

Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit

REF 1201 et REF 1202

Pour une utilisation diagnostique *in vitro* par des professionnels de laboratoire.

Ce document décrit l'utilisation générale du produit susmentionné. Pour les paramètres spécifiques à l'instrument, veuillez consulter les notes d'application disponibles sur demande à l'adresse marketing@gentian.com.

Usage prévu

Le Gentian Calprotectin Immunoassay est un test immunoturbidimétrique destiné à la détermination quantitative *in vitro* de la calprotectine, une protéine neutrophilique qui est un marqueur d'inflammation, dans les échantillons de plasma à héparine de lithium et de sérum humains. Le Gentian Calprotectin Immunoassay est destiné à être utilisé sur des analyseurs cliniques automatisés par des utilisateurs professionnels de laboratoire. Utilisé conjointement avec d'autres résultats de laboratoire et évaluations cliniques, Gentian Calprotectin est destiné à être utilisé comme aide pour détecter et évaluer l'inflammation et la réaction inflammatoire aux infections.

Résumé et explication du test

La calprotectine est une protéine hétérodimère S100A8/A9 d'une masse moléculaire de 24 kDa, constituée de deux protéines de liaison au Ca²⁺ S100A8 et S100A9 (également appelées protéines apparentées à la myéloïde 8 et 14 (MRP8 et MRP14)). La calprotectine se trouve principalement dans les neutrophiles où elle représente environ 50 % de la teneur en protéines cytosoliques [1]. Les granulocytes neutrophiles sont l'une des premières réponses à l'inflammation et à l'infection bactérienne [3]. La calprotectine est libérée par les neutrophiles activés, après quoi ses principaux effets biologiques sont la séquestration des ions [3] et la liaison au récepteur de type Toll 4 (TLR4) et au récepteur des produits finaux de glycation avancée (RAGE) déclenchant une réponse inflammatoire [1, 2, 4]. La calprotectine augmente dans le sang en quelques heures jusqu'à 100 fois (en réponse à des bactéries ou à une endotoxine [5]) et elle est considérée comme un marqueur d'inflammation important [1, 2, 5-7].

La calprotectine indique l'activation de phagocytes de manière plus sensible que les paramètres conventionnels de l'inflammation [4]. Par conséquent, il existe une forte corrélation avec l'inflammation de divers troubles aigus et chroniques, faisant de cette protéine un paramètre sensible pour la surveillance de l'activité de la maladie et de la réponse au traitement chez des patients [4].

Standardisation des calibrateurs

Aucune norme internationale n'est disponible pour la calprotectine. Par conséquent, la traçabilité est établie conformément à la section 5.6 de l'ISO 17511 [20], où le niveau d'entrée métrologique le plus élevé est la procédure de mesure choisie par le fabricant. L'étalon est traçable à une solution de calprotectine recombinante hautement pure, valeur attribuée par la détermination des protéines totales par UV₂₈₀ et coefficient d'extinction connu. Un étalon fonctionnel du matériel recombinant pur dans la matrice d'étalon est utilisé avec les procédures de mesure permanentes du fabricant pour attribuer une valeur aux étalons de produit via un protocole de transfert de valeur publié [8].

Principe du test

Le Gentian Calprotectin Immunoassay est un dosage immunologique turbidimétrique renforcé par particules (PETIA). L'échantillon de sérum ou de plasma à héparine de lithium est mélangé aux immunoparticules du test destinées à capturer la calprotectine. La calprotectine de l'échantillon et les anticorps anti-calprotectine de la solution d'immunoparticules se lient pour former des agrégats qui augmentent la turbidité de la solution. Le degré de turbidité est proportionnel à la

concentration de calprotectine, qui peut être quantifiée grâce à une courbe d'étalonnage standard établie.

Composants du kit de dosage

Produits fournis	
Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit	REF 1201
<ul style="list-style-type: none"> R1 Assay Buffer (54 mL) R2 Immunoparticules (9 mL) 	
Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit S	REF 1202
<ul style="list-style-type: none"> R1 Assay Buffer (30 mL) R2 Immunoparticules (5 mL) 	
Autres produits disponibles (non fournis)	
Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (6 niveaux x 1 mL)	REF 1251
Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (2 niveaux x 1 mL)	REF 1219

Tous les produits sont prêts à l'emploi.

Composition

Tampon de réaction 1 (ingrédient inactif R1, 54 mL) : Gentian Calprotectin Tampon d'essai. R1 est une solution saline tamponnée MOPS [acide 3- (N-Morpholino) -propane sulfonique], contenant des protéines aviaires et conservée grâce au ProClin® 950.

Tampon de réaction 2 (ingrédient actif R2, 9 mL) : Gentian Calprotectin Immunoparticules. R2 contient une fraction d'immunoglobuline purifiée dirigée contre la calprotectine humaine, qui est liée de manière covalente aux nanoparticules de polystyrène. La solution est conservée grâce au ProClin® 950.

Identification des dangers



Pictogrammes de danger (CLP) :

GHS07

Mention d'avertissement (CLP): Attention
Contient: 2-méthylisothiazol-3(2H)-one

Mentions de danger (CLP)

H317 - Peut provoquer une allergie cutanée.

Conseils de prudence (CLP)

P280 - Porter un équipement de protection des yeux, des gants de protection, des vêtements de protection.

P302+P352 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: laver abondamment à l'eau et au savon.

P305+P351+P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P337+P313 - Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.
P333+P313 - En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.

P362+P364 - Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.

Pour obtenir la SDS (fiche de données de sécurité), veuillez contacter Gentian à l'adresse marketing@gentian.com.

Avertissements et précautions

1. Contient des substances d'origine humaine ou animale et doit être considéré comme un matériau potentiellement infectieux. Manipuler avec précaution et mettre au rebut conformément aux réglementations locales.
2. Les réactifs contenant un tampon MOPS/Tween (R1) et de l'EDTA (R2) peuvent être irritants pour les yeux, les voies aériennes et la peau. Manipuler avec les précautions nécessaires et ne pas ingérer.
3. Le réactif R1 contient des protéines aviaires. Manipuler avec les précautions nécessaires pour éviter les réactions cutanées allergiques.
4. L'exposition à ce produit peut entraîner une irritation de la peau et des yeux.
5. Évitez tout contact avec des matériaux incompatibles.
6. Évitez l'exposition à la chaleur et à la lumière directe du soleil.

Instructions de manipulation supplémentaires

1. Ce test est réservé à une utilisation *in vitro* et doit être utilisé par les professionnels de laboratoire.
2. Utilisez uniquement des applications d'instruments validées et approuvées.
3. N'utilisez pas de produits dont la date d'expiration est dépassée.
4. Ne mélangez pas les réactifs de lots différents et n'échangez pas les bouchons de réactifs, contrôles, étalons et lots.
5. Resserrez soigneusement les bouchons après l'utilisation des réactifs, des étalons et des contrôles pour éviter l'évaporation.

Stockage et stabilité des réactifs

Tous les produits fournis pour le Gentian Calprotectin Immunoassay doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C. La date de péremption est imprimée sur les étiquettes. À l'aide d'un instrument de type Architect c4000 (Abbott), la stabilité en cours d'utilisation des réactifs de Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit s'est avérée être d'au moins 4 semaines. Cette étude a été réalisée dans le cadre d'une étude embarquée selon la directive CLSI EP25 [14].

Prélèvement et manipulation des échantillons

Le type d'échantillon requis est le sérum ou le plasma à héparine de lithium. Gentian recommande le plasma à héparine de lithium et les tubes sans gel. Il est recommandé d'analyser les échantillons aussi frais que possible. Le traitement des échantillons de sérum doit se faire après 30 minutes. Centrifuger l'échantillon dans les 2 heures suivant le prélèvement sanguin et transférer la fraction de plasma ou de sérum immédiatement dans un autre tube. Ne pas utiliser les tubes avec gel et sans gel de manière interchangeable. Les tests de stabilité des échantillons ont démontré que la calprotectine était stable pendant au moins 48 heures après centrifugation à une température comprise entre 2 et 8 °C. Bien mélanger les échantillons avant de les analyser.

Caractéristiques de performance

Les résultats font référence à la validation principale du Gentian Calprotectin Immunoassay sur un Architect c4000 instrument de type Architect c4000 (Abbott) du parc d'instruments avec 3 lots différents de réactifs, de contrôles et de calibrateurs, sauf indication contraire. Pour les caractéristiques de performance spécifiques à l'instrument, veuillez-vous référer aux notes d'application spécifiques à l'instrument.

Plage de mesure

La plage de mesure du Gentian Calprotectin Immunoassay est d'environ 0,4 à 20,3 mg/L, dans les échantillons à héparine de lithium et de sérum, avec une zone de sécurité allant jusqu'à 95 mg/L. La plage de mesure exacte est spécifique au calibrateur et à l'instrument, veuillez consulter la fiche de valeur analytique pour les valeurs du calibrateur spécifiques au lot et les notes d'application spécifiques à l'instrument (disponibles sur www.gentian.com).

Sensibilité analytique

L'analyse de la sensibilité analytique du Gentian Calprotectin Immunoassay a été testée dans une étude basée sur la directive EP17 du CLSI [15]. La limite de quantification (LoQ) est définie comme la concentration la plus faible d'un analyte pouvant être détectée de manière fiable et à laquelle l'erreur totale satisfait aux exigences de précision. La LoQ a été mesurée à 0,31 mg/L dans le plasma à héparine de lithium et à 0,30 mg/L dans les échantillons de sérum. Pour la LoQ spécifique à l'instrument, veuillez-vous référer aux notes d'application spécifiques à l'instrument.

Précision

La précision d'ensemble du Gentian Calprotectin Immunoassay a été mesurée avec un CV de <4,0 % pour des échantillons >1 mg/L dans une étude basée sur la directive EP05-A du CLSI [16]. Pour la précision d'ensemble spécifique à l'instrument, veuillez-vous référer aux notes d'application spécifiques à l'instrument.

Spécificité et limites de l'analyse

Aucune interférence n'a été détectée pour ce produit avec l'hémoglobine, l'Intralipide ou la bilirubine aux concentrations testées dans une étude basée sur la directive EP07 du CLSI [17]. Pour l'interférence spécifique à l'instrument, veuillez vous référer aux notes d'application spécifiques à l'instrument. Aucune interférence n'a été détectée avec les médicaments testés selon les recommandations de Sonntag and Scholer [9]. Étant donné que les anticorps du Gentian Calprotectin Immunoassay sont d'origine aviaire, il n'y a pas d'interférence due au facteur rhumatoïde dans les échantillons [10]. La réactivité croisée avec MRP8, MRP14 et S100A12 s'est avérée < 1 % dans une étude comprenant 4 échantillons utilisant un protocole basé sur la directive EP07 du CLSI.

Comparaison de méthodes

Les résultats obtenus avec sur un instrument de type Architect c4000 (Abbott) ont été comparés à ceux du test ELISA IDK® Calprotectin ELISA Test™ (Immundiagnostik) sur Multiskan 60 un spectrophotomètre Multiskan 60 (Thermo Fisher) dans une étude comprenant un lot de réactifs basé sur la directive EP09 du CLSI [18]. En raison du manque de calibrateurs internationaux ou de procédures de référence, seul le coefficient de détermination R² a été évalué.

Type d'échantillon	n	Plage des échantillons (mg/L)	R ² Co-efficent
Plasma Li-Hep	78	0,7 - 31,9	0,83
Sérum	99	0,6 - 27,8	0,89

Procédure de dosage

Notes d'application

Des applications pour le Gentian Calprotectin Immunoassay ont été effectuées sur plusieurs analyseurs de chimie clinique. Des notes d'application détaillées et validées décrivant les procédures d'installation et d'analyse sur des instruments spécifiques sont disponibles sur demande à l'adresse marketing@gentian.com. Consultez le manuel de l'instrument pour savoir comment installer une nouvelle application. L'entretien, le fonctionnement et les précautions doivent être effectués conformément au manuel spécifique de l'instrument.

Préparation des réactifs

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi. Mélangez délicatement les réactifs avant de les placer dans les positions assignées aux réactifs. Les flacons de réactifs peuvent s'insérer directement dans l'instrument, sauf indication contraire dans les notes d'application.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Veillez consulter le mode d'emploi du Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (REF 1251) disponible sur www.gentian.com.

Contrôles de la qualité

Veillez-vous référer au mode d'emploi du Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (REF 1219) disponible sur www.gentian.com.

Mesure des échantillons des patients

Lorsqu'une courbe d'étalonnage valide a été établie et que les valeurs des contrôles sont dans la plage valide, des échantillons de plasma à héparine de lithium ou des échantillons de sérum peuvent être mesurés. Assurez-vous que le volume minimum d'échantillon soit présent dans les coupes/tubes d'échantillon et analysez les échantillons conformément aux instructions données dans le manuel de l'instrument.

Résultats

Les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument pour toutes les applications établies pour le Gentian Calprotectin Immunoassay. Les résultats sont présentés en mg/L.

Performance clinique

La performance clinique du Gentian Calprotectin Immunoassay a été évaluée dans des études cliniques [11-13]. Les seuils spécifiques et les caractéristiques de performance clinique sont résumés ci-dessous. Les spécifications cliniques, y compris les caractéristiques de seuil et de performance, dépendent du type d'échantillon et de maladie. Il est ainsi recommandé que chaque laboratoire détermine les valeurs seuils locales, car elles peuvent varier en fonction du type d'échantillon, de la population analysée et du point de décision clinique.

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

Discrimination entre les patients atteints de pneumonie bactérienne et d'infections virales des voies respiratoires

Paramètre	Valeur	IC de 95 %
Seuil [mg/L]	2,37	
Zone ROC	0,775	[0,667; 0,861]
Sensibilité [%]	60	[44; 75]
Spécificité [%]	79	[63; 90]
LR+	2,9	[1,5; 5,6]
LR-	0,5	[0,3; 0,8]
PPV [%]	84*	
NPV [%]	53*	

Abréviations : ROC : courbe de fonctionnement du récepteur, LR+ : rapport de vraisemblance positif, LR- : rapport de vraisemblance négatif

*Calculée sur la base de la prévalence des infections bactériennes à partir de l'échantillon d'étude : 64 % (71/(71+40))

Discrimination entre les patients souffrant de pneumonie à mycoplasmes et d'infections virales des voies respiratoires

Paramètre	Valeur	IC de 95 %
Seuil [mg/L]	2,37	
Zone ROC	0,883	[0,774 ; 0,952]
Sensibilité [%]	91	[71 ; 99]
Spécificité [%]	77	[67 ; 93]
LR+	3,9	[2,2 ; 7,1]
LR-	0,12	[0,03 ; 0,4]
PPV [%]	70*	
NPV [%]	93*	

Abréviations : ROC : courbe de fonctionnement du récepteur, LR+ : rapport de vraisemblance positif, LR- : rapport de vraisemblance négatif

*Calculée sur la base de la prévalence des infections à mycoplasmes pulmonaires à partir de l'échantillon d'étude : 38 % (24/(24+40))

L'étude portait sur 279 sujets (144 témoins sains asymptomatiques, 71 ayant des infections bactériennes, 24 souffrant d'infection à mycoplasmes pulmonaires et 40 ayant des infections virales). Les critères d'inclusion des patients de l'étude étaient une fièvre >38 °C, des signes et des symptômes d'infection respiratoire.

Type d'échantillon : Plasma à héparine de lithium

Instrument : Mindray BS380

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

Prévision de mortalité chez les patients atteints de la COVID-19

Paramètre	Valeur	IC de 95 %
Seuil [mg/L]	3,9	
Zone ROC	0,801	[0,691; 0,894]
Ratio OR non ajusté	13,30	[1,53 ; 116]

Abréviations : ROC : courbe de fonctionnement du récepteur, OR : odds ratio

Cette étude portait sur 66 patients consécutifs admis à l'hôpital, souffrant d'une infection confirmée au SARS-CoV-2. 8 des 66 patients atteints de la COVID-19 sont décédés lors de leur séjour à l'hôpital et 9 des 66 patients de la COVID-19 avaient besoin d'une ventilation mécanique.

Type d'échantillon : Sérum

Instrument : Roche c502

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

Prédiction du besoin de ventilation mécanique

Paramètre	Valeur	IC de 95 %
Seuil* [mg/L]	2,98	
Zone ROC	0,723	[0,652; 0,790]
Sensibilité [%]	73,7	[60,3 84,5]
Spécificité [%]	60,4	[54,9; 65,6]
PPV [%]	23,9	[17,8; 30,9]
NPV [%]	93,2	[89,0; 96,1]

Abréviations : ROC : courbe de fonctionnement du récepteur

*Cut-off optimal conformément à l'indice Youden

Exclusion du besoin de ventilation mécanique invasive

Paramètre	Valeur	IC de 95 %
Seuil* [mg/L]	2,23	
Sensibilité [%]	86,0	[74,2; 93,7]
NPV [%]	94,7	[89,7; 96,4]

Abréviations : ROC : courbe de fonctionnement du récepteur

* Cut-off optimal pour exclure le besoin de ventilation mécanique invasive

Cette étude multicentrique a inclus 395 patients admis à l'hôpital pour cas confirmé d'infection au SARS-CoV-2. De ces patients atteints de la Covid-19, 57 cas ont requis une ventilation mécanique invasive.

Type d'échantillon : Sérum

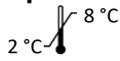
Instrument : Roche Cobs c702

Limite de référence supérieure

Les valeurs prévues pour la calprotectine dans une population adulte normale ont été déterminées dans une étude dont le protocole s'appuyait sur la recommandation C28 du CLSI [19], sur un Cobas c501 (Roche). L'intervalle de référence a été déterminé sur une population de patients apparemment en bonne santé. Au total, 416 échantillons de patients (52 % d'hommes, 48 % de femmes) âgés de 16 à 80 ans ont été analysés. Les échantillons utilisés étaient des échantillons de sérum et de plasma hépariné de lithium, dans des tubes avec et sans gel (51 échantillons héparinés de lithium sans gel, 163 échantillons héparinés de lithium avec gel, 51 échantillons de sérum sans gel, 151 échantillons de sérum avec gel). La limite de référence supérieure a été calculée paramétriquement pour représenter le 97,5e percentile supérieur de la population. Il est recommandé que chaque laboratoire détermine les valeurs-seuils de référence locales, car les valeurs peuvent varier en fonction du type de population testée.

Type d'échantillon	Valeur
Plasma hép-li sans gel	<0,97 mg/L
Plasma hép-li avec gel	<1,69 mg/L
Sérum sans gel	<1,41 mg/L
Sérum avec gel	<1,75 mg/L

Explication des symboles

	Limite de température
	Utiliser avant la date
	Voir le mode d'emploi
	Fabricant
	Marquage CE avec numéro d'organisme notifié
	Marquage UKCA
	Représentant autorisé en Suisse
	Dispositif médical de diagnostic <i>In vitro</i>
	Numéro de lot
	Numéro de catalogue
	Identification unique de dispositif
	Contenu
	Tampon d'essai R1
	Immunoparticules R2
	Attention

 **Gentian AS**
 Bjornasveien 5
 N-1596 Moss
 Norvège
 TEL: +47 99 33 99 05
www.gentian.com





Représentants

Personne responsable au Royaume-Uni	Emergo Consulting (UK) Limited c/o Cr360 – UL International Compass House, Vision Park Histon Cambridge CB24 9BZ Royaume-Uni
-------------------------------------	--

	MedEnvoy Switzerland Gotthardstrasse 28 6302 Zug Suisse
---	--

Références

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)

Incidents graves

Veuillez informer le fabricant et votre autorité compétente de tout incident grave lié à l'appareil.

Modification de la version précédente

- Nouvelles données de performance clinique de 2022, voir référence 13
- Ajout du numéro de l'organisme notifié au marquage CE
- Ajout du marquage UKCA
- Ajout du chapitre «Représentants».
- Ajout des références CLSI 14-19 et de la référence ISO 20.
- Ajout de 4 à 6 dans Avertissements et précautions.
- Modifications et corrections rédactionnelles mineures dans l'ensemble du document.

Date de publication

2023-03-01