BÜHLMANN fCAL® turbo

Kalprotektin türbidimetrik testi
profesyonel kullanım içindir

Reaktif Kiti

B-KCAL-RSET
Sürüm A6

İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım İçindir

Üretici

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch
İsviçre
Tel: +41 61 487 1212
Faks: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

KULLANIM AMACI

BÜHLMANN fCAL®, insan dışkı numunelerindeki kalprotektin seviyelerinin nicel olarak belirlenmesi için kullanılan otomatik bir *in vitro* tanı testidir. Bu test, bağırsak mukozası inflamasyonunun değerlendirilmesine yardımcı olmak amacıyla tasarlanmıştır (ref. 1-3). Test sonuçları, kronik karın ağrısı olan hastalarda organik ve inflamatuvar gastrointestinal hastalıkların (inflamatuvar bağırsak hastalıkları - IBD; özellikle Crohn hastalığı (CD) ve ülseratif kolit (UC)) fonksiyonel hastalıklardan (irritabl bağırsak sendromu - IBS) ayırt edilmesine yardımcı bir tanı aracı olarak (ref. 4-10) ve IBD hastalık takibine destek amacıyla (ref. 10-22) kullanılabilir. BÜHLMANN fCAL® turbo testi, klinik kimya analizörlerinde çalıştırılmak üzere tasarlanmıştır.

Sadece laboratuvar kullanımı içindir.

TEST PRENSİBİ

BÜHLMANN fCAL® turbo testi, partikül destekli türbidimetrik immünoassay (PETIA) yöntemini kullanır ve dışkı ekstraktlarındaki kalprotektin seviyelerinin klinik kimya analizörlerinde otomatik olarak nicel ölçümüne olanak tanır. Dışkı numuneleri, CALEX® Cap ekstraksiyon cihazı veya manuel ekstraksiyon yöntemi ile ekstraksiyon tamponu kullanılarak hazırlanır ve nihai olarak 1:500 oranında seyreltilir. Ekstraktlar, reaksiyon tamponu ile inkübe edilir ve kalprotektin-spesifik antikorlarla kaplanmış polistiren nanopartiküllerle (immünopartiküller) karıştırılır. Numunedeki kalprotektin, immünopartiküllerin aglütinasyonuna aracılık eder. Işık absorbansı ile ölçülen numune bulanıklığı, kalprotektin-immünopartikül kompleksinin oluşumuna bağlı olarak artar ve bu bulanıklık, kalprotektin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Ölçülen ışık absorbansı, oluşturulmuş kalibrasyon eğrisi üzerinde yapılan interpolasyon yoluyla kalprotektin konsantrasyonunun nicel olarak belirlenmesini sağlar.

SAĞLANAN REAKTİFLER

Reaktifler	Miktar	Kod	Hazırlık
Reaksiyon Tamponu (R1) MOPS tamponlu salin çözeltisi	1 flakon 35 mL	B-KCAL-R1	Kullanıma hazır
İmmünopartiküller (R2) İnsan kalprotektinine karşı avian antikorlarla kaplanmış polistiren boncuklar	1 flakon 7 mL	B-KCAL-R2	Kullanıma hazır

Tablo 1: Sağlanan reaktifler

REAKTİFLERİN SAKLANMASI VE STABİLİTESİ

Açılmamış reaktifler
2-8 °C arasında saklayınız. Ürünü, etiketlerde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayınız.
Cihaz üzerinde stabilite
2-15 °C arasında en fazla 90 gün boyunca saklayınız.

Tablo 2: Reaktiflerin saklanması ve stabilitesi

Reaktifleri dondurmayınız!

SAĞLANMAYAN GEREKLİ MALZEMELER

- Aşağıda belirtilen reaktifler, kit ile birlikte sağlanmamaktadır ve ayrı olarak sipariş edilmelidir:

Reaktifler	Miktar	Kod
BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibratör Kiti Altı noktalı kalibrasyon eğrisinin oluşturulması için Kalibratörler (1-6)	1 x 6 flakon 1 mL/flakon	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrol Kiti Düşük ve yüksek kontroller	3 x 2 flakon 1 mL/flakon	B-KCAL-CONSET
CALEX® Cap Ekstraksiyon tamponu içeren ekstraksiyon cihazı	50 tüp 200 tüp 500 tüp	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Ekstraksiyon Kiti Ekstraksiyon tamponu	3 şişe 12 şişe 125 mL/şişe	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tablo 3: Kit ile birlikte sağlanmayan gerekli malzemeler

- Genel laboratuvar ekipmanları
- Klinik kimya analizörü
- Santrifüj

UYARILAR VE ÖNLEMLER

- Bu test yalnızca *in vitro* tanı amaçlı kullanım içindir.
- İmmünopartiküller, hayvansal kaynaklı potansiyel olarak enfekte edici maddeler içermektedir. Bu nedenle, uygun önlemler alınarak İyi Laboratuvar Uygulamaları (GLP) çerçevesinde kullanılmalıdır.
- R2 reaktifi, polistiren nanopartiküller içerir.
- Bu kit, 1272/2008/EC sayılı Yönetmeliğe uygun olarak sınıflandırılmış bileşenler içermektedir: 2-metil-4-izotiyazolin-3-on hidroklorür (kons. ≥ %0,0015). Bu nedenle, reaktifler ciltte alerjik reaksiyonlara yol açabilir (H317).
- Reaktiflerin cilt, göz veya mukoza ile temasından kaçınınız. Temas durumunda derhal bol su ile yıkayınız; aksi takdirde tahriş oluşabilir.

Teknik önlemler

- Reaktifleri, kontrolleri, kalibratörleri ve numuneleri uygulama notlarında belirtilen şekilde dengeleyiniz.
- Kalibratörlerin ve kontrollerin analizör üzerinde buharlaşması, hatalı sonuçlara neden olabilir. Analizörü yükledikten hemen sonra testi çalıştırınız.
- Farklı lotlara ait R1 ve R2 reaktiflerini karıştırmayınız ve reaktiflerin kapaklarını değiştirmeyiniz.
- Donmuş R2 reaktifi artık kullanılamaz.
- Test, yalnızca BÜHLMANN tarafından sağlanan spesifik ekstraksiyon tamponu ile hazırlanmış dışkı ekstraktları için tasarlanmıştır.
- Testi çalıştırmadan önce numunelerde hava kabarcığı bulunmadığından emin olunuz.
- Numune taşınma (carry over) etkisi, kullanılan klinik kimya analizörüne bağlıdır. Daha fazla bilgi için analizöre özel uygulama notlarına bakınız.

NUMUNE TOPLAMA VE SAKLAMA

Ekstraksiyon işlemi için 1 gramdan az doğal dışkı numunesi gereklidir. Dışkı numunelerini düz tüplere toplayınız.
Önemli: Numune, herhangi bir kimyasal veya biyolojik katkı maddesi içermemelidir.

Numune taşınması

Dışkı numuneleri, toplandıktan itibaren 3 gün içinde işlenmek üzere laboratuvara teslim edilmelidir. Numuneler, oda sıcaklığında veya buzdolabında taşınabilir.

Numune saklama

Dışkı numuneleri, 2-8 °C arasında saklanmalı ve laboratuvara ulaştıktan sonraki 3 gün içinde ekstrakte edilmelidir. Numuneleri yüksek sıcaklıklara maruz bırakmayınız.

DIŞKI NUMUNESİ EKSTRAKSİYONU VE EKSTRAKT STABİLİTESİ

CALEX® Cap

CALEX® Cap kiti ile birlikte sağlanan kullanım kılavuzunu takip ediniz. CALEX® Cap kullanılarak hazırlanan dışkı numunesi ekstraktları, nihai olarak 1:500 oranında seyreltilir ve kullanıma hazır hale gelir.

Sıvı dışkı numuneleri, doğrudan CALEX® Cap cihazına pipet yardımıyla aktarılabilir. Mavi kapağı açınız ve cihazın içine 10 µL dışkı numunesi pipetleyiniz. CALEX® Cap'i tekrar kapatınız ve CALEX® Cap kullanım kılavuzunda açıklanan ve görsellerle desteklenen ekstraksiyon prosedürüne uygun olarak vorteksleme adımına geçiniz.

Önemli: CALEX® Cap'i, BÜHLMANN fCAL® turbo prosedürüne başlamadan önce 10 dakika boyunca 1000 – 3000 x g hızında santrifüj ediniz.

CALEX® Cap ile elde edilen ekstraktlarda dışkı kalprotektin seviyesi şu koşullarda stabildir: oda sıcaklığında (23 °C) 7 gün; 2-8 °C'de 15 gün; ve -20 °C'de 23 aya kadar.

CALEX® Cap ekstraktları doğrudan dondurulabilir ve CALEX® Cap içinde saklanabilir. Ekstraktlar, dört defaya kadar dondurulup çözdürülebilir. Ölçümden önce, dondurulmuş ekstraktların oda sıcaklığına ulaşmasını bekleyiniz, 10 saniye boyunca iyice vorteksleyiniz ve testin kullanım kılavuzunda belirtilen şekilde santrifüj ediniz.

Ekstraksiyon Kiti

Manuel ekstraksiyon için Ekstraksiyon Kiti kullanım kılavuzunda belirtilen talimatları takip ediniz. Ekstraksiyon Kiti kullanılarak hazırlanan dışkı numunesi ekstraktları nihai olarak 1:50 oranında seyreltilmiş olacaktır. BÜHLMANN ekstraksiyon tamponu (Ekstraksiyon Kiti içeriğinde yer alır) ile dışkı ekstraktlarını 1:10 oranında seyreltiniz (örn. 50 µL ekstrakt ve 450 µL ekstraksiyon tamponu) ve ardından BÜHLMANN fCAL® turbo prosedürünü uygulayınız.

Manuel ekstraksiyon ile elde edilen (1:50 oranında seyreltilmiş) ekstraktlardaki dışkı kalprotektin, 2-8 °C'de 7 gün boyunca veya -20 °C'de 36 aya kadar stabildir.

PROSEDÜRÜ

Uygulama notları / test kurulumu

BÜHLMANN fCAL® turbo için test prosedürleri, çeşitli klinik kimya analizörlerinde doğrulanmıştır. Belirli cihazlarda kurulum ve analiz süreçlerini açıklayan doğrulanmış uygulama notları, talep üzerine BÜHLMANN tarafından sağlanabilir. Cihazın kurulumu, bakımı, kullanımı ve güvenlik önlemleri için ilgili cihaz kılavuzları dikkate alınmalıdır.

Reaktif hazırlığı

Sağlanan reaktifler kullanıma hazırdır. Reaktifleri cihaz üzerine yüklemeden önce nazikçe karıştırınız. Reaktif şişeleri, uygulama notunda aksi belirtilmedikçe doğrudan cihaza yerleştirilebilir.

Kalibrasyon eğrisinin oluşturulması

BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibratör Kiti, cihaz kılavuzuna uygun olarak altı noktalı bir kalibrasyon eğrisi oluşturmak için kullanılmaktadır. Kalibratör değerleri lota özeldir. Her yeni kalibratör ve reaktif lotu için yeni bir kalibrasyon yapılmalıdır. Aksi belirtilmedikçe, cihazın spesifik uygulama notlarına göre kalibrasyon her 1-2 ayda bir yapılmalıdır. Atanmış kalibratör değerleri için BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibratör Kiti ile birlikte sağlanan Kalite Kontrol (QC) veri sayfasına bakınız. Kalibrasyon hatasız gerçekleştirilemiyorsa BÜHLMANN destek birimiyle iletişime geçiniz.

Kalite Kontrol (QC) kontrolleri

BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrol Kiti, hasta dışkı numunesi ekstraktlarını çalıştırmadan önce her gün analiz edilmelidir. Bu işlem, kalibrasyon eğrisini doğrulamak amacıyla yapılır. Kontrollerin atanmış değer aralıkları, her BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrol Kiti lotu ile birlikte sağlanan kalite kontrol (QC) veri sayfasında belirtilmiştir. Kontrol ölçümleri, hasta dışkı numunesi ekstraktları için geçerli sonuçlar elde edebilmek amacıyla belirtilen değer aralıklarında olmalıdır.
Kontrol değerleri geçerli değilse taze kontrollerle ölçümü tekrarlayınız. Kontrol değerleri hâlâ geçerli değilse testi yeniden kalibre ediniz. Yukarıdaki adımları uyguladıktan sonra geçerli kontrol değerleri elde edilemiyorsa BÜHLMANN destek birimi ile iletişime geçiniz.

Hasta dışkı numunesi ekstraktlarının ölçümü

Kalibrasyon eğrisi oluşturulup kontroller ile doğrulandıktan sonra hasta dışkı ekstraktları ölçülebilir. Hasta dışkı ekstraktlarının ölçümünü, uygulama notları ve cihaz kullanım kılavuzuna uygun olarak gerçekleştiriniz.

Sonuçlar

Sonuçlar, klinik kimya analizöründe otomatik olarak hesaplanır ve aksi belirtilmedikçe µg/g biriminde sunulur. Analizöre özel uygulama notlarında farklı birimlerin belirtilmiş olması durumunda bu birimlere göre değerlendirme yapılmalıdır.

STANDARDİZASYON VE METROLOJİK İZLENEBİLİRLİK

Dışkıdaki kalprotektin analiti için ulusal veya uluslararası düzeyde tanınmış bir referans materyal veya referans ölçüm prosedürü bulunmamaktadır. BÜHLMANN fCAL® turbo, dahili olarak oluşturulmuş bir referans materyale göre standardize edilmiştir. Kontrol ve kalibratör değerleri, metrolojik izlenebilirliği sağlamak amacıyla bir değer aktarım protokolüne (ref. 23, 24) göre atanmıştır. Ürün kalibratörlerinin birleşik belirsizliğinin %95 güven aralığı, %3,7'den düşük, kontrollerin birleşik belirsizliği ise %6,9'dan düşük olarak belirlenmiştir.

SINIRLAMALAR

- Test sonuçları, hastanın klinik değerlendirmesi ve diğer tanısal prosedürlerden elde edilen bilgilerle birlikte yorumlanmalıdır.
- İnflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) takibi için yapılan çalışmalar, 4 haftaya kadar aralıklarla gerçekleştirilen birden fazla dışkı kalprotektin ölçümünün, hastalarda klinik nüksü tahmin etmede en yüksek tanısal doğruluğa sahip olduğunu göstermektedir (ref. 25-26).
- Non-steroidal anti-inflamatuvar ilaç (NSAID) kullanımı, dışkı kalprotektin seviyelerinde artışa neden olabilir.
- Hafif şekilde artmış dışkı kalprotektin seviyelerine sahip 4 yaşından küçük çocuklarda elde edilen sonuçlar, klinik olarak anlamlı olmayabilir (ref. 27-30).

SONUÇLARIN YORUMLANMASI

I. Organik hastalıkların fonksiyonel gastrointestinal hastalıklardan ayrımı

Dışkı kalprotektin seviyelerinin belirlenmesi, organik ve fonksiyonel gastrointestinal hastalıkları ayırt etmek için güvenilir ve basit bir yardımcı yöntem olarak kullanılabilir (ref. 4-10). BÜHLMANN, BÜHLMANN fCAL® ELISA için önerilen aynı eşik değerlerinin uygulanmasını tavsiye etmektedir:

Klinik eşik değerler

Kalprotektin konsantrasyonu	Yorumlama	Takip
< 80 µg/g	Normal	Gerekli değil
80 – 160 µg/g	Gri alan/Sınırda	4 – 6 hafta içinde tekrar değerlendirme
> 160 µg/g	Yüksek	Gerekli görüldüğünde tekrar değerlendirme

Tablo 4: BÜHLMANN fCAL® turbo tanı aralıkları

Sonuç kategorileri, BÜHLMANN tarafından yürütülen klinik çalışmaların verilerine dayanmaktadır ve BÜHLMANN'ın önerilerini yansıtmaktadır. Tüm test sonuçları, hastanın klinik semptomları, hastalık öyküsü ve diğer klinik/laboratuvar bulguları ile birlikte yorumlanmalıdır:

Kalprotektin değerleri <80 µg/g

Dışkı kalprotektin değerlerinin <80 µg/g olması, gastrointestinal sistemde inflamasyon varlığına işaret etmez. Düşük kalprotektin seviyelerine sahip hastaların, inflamasyonun nedenini belirlemek için invaziv prosedürlere ihtiyaç duyma olasılığı düşüktür (ref. 4).

80 – 160 µg/g aralığındaki ve bu değerlere eşit kalprotektin seviyeleri

80 – 160 µg/g aralığındaki ve bu değerlere eşit orta düzey kalprotektin seviyeleri (gri alan seviyeleri olarak da adlandırılır), aktif inflamasyonun mevcut olduğunu ve hemen invaziv testler gerektirdiğini doğrudan göstermemektedir. Bununla birlikte, inflamasyon varlığı tamamen dışlanamaz. İnflamatuvar durumu belirlemek için dışkı kalprotektin seviyelerinin 4 ila 6 hafta sonra tekrar değerlendirilmesi önerilir.

Kalprotektin değerleri >160 µg/g

Dışkı kalprotektin seviyelerinin >160 µg/g olması, gastrointestinal sistemde nötrofil infiltrasyonuna ve dolayısıyla aktif inflamatuvar hastalık varlığına işaret edebilir. Genel klinik bir tanı koymak için uzmanlar tarafından uygun ileri tanı prosedürlerinin gerçekleştirilmesi önerilir.

Klinik değerlendirme

BÜHLMANN fCAL® turbo testinin, inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) ile irritabl bağırsak sendromu (IBS) dahil inflamatuvar olmayan gastrointestinal (GI) bozuklukları ayırt etme özelliği, CALEX® Cap kullanılarak ekstrakte edilen ve 295 hastadan toplanan klinik örneklerle değerlendirilmiştir. Yüz yirmi yedi (127) hastaya IBD (Crohn hastalığı, ülseratif kolit veya belirlenemeyen kolit) kesin tanısı konulmuş, 103 hastada IBS tespit edilmiş ve 65 hasta karın ağrısı ve/veya diyare, ya da diğer gastrointestinal inflamatuvar olmayan durumlarla başvurmuştur. Kesin tanılar, endoskopik incelemeler ve diğer klinik bulgularla desteklenmiştir.

Bu hasta grupları için en uygun eşik değer kombinasyonu, ROC analizi ile 80 µg/g ve 160 µg/g kalprotektin olarak belirlenmiştir (Tablo 6 ve 8). Bu değerler, daha düşük spesifiklik performansına sahip, ancak daha duyarlı olan 50 µg/g alt sınırı ile hafif düşük duyarlılık gösteren 200 µg/g üst sınırının kombinasyonuna kıyasla biraz daha katı bir kriter sunmaktadır (Tablo 7 ve 9).

Kesin tanı	BÜHLMANN fCAL® turbo tanı aralıklarına göre hasta sonuçlarının sayısal (yüzdesel) dağılımı.			
	< 80 µg/g	80 – 160 µg/g	> 160 µg/g	Toplam
IBD	11 (%8,7)	8 (%6,3)	108 (%85,0)	127 (%100)
IBS	75 (%72,8)	11 (%10,7)	17 (%16,5)	103 (%100)
Diğer GI	42 (%64,6)	8 (%12,3)	15 (%23,1)	65 (%100)

Tablo 5: BÜHLMANN fCAL® turbo tanı aralıklarına göre hasta sonuçlarının dağılımı

IBD ve Non-IBD Ayrımı	Klinik karar eşik değerleri	
	80 µg/g	160 µg/g
Hassasiyet (%95 CI)	%91,3 (%85,0; %95,6)	%85,0 (%77,6; %90,7)
Özgüllük (%95 CI)	%69,6 (%62,1; %76,5)	%81,0 (%74,2; %86,6)
PPV (%95 CI)	%69,5 (%61,9; %76,3)	%77,1 (%69,3; %83,8)
NPV (%95 CI)	%91,4 (%85,1; %95,6)	%87,7 (%81,5; %92,5)
ROC AUC (%95 CI)	0,912 (0,878; 0,946)	

Tablo 6: BÜHLMANN fCAL® turbo'nun, 80 µg/g ve 160 µg/g klinik karar eşik değerlerinde, IBD ile non-IBD durumlarını (IBS ve diğer gastrointestinal hastalıklar) ayırt etmedeki klinik performans özellikleri

IBD ve Non-IBD Ayrımı	Klinik karar eşik değerleri	
	50 µg/g	200 µg/g
Hassasiyet (%95 CI)	%94,5 (%89,0; %97,8)	%80,3 (%72,3; %86,8)
Özgüllük (%95 CI)	%62,5 (%54,7; %69,8)	%85,7 (%79,5; %90,6)
PPV (%95 CI)	%65,6 (%58,2; %72,4)	%81,0 (%73,0; %87,4)
NPV (%95 CI)	%93,8 (%87,5; %97,5)	%85,2 (%78,9; %90,2)

Tablo 7: BÜHLMANN fCAL® turbo'nun, 50 µg/g ve 200 µg/g klinik karar eşik değerlerinde IBD ile non-IBD durumlarını (IBS ve diğer gastrointestinal hastalıklar) ayırt etmedeki klinik performans özellikleri

IBD ve IBS Ayrımı	Klinik karar eşik değerleri	
	80 µg/g	160 µg/g
Hassasiyet (%95 CI)	%91,3 (%85,0; %95,6)	%85,0 (%77,6; %90,7)
Özgüllük (%95 CI)	%72,8 (%63,2; %81,1)	%83,5 (%74,9; %90,1)
PPV (%95 CI)	%80,6 (%73,1; %86,7)	%86,4 (%79,1; %91,9)
NPV (%95 CI)	%87,2 (%78,3; %93,4)	%81,9 (%73,2; %88,7)
ROC AUC (%95 CI)	0,925 (0,892; 0,958)	

Tablo 8: BÜHLMANN fCAL® turbo'nun, 80 µg/g ve 160 µg/g klinik karar eşik değerlerinde IBD ile IBS'yi ayırt etmedeki klinik performans özellikleri

IBD ve IBS Ayrımı	Klinik karar eşik değerleri	
	50 µg/g	**200 µg/g**
Hassasiyet (%95 CI)	%94,5 (%89,0; %97,8)	%80,3 (%72,3; %86,8)
Özgüllük (%95 CI)	%67,0 (%57,0; %75,9)	%88,3 (%80,5; %93,8)
PPV (%95 CI)	%77,9 (%70,5; %84,2)	%89,5 (%82,3; %94,4)
NPV (%95 CI)	%90,8 (%81,9; %96,2)	%78,4 (%69,9; %85,5)

Tablo 9: BÜHLMANN fCAL® turbo'nun, 50 µg/g ve 200 µg/g klinik karar eşik değerlerinde IBD ile IBS'yi ayırt etmedeki klinik performans özellikleri

CI – güven aralığı
PPV – pozitif prediktif değer
NPV – negatif prediktif değer
ROC AUC – alıcı işletim karakteristiği eğrisi altındaki alan

II. IBD takibi

Klinik eşik değerler ve değerlendirme

Dışkı kalprotektin seviyelerinin belirlenmesi, IBD hastalarının takibinde güvenilir ve basit bir yöntemdir (ref. 10-22).
Kalprotektin seviyeleri ile hastanın bağırsak mukozasındaki inflamatuvar durumun endoskopik değerlendirmelere göre korelasyonu, BÜHLMANN kalprotektin testleri kullanılarak yapılan üç bağımsız çalışmada belirlenmiştir (Tablo 10). Kalprotektinin klinik remisyonu ve nüksü tahmin etmedeki tanısal değeri, hastanın semptomlarına, klinik aktivite indekslerine, plansız tedavi artışı ihtiyacına, hastaneye yatışına veya acil duruma göre, BÜHLMANN kalprotektin testleri kullanılarak yapılan üç çalışmada değerlendirilmiştir (Tablo 11).

Kalprotektin[1] ve endoskopik bulgulara göre IBD aktivitesi	**Çalışma 1 İspanya (ref. 12)**	**Çalışma 2 İspanya (ref. 13)**	**Çalışma 3 Polonya (ref. 14)**
Hasta sayısı ve demografik bilgiler	89 (CD[2]) Yaş: 32-58 %44 erkek	123 (UC[3]) Yaş: 18-85 %66,4 erkek	57 (CD[2]) Ortalama yaş: 35,3 %48 erkek
Eşik değer	272 µg/g	280 µg/g	238,5 µg/g
NPV	%98	%86	%88
PPV	%76	%80,3	%73

Tablo 10: Kalprotektin seviyelerinin, endoskopik değerlendirmelerle belirlenen IBD hastalığı aktivitesiyle korelasyonu

[1] Çalışma 1 ve Çalışma 2'nin sonuçları, BÜHLMANN lateral flow testleri (Quantum Blue® fCAL ve Quantum Blue® fCAL high range) kullanılarak elde edilmiştir. Çalışma 3'ün sonuçları, BÜHLMANN fCAL® ELISA ve Quantum Blue® fCAL high range testleriyle elde edilmiştir).
[2] CD = Crohn hastalığı olan hastalar
[3] UC = Ülseratif Kolit hastaları

Kalprotektin[1] ve gelecekteki klinik remisyon veya nüks	Çalışma 4 Birleşik Krallık (ref. 15)	Çalışma 5 İspanya (ref. 16)	Çalışma 6 İspanya (ref. 17)
Hasta sayısı ve demografik bilgiler	92 (CD[2]) %38 erkek	30 (CD[2]) adalimumab tedavisi Yaş: 24-64 %43,3 erkek	33 (CD[2]) 20 (UC[3]) infliksimab tedavisi Yaş: 18-68 %47,2 erkek
Kalprotektin ölçümünden sonraki takip süresi	12 ay	4 ay	12 ay
Takip sonrası klinik nüks yaşayan hastalar	%11	%30	%23
Eşik değer	240 µg/g	204 µg/g	160 µg/g
NPV	%96,8	%100	%96,1
PPV	%27,6	%75	%68,7

Tablo 11: IBD hastalığında klinik remisyon ve nüksün tahmin edilmesinde kalprotektinin tanısal değerinin belirlenmesi

[1] Çalışma 4'ün sonuçları BÜHLMANN fCAL® ELISA kullanılarak elde edilmiştir. Çalışma 5 ve Çalışma 6'nın sonuçları, BÜHLMANN lateral flow testleri (Quantum Blue® fCAL ve Quantum Blue® fCAL high range) kullanılarak elde edilmiştir.

[2] CD = Crohn hastalığı olan hastalar

[3] UC = Ülseratif Kolit hastaları

Gösterilen sonuç kategorileri, yayımlanmış eşik değerleri ve klinik performans çalışmalarıyla şekillenen yoğunlaştırılmış bilgiye dayalı önerilerdir. Sağlık profesyonellerine, hastanın hastalık remisyonu sırasındaki bazal kalprotektin seviyesini belirleyerek bireysel eşik değerler oluşturmaları tavsiye edilir.

Kalprotektin değerleri <100 µg/g

Dışkı kalprotektin seviyelerinin 100 µg/g'nin altında olması, endoskopik remisyon durumundaki hastalarda düşük klinik nüks riski olduğunu güvenilir şekilde gösterebilir. Bu hastalarda invaziv endoskopik prosedürlerden kaçınılabilir (ref. 10-22).

Kalprotektin değerleri 100 – 300 µg/g

Dışkı kalprotektin seviyelerinin 100 – 300 µg/g arasında olması, hastalığın gelişim eğilimlerini değerlendirmek için takip döneminde daha sıkı bir kontrol gerekliliğine işaret edebilir.

Kalprotektin değerleri >300 µg/g

Dışkı kalprotektin seviyelerinin 300 µg/g'nin üzerinde olması, testin tekrarlanmasını gerektirir. Yüksek seviyeler doğrulanırsa ileri tanısal prosedürlerin hızla gerçekleştirilmesi önerilir (ref. 10-22).

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Sunulan performans özellikleri, Roche cobas® 6000 c501 cihazında doğrulanmıştır. Diğer klinik kimya analizörlerine ilişkin performans özellikleri için, analizöre özel uygulama notlarına bakınız.

Yöntem karşılaştırması – fCAL® turbo CALEX® Cap ve fCAL® ELISA CALEX® Cap

Yöntem karşılaştırma çalışması, CLSI EP09-A3 kılavuzuna uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Yüz doksan dokuz (199) klinik numune, BÜHLMANN fCAL® turbo'nun bir lotu ile 18 gün süren tek bir kalibrasyon döngüsünde ölçülmüştür. 30,3 – 1672,5 µg/g aralığındaki nihai kalprotektin konsantrasyonuna sahip referans değerler, BÜHLMANN fCAL® ELISA kullanılarak oluşturulmuştur. Numuneler, CALEX® Cap kullanılarak ekstrakte edilmiştir. CALEX® Cap ekstraktlarından tekil ölçümler her iki yöntemde de gerçekleştirilmiştir. Bias, Passing-Bablok doğrusal regresyonu ve Bland-Altman analizi kullanılarak belirlenmiştir.

Bland-Altman Analizi			Passing-Bablok Regresyon Analizi				
Ortalama bias (%95 CI)	**Alt LoA (%95 CI)**	**Üst LoA (%95 CI)**	**Eğim (%95 CI)**	**Kesim noktası [µg/g] (%95 CI)**	**Bias: 80 µg/g (%95 CI)**	**Bias: 160 µg/g (%95 CI)**	**Korelasyon katsayısı (r)**
%0,7 (%-2,6; %4,0)	%-46,0 (%-51,6; %-40,3)	%47,3 (%41,6; %53,0)	1,139 (1,104; 1,172)	-18,3 (-24,4; -13,2)	%-9,0 (%-15,1; %-3,1)	%2,4 (%-1,2; %5,4)	0,982

Yöntem karşılaştırması – fCAL® turbo CALEX® Cap ve fCAL® ELISA manuel ekstraksiyon

Yöntem karşılaştırma çalışması, CLSI EP09-A3 kılavuzuna uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Yüz altmış sekiz (168) klinik numune, CALEX® Cap'in üç farklı lotu kullanılarak ekstrakte edilmiş ve BÜHLMANN fCAL® turbo'nun bir lotu ile 18 gün süren tek bir kalibrasyon döngüsünde ölçülmüştür. 30,5 – 1573,8 µg/g aralığındaki nihai kalprotektin konsantrasyonuna sahip referans değerler, manuel ekstraksiyon yöntemi ve BÜHLMANN fCAL® ELISA ile yapılan ekstrakt ölçümleri kullanılarak oluşturulmuştur. Ekstraktlar, her iki yöntemde de tekil ölçümlerle analiz edilmiştir. Bias, Passing-Bablok doğrusal regresyonu ve Bland-Altman analizi kullanılarak belirlenmiştir.

Bland-Altman Analizi			Passing-Bablok Regresyon Analizi				
Ortalama bias (%95 CI)	**Alt LoA (%95 CI)**	**Üst LoA (%95 CI)**	**Eğim (%95 CI)**	**Kesim noktası [µg/g] (%95 CI)**	**Bias: 80 µg/g (%95 CI)**	**Bias: 160 µg/g (%95 CI)**	**Korelasyon katsayısı (r)**
%11,1 (%5,5; %16,6)	%-60,7 (%-70,3; %-51,2)	%82,8 (%73,3; %92,4)	1,336 (1,265; 1,429)	-31,7 (-44,1; -19,4)	%-6,0 (%-16,4; %7,1)	%13,8 (%8,1; %23,2)	0,955

Tekrar Üretilebilirlik (Multisite kesinlik değerlendirme çalışması): %3,2 – %9,1 Katsayı Varyasyonu (CV)

Tekrar üretilebilirlik, CLSI EP05-A3 kılavuzuna uygun olarak, 3 laboratuvar x 5 gün x 5 tekrar çalışma tasarımı kullanılarak belirlenmiştir. Kalprotektin konsantrasyonları 47,2 – 5475,6 µg/g arasında değişen sekiz birleştirilmiş dışkı numunesi ekstraktı test edilmiştir.

Lotlar arası kesinlik: %2,4 – %8,2 Katsayı Varyasyonu (CV)

Lotlar arası kesinlik, CLSI EP05-A3 kılavuzuna uygun olarak, 3 lot x 5 gün x 5 tekrar çalışma tasarımı kullanılarak belirlenmiştir. Kalprotektin konsantrasyonları 45,2 – 5303,1 µg/g arasında değişen sekiz birleştirilmiş dışkı numunesi ekstraktı test edilmiştir.

Tekrarlanabilirlik: %0,7 – %8,3 Katsayı Varyasyonu (CV)

Laboratuvar içi kesinlik: %1,4 – %9,1 Katsayı Varyasyonu (CV)

Tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi kesinlik, CLSI EP05-A3 kılavuzuna uygun olarak, standart 20 gün x 2 çalıştırma x 2 tekrar çalışma tasarımı ile belirlenmiştir. Kalprotektin konsantrasyonları 42,9 – 5405,6 µg/g arasında değişen, sekiz birleştirilmiş dışkı numunesi ekstraktı test edilmiştir.

Ekstraksiyon tekrar üretilebilirliği – CALEX® Cap: %8,1 – %19,7 Katsayı Varyasyonu (CV)

Ekstraksiyon tekrar üretilebilirliği, CLSI EP05-A3 kılavuzuna uygun olarak, 2 gün x 2 operatör x 3 CALEX® Cap lotu x 2 ekstraksiyon x 3 tekrar çalışma tasarımı ile belirlenmiştir. Kalprotektin konsantrasyonları 42,7 – 3440,0 µg/g arasında değişen ve katı, yarı katı ve sıvı kıvamlarda dışkı numunelerini içeren on iki klinik dışkı numunesi test edilmiştir.

Doğruluk / Geri Kazanım: %93,6 – %102 Katsayı Varyasyonu (CV)

Kalprotektin seviyeleri 44,1 – 1076,3 µg/g arasında değişen yedi klinik dışkı numunesi ekstraktına, kalibratör materyali kullanılarak 56,9 µg/g veya 227,8 µg/g kalprotektin eklenmiştir. Ekstrakt hacminin %10'u oranında numuneye ekleme yapılmıştır. “Bazal” numunelere, analit içermeyen numunenin karşılık gelen hacmi eklenmiştir. “Bazal” ve “bazal + ekleme” numuneleri, dört tekrar halinde ölçülmüştür.

Numune taşınma
Numune taşınma etkisi, CLSI EP10-A2 kılavuzuna uygun olarak değerlendirilmiştir. BÜHLMANN fCAL® turbo testinin, Roche cobas® 6000 c501 cihazında istatistiksel olarak anlamlı bir taşınma etkisi tespit edilmemiştir.

Tespit Limiti (LoD): 23,7 µg/g
LoD, CLSI EP17-A2 kılavuzuna uygun olarak, %5'ten az yanlış pozitif (α) ve %5'ten az yanlış negatif (β) oranları esas alınarak, 120 ölçüm (60 boş ve 60 düşük seviye tekrarları) üzerinden, **16,7 µg/gLoB değeriyle belirlenmiştir.**

Miktar Belirleme Limiti (LoQ): 23,7 µg/g
LoQ, CLSI EP17-A2 kılavuzuna uygun olarak, 90 ölçüm ve %20 CV kesinlik hedefi esas alınarak belirlenmiştir. LoQ tahmini, LoD değerinin altında bulunmuş ve bu nedenle tahmini LoD ile eşit olarak belirtilmiştir.

Doğrusallık aralığı: 15,6 – 12216 µg/g
BÜHLMANN fCAL® turbo'nun doğrusal aralığı, CLSI EP06-A kılavuzuna uygun olarak belirlenmiştir. Konsantrasyonu 2000 µg/g'nin üzerindeki numuneler, analizör tarafından otomatik olarak 1:10 oranında seyreltilmiştir. Maksimum doğrusal sapma limiti %10 olarak belirlenmiştir. 75 µg/g'nin altındaki değerler için, mutlak farkın 7,5 µg/g'den az olması kabul edilmiştir.

Yüksek Doz Hook Etkisi
Teorik konsantrasyonu 45715 µg/g'ye kadar olan numuneler, testin ölçüm aralığını sınırlamadan ölçülebilir.

İnterferans yapan maddeler
BÜHLMANN fCAL® turbo testinin, ağızdan alınan ilaçlar, besin takviyeleri, hemoglobin ve enteropatojenik mikroorganizmalara karşı duyarlılığı, CLSI EP07-A2 kılavuzuna uygun olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlardaki bias'ın %10'u aşması, interferans olarak kabul edilmiştir.

Aşağıdaki maddelerle interferans tespit edilmemiştir [Konsantrasyon: mg / 50 mg dışkı]; gyno-Tardyferon (0,11), Prednisone (0,31), Imurek (0,19); Salofalk (5,21), Asacol (2,50), Agopton (0,18), Vancocin (2,00), Sülfametoksazol (1,6), Trimetoprim (0,35), Ciproxine (1,25), E Vitamini (0,30), Bion 3 (1,06), Hemoglobin (1,25).

Aşağıdaki enteropatojenik mikroorganizmalarla interferans tespit edilmemiştir [Konsantrasyon: koloni oluşturan birim (CFU) / mL dışkı ekstraktı]; *Escherichia coli* (3,3 x 10^7), *Salmonella enterica subsp. Enterica* (9,0 x 10^7), *Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumoniae* (5,3 x 10^7), *Citrobacter freundii* (12,9 x 10^7), *Shigella flexneri* (5,0 x 10^7), *Yersinia enterocolitica subsp. Enterocolitica* (9,8 x 10^7).

KAYNAKLAR

1. Nilsen T et al.: J Clin Lab Anal 2017 ; 31(4). doi: 10.1002/jcla.22061.
2. Mandic-Havelka A et al.: Clin Lab. 2017 ; 63(5):907-913.
3. Noebauer B et al.: Biochem Med (Zagreb) 2017 ; 27(3):030710.
4. Fagerhol MK: Lancet 2000; 356, 1783-4.
5. Tibble JA et al.: Gut 2000; 47, 506-13.
6. Tibble JA et al.: Gastroenterol 2002; 123, 450-60.
7. Jahnsen J et al.: Tidsskr Nor Legeforen 2009; 129(8), 743-5.
8. Manz M. et al.: BMC Gastroenterology 2012; 12, 5.
9. Pavlidis P. et al.: Scand J Gastroenterol. 2013; 48(9), 1048-54.
10. Konikoff MR and Denson LA: Inflamm Bowel Dis 2006; 12(6), 524-34.
11. Lin et al.: Inflamm Bowel Dis 2014; 20: 1407-15.
12. Lobatón T et al.: J Crohns Colitis 2013, 641-51.
13. Lobatón T et al.: Inflamm Bowel Dis 2013; 19(5), 1034-42.
14. Moniuszko A et al.: Polish Arch. Intern. Med. 127, 312-318 (2017)
15. Naismith GD et al.: J Crohns Colitis 2014; 8, 1022-9.
16. Ferreiro-Iglesias R et al.: Scand J Gastroenterol 2016, 23, 1-6.
17. Ferreiro-Iglesias R1 et al.: J Clin Gastroenterol 2016; 50(2),147-51.
18. Guardiola J. et al.: Clinical Gastroenterology & Hepatology 2014; 12(11) 1865-70.
19. Lasson A et al.: United European Gastroenterol J 2015, 3(1) 72-9.
20. Bressler B et al.: Can J Gastroenterol Hepatol 2015, 29(7), 369-72.
21. Peyrin-BL et al.: Am J Gastroenterol 2015, 110, 1324-38.
22. Ricciuto A et al.: Crit Rev Clin Lab Sci. 2019; 56(5):307-320.
23. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2001; 39, 1110-22.
24. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2008; 46, 1470-9.
25. Molander P et al.: Journal of Crohn's and Colitis 2015, 33-40.
26. De Vos M et al.: Inflamm Bowel Dis. 2013; 19, 2111-2117.
27. Fagerberg UL et al.: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005; 40, 450-5.
28. Li F. et al.: PLoS ONE 10(3) (2015).
29. Zhu Q. et al.: PLoS ONE 11 (3) (2016).
30. Peura S. et al.: Scand J Clin Lab Invest 2018; 78(1-2): 120-124.

DEĞİŞİKLİK GÜNLÜĞÜ

Tarih	Sürüm	Değişiklik
2025-09-01	A6	*Kullanım Amacı* bölümü, test platformunun eklenmesiyle daha net hale getirilmiştir. *Reaktiflerin Saklanması ve stabilitesi*, *Sağlanmayan gerekli malzemeler*, *Uyarılar ve Önlemler*, *Klinik eşik değerler ve değerlendirme (Tablo 10)* ve *Kaynaklar* bölümleri revize edilmiştir. *Performans Özellikleri* bölümü (*Yöntem Karşılaştırması* ve *Doğrusallık Aralığı* alt bölümleri) güncellenmiştir.

AB ÜYE DEVLETLERİNDE OLAY RAPORLAMA

Cihazla ilişkili herhangi bir ciddi olay gerçekleşirse lütfen, gecikme olmaksızın üreticiye ve kendi Üye Devletinizin yetkili otoritesine bunu raporlayın.

SEVKİYAT HASARI

Bu ürün hasarlı olarak elinize geçmişse lütfen distribütörünüzü bilgilendirin.

SEMBOLLER

BÜHLMANN, ISO 15223-1 standardında listelenen ve açıklanan sembol ve işaretleri kullanmaktadır.
Sembollerin tanımı için sembol sözlüğüne şu adresten ulaşabilirsiniz:
www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/

Kitin bazı parçaları ve pre-analitik prosedürler şu patentler ile korunmaktadır EP2947459(B1); US10620216(B2); AU2015261919(B2); JP6467436(B2)

CE 0123