negativt sannsynlighetsforhold

*Beregnet basert på forekomst av mykoplasma-infeksjoner fra studieprøve: 38 % (24/(24+40))

Studiet inkluderte 279 personer (144 asymptomatiske friske kontroller, 71 med bakterieinfeksjoner, 24 med mykoplasma-infeksjoner og 40 med virusinfeksjoner). Inkluderingskriteriet for pasienter i studiet var feber på >38 °C og tegn og symptomer på luftveisinfeksjon.

Prøvetype: Litiumheparin-plasma

Instrument: Mindray BS380

[de Guadiana Romualdo LG, et al. J Infect. 2020 \[12\].](#)

Forutsigelse av dødelighet hos COVID-19-pasienter

Parameter	Verdi	95 % CI
Grenseverdi [mg/L]	3,9	
ROC-område	0,801	[0,691; 0,894]
Ikke justert ELLER forhold	13,30	[1,53; 116]

Forkortelser: ROC: receiver operation curve, OR: oddsforhold

Dette studiet inkluderte 66 påfølgende pasienter innlagt på sykehuset med bekreftet SARS-CoV-2-infeksjon. 8 av 66 COVID-19-pasienter døde under oppholdet på sykehuset og 9 av 66 COVID-19-pasienter trengte mekanisk ventilasjon.

Prøvetype: Serum

Instrument: Roche c502

[de Guadiana Romualdo LG, et al. Inflamm. Res. 2022 \[13\].](#)

Forutsigelse av behov for mekanisk ventilering

Parameter	Verdi	95% CI
Grenseverdi* [mg/L]	2.98	
ROC-område	0.723	[0.652, 0.790]
Følsomhet [%]	73.7	[60.3, 84.5]
Spesifisitet [%]	60.4	[54.9, 65.6]
PPV [%]	23.9	[17.8, 30.9]
NPV [%]	93.2	[89.0, 96.1]

Forkortelser: ROC: receiver operating characteristic curve,

*Optimal grenseverdi i henhold til Youden indeks

Utelukkelse av behov for mekanisk ventilering

Parameter	Verdi	95% CI
Grenseverdi* [mg/L]	2.23	
Følsomhet [%]	86.0	[74.2, 93.7]
NPV [%]	94.7	[89.7, 96.4]

Forkortelser: ROC: receiver operating characteristic curve,

* Optimal grenseverdi for å utelukke behovet for invasiv mekanisk ventilering

Dette multisenter studiet inkluderte 395 påfølgende pasienter innlagt på sykehus med bekreftet SARS-CoV-2 infeksjon. Av disse COVID-19 pasientene, trengte 57 pasienter invasiv mekanisk ventilering.

Prøve type: Serum

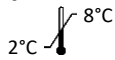
Instrument: Roche Cobas c702

Øvre referansegrense

Forventede kalprotektinverdier i en normal voksenpopulasjon ble fastslått i en studie med fremgangsmåte basert på CLSI-standarden C28 [19] på et Cobas c501 (Roche). Referanseintervallet ble fastslått ut fra en populasjon av tilsynelatende friske personer. Totalt 416 prøver fra personer (52 % menn, 48 % kvinner) i alderen 16 til 80 år ble målt. Prøvene som ble brukt, var litiumheparinplasma og serum med rør både med og uten gel (51 litiumheparin-plasma uten gel, 163 litiumheparin-plasma med gel, 51 serum uten gel, 151 serum med gel). Øvre referansegrense ble beregnet parametrisert for å representere de øverste 97,5 % av populasjonen. Det enkelte laboratorium bør fastslå en lokal referansegrense, ettersom verdiene kan variere med testpopulasjonen.

Prøvetype	Verdi
Litiumheparin-plasma uten gel	<0,97 mg/L
Litiumheparin-plasma med gel	<1,69 mg/L
Serum uten gel	<1,41 mg/L
Serum med gel	<1,75 mg/L

Symboloversikt



Oppbevaringstemperatur



Brukes innen



Se pakningsvedlegg



Produsent



CE merke med nummer for meldingsorganet



UKCA merke



Sveitsisk autorisert representant



In vitro diagnostisk medisinsk utstyr



Lot nummer



Katalognummer



Entydig utstyrsidentifikasjon



Innhold



R1 Analysebuffer



R2 Immunpartikler



Advarsel



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



Representanter

UK ansvarlig person

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



MedEnvoy Switzerland
Gotthardstrasse 28
6302 Zug
Sveits

Referanser

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 hendelser

Gi beskjed til produsenten og din tilsynsmyndighet dersom det har oppstått alvorlige hendelser i forbindelse med enheten.

Endringer fra foregående versjon

- Nye kliniske ytelses data fra 2022, referanse 13.
- La til nummeret til det meldte organet
- La til UKCA merket
- La til kapittelet Representanter
- La til CLSI referansens 14-19 og ISO referanse 20
- La til punkt 4-6 i Advarsler og forholdsregler
- Mindre redaksjonelle endringer og rettelser i hele dokumentet.

Utgivelsesdato

2023-03-01