

Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit

REF 1201 och REF 1202

För professionell *in vitro* användning inom laboratoriediagnostik.

Detta dokument beskriver den allmänna användningen av produkten ovan. För instrumentspecifika inställningar, se applikationsinställningar tillgängliga på begäran till marketing@gentian.com.

Avsedd användning

Gentian Calprotectin Immunoassay är en immunturbidimetrisk analys, avsedd för *in vitro*-kvantitativ bestämning av kalprotectin, ett neutrofilprotein som är en markör för inflammation, i humana litiumheparinplasmaprover och serumprover. Gentian Calprotectin Immunoassay är avsedd att användas på automatiserade, kliniska analysatorer av professionella laboratorieanvändare. Gentian Calprotectin används tillsammans med andra laboratoriefynd och kliniska bedömningar och är avsett att användas som hjälpmedel vid upptäckt och bedömning av inflammation och inflammatorisk respons på infektioner.

Sammanfattning och förklaring av test

Kalprotectin (S100A8/A9) är en heterodimer med en molekylär massa på 24 kDa, bestående av två Ca²⁺-bindande proteiner S100A8 och S100A9 (också benämnda myeloidrelaterade proteiner 8 och 14 (MRP8 och MRP14)). Kalprotectin hittas övervägande i neutrofiler där det står för ungefär 50 % av proteininnehållet i cytosollen [1]. Neutrofila granulocyter är en av de första respondenterna på inflammation och bakteriell infektion [3]. Kalprotectin frisläpps från aktiverade neutrofiler för att därefter binda och sekvestera flera joner nödvändiga för bakteriell överlevnad samt binda till Toll-like receptor 4 (TLR4) Receptor of Advanced Glycation Endproducts (RAGE) och delta i den pro-inflammatoriska responsen [1, 2, 4]. Kalprotectin ökar i blodet inom några timmar och kan öka upp till 100 gånger som respons till bakterier eller endotoxin [5]) och anses vara en viktig inflammationsmarkör [1, 2, 5-7]. Kalprotectin indikerar fagocytaktivering mer känsligt än konventionella inflammationsparametrar [4]. Följaktligen finns det en stark korrelation till inflammation vid olika akuta och kroniska diagnoser, vilket gör detta protein till en känslig parameter för övervakning av sjukdomsaktivitet och svar på behandling hos enskilda patienter [4].

Kalibratorstandardisering

Ingen internationell standard är tillgänglig för kalprotectin. Därför fastställs spårbarhet enligt avsnitt 5.6 i ISO 17511 [20] där den högsta metrologiska ingångsnivån är tillverkarens valda mätförfarande. Kalibratoren kan spåras till en mycket ren rekombinant kalprotectin-lösning, i vilket värdet av kalprotectin är tilldelat genom total proteinbestämning av UV₂₈₀ och kändextinktionskoefficient. En arbetskalibrator av det rena rekombinanta materialet i kalibratormatrisen används med tillverkarens stående mätprocedurer för att tilldela värde till produktkalibratorerna via ett publicerat värdeöverföringsprotokoll [8].

Analysprincip

Gentian Calprotectin Immunoassay är en partikelförstärkt turbidimetrisk immunanalys (PETIA). Litiumheparinplasma eller serumprov blandas med kalprotectin immunopartiklar. Kalprotectin från provet och antikälprotectinantikropparna från immunpartikellösningen binds för att forma aggregat som ökar lösningens grumlighet. Graden av grumlighet är proportionell mot koncentrationen av kalprotectin, vilken kan kvantifieras via en etablerad standardkalibreringskurva.

Komponenter i analysats

Tillhandahållna 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) 	
Andra tillgängliga produkter (inte inkluderade)	
Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (6 nivåer x 1 mL)	REF 1251
Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (2 nivåer x 1 mL)	REF 1219

Alla produkter är klara för användning

Sammansättning

Reaktionsbuffert 1 (R1, 54 mL inaktiv ingrediens): Gentian Calprotectin Assay Buffer. R1 är en MOPS [3-(N-morfolin)-propansulfonsyra] buffrad saltlösning som innehåller fågelproteiner och konserveras med ProClin® 950.

Reaktionsbuffert 2 (R2 9 mL aktiv ingrediens): Gentian Calprotectin-immunopartiklar R2 innehåller en renad immunoglobulinfraktion riktad mot humant kalprotectin, som är kovalent bunden till polystyrennanopartiklar. Lösningen konserveras med ProClin® 950.

Farliga egenskaper



Faropiktogram (CLP):

GHS07

Signalord (CLP): Varning

Innehåller: 2-metylisotiazol-3(2H)-on

Faroangivelser (CLP):

H317 - Kan orsaka allergisk hudreaktion.

Skyddsangivelser (CLP):

P280 - Använd ögonskydd, skyddshandskar, skyddskläder.

P302+P352 - VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket tvål och vatten.

P305+P351+P338 - VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

P337+P313 - Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp.

P333+P313 - Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp.

P362+P364 - Ta av nedstänkta kläder och tvätta dem innan de används igen.

Kontakta Gentian via marketing@gentian.com för att erhålla SDS (safety data sheet - säkerhetsdatablad).

Varningar och försiktighetsåtgärder

- Innehåller substanser med humant ursprung och från djur och skall anses som potentiellt smittsamt material. Hantera med försiktighet och kassera i enlighet med lokala föreskrifter.

2. Reagenser som innehåller MOPS/Tween (R1) och EDTA (R2) kan vara irriterande för ögon, luftvägar och hud. Hanteras mycket varsamt och ska inte förtäras.
3. R1 innehåller fågelproteiner. Hanteras varsamt för att undvika allergiska hudreaktioner.
4. Exponering kan resultera i irritation av hud och ögon.
5. Undvik kontakt med inkompatibla material.
6. Undvik exponering för värme och direkt solljus.

Ytterligare hanteringsanvisningar

1. Detta test är endast avsett för *in vitro*-användning och måste hanteras av professionell laboratoriepersonal.
2. Använd endast validerade och godkända instrumentapplikationer.
3. Använd inte produkter sedan utgångsdatum har passerats.
4. Blanda inte reagenser från olika lotter eller lock mellan reagens-, kontroller och kalibratorflaskorna.
5. Dra åt lock noggrant efter användning av reagenser, kalibratorer och kontroller för att undvika avdunstning.

Reagenslagring och stabilitet

Alla produkter tillhandahållna för Gentian Calprotectin Immunoassay måste förvaras vid 2-8 °C. Utgångsdatumet är tryckt på etiketterna. Med ett Architect c4000 -instrument (Abbott), visade sig stabilitet vid användning av Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit vara minst 4 veckor utförd som en ombordstudie baserat på CLSI guideline EP25 [14].

Provinsamling och hantering

Lämpligt provmaterial är litiumheparinplasma eller serum. Gentian rekommenderar litiumheparinplasma och rör utan gel. Det rekommenderas att analysera proverna så färskt som möjligt. Serumprover ska vila i 30 minuter innan de centrifugeras. Centrifugera provet inom 2 timmar efter blodinsamlingen och överför omedelbart till ett annat rör. Använd inte gel- och icke-gelrör omväxlande. Probstabilitetstestning visade att kalprotectin var stabilt i minst 48 timmar vid 2-8°C efter centrifugering. Blanda proverna väl innan de analyseras.

Prestandaegenskaper

Resultaten refererar till huvudvalideringen av Gentian Calprotectin Immunoassay på ett Architect c4000 -instrument (Abbott) på en instrumentplats med 3 lotter av reagenser, kontroller och kalibratorer, om inte annat anges. Se de instrumentspecifika applikationsanmärkningarna för de instrumentspecifika prestandaegenskaperna.

Mätområde

Mätområdet för Gentian Calprotectin Immunoassay är ungefär 0,4 - 20,3 mg/L i både litiumheparin- och serumprov, med en säkerhetszon på upp till 95 mg/L. Det exakta mätområdet är kalibrator- och instrumentspecifikt, se informationsbladet för de lottspecifika kalibratorvärdena (tillgängligt på www.gentian.com).

Analytisk sensitivitet

Den analytiska sensitiviteten hos Gentian Calprotectin Immunoassay testades i en studie baserat på CLSI guideline EP17 [15]. Kvantifieringsgränsen (LoQ) definieras som den lägsta koncentrationen av en analyt som kan påvisas pålitligt och vid vilken det totala felet uppfyller kraven för noggrannhet. LoQ fastställdes till 0,31 mg/L i litiumheparinplasma och 0,30 mg/L i serumprov. För instrumentspecifikt LoQ, se de instrumentspecifika applikationsinställningarna.

Precision

Den totala precisionen för Gentian Calprotectin Immunoassay uppmättes med ett CV på <4,0 % för prov >1 mg/L i en studie baserat på CLSI guideline EP05 [16]. För den instrumentspecifika totala precisionen, se de instrumentspecifika applikationsinställningarna.

Analytisk specificitet och begränsningar

Ingen interferens är detekterad för den här produkten med hemoglobin, intralipid eller bilirubin vid de testade koncentrationerna i en studie baserat på CLSI guideline EP07 [17]. För den instrumentspecifika interferensen se de instrumentspecifika applikationsinställningarna. Ingen interferens detekterades med läkemedlen som testades enligt rekommendationerna från Sonntag and Scholer [9]. Eftersom antikropparna i Gentian Calprotectin Immunoassay är av fågelursprung finns det ingen interferens med reumatoid faktor i proven [10]. Korsreaktivitet med MRP8, MRP14 och S100A12 befanns vara <1 % i en studie omfattande 4 prov med ett protokoll baserat på CLSI guideline EP07.

Metodjämförelse

Resultat erhållna med Gentian Calprotectin Immunoassay på Architect c4000-instrumentet (Abbott) jämfördes med resultat från IDK® Calprotectin ELISA Test™ (Immundiagnostik) på Multiskan 60-spektrofotometerinstrumentet (Thermo Fisher) i en studie med 1 reagenslott baserat på CLSI guideline EP09 [18]. På grund av brist på internationella kalibrator- eller referensprocedurer kunde endast determinationskoefficient R² utvärderas.

Provtyp	n	Provintervall [mg/L]	R ² Ko-efficient
Li-Hep-plasma	78	0,7 - 31,9	0,83
Serum	99	0,6 - 27,8	0,89

Analysprocedur

Applikationsinställningar

Applikationer av Gentian Calprotectin Immunoassay har etablerats på flera instrument inom klinisk kemi. Detaljerade, validerade applikationsinställningar som beskriver procedurer för installation och analys på specifika instrument finns tillgängliga på begäran från marketing@gentian.com. Se instrumenthandboken för anvisningar om hur en ny applikation ska installeras. Underhåll, drift och försiktighetsåtgärder måste hanteras i enlighet med den specifika instrumenthandboken.

Reagenspreparation

Reagenserna är klara för användning. Blanda reagenserna försiktigt innan de placeras i de tilldelade positionerna. Reagensflaskorna kan passa direkt i instrumentet om inte annat anges i applikationsinställningarna.

Fastställande av kalibreringskurvan

Vänligen se bruksanvisningen för Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (REF 1251) tillgänglig på www.gentian.com.

QC-kontroller

Vänligen se bruksanvisningen för Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (REF 1219) tillgänglig på www.gentian.com.

Mäta patientprover

När en giltig kalibreringskurva har etablerats och kontrollvärdena ligger inom det giltiga intervallet kan litiumheparinplasmaprov eller serumprov mätas. Var säker på att minimum provvolymen finns i röret och analysera proverna enligt de angivna instruktionerna och instrumenthandboken.

Resultat

Resultaten beräknas automatiskt av instrumentet för alla applikationer som fastställts för Gentian Calprotectin Immunoassay. Resultaten presenteras i mg/L.

Klinisk prestanda

Klinisk prestanda för Gentian Calprotectin Immunoassay utvärderades i kliniska studier [11-13]. Specifika gränsvärden och kliniska prestandaegenskaper sammanfattas nedan.

Kliniska specifikationer inklusive gränsvärden och prestandaegenskaper är beroende av provtyp och diagnos. Därför rekommenderar vi att varje laboratorium skall bestämma lokala gränsvärden eftersom värden kan variera beroende på provtyp, population som testas och klinisk beslutspunkt.

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

Diskriminering mellan patienter med bakteriell lunginflammation och virala luftvägsinfektioner.

Parameter	Värde	95 % CI
Cut-off [mg/L]	2,37	
ROC	0,775	[0,667; 0,861]
Sensitivitet [%]	60	[44; 75]
Specificitet [%]	79	[63; 90]
LR+	2,9	[1,5; 5,6]
LR-	0,5	[0,3; 0,8]
PPV [%]	84*	
NPV [%]	53*	

Förkortningar: ROC: (Receiver Operation Curve), LR+: positivt sannolikhetsförhållande, LR-: negativt sannolikhetsförhållande

*Beräknad baserad på förekomst av bakteriella infektioner från studieprov: 64 % (71/(71+40))

Diskriminering mellan patienter med mycoplasma lunginflammation och virala luftvägsinfektioner.

Parameter	Värde	95 % CI
Cut-off [mg/L]	2,37	
ROC	0,883	[0,774; 0,952]
Sensitivitet [%]	91	[71; 99]
Specificitet [%]	77	[67; 93]
LR+	3,9	[2,2; 7,1]
LR-	0,12	[0,03; 0,4]
PPV [%]	70*	
NPV [%]	93*	

Förkortningar: ROC: (Receiver Operation Curve), LR+: positivt sannolikhetsförhållande, LR-: negativt sannolikhetsförhållande

*Beräknad baserad på förekomst av mycoplasmainfektioner från studieprov: 38 % (24/(24+40))

Studien inkluderade 279 personer (144 asymptomatiska hälsokontroller, 71 med bakteriella infektioner, 24 med mycoplasmainfektioner och 40 med virala infektioner). Inklusionskriterier för patienter i studien var feber >38 °C och tecken samt symptom på luftvägsinfektion.

Provtyp: Litiumheparinplasma

Instrument: Mindray BS380

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

Förutsägelse om dödlighet för COVID-19-patienter

Parameter	Värde	95 % CI
Cut-off [mg/L]	3,9	
ROC	0,801	[0,691, 0,894]
Ojusterat OR-förhållande	13,30	[1,53, 116]

Förkortningar: ROC: (Receiver operation curve), OR: oddsförhållande

Den här studien inkluderade 66 patienter med bekräftad SARS-CoV-2-infektion inlagda på sjukhus. 8 av 66 COVID-19-patienter dog under sjukhusvistelsen och 9 av 66 COVID-19-patienter behövde mekanisk ventilation.

Provtyp: Serum

Instrument: Roche c502

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

Förutsägelse av behov av mekanisk ventilation

Parameter	Värde	95 % CI
Cut-off* [mg/L]	2,98	
ROC area	0,723	[0,652, 0,790]
Sensitivitet [%]	73,7	[60,3, 84,5]
Specificitet [%]	60,4	[54,9, 65,6]
PPV [%]	23,9	[17,8, 30,9]
NPV [%]	93,2	[89,0, 96,1]

Förkortningar: ROC: (Receiver Operation Curve),

*Optimal cut-off enligt Youden-index

Uteslut behov av mekanisk ventilation

Parameter	Värde	95 % CI
Cut-off* [mg/L]	2,23	
Sensitivitet [%]	86,0	[74,2, 93,7]
NPV [%]	94,7	[89,7, 96,4]

Förkortningar: ROC: (Receiver Operation Curve),

*Optimal cut-off för att utesluta behov av invasiv mekanisk ventilation

Denna multicenterstudie inkluderade 395 på varandra följande patienter med bekräftad SARS-CoV-2-infektion inlagda på sjukhus. Av dessa covid-19-patienter behövde 57 invasiv mekanisk ventilation.

Provtyp: Serum

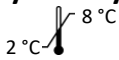
Instrument: Roche Cobas c702

Övre referensgräns

De förväntade kalprotectinvärdena i en normal vuxen population bestämdes i en studie som använde ett protokoll baserat på CLSI-riktlinjen C28 [19] på en Cobas c501 (Roche). Referensintervallet bestämdes från en population av uppenbarligen friska personer. Totalt 416 prover från individer (52 % män, 48 % kvinnor) i åldern 16 till 80 år testades. De använda proven var litiumheparinplasma och serumprov med användning av både gel- och icke-gelrör (51 icke-gelrör med litiumheparinplasma, 163 gelrör med litiumheparinplasma, 51 icke-gelrör med serum, 151 gelrör med serum). Den övre referensgränsen beräknades parametriskt för att representera de övre 97,5 % av populationen. Det rekommenderas att varje laboratorium bestämmer en lokal referensgräns eftersom värdena kan variera beroende på den testade populationen.

Provtyp	Värde
Li-Hep-plasma, icke-gel	< 0,97 mg/L
Li-Hep-plasma, gel	< 1,69 mg/L
Serum, icke-gel	< 1,41 mg/L
Serum, gel	< 1,75 mg/L

Symbolnyckel



Temperaturgräns



Utgångsdatum



Se bruksanvisning



Tillverkare



CE-märkning med anmält organs nummer



UKCA-märkning



Schweizisk auktoriserad representant



In Vitro-diagnostisk medicinsk enhet



Partinummer



Katalognummer



Unik enhetsidentifierare



Innehåll



R1 Analysnummer



R2 Immunopartiklar



Varning



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



Representanter

Ansvarig person i 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

Referenser

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)

Allvarliga incidenter

Meddela din tillverkare och din behöriga myndighet om någon allvarlig incident har inträffat i relation till enheten.

Ändring från den föregående versionen

- Nya kliniska prestandadata från 2022, referens 13.
- Tillagt nummer för anmält organ för CE-märkning.
- Tillagd UKCA-märkning.
- Tillagt kapitel "Representanter".
- CLSI-referenserna 14–19 och ISO-referens 20 lades till.
- I Varningar och försiktighetsåtgärder lades 4-6 till.
- Mindre redaktionella ändringar och korrigeringar i hela dokumentet.

Utgivningsdatum

2023-03-01