

Gentian GCAL[®] Calprotectin Reagent Kit

REF 1201 en REF 1202

Voor *in-vitro* diagnostisch gebruik door laboratoriummedewerkers.

In dit document wordt het algemene gebruik van bovenstaand product beschreven. Voor instrument specifieke instellingen kunt u de toepassingsnotities raadplegen. Deze zijn op aanvraag verkrijgbaar via marketing@gentian.com.

Beoogd doeleind

De Gentian Calprotectin Immunoassay is een immunoturbidimetrische bepaling bedoeld voor de kwantitatieve bepaling *in vitro* van calprotectine, een neutrofiel eiwit dat een marker van ontsteking is, in plasma- en serummonsters van humaan lithumheparine. De Gentian Calprotectin Immunoassay is bedoeld voor gebruik op geautomatiseerde klinische analyseapparaten door professionele laboratoriummedewerkers. Gentian Calprotectin wordt gebruikt in combinatie met andere laboratoriumbevindingen en klinische beoordelingen en is bedoeld om te worden gebruikt als hulpmiddel bij de detectie en beoordeling van ontstekingen en ontstekingsreacties bij infecties.

Samenvatting en uitleg van de test

Calprotectine is een heterodimeer eiwit S100A8/A9 met een moleculaire massa van 24 kDa, bestaande uit de twee Ca²⁺-bindende eiwitten S100A8 en S100A9 (ook wel myeloïde gerelateerde eiwitten 8 en 14 genoemd (MRP8 en MRP14)). Calprotectine wordt voornamelijk aangetroffen in de neutrofielen, waar het ongeveer 50% van het eiwitgehalte van het cytosol uitmaakt [1]. Neutrofiële granulocyten zijn een van de eersten die reageren op ontstekingen en bacteriële infecties [3]. Calprotectine wordt vrijgegeven door geactiveerde neutrofielen, waarna de belangrijkste biologische effecten het vastleggen van ionen zijn [3] en het binden aan Toll-like receptor 4 (TLR4) en receptoren voor glycosyleringseindproducten (RAGE), waardoor een ontstekingsreactie wordt veroorzaakt [1, 2, 4]. Calprotectine neemt binnen enkele uren tot wel 100-voudig toe in het bloed (als reactie op bacteriën of endotoxine [5]) en wordt beschouwd als een belangrijke ontstekingsmarker [1, 2, 5-7].

Calprotectine geeft de activering van fagocyten gevoeliger aan dan conventionele ontstekingsparameters [4]. Er bestaat dus een sterke correlatie met de ontsteking van verschillende acute en chronische aandoeningen, waardoor dit eiwit een gevoelige parameter is voor de beoordeling van de ziekteactiviteit en de reactie op de behandeling bij individuele patiënten [4].

Kalibratorstandaardisatie

Er is geen internationale standaard beschikbaar voor calprotectine. Daarom wordt traceerbaarheid vastgesteld volgens paragraaf 5.6 in ISO 17511 [20], waarbij het hoogste metrologische instapniveau de door de fabrikant geselecteerde meetprocedure is. De kalibrator is traceerbaar naar een zeer zuivere recombinante calprotectineoplossing, waarvan de waarde is toegekend door bepaling van het totale eiwitgehalte middels UV₂₈₀ en waarvan de extinctiecoëfficiënt bekend is. Een werkende kalibrator van het zuivere recombinante materiaal in de kalibratormatrix wordt gebruikt met de standaardmeetprocedures van de fabrikant om waarde toe te kennen aan de productkalibratoren via een gepubliceerd protocol voor waardeoverdracht [8].

Bepaling van het testprincipe

De Gentian Calprotectin Immunoassay is een deeltjesversterkte turbidimetrische immunoassay (PETIA). Het lithumheparineplasma- of serummonster wordt gemengd met calprotectine-immunodeeltjes. Calprotectine uit het monster en de anti-calprotectine-antilichamen uit de immunodeeltjesoplossing binden zich tot aggregaten die de

troebelheid van de oplossing vergroten. De mate van troebelheid is evenredig met de concentratie calprotectine, die kan worden gekwantificeerd via een vastgestelde standaardkalibratiecurve.

Componenten van de testkit

Geleverde producten	
Gentian GCAL [®] Calprotectin Reagent Kit <ul style="list-style-type: none"> R1 Assay Buffer (54 mL) R2 Immunoparticles (9 mL) 	REF 1201
Gentian GCAL [®] Calprotectin Reagent Kit S <ul style="list-style-type: none"> R1 Assay Buffer (30 mL) R2 Immunoparticles (5 mL) 	REF 1202
Andere beschikbare producten (niet inbegrepen)	
Gentian GCAL [®] Calprotectin Calibrator Kit (6 levels x 1 mL)	REF 1251
Gentian GCAL [®] Calprotectin Control Kit (2 levels x 1 mL)	REF 1219

Alle producten zijn klaar voor gebruik.

Samenstelling

Reactiebuffer 1 (R1, 54 ml inactief ingrediënt): Gentian Calprotectin Assay Buffer. R1 is een MOPS [3-(N-morfolino)-propane sulfonzuur] gebufferde zoutoplossing, die aviaire eiwitten bevat en geconserveerd is met ProClin[®] 950.

Reactiebuffer 2 (R2, 9 ml actief ingrediënt): Gentian Calprotectin Immunoparticles. R2 bevat een gezuiverde immunoglobulinefractie gericht tegen humaan calprotectine, dat covalent gebonden is aan nanodeeltjes van polystyreen. De oplossing wordt geconserveerd met ProClin[®] 950.

Identificatie van gevaren



Gevarenpictogrammen (CLP):

GHS07

Signaalwoord (CLP): Waarschuwing
Bevat: 2-methylisothiazol-3(2H)-one

Gevarenaanduidingen (CLP):

H317 - Kan een allergische huidreactie veroorzaken.

Voorzorgsmaatregelen (CLP):

P280 - Draag oogbescherming, beschermende handschoenen, beschermende kleding. P302+P352 - BIJ CONTACT MET DE HUID: Wassen met veel water en zeep. P305+P351+P338 - BIJ CONTACT MET DE OGEN: Voorzichtig afspoelen met water gedurende enkele minuten. Verwijder contactlenzen, indien aanwezig en indien dit eenvoudig is. Blijf spoelen. P337+P313 - Bij aanhoudende oogirritatie: Zoek medisch advies/hulp. P333+P313 - Bij huidirritatie of huiduitslag: Zoek medisch advies/hulp. P362+P364 - Verontreinigde kleding uittrekken en wassen alvorens deze opnieuw te gebruiken.

Om het SDS (veiligheidsinformatieblad) te verkrijgen, kunt u contact opnemen met Gentian via marketing@gentian.com.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

1. Bevat stoffen van menselijke of dierlijke oorsprong en moet worden beschouwd als potentieel infectieus materiaal. Wees voorzichtig en gooi weg volgens lokale voorschriften.

2. Reagentia die MOPS/Tween (R1) en EDTA (R2) bevatten, kunnen irriterend zijn voor de ogen, de luchtwegen en de huid. Voorzichtig behandelen en niet inslikken.
3. R1 bevat aviaire eiwitten. Voorzichtig behandelen om allergische huidreacties te voorkomen.
4. Blootstelling kan leiden tot irritatie van huid en ogen.
5. Vermijd contact met incompatibele materialen.
6. Vermijd blootstelling aan hitte en direct zonlicht.

Aanvullende hanteringsinstructies

1. Deze test is alleen voor *in-vitro* gebruik en moet worden gehanteerd door laboratoriummedewerkers.
2. Gebruik alleen gevalideerde en goedgekeurde instrumenttoepassingen.
3. Gebruik geen producten na het verstrijken van de houdbaarheidsdatum.
4. Meng geen reagentia van verschillende partijen of verwisselbare doppen van reagentia, controles, kalibratoren en partijen.
5. Draai de doppen voorzichtig terug op na gebruik van reagentia, kalibratoren en controles om verdamping te voorkomen.

Reagensopslag en stabiliteit

Alle producten die voor de Gentian Calprotectin Immunoassay worden gebruikt, moeten bij 2-8 °C worden bewaard. De houdbaarheidsdatum staat op de etiketten. Met behulp van een Architect c4000-apparaat (Abbott) werd vastgesteld dat de stabiliteit van de Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit tijdens gebruik ten minste vier weken bedroeg, uitgevoerd als een on-board-onderzoek op basis van de CLSI-richtlijn EP25 [14].

Verzamelen en verwerken van monsters

Het benodigde monstermateriaal is plasma of serum met lithiumheparine. Gentian beveelt lithiumheparineplasma- en niet-gelbuisjes aan. Het is aan te raden om de monsters zo vers mogelijk te analyseren. Serummonsters moeten 30 minuten wachten voordat ze worden verwerkt. Centrifugeer het monster binnen 2 uur na de bloedafname en breng de plasma- of serumfractie onmiddellijk over naar een ander buisje. Gebruik gel- en niet-gelbuisjes niet door elkaar. Uit stabiliteitstesten van het monster bleek dat calprotectine gedurende ten minste 48 uur stabiel was na centrifugatie bij 2-8 °C. Meng de monsters goed voordat u ze analyseert.

Prestatiekenmerken

Tenzij anders vermeld, hebben de resultaten betrekking op de hoofdvalidatie van de Gentian Calprotectin Immunoassay op een Architect c4000-apparaat (Abbott) op één instrumentenlocatie met 3 partijen reagentia, controles en kalibratoren. Voor de instrumentspecifieke prestatiekenmerken verwijzen wij u naar de instrumentspecifieke toepassingsnotities.

Meetbereik

Het meetbereik van de Gentian Calprotectin Immunoassay bedraagt circa 0,4 - 20,3 mg/L in zowel lithiumheparine- als serummonsters, met een veiligheidszone tot 95 mg/L. Het exacte meetbereik is afhankelijk van de kalibrator en het instrument. Raadpleeg de analytische waardefiche voor de partijspecifieke kalibratorwaarden (beschikbaar op www.gentian.com) en de instrumentspecifieke toepassingsnotities.

Analytische gevoeligheid

De analyse van de analytische gevoeligheid van de Gentian Calprotectin Immunoassay werd getest in een onderzoek gebaseerd op de CLSI-richtlijn EP17 [15]. De kwantificatielimiet (LoQ) wordt gedefinieerd als de laagste concentratie van een analyt die betrouwbaar kan worden gedetecteerd en waarbij de totale fout voldoet aan de nauwkeurigheidsvereisten. De LoQ werd gemeten op 0,31 mg/L in lithiumheparineplasma en 0,30 mg/L in serummonsters. Voor de instrumentspecifieke LoQ raadpleegt u de instrumentspecifieke toepassingsnotities.

Precisie

De totale precisie van de Gentian Calprotectin Immunoassay werd gemeten met een CV van <4,0% voor monsters >1 mg/L in een onderzoek gebaseerd op de CLSI-richtlijn EP05 [16]. Voor de instrumentspecifieke totale precisie verwijzen wij u naar de instrumentspecifieke toepassingsnotities.

Analytische specificiteit en beperkingen

Er is geen interferentie vastgesteld voor dit product met hemoglobine, intralipide of bilirubine in de geteste concentraties in een onderzoek gebaseerd op de CLSI-richtlijn EP07 [17]. Voor instrumentspecifieke interferentie raadpleegt u de instrumentspecifieke toepassingsnotities. Er is geen interferentie vastgesteld met de medicijnen die getest zijn op basis van de aanbevelingen van Sonntag and Scholer [9]. Omdat de antilichamen in de Gentian Calprotectin Immunoassay van aviaire oorsprong zijn, is er geen sprake van interferentie door de reumafactor in de monsters [10]. In een onderzoek op basis van de CLSI-richtlijn EP07 werd vastgesteld dat de kruisreactiviteit met MRP8, MRP14 en S100A12 <1% bedroeg.

Methodevergelijking

Resultaten verkregen met de Gentian Calprotectin Immunoassay op het Architect c4000-apparaat (Abbott) werden vergeleken met resultaten van de IDK® Calprotectin ELISA Test™ (Immundiagnostik) op de Multiskan 60-spectrofotometer (Thermo Fisher) in een onderzoek met 1 partij reagentia op basis van de CLSI-richtlijn EP09 [18]. Vanwege het ontbreken van internationale kalibratoren of referentieprocedures werd alleen de determinatiecoëfficiënt R² geëvalueerd.

Monstertype	n	Bereik van monsters [mg/L]	R ² Coëfficiënt
Li-Hep-plasma	78	0,7 - 31,9	0,83
Serum	99	0,6 - 27,8	0,89

Testprocedure

Toepassingsnotities

Toepassingen van de Gentian Calprotectin Immunoassay zijn vastgesteld op verschillende klinische chemische analysatoren. Gedetailleerde, gevalideerde toepassingsnotities waarin de procedures voor installatie en analyse op specifieke instrumenten worden beschreven, zijn op aanvraag verkrijgbaar via marketing@gentian.com. Raadpleeg de handleiding van het instrument voor instructies over het installeren van een nieuwe applicatie. Onderhoud, bediening en voorzorgsmaatregelen moeten worden uitgevoerd in overeenstemming met de handleiding van het specifieke instrument.

Bereiding van reagens

De reagentia zijn klaar voor gebruik. Meng de reagentia voorzichtig voordat u ze op de daarvoor bestemde reagensposities plaatst. De reagensflessen kunnen rechtstreeks in het instrument worden geplaatst, tenzij anders vermeld in de toepassingsnotities.

Het vaststellen van de kalibratiecurve

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van de Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (REF 1251) die verkrijgbaar is via www.gentian.com.

QC-controles

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van de Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (REF 1219) die verkrijgbaar is via www.gentian.com.

Patiëntmonsters meten

Wanneer een geldige kalibratiecurve is vastgesteld en de controlewaarden binnen het geldige bereik vallen, kan het lithiumheparineplasma- of serummonster worden gemeten. Zorg ervoor dat het minimale monstervolume in de monsterbekers/-buisjes aanwezig is en test de monsters volgens de instructies in de handleiding van het instrument.

Resultaten

De resultaten worden automatisch door het instrument berekend voor alle toepassingen die zijn vastgesteld voor de Gentian Calprotectin Immunoassay. De resultaten worden weergegeven in mg/L.

Klinische prestaties

De klinische prestaties van de Gentian Calprotectin Immunoassay werden geëvalueerd in klinische studies [11-13]. Specifieke grenswaarden en klinische prestatiekenmerken worden hieronder samengevat. Klinische specificaties, waaronder grenswaarden en prestatiekenmerken, zijn afhankelijk van het type monster en het ziektegebied. Daarom wordt aanbevolen dat elk laboratorium lokale grenswaarden vaststelt, aangezien de waarden kunnen variëren afhankelijk van het type monster, de geteste populatie en het klinische beslissingsmoment.

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

Discriminatie tussen patiënten met bacteriële longontsteking en virale luchtweginfecties

Parameter	Waarde	95% BI
Cut-off [mg/L]	2,37	
ROC-gebied	0,775	[0,667, 0,861]
Gevoeligheid [%]	60	[44, 75]
Specificiteit [%]	79	[63, 90]
LR+	2,9	[1,5, 5,6]
LR-	0,5	[0,3, 0,8]
PPV [%]	84*	
NPV [%]	53*	

Afkortingen: ROC: receiver operation curve, LR+: positieve likelihood ratio, LR-: negatieve likelihood ratio

*Berekend op basis van de prevalentie van bacteriële infecties in het onderzoeksmonster: 64% (71/((71+40)))

Discriminatie tussen patiënten met mycoplasma-pneumonie en virale luchtweginfecties

Parameter	Waarde	95% BI
Cut-off [mg/L]	2,37	
ROC-gebied	0,883	[0,774, 0,952]
Gevoeligheid [%]	91	[71, 99]
Specificiteit [%]	77	[67, 93]
LR+	3,9	[2,2, 7,1]
LR-	0,12	[0,03, 0,4]
PPV [%]	70*	
NPV [%]	93*	

Afkortingen: ROC: receiver operation curve, LR+: positieve likelihood ratio, LR-: negatieve likelihood ratio

*Berekend op basis van de prevalentie van mycoplasma-infecties in het onderzoeksmonster: 38% (24/((24+40)))

Aan het onderzoek namen 279 proefpersonen deel (144 asymptomatische gezonde controlepersonen, 71 met bacteriële infecties, 24 met mycoplasma-infecties en 40 met virale infecties). De inclusiecriteria voor patiënten in het onderzoek waren koorts van >38 °C en tekenen en symptomen van een luchtweginfectie.

Voorbeeldtype: Lithiumheparine in plasma
Instrument: Mindray BS380

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

Voorspelling van mortaliteit bij COVID-19-patiënten

Parameter	Waarde	95% BI
Cut-off [mg/L]	3,9	
ROC-gebied	0,801	[0,691, 0,894]
Ongecorrigeerde OR-ratio	13,30	[1,53, 116]

Afkortingen: ROC: receiver operation curve, OR: odds ratio

Aan deze studie namen 66 opeenvolgende patiënten deel die in het ziekenhuis waren opgenomen met een bevestigde SARS-CoV-2-infectie. 8 van de 66 COVID-19-patiënten overleden tijdens het ziekenhuisverblijf en 9 van de 66 COVID-19-patiënten hadden kunstmatige beademing nodig.

Voorbeeldtype: Serum

Instrument: Roche Cobas c502

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

Voorspelling van de behoefte aan kunstmatige ventilatie

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

Afkortingen: ROC: receiver operation curve

*Optimale grenswaarde volgens de Youden-index

De behoefte aan kunstmatige ventilatie uitsluiten

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

Afkortingen: ROC: receiver operation curve

* Optimale cut-off om de behoefte aan invasieve kunstmatige ventilatie uit te sluiten

Aan dit multicenteronderzoek namen 395 opeenvolgende patiënten deel die in de ziekenhuizen waren opgenomen met een bevestigde SARS-CoV-2-infectie. Van deze COVID-19-patiënten hadden 57 invasieve kunstmatige ventilatie nodig.

Voorbeeldtype: Serum

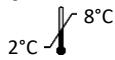
Instrument: Roche Cobas c702

Bovenste referentiegrens

De verwachte waarden voor calprotectine bij een normale volwassen populatie werden bepaald in een onderzoek met behulp van een protocol gebaseerd op de CLSI-richtlijn C28 [19] op een Cobas c501 (Roche). Het referentie-interval werd bepaald op basis van een populatie ogenschijnlijk gezonde proefpersonen. In totaal werden 416 monsters van individuen (52% mannen, 48% vrouwen) gemeten, variërend in leeftijd van 16 tot 80 jaar. De gebruikte monsters waren plasma- en serummonsters van lithiumheparine, waarbij zowel gel- als niet-gelbuisjes werden gebruikt (51 lithiumheparine niet-gel, 163 lithiumheparine gel, 51 serum niet-gel, 151 serum gel). De bovenste referentiegrens werd parametrisch berekend en vertegenwoordigt de bovenste 97,5% van de bevolking. Het wordt aanbevolen dat elk laboratorium een lokale referentiegrens vaststelt, aangezien de waarden kunnen variëren afhankelijk van de geteste populatie.

Monstertype	Waarde
Li-Hep-plasma niet-gel	<0,97 mg/L
Li-Hep-plasma gel	<1,69 mg/L
Serum niet-gel	<1,41 mg/L
Serum gel	<1,75 mg/L

Symbolen sleutel



Temperatuurlimiet



Houdbaarheidsdatum



Raadpleeg de gebruiksaanwijzing



Fabrikant



CE-markering met nummer aangemelde instantie



UKCA-keurmerk



Zwitserse gemachtigde vertegenwoordiger



Medisch hulpmiddel voor *in-vitro* diagnostiek



Lotnummer



Catalogusnummer



Unieke apparaat-ID



Inhoud



R1-testbuffer



R2-immunodeeltjes



Waarschuwing



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



Vertegenwoordigers

Verantwoordelijke persoon in het Verenigd Koninkrijk
Emergo Consulting (UK) Limited
c/o Cr360 – UL International
Compass House, Vision Park Histon
Cambridge CB24 9BZ
Verenigd Koninkrijk



MedEnvoy Switzerland
Gotthardstraße 28
6302 Zug
Zwitserland

Referenties

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).

Ernstige incidenten

Indien er zich ernstige incidenten met het apparaat hebben voorgedaan, dient u dit te melden aan de fabrikant en de bevoegde autoriteit.

Wijzigingen ten opzichte van de vorige versie

- Nieuwe klinische prestatiegegevens uit 2022, referentie 13.
- Nummer van de aangemelde instantie toegevoegd aan de CE-markering.
- UKCA-markering toegevoegd.
- Hoofdstuk "Vertegenwoordigers" toegevoegd.
- CLSI-referenties 14-19 en ISO-referentie 20 toegevoegd.
- 4-6 toegevoegd in waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen.
- Kleine redactionele wijzigingen en correcties in het document.

Datum van uitgifte

2023-03-01