

KULLANIM AMACI

CALPROTECTIN TURBILATEX insan dışkı örneklerinde kalprotektin testinin kantitatif tespiti için bir lateks türbidimetrik testtir. Bu yöntem basit ve yaygın olarak uygulanabilir. Bu ürün çeşitli otomatik analizörler için optimize edilmiştir. Yalnızca profesyonel in vitro diagnostik kullanım içindir.

ÖZET

Kalprotektin, nötrofil döngüsünün bir gösterge belirtici olup çeşitli inflamatuvar durumlarda yükselir. Çok sayıda enfeksiyon ve inflamatuvar hastalıkta, özellikle gastroenterolojide, çeşitli gastrointestinal durumlarda yükseldiği görülmüştür. Kalprotektin dışkıda saptanabilir ve kalsiyum varlığında proteolitik bozunmaya karşı oldukça dirençlidir; bu da dışkı örneklerinde ölçümünün çeşitli yaygın organik hastalıklar için tanısallık ve prognostik bilgi sağlamada faydalı olmasını sağlar (1). Çalışmalar, dışkı kalprotektin seviyelerinin kolorektal ve bağırsak iltihabı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (2) ve inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBH) için yararlı bir belirteç olarak kabul edilir (3). IBH, Crohn hastalığı (CD) ve ülseratif kolit (UC) gibi ana tipleri içeren bir grup gastrointestinal inflamatuvar hastalığı ifade eder (4). Bunlar inflamatuvar bozukluklar olduğundan, kalprotektin gibi nötrofil kaynaklı bir protein tanı ve izleme için değerli olabilir (1). Hem Crohn hastalığı hem de ülseratif kolit, sıklıkla akut bağırsak iltihabından kaynaklanan remisyon dönemleri ve nöks ataklarıyla karakterizedir (5), bu da ishal, karın ağrısı ve rektal kanama gibi semptomlara yol açar (4). Bununla birlikte, bu tür semptomları olan hastaların çoğunda IBH'den ziyade irritabl bağırsak sendromu (İBS) vardır ve İBS'de kolonoskopi sonuçları normaldir (4). Kalprotektin tespiti, invaziv kolonoskopi ihtiyacını azaltabilir (4).

PRENSİP

CALPROTECTIN TurbilateX, insan dışkı örneklerinde kalprotektinin kantitatif tespiti için kullanılan lateks türbidimetrik bir testtir. Bu test basittir, yaygın olarak uygulanabilir ve test sonuçları çok kısa sürede elde edilir. Testin amaçlanan kullanımı, yalnızca iltihaplı IBH hastalarını, iltihapsiz IBH hastalarından ve irritabl bağırsak sendromundan (İBS) ayırt etmektir. CALPROTECTIN lateks türbidimetrik testi, aglütinasyon reaksiyonlarına dayanmaktadır. Bunlar, mikroskobik lateks parçacıklarının in vitro agregasyonunu içerir. Bu agregasyon, antijen ve antikorlar, örnekte bulunan antijen ve polistiren lateks parçacıklarına kaplanmış antikorlar arasındaki spesifik reaksiyondan oluşur. Örnek, lateks parçacıklarına bağlı antijene karşı antikorlar içeren bir süspansiyonla karıştırılır. Örnekte antijen varsa, antikorlarla reaksiyona girer ve bir agregat oluşturur. Örnekte antijen yoksa, karışım pürüzsüz bir süspansiyon görünümünü korur. Bu bulanıklık, belirli bir dalga boyunda absorbanstır ve ölçülür ve örnekte bulunan antijen miktarıyla orantılıdır.

ÖNLEMLER

- Yalnızca profesyonel in vitro diagnostik kullanım içindir.
- Türbidimetrik teknik ve otoanalizör kullanımı konusunda eğitilmiş bir kişi gereklidir.
- Herhangi bir tahlil yapılmadan önce analiz cihazı hazır olmalıdır.
- Kitle birlikte verilen kullanım talimatlarını okuyun ve uygulayın.
- Sonuç ölçüm aralığını aşarsa numuneyi seyreltmek için numune seyreltici kullanın ve testi tekrarlayın.
- Son kullanma tarihinden sonra kullanmayınız.

- Paket hasarlı veya açılmışsa reaktifleri kullanmayın.
- İyi Laboratuvar Uygulamalarını takip edin, koruyucu giysiler giyin, imha eldivenleri, gözlük ve maske kullanın.
- Tüm numuneler potansiyel olarak tehlikeli olarak değerlendirilmeli ve bulaşıcı bir ajanla aynı şekilde ele alınmalıdır.
- Solüsyonlar yerel düzenlemelere uygun olarak test edildikten sonra uygun bir konteynere atılmalıdır.

DEPOLAMA VE STABİLİTE

Kit bileşenleri buzdolabında (2-8°C) saklanmalıdır, dondurulmamalıdır.

Reaktifler etiket üzerinde yazılı olan son kullanma tarihine kadar stabildir; reaktif kaplarının herhangi bir kontaminasyonu önlemek için uygun şekilde kapatılması, güneş ışığından uzak tutulması ve 2-8°C'de saklanması gerektiği dikkate alınmalıdır.

KİT İÇERİĞİ

CALPROTECTIN TURBILATEX Reaktif 1 (2x27 mL)
CALPROTECTIN TURBILATEX Reaktif 2 (1x8 mL)

GEREKİLİ OLAN ANCAK KİT İÇEREĞİNDE SAĞLANMAYAN MALZEMELER

- Kontrol Seviye 1 ve 2
- Örnek saklama tüpü
- Analizör

ÖRNEK TOPLAMA VE HAZIRLAMA

Yeterli miktarda insan katı dışkı örneği toplayın. Bu numuneler temiz ve kuru kaplarda toplanmalıdır (koruyucu madde veya taşıma ortamı olmadan). Numuneler testten önce 7 gün buzdolabında (2-8°C) saklanabilir. Hemen test edilmediği takdirde saklanan numuneleri -20 °C'de maksimum 6 ay süreyle dondurun. Bu durumda numune testten önce tamamen çözülecek ve oda sıcaklığına (15-30°C) getirilecektir. Dışkı örneklerini hazırlamadan önce mümkün olduğu kadar iyice homojen hale getirin.

Toplanan dışkı örneklerini işlemek için:

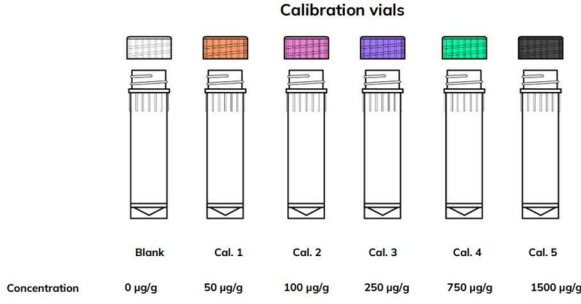
Test edilecek her numune için bir mikrotüp kullanın. Mikrotüpü hastanın adı veya numarasıyla etiketleyin.

1. Numuneyi homojen hale getirin. Mikrotüpe 20 mg numune ekleyin.
2. 2 mL örnek seyreltici ekleyin.
3. Homojen bir dağılım elde etmek için numune tamamen eriyene kadar mikrotüpü kuvvetlice çalkalayın(vorteks).
4. 10000 g'de 15 dakika veya 15000 g'de 10 dakika santrifüjleyin.
5. Süpernatantı otomatik analizör şişesine alın. Seyreltilmiş numune buzdolabında (2-8 °C) 7 gün saklanabilir.

ANALİTİK PROSEDÜR

R1 ve R2 kullanıma hazırdır. CALPROTECTIN TurbilateX kalibratör şişeleri: farklı seviyelerde insan hemoglobini içeren sıvı kalibratör. Konsantrasyon her flakonun etiketinde belirtilmiştir. Sistemi en az ayda bir kez kalibre etmeniz önemle tavsiye edilir. Reaktif lotu değiştirildiğinde veya kontroller, kit ile verilen kontrol etiketinde veya analiz sertifikasında belirtilen aralığın dışında olduğunda sistemi yeniden kalibre edin.

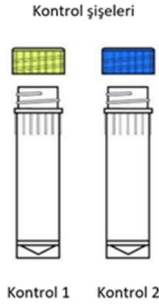
CALPROTECTIN Turbilatex Kalibratör şişeleri (kalibratör 0 ila 5) kullanıma hazırdır.



Kalibrasyon eğrisini oluşturmak için hazırlanmış kalibratörler (5 nokta ve boş)

KALİTE KONTROL

Kalite kontrolü için yalnızca aşağıdaki malzemeleri kullanın: CALPROTECTIN Turbilatex Kontrol 1 ve CALPROTECTIN Turbilatex Kontrol 2: iki farklı insan hemoglobini konsantrasyonundaki sıvı kontroller. Konsantrasyon flakonun etiketinde belirtilmiştir. Test hassasiyetini doğrulamak için kontrol malzemelerinin iki farklı konsantrasyonda kullanılması tavsiye edilir. Kalibrasyon eğrisini doğrulamak için hasta dışkı numunesi ekstraktı çalıştırılmadan önce kontroller her gün test edilmelidir. Elde edilen sonuçlar tolerans aralığının dışındaysa ekipman, reaktifler veya teknik gözden geçirilmelidir. CALPROTECTIN Turbilatex Kontrol şişeleri (Kontrol 1 ve Kontrol 2) kullanıma hazırdır.



Hazırlanan kontroller C1 ve C2 (etiket üzerindeki reaktif konsantrasyonunu kontrol edin.)

SONUÇLARIN YORUMLANMASI

Pozitif sonuçlar: Klinik laboratuvar tarafından belirlenen eşik değerden yüksek veya ona eşit. Önerilen: Tanısal işlemler için dışkıda 50 µg hCp/g ve tarama işlemleri için dışkıda 200 µg hCp/g. Pozitif sonuçlar, dışkı örneklerinde insan kalprotektinin (hCp) anormal varlığını belirler.

CALPROTECTIN Turbilatex Cut-off değeri: Dışkıdaki kalprotektin konsantrasyon değerleri 50 µg hCp/g'den düşükse normal kabul edilir ve bu, gastrointestinal sistem iltihabının göstergesi değildir. Dışkıdaki kalprotektin konsantrasyon değerleri 50 ile 200 µg hCp/g arasında ise anormal kabul edilir ve hafif gastrointestinal sistem iltihabının göstergesidir; bu nedenle hastanın izlenmesi ve takibi önerilir.

Dışkıdaki kalprotektin konsantrasyon değerleri 200 µg hCp/g'den yüksekse, şiddetli gastrointestinal sistem iltihabının göstergesidir.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

ANALİTİK HASSASİYET

Tespit limiti (LOD): 7 µg hCp/g dışkı. CALPROTECTIN Turbilatex alt tespit limiti, 20 örnek ve 2 örnek tekrarı üzerinde ortalama değer +2· SD olarak belirlenmiştir. Kantitatif sınır (LOQ): 20 µg hCp/g dışkı. Kantitatif sınırın alt limiti, güvenilir bir şekilde tespit edilebilen en düşük gerçek analiz miktarı olarak tanımlanır; hassasiyet %20'den azdır. CV% olarak ifade edilir.

PROZON LİMİTİ

Dışkıda 25000 µg hCp/g konsantrasyonuna kadar çalışmalar yapılmış ve hiçbir yanlış negatif sonuç gözlemlenmemiştir. Daha yüksek konsantrasyonlar kullanılarak çalışmalar yapılmamıştır. 3125 µg hCp/g'ye kadar olan konsantrasyonlara sahip örnekler, inhibitör prozon etkisi olmaksızın ölçülebilir.

KLİNİK DUYARLILIK VE ÖZGÜLLÜK

Aşağıdaki tablolar, CALPROTECTIN Turbilatex'in 50 µg hCp/g dışkı eşik değeriyle geçirdiği değerlendirmeler hakkında bilgi vermektedir:

N°	Evaluated test	Sample type
1	Calprest ELISA, Eurospital	Human stool samples
2	Calprest ELISA, Eurospital	Human stool samples
3	BÜHLMANN fCAL® turbo, Bühlmann Diagnostics	Human stool samples
4	BÜHLMANN fCAL® turbo, Bühlmann Diagnostics	Human stool samples

Tablo 1 Klinik değerlendirmelerin özeti. Test ve örnek türü.

N°	TP	FP	FN	TN	N	Sens. (%) CI (%)	Spec. (%) CI (%)	PPV (%) CI (%)	NPV (%) CI (%)	LR+ CI	LR- CI
1	16	0	1	38	55	94.1 (71.3-99.9)	100.0 (79.4-100.0)	100.0 (90.7-100.0)	97.4 (96.5-99.9)	71.50 (4.58-112.7)	0.084 (0.018-0.391)
2	42	6	0	52	100	100.0 (91.6-100.0)	89.7 (78.8-96.1)	87.5 (74.8-95.3)	100.0 (93.2-100.0)	8.97 (4.341-18.54)	0.013 (0.001-0.206)
3	51	7	3	39	100	94.4 (84.6-98.8)	84.8 (71.1-93.7)	87.9 (76.7-95.0)	92.9 (80.5-98.5)	6.206 (3.128-12.31)	0.066 (0.022-0.198)
4	42	5	1	62	110	97.7 (87.7-99.9)	92.5 (83.4-97.5)	89.4 (76.9-96.5)	98.4 (91.5-100.0)	13.09 (5.63-30.45)	0.025 (0.004-0.175)
Total	151	18	5	191	365	96.8 (92.7-99.0)	91.4 (86.7-94.8)	89.3 (83.7-93.6)	97.4 (94.1-99.2)	11.24 (7.22-17.49)	0.035 (0.015-0.083)

Tablo 2 Klinik değerlendirmeler ve genel sonuçlar. Gerçek pozitif (TP), yanlış pozitif (FP), yanlış negatif (FN), gerçek negatif değerler (TN) ve toplam örnek sayısı (N). Duyarlılık (Sens), özgüllük (Spec), Tahmin Edilen Pozitif Değerler (PPV), Tahmin Edilen Negatif Değerler (NPV), %95 güven aralığı (CI), Olasılık pozitif oranı (LR+), Olasılık negatif oranı (LR-) CALPROTECTIN Turbilatex için.

Sonuçlar, CALPROTECTIN Turbilatex'nun insan kalprotektini (hCp) tespit etmede yüksek hassasiyet ve özgüllük gösterdiğini ortaya koymuştur.

INTERFERANS

CALPROTECTIN Turbilatex ile olası etkileşimleri belirlemek için bir değerlendirme yapıldı. Test edilen aşağıdaki maddelerle herhangi bir etkileşim tespit edilmedi: BSA, Hemin, Askorbik Asit.

ÇAPRAZ REAKTİVİTE

CALPROTECTIN Turbilatex'in olası çapraz reaksiyonlarını belirlemek için bir değerlendirme yapıldı; dışkıda ara sıra bulunan diğer dışkı belirteçleriyle (sığır ve domuz hemoglobini, sığır transferini, sığır laktoferini ve insan hemoglobini, transferini ve laktoferini) herhangi bir çapraz reaksiyon tespit edilmedi.

SINIRLAMALAR

1. CALPROTECTIN Turbilatex yalnızca insan dışkı örneklerinde kullanılmalıdır (kan, serum, plazma, idrar, beyin omurilik sıvısı, ağız

sıvısı, sinoviyal sıvı veya ampiyem sıvısı gibi vücut sıvılarında kullanılmamalıdır. Diğer örneklerin kullanımı kanıtlanmamıştır. Uygun dışkı örnekleri alınmalıdır.

2. Pozitif sonuçlar, dışkı örneklerinde hCp varlığını belirler. Pozitif bir sonuç, tanıyı doğrulamak ve iltihabın boyutunu belirlemek için ek tanısal invaziv işlemler, kolonoskopi ve biyopsi ile takip edilmelidir.
3. Belirtiler veya durum devam ederse, kalprotektin tayini invaziv tekniklerle yapılmalıdır. Negatif sonuçlar, iltihaplı IBH'yi, çölyak sprue ve esas olarak mononükleer iltihabı içeren mikroskobik kolit polipleri gibi bazı hastalıkları dışlamaz (6,7).
4. Steroid dışı antiinflamatuvar ilaç (NSAID) tedavisi gören hastalardan alınan dışkı örnekleri pozitif sonuç gösterebilir (7).
5. Yenidoğan dışkı kalprotektin düzeylerinin normal çocuklardakinden daha yüksek olduğu bildirilmiştir; ortalama 167 µg/g (aralık 22-860 µg/g) (8).
6. Agranülositozlu hastalarda, kemik iliğindeki düşük nötrofil üretimi nedeniyle yanlış negatif sonuçlar oluşabilir; bu da kalprotektin tespitini etkiler (9).
7. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı (IBH) olan hastalar, hastalığın aktif (inflamatuvar) ve inaktif fazları arasında geçiş yaparlar. CALPROTECTIN Turbilatex testi sonuçlarını yorumlarken bu hastalık aktivitesi değişikliklerini dikkate almak önemlidir (9).
8. Gastrointestinal enfeksiyonlar ve kolorektal kanser gibi diğer bağırsak rahatsızlıkları da kalprotektin düzeylerini yükseltebilir. Bu nedenle, CALPROTECTIN Turbilatex testinde pozitif bir sonuç, aktif IBH tanısı için tek kriter olarak kullanılamaz. (6).

BEKLENEN DEĞERLER

Crohn hastalığı ve ülseratif kolit dahil olmak üzere inflamatuvar bağırsak hastalıkları (IBH), dünya çapında milyonlarca insanı etkileyen kronik rahatsızlıklardır. Yaygınlık bölgelere göre önemli ölçüde değişmekte olup, Kuzey Amerika, Okyanusya ve Avrupa'da oranlar nüfusun %0,3'üne kadar ulaşmaktadır; bu da IBH'yi bu bölgelerdeki en yaygın gastrointestinal bozukluklardan biri yapmaktadır. Vakaların artışı kısmen daha fazla farkındalığa, çevresel faktörlere ve potansiyel olarak belirli popülasyonlardaki genetik yatkınlıklara bağlanmaktadır (10). Bazı çalışmalar, tanı için ek invaziv tanısal prosedürler gerektirecek gastrointestinal inflamatuvar patolojiye sahip yetişkin hastaları tespit etmeye olanak sağlamak için 50 µg hCp/g dışkının eşit veya daha yüksek bir eşik değeri olarak belirlenmiştir.

REFERANSLAR

1. Poullis A, Foster R, Mendall MA, Fagerhol MK. Gastroenterolojide kalprotektinin ortaya çıkan rolü. Cilt 18, Gastroenteroloji ve Hepatoloji Dergisi (Avustralya). Blackwell Yayıncılık; 2003. s. 756–62.
2. Angriman I, Scarpa M, D'Inca R, Basso D, Ruffolo C, Polese L, vd. Dışkıdaki enzimler: Kronik inflamatuvar bağırsak hastalığının yararlı belirteçleri. Clinica Chimica Acta. 2007 Mayıs 2;381(1):63–8.
3. Mayer EA. Fonksiyonel Gastrointestinal Bozukluklar: İrritabl Bağırsak Sendromu, Dispepsi ve Özofagus Kaynaklı Olduğundan Şüphelenilen Fonksiyonel Göğüs Ağrısı. Goldman's Cecil Tıp: Yirmi Dördüncü Baskı. 2012;1:868–74.
4. Khaki-Khatibi F, Qujeq D, Kashifard M, Moein S, Maniati M, Vaghari-Tabari M.

- İnflamatuvar barsak hastalığında kalprotektin. Cilt 510, Clinica Chimica Acta. Elsevier B.V.; 2020.s. 556–65.
5. Tibble JA, Sigthorsson G, Bridger S, Fagerhol MK, Bjarnason I. Taşıyıcı belirteçler bağırsak iltihabı, inflamatuvar hastalığı olan hastalarda nüksetmenin habercisidir bağırsak hastalığı. Gastroenteroloji. 2000;119(1):15–22.
 6. Pathirana WGW, Chubb SP, Gillett MJ, Vasikaran SD. Dışkı Kalprotektin. Muayenehane Biochem Rev. 2018;39(3):77.
 7. Klingberg E, Strid H, Ståhl A, Deminger A, Carlsten H, Öhman L, ve diğerleri. Uzunlamasına fekal kalprotektin ve inflamatuvar barsak hastalığının gelişimi üzerine çalışma ankilozan spondilit. Artrit Res. 2017 Şubat 2;19(1):1–9.
 8. Campeotto F, Butel MJ, Kalach N, Derrieux S, Aubert-Jacquin C, Barbot L, ve diğerleri. Yüksek Yenidoğan bebeklerde fekal kalprotektin konsantrasyonları. Arch Dis Çocuk Fetal Yenidoğan Ed. 2004 Temmuz;89(4).
 9. Fukunaga S, Kuwaki K, Mitsuyama K, Takedatsu H, Yoshioka S, Yamasaki H, ve diğerleri. İnflamatuvar bağırsak hastalığında kalprotektin tespiti: Dışkı ve serum düzeyleri ve immünohistokimyasal lokalizasyon. Int J Mol Med. 2018;41(1):107–
 10. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, ve diğerleri. Dünya çapında 21. yüzyılda inflamatuvar bağırsak hastalığının görülme sıklığı ve yaygınlığı: popülasyon bazlı çalışmaların sistematik bir incelemesi. The Lancet. 2017 Aralık 23;390(10114):2769–78.

EN YAYGIN TÜRBİDİMETRİ EKİPMANLARININ EK UYUMLULUĞU

MODEL	ÜRETİCİ
A15	Biosystem
Alinity c-series	Abbott
Architect c4000/c8000/c16000	Abbott
Advia 1800, Advia 2400	Siemes
Atellica	Siemes
AU480/AU680	Beckman Coulter
Cobas c-series	Roche
XL 180/XL-200	Erba
Aura c120/c400	Medios



Medios Medikal Bilişim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti.
Güzelevler Mah. Çınar Cad. No: 5 Yüreğir/Adana

