

Gentian GCAL[®] Calprotectin Reagent Kit

REF 1201 e REF 1202

Para utilização de diagnóstico *in vitro* por profissionais de laboratório.

Este documento descreve a utilização geral do produto acima. Para definições específicas do equipamento, consulte as notas de aplicação disponíveis sob pedido em marketing@gentian.com.

Finalidade prevista

O Gentian Calprotectin Immunoassay é um ensaio imunoturbidimétrico previsto para a determinação quantitativa *in vitro* de calprotectina, uma proteína neutrofílica que é um marcador de inflamação, em amostras de plasma de heparina de lítio e soro humanos. O Gentian Calprotectin Immunoassay está previsto para utilização em analisadores clínicos automatizados por utilizadores laboratoriais profissionais. Usado em combinação com outros achados laboratoriais e avaliações clínicas, o Gentian Calprotectin está previsto para auxiliar na deteção e avaliação da inflamação e da resposta inflamatória a infeções.

Resumo e explicação do teste

A calprotectina é uma proteína heterodimérica S100A8/A9 com uma massa molecular de 24 kDa, composta por duas das proteínas de ligação ao Ca²⁺ S100A8 e S100A9 (também designadas por proteínas mieloides relacionadas 8 e 14 - MRP8 e MRP14). A calprotectina encontra-se predominantemente nos neutrófilos, onde compõe cerca de 50% do teor proteico do citosol [1]. Os granulócitos neutrófilos estão entre os primeiros a responder à inflamação e à infeção bacteriana [3]. A calprotectina é libertada por neutrófilos ativadas e, subsequentemente, os seus principais efeitos biológicos são o sequestro de iões [3] e a ligação ao tipo Toll 4 (TLR4) e aos recetores dos produtos finais de glicosilação avançada (RAGE), desencadeando uma resposta inflamatória [1, 2, 4]. A concentração de calprotectina aumenta até 100 vezes no sangue no espaço de algumas horas (em resposta a bactérias ou a endotoxina [5]) e é considerada um importante marcador da inflamação [1, 2, 5-7].

A calprotectina indica a ativação de fagócitos de forma mais sensível do que os parâmetros convencionais da inflamação [4]. Consequentemente, existe uma forte correlação com a inflamação em vários distúrbios agudos e crónicos, pelo que esta proteína é um parâmetro sensível na avaliação da atividade patológica e da resposta ao tratamento em doentes individuais [4].

Padronização do calibrador

Não existe uma norma internacional aplicável à calprotectina. Por conseguinte, a rastreabilidade é determinada de acordo com a secção 5.6 da norma ISO 17511 [20], segundo a qual o nível de entrada metrológico mais elevado é o procedimento de medição selecionado pelo fabricante. O calibrador é rastreável numa solução recombinante de calprotectina com um elevado grau de pureza, com valor atribuído por determinação de proteínas totais por UV₂₈₀ e coeficiente de extinção conhecido. Um calibrador de trabalho do material recombinante puro na matriz do calibrador é usado com os procedimentos de medição aplicáveis do fabricante, a fim de atribuir o valor aos calibradores do produto, aplicando um protocolo publicado de transferência de valor [8].

Princípio do ensaio

O Gentian Calprotectin Immunoassay é um imunoensaio turbidimétrico coadjuvado por partículas (PETIA). A amostra de plasma ou soro de heparina de lítio é misturada com imunopartículas de calprotectina. A calprotectina da amostra e os anticorpos anticalprotectina da solução de imunopartículas ligam-se para formar agregados que aumentam a turbidez da solução. O grau de turbidez é proporcional à concentração de calprotectina, a qual pode ser quantificada recorrendo a uma curva de calibração padrão previamente determinada.

Componentes do kit do ensaio

Produtos fornecidos	
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) 	
Outros produtos disponíveis (não incluídos)	
Gentian GCAL [®] Calprotectin Calibrator Kit (6 níveis x 1 mL)	REF 1251
Gentian GCAL [®] Calprotectin Control Kit (2 níveis x 1 mL)	REF 1219

Todos os produtos estão prontos para serem utilizados.

Composição

Tampão de ensaio 1 (R1, 54 mL ingrediente inativo): Gentian Calprotectin tampão de ensaio. O R1 é um tampão salino MOPS [3-(N-Morfolino)-ácido propano-sulfónico] que contém proteínas aviárias e é conservado com ProClin[®] 950.

Tampão de reação 2 (R2, 9 mL ingrediente inativo): Gentian Calprotectin imunopartículas. O R2 contém uma fração de imunoglobulina direcionada contra a calprotectina humana, com ligação covalente a partículas de polistireno. A solução é conservada com ProClin[®] 950.

Identificação dos perigos



Pictogramas de perigo (CLP):

GHS07

Palavra-sinal (CLP): Atenção

Contém: 2-metilisotiazol-3(2H)-ona

Advertências de perigo (CLP)

H317 - Pode provocar uma reacção alérgica cutânea.

Recomendações de prudência (CLP)

P280 - Usar protecção ocular, luvas de protecção, vestuário de protecção.

P302+P352 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes.

P305+P351+P338 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.

P337+P313 - Caso a irritação ocular persista: Consulte um médico.
P333+P313 - Em caso de irritação ou erupção cutânea: Consulte um médico.

P362+P364 - Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.

Para obter a SDS (ficha de dados de segurança), contacte a Gentian em marketing@gentian.com.

Advertências e precauções

1. Contém substâncias de origem humana ou animal e deve ser considerado como material potencialmente infeccioso. Manusear com cuidado e eliminar de acordo com os regulamentos locais.
2. Os reagentes que contêm MOPS/Tween (R1) e EDTA (R2) podem causar irritação nos olhos, nas vias aéreas e na pele. Manusear com o devido cuidado e não ingerir.
3. O R1 contém proteínas aviárias. Manusear com o devido cuidado para evitar reações alérgicas cutâneas.
4. A exposição pode provocar irritação cutânea e ocular.
5. Evitar o contacto com materiais incompatíveis.
6. Evitar a exposição ao calor e à luz solar direta.

Instruções de manuseamento adicionais

1. Este teste destina-se apenas a utilização *in vitro* e deve ser manuseado por profissionais de laboratório.
2. Utilize apenas equipamentos homologados e aprovados.
3. Não utilize produtos após o prazo de validade.
4. Não misture reagentes de lotes diferentes nem troque tampas de reagentes, controlos, calibradores e lotes.
5. Aperte, cuidadosamente, as tampas após a utilização de reagentes, calibradores e controlos para evitar a evaporação.

Armazenamento e estabilidade do reagente

Todos os produtos fornecidos com Gentian Calprotectin Immunoassay devem ser armazenados a 2-8 °C. O prazo de validade é indicado no rótulo. Usando um instrumento Architect c4000 (Abbott), a estabilidade em uso dos Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit foi de pelo menos 4 semanas, realizada como um estudo integrado com base na orientação CLSI EP25 [14].

Colheita e manuseamento das amostras

O material de amostra necessário é soro ou plasma de heparina de lítio. Gentian recomenda plasma de heparina de lítio e tubos sem gel. É recomendável analisar as amostras o mais frescas possível. As amostras de soro deverão aguardar 30 minutos antes do processamento. Centrifugar a amostra no período de 2 horas após a colheita do sangue e transferir a fração de plasma ou soro imediatamente para outro tubo. Não usar tubos com e sem gel alternadamente. Os testes de estabilidade da amostra demonstraram que a calprotectina se mantém estável durante pelo menos 48 horas após a centrifugação a 2-8 °C. Misturar bem as amostras antes de as analisar.

Características de desempenho

Os resultados dizem respeito à validação principal do Gentian Calprotectin Immunoassay num equipamento Architect c4000 (Abbott) num local instrumental, com 3 lotes de reagentes, controlos e calibradores, a menos que indicado ao contrário. Para as características de desempenho específicas do equipamento, consulte as notas de aplicação específicas do equipamento.

Intervalo de medição

O intervalo de medição do Gentian Calprotectin Immunoassay é de aproximadamente 0,4-20,3 mg/L, tanto nas amostras em plasma de heparina de lítio como nas de soro, com uma zona de segurança de até 95 mg/L. O intervalo de medição exato é específico de cada calibrador e de cada equipamento; consultar a folha de valores analíticos para conhecer os valores específicos do lote do calibrador (disponível em www.gentian.com) e as notas de aplicação específicas do instrumento.

Sensibilidade analítica

A análise da sensibilidade analítica do Gentian Calprotectin Immunoassay foi testada num estudo baseado na orientação CLSI EP17 [15]. O limite de quantificação (LQ) é definido como a concentração mais baixa de uma substância a analisar que pode ser detetada de forma fiável e na qual o erro total cumpre os requisitos de exatidão. Foi medido um LQ de 0,31 mg/L em amostras de plasma de heparina de lítio e de 0,30

mg/L em amostras de soro. Para o LQ específico do equipamento, consulte as notas de aplicação específicas do equipamento.

Precisão

A precisão total do Gentian Calprotectin Immunoassay foi medida com um CV de <4,0% para amostras >1 mg/L num estudo que usou um protocolo baseado na orientação CLSI EP05 [16]. Para a precisão total do equipamento, consulte as notas de aplicação específicas do equipamento.

Especificidade e limitações analíticas

Não foi detetada nenhuma interferência deste produto com hemoglobina, intralípido ou bilirrubina nas concentrações testadas, num estudo baseado na orientação CLSI EP07 [17]. Para a interferência específica do instrumento, consulte as notas de aplicação específicas do instrumento. Não foi detetada qualquer interferência nos medicamentos testados, como recomendado por Sonntag and Scholer [9]. Uma vez que os anticorpos no Gentian Calprotectin Immunoassay são de origem aviária, não existe interferência causada por Fator Reumatoide nas amostras [10]. Determinou-se uma reatividade cruzada <1% com MRP8, MRP14 e S100A12, num estudo que incluiu 4 amostras, usando um protocolo baseado na orientação CLSI EP07.

Método de comparação

Os resultados obtidos com o Gentian Calprotectin Immunoassay no equipamento Architect c4000 (Abbott) foram comparados com os resultados do IDK® Calprotectin ELISA Test™ (Immundiagnostik) no equipamento de espectrofotometria Multiskan 60 (Thermo Fisher) num estudo com 1 lote de reagentes, baseado na orientação CLSI EP09 [18]. Dada a ausência de calibradores internacionais ou de procedimentos de referência, foi avaliado apenas o coeficiente de determinação R².

Tipo de amostra	n	Intervalo de amostras [mg/L]	R ² Coeficiente
Plasma hep. lít.	78	0,7 - 31,9	0,83
Soro	99	0,6 - 27,8	0,89

Procedimento de ensaio

Notas de aplicação

Foram estabelecidas aplicações do Gentian Calprotectin Immunoassay em vários analisadores de química clínica. As notas de aplicação detalhadas e validadas que descrevem os procedimentos para instalação e análise de equipamento específicos estão disponíveis sob pedido em marketing@gentian.com. Para instruções sobre como instalar uma nova aplicação, consulte o manual de instruções. A manutenção, operação e precauções devem ser realizadas em conformidade com o manual de equipamento específico.

Preparação de reagentes

Todos os reagentes estão prontos para serem utilizados. Misturar suavemente os reagentes antes de os colocar nas posições de reagentes atribuídas. Os frascos de reagentes podem encaixar diretamente no equipamento, a menos que indicado em contrário nas notas de aplicação.

Estabelecimento da curva de calibração

Consulte as instruções de uso do Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (REF 1251) disponível em www.gentian.com.

Controles de controle de qualidade

Consulte as instruções de uso do Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (REF 1219) disponível em www.gentian.com.

Determinação das amostras de pacientes

Depois de se determinar uma curva de calibração válida e quando os valores de controlo estiverem dentro do intervalo válido, pode medir-se a amostra de soro ou plasma de heparina de lítio. Garanta que está presente o volume mínimo da amostra e ensaie as amostras em conformidade com as instruções fornecidas no manual do equipamento.

Resultados

Os resultados são calculados automaticamente pelo equipamento, para todas as aplicações estabelecidas para o Gentian Calprotectin Immunoassay. Os resultados são apresentados em mg/L.

Desempenho clínico

O desempenho clínico do Gentian Calprotectin Immunoassay foi avaliado em estudos clínicos [11-13]. Os valores de *cut-off* específicos e as características de desempenho clínico encontram-se resumidos abaixo. As especificações clínicas, incluindo os valores de *cut-off* e as características de desempenho, dependem do tipo de amostra e da área de doença. Por conseguinte, recomenda-se que cada laboratório determine valores de *cut-off* locais, já que os valores podem variar com o tipo de amostra, a população testada e o ponto de decisão clínica.

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

Distinção entre doentes com pneumonia bacteriana e infeções respiratórias virais

Parâmetro	Valor	IC de 95%
Valor de <i>cut-off</i> [mg/L]	2,37	
Área ROC	0,775	[0,667; 0,861]
Sensibilidade [%]	60	[44; 75]
Especificidade [%]	79	[63; 90]
RV+	2,9	[1,5; 5,6]
RV-	0,5	[0,3; 0,8]
VPP [%]	84*	
VPN [%]	53*	

Abreviaturas: ROC: receiver operation curve (curva característica do recetor operante), LR+: rácio de verosimilhança positivo, LR-: rácio de verosimilhança negativo

*Calculado com base na prevalência de infeções bacterianas na amostra de estudo: 64% (71/((71+40))

Distinção entre doentes com pneumonia micoplásmica e infeções respiratórias virais

Parâmetro	Valor	IC de 95%
Valor de <i>cut-off</i> [mg/L]	2,37	
Área ROC	0,883	[0,774; 0,952]
Sensibilidade [%]	91	[71; 99]
Especificidade [%]	77	[67; 93]
RV+	3,9	[2,2; 7,1]
RV-	0,12	[0,03; 0,4]
VPP [%]	70*	
VPN [%]	93*	

Abreviaturas: ROC: receiver operation curve (curva característica do recetor operante), LR+: rácio de verosimilhança positivo, LR-: rácio de verosimilhança negativo

*Calculado com base na prevalência de infeções micoplasmáticas na amostra de estudo: 38% (24/((24+40))

O estudo incluiu 279 indivíduos (144 controlos saudáveis assintomáticos, 71 com infeções bacterianas, 24 com infeções micoplasmáticas e 40 com infeções virais). Os critérios de inclusão de doentes no estudo foram febre >38 °C e sinais e sintomas de infeção respiratória.

Tipo de amostra: Plasma de heparina de lítio
Equipamento: Mindray BS380

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

Previsão de mortalidade em doentes com COVID-19

Parâmetro	Valor	IC de 95%
Valor de corte [mg/L]	3,9	
Área ROC	0,801	[0,691; 0,894]
RR não ajustado	13,30	[1,53; 116]

Abreviaturas: ROC: receiver operation curve (curva característica do recetor operante), RR: risco relacional

Este estudo incluiu 66 doentes consecutivos internados no hospital com infeção confirmada por SARS-CoV-2. 8 de 66 doentes com COVID-19 morreram durante o internamento e 9 de 66 doentes com COVID-19 precisaram de ventilação mecânica.

Tipo de amostra: Soro
Equipamento: Roche c502

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

Previsão da necessidade de ventilação mecânica

Parâmetro	Valor	IC de 95%
Valor de <i>cut-off</i> * [mg/L]	2,98	
Área ROC	0,723	[0,652; 0,790]
Sensibilidade [%]	73,7	[60,3; 84,5]
Especificidade [%]	60,4	[54,9; 65,6]
PPV [%]	23,9	[17,8; 30,9]
NPV [%]	93,2	[89,0; 96,1]

Abreviaturas: ROC: receiver operation curve (curva característica do recetor operante)

*Limiar ideal de acordo com o índice de Youden

Excluir a necessidade de ventilação mecânica

Parâmetro	Valor	IC de 95%
Valor de <i>cut-off</i> * [mg/L]	2,23	
Sensibilidade [%]	86,0	[74,2; 93,7]
NPV [%]	94,7	[89,7; 96,4]

Abreviaturas: ROC: receiver operation curve (curva característica do recetor operante)

*Limiar ideal para excluir a necessidade de ventilação mecânica invasiva

Este estudo multicêntrico incluiu 395 doentes consecutivos, internados em hospitais, com infeção por SARS-CoV-2 confirmada. Destes doentes com COVID-19, 57 precisaram de ventilação mecânica invasiva.

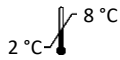
Tipo de amostra: Soro
Equipamento: Roche Cobas c702

Limite superior de referência

Os valores de calprotectina esperados numa população adulta normal foram determinados num estudo, seguindo um protocolo baseado na diretriz C28 [19] do CLSI num instrumento Cobas c501 (Roche). O intervalo de referência foi determinado a partir de uma população de participantes manifestamente saudáveis. Foi medido um total de 416 amostras de indivíduos (52% do sexo masculino, 48% do sexo feminino) com idade variável entre os 16 e 80 anos. As amostras utilizadas foram amostras de plasma com heparina de lítio e soro, utilizando tubos com e sem gel (51 de heparina de lítio sem gel, 163 de heparina de lítio com gel, 51 de soro sem gel e 151 de soro com gel). O limite superior de referência foi calculado parametricamente para representar os 97,5% superiores da população. Recomenda-se que cada laboratório determine um limite de referência local porque os valores podem variar dependendo da população testada.

Tipo de amostra	Valor
Plasma Lí-Hep sem gel	< 0,97 mg/L
Plasma Lí-Hep com gel	< 1,69 mg/L
Soro sem gel	< 1,41 mg/L
Soro com gel	< 1,75 mg/L

Símbolos



Limite de temperatura



Validade



Consulte as instruções de uso



Fabricante



Marcação CE com número do Organismo Notificado



Marcação UKCA



Mandatário na Suíça



Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*



Número do lote



Referência do catálogo



Identificação única do dispositivo



Conteúdo



Tampão de ensaio R1



Imunopartículas R2



Atenção



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



Representantes

Entidade responsável no 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
Suíça

Referências

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 sérios

Contacte o fabricante e as autoridade competentes se ocorrerem incidentes sérios relacionados com o dispositivo.

Modificação da versão anterior

- Novos dados de desempenho clínico de 2022, referência 13.
- Adição do número do Organismo Notificado à marcação CE
- Adição da marcação UKCA
- Adição do capítulo “Representantes”
- Adição das referências 14–19 de normas do CLSI e da referência 20 da norma ISO
- Adição de 4–6 em Advertências e Precauções.
- Pequenas alterações editoriais e correções em todo o documento.

Data de emissão

2023-03-01