BÜHLMANN fPELA® turbo

Dosaggio turbidimetrico della elastasi pancreatica
per uso professionale

Kit di reagenti

B-KPELA-RSET
Versione A2

Per uso diagnostico *in vitro*

invalid

Produttore

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch
Svizzera
Telefono: +41 61 487 1212
Fax: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

USO PREVISTO

BÜHLMANN fPELA® turbo è un test diagnostico *in vitro* per la determinazione quantitativa della elastasi pancreatica in campioni di feci umane. I risultati possono essere utilizzati come un aiuto alla determinazione dell'insufficienza pancreatica esocrina in pazienti affetti da patologie come la pancreatite cronica e la fibrosi cistica congiuntamente con altri risultati clinici e di laboratorio. Il dosaggio BÜHLMANN fPELA® turbo va eseguito su analizzatori di chimica clinica. Solo per uso di laboratorio.

PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il test BÜHLMANN fPELA® turbo consiste in un dosaggio immunologico turbidimetrico arricchito con particelle (PETIA) e consente la quantificazione automatica della elastasi pancreatica in estratti fecali tramite analizzatori di chimica clinica. I campioni fecali sono estratti con tampone di estrazione impiegando il dispositivo di estrazione CALEX® Cap e analizzati a una diluizione finale di 1:500. Gli estratti sono incubati con tampone di reazione e miscelati con nanoparticelle di polistirene rivestite di anticorpi specifici per la elastasi pancreatica (immunoparticelle). La elastasi pancreatica presente nel campione media l'agglutinazione delle immunoparticelle. La torbidità del campione, misurata in base all'assorbanza della luce, aumenta con la formazione del complesso elastasi pancreatica-immunoparticella ed è proporzionale alla concentrazione di elastasi pancreatica. Misurando l'assorbanza della luce è possibile quantificare la concentrazione di elastasi pancreatica mediante interpolazione su una curva di calibrazione precedentemente determinata.

invalid

REAGENTI FORNITI

Reagenti	Quantità	Codice	Preparazione
Tampone di reazione (R1) Tampone salino MES	1 provetta 27,0 mL	B-KPELA-R1	Pronto all'uso
Immunoparticelle (R2) Sfere di polistirene rivestite con anticorpi di coniglio contro la elastasi pancreatica umana	1 provetta 5,1 mL	B-KPELA-R2	Pronto all'uso

Tabella 1: Reagenti forniti

CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

Reagenti non aperti
Conservare a 2-8 °C. Non usare il kit dopo la data di scadenza stampata sulle etichette.
Stabilità on board[1]
Conservare a 5-12 °C per un periodo massimo di 3 mesi (91 giorni).

Tabella 2: Conservazione e stabilità dei reagenti

I reagenti non vanno congelati.

[1] La stabilità on board è stata stabilita sullo strumento Roche cobas® 6000 c501.

MATERIALI OCCORRENTI MA NON FORNITI

Reagenti	Quantità	Codice
BÜHLMANN fPELA® turbo Kit di calibratori Calibratori 1-6 per la determinazione di una curva di calibrazione a sei punti	1 x 6 provette 1 mL/provetta	B-KPELA-CASET
BÜHLMANN fPELA® turbo Kit di controlli Controlli, basso e alto	3 x 2 provette 1 mL/provetta	B-KPELA-CONSET
Dispositivo CALEX® Cap Dispositivo di estrazione riempito con tampone di estrazione	50 dispositivi 200 dispositivi 500 dispositivi	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500

Tabella 3: Materiali occorrenti ma non forniti

invalid

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Questo test è solo per uso diagnostico *in vitro.*
- I componenti contenuti in questo kit sono classificati conformemente al Regolamento (CE) N. 1272/2008: cloridrato di 2-metil-4-isotiazolin-3-one (conc. ≥0,0015%), pertanto i reagenti possono causare reazioni allergiche cutanee (H317).
- Evitare il contatto dei reagenti con gli occhi, la pelle o le membrane mucose. In caso di contatto, lavare con abbondante acqua; in caso contrario può manifestarsi irritazione.
- Si raccomanda l'utilizzo del test da parte di personale qualificato, in conformità con le Buone Pratiche di Laboratorio (GLP).
- Le immunoparticelle contengono sostanze di origine animale potenzialmente infettive e devono essere maneggiate adottando le precauzioni del caso. Lo smaltimento di tutti i materiali di scarto deve avvenire in conformità alla legislazione locale.
- R1 contiene MES (acido 2-(*N*-morfolino)etansolfonico) che può irritare gli occhi e la cute. Maneggiare con la dovuta cautela.
- R2 contiene nanoparticelle di polistirene.
- La soluzione inutilizzata deve essere smaltita nel rispetto delle disposizioni locali, regionali e nazionali in materia.

Precauzioni tecniche

- Equilibrare reagenti, controlli, calibratori e campioni come descritto nelle note applicative.
- L'evaporazione dei calibratori e dei controlli sull'analizzatore potrebbe compromettere la correttezza dei risultati. Eseguire l'analisi subito dopo aver caricato l'analizzatore.
- Non mescolare reagenti R1 e R2 di lotti di reagenti diversi né invertire i tappi dei reagenti.
- Il reagente R2 se congelato non è più utilizzabile.
- Il dosaggio è concepito per campioni di estratti fecali preparati usando il dispositivo BÜHLMANN CALEX® Cap.
- Prima di eseguire il test, accertarsi che nei campioni non vi siano bolle.
- Il trasferimento di residui di campione (carry-over) dipende dall'analizzatore di chimica clinica. Per maggiori informazioni, consultare la nota applicativa specifica dell'analizzatore.

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Per la procedura di estrazione è necessario meno di 1 g di campione di feci native. Raccogliere il campione di feci in provette normali.

Importante: il campione deve essere raccolto senza l'aggiunta di nessun additivo chimico o biologico.

Trasporto e conservazione dei campioni

I campioni fecali devono essere processati dal laboratorio entro 6 giorni dalla raccolta. I campioni fecali possono essere spediti e conservati a temperatura ambiente (max. 28°C) o refrigerati. Per conservarli più a lungo, congelare i campioni a -20°C. Sono sconsigliati più di 2 cicli di congelamento-scongelamento.

ESTRAZIONE DEI CAMPIONI DI FECI E CONSERVAZIONE DEGLI ESTRATTI

Con il dosaggio fPELA® turbo non si possono misurare campioni di feci liquide (vedere sotto il paragrafo "Limiti").

Seguire le Istruzioni per l'uso fornite insieme al kit del dispositivo CALEX® Cap. Gli estratti dei campioni fecali preparati utilizzando il dispositivo CALEX® Cap hanno una diluizione finale di 1:500 e sono pronti all'uso.

Importante: prima di procedere alla centrifugazione e alla successiva misurazione, lasciar riposare l'estratto fecale per almeno 1 ora.

invalid

Importante: centrifugare il dispositivo CALEX® Cap per 10 minuti a 1.000-3.000 x g prima di eseguire la procedura del test BÜHLMANN fPELA® turbo.

Gli estratti di elastasi pancreatica ottenuti con il dispositivo CALEX® Cap sono stabili a temperatura ambiente (≤28°C) per 8 giorni; a 2-8°C per 12 giorni e a -20°C per almeno per 24 mesi.

Gli estratti ottenuti con CALEX® Cap possono essere congelati e conservati all'interno del dispositivo CALEX® Cap. Gli estratti possono subire al massimo 5 cicli di congelamento/scongelamento. Prima della misurazione, lasciare equilibrare gli estratti a temperatura ambiente, vortexare bene per 10 secondi e centrifugare seguendo le Istruzioni per l'uso del test.

PROCEDURA DEL DOSAGGIO

Note applicative / Installazione dell'analisi

Le procedure analitiche per BÜHLMANN fPELA® turbo sono state determinate utilizzando numerosi analizzatori di chimica clinica. Le note applicative convalidate che descrivono l'installazione e l'analisi su specifici strumenti sono disponibili richiedendole a BÜHLMANN. Per informazioni su impostazioni, manutenzione, funzionamento e precauzioni specifici del proprio strumento, consultare il relativo manuale.

Preparazione dei reagenti

I reagenti forniti sono pronti all'uso. Miscelare con delicatezza prima di caricarli nello strumento. I flaconi dei reagenti possono essere inseriti direttamente nello strumento, salvo diversamente specificato nella nota applicativa.

Determinazione della curva di calibrazione

Il Kit di calibratori BÜHLMANN fPELA® turbo si usa per determinare una curva di calibrazione a sei punti secondo il manuale dello strumento. I valori dei calibratori sono specifici per ogni lotto. È necessario determinare una nuova curva di calibrazione per ogni nuovo lotto di calibratori e di reagenti. Altrimenti, ogni 1-2 mesi vanno eseguite calibrazioni periodiche come specificato nelle note applicative specifiche dello strumento. Per i valori dei calibratori assegnati, consultare la scheda dati-QC allegata al Kit di calibratori BÜHLMANN fPELA® turbo. Se non è possibile eseguire la calibrazione senza errori, rivolgersi al servizio di assistenza di BÜHLMANN.

invalid

Controlli QC

Il Kit di controlli BÜHLMANN fPELA® turbo va analizzato tutti i giorni prima di eseguire il test sugli estratti dei campioni fecali dei pazienti per convalidare la curva di calibrazione. Ai controlli sono stati assegnati i range di valori indicati sulla scheda dati-QC allegata a ogni lotto del Kit di controlli BÜHLMANN fPELA® turbo. Perché i risultati dell'analisi degli estratti di campioni fecali dei pazienti siano considerati validi, le misurazioni dei controlli devono rientrare nei range dei valori indicati.
Se i valori dei controlli non sono validi, ripetere la misurazione utilizzando controlli freschi. Se i valori dei controlli continuano a non essere validi, ricalibrare il dosaggio. Se i valori dei controlli validi non sono riproducibili, dopo aver eseguito i passaggi descritti sopra, rivolgersi al servizio di assistenza di BÜHLMANN.

Misurazione degli estratti dei campioni fecali dei pazienti

Una volta stabilita la curva di calibrazione e convalidata con i controlli, è possibile passare alla misurazione degli estratti fecali dei pazienti. Eseguire la misurazione degli estratti dei campioni fecali dei pazienti seguendo la nota applicativa e il manuale dello strumento.

Risultati

I risultati sono calcolati automaticamente dall'analizzatore di chimica-clinica e presentati in µg/g, salvo diversamente specificato nelle corrispondenti note applicative specifiche dell'analizzatore usato.

invalid

STANDARDIZZAZIONE

Il dosaggio BÜHLMANN fPELA® turbo è standardizzato rispetto a un materiale di riferimento interno.

LIMITAZIONI

- Campioni fecali ad alto contenuto d'acqua (campioni di feci liquide) comportano una sottostima della concentrazione di elastasi pancreatica fecale. Si raccomanda di raccogliere le feci in giorno differente.
- I risultati del test devono essere interpretati congiuntamente alle informazioni cliniche ottenute dalla valutazione clinica del paziente e da altre procedure diagnostiche.
- Il rischio di diagnosi falsa negativa è maggiore per i pazienti con insufficienza lieve e moderata rispetto ai pazienti con insufficienza grave (Rif. 1). Nei pazienti con diabete, l'utilità dell'esecuzione del test sulla elastasi pancreatica fecale è limitata (Rif. 2,3).

- Studi di interferenza indicano un bias positivo del 20% in campioni contenenti pancreatina (Creon®), corrispondente a un dosaggio giornaliero di 757,5 kU/giorno, assumendo un peso fecale giornaliero di 150 g. Questo valore è moderatamente inferiore alla dose massima raccomandata di 800 kU/giorno.
- Studi di interferenza indicano un bias negativo del 20% in campioni contenenti lansoprazolo corrispondente a un dosaggio giornaliero di 229,1 mg/giorno, assumendo un peso fecale giornaliero di 150 g e un fattore di escrezione del lansoprazolo pari al 64%. Questo valore è superiore alla dose massima raccomandata di 180 mg/giorno.
- Studi di interferenza indicano un bias negativo del 20% nei campioni contenenti esomeprazolo corrispondente a una dose giornaliera di 266,7 mg/giorno. Questo valore è al di sopra della dose massima raccomandata di 160 mg/giorno.
- Studi di interferenza indicano un bias negativo del 20% nei campioni contenente omeprazolo corrispondente a una dose giornaliera di 285,0 mg/giorno. Questo valore è al di sopra della dose massima raccomandata di 120 mg/giorno.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Concentrazione fecale di elastasi	Indicazione
Da 200 a >500 µg/g	funzione pancreatica nella norma
<200 µg/g	Insufficienza pancreatica

Tabella 4: Interpretazione dei risultati (Rif. 1)

VALORI ATTESI

Tramite il dosaggio BÜHLMANN fPELA® turbo sono stati misurati centoventotto (128) campioni di feci di volontari auto-dichiaratisi sani. Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Concentrazione fecale di elastasi	Numero di soggetti sani
Da 200 a >500 µg/g	114
<200 µg/g	14

Tabella 5: Valori attesi

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le caratteristiche prestazionali presentate sono state determinate utilizzando lo strumento Roche cobas® 6000 c501, salvo diversamente indicato.

invalid

Consultare le note applicative specifiche dell'analizzatore utilizzato per conoscere le caratteristiche prestazionali su altri analizzatori di chimica clinica.

Confronto tra metodi BÜHLMANN fPELA® turbo vs ScheBo® Pancreatic Elastase 1™

Lo studio di confronto tra metodi è stato condotto secondo le linee guida EP09-A3 del CLSI. Sono stati misurati centootto (108) campioni usando 3 lotti di BÜHLMANN fPELA® turbo nell'arco di 4 giorni. Sono stati determinati i valori medi di riferimento, con concentrazioni di elastasi comprese nell'intervallo 21,0-444,9 µg/g usando 2 lotti (2 replicati per lotto) del test ScheBo® Pancreatic Elastase 1™. Il bias è stato determinato usando l'analisi di regressione lineare di Passing-Bablok e l'analisi di Bland-Altman.

Analisi di Bland-Altman			Analisi di regressione di Passing-Bablok			
Bias medio (IC 95%)	**Limite concordanza inferiore (IC 95%)**	**Limite concordanza superiore (IC 95%)**	**Pendenza (IC 95%)**	**Intercetta (IC 95%)**	**Bias a 200 µg/g (IC 95%)**	**r**
3.6% (-4.8%, 12.1%)	-83.0% (-97.4%, -68.5%)	90.2% (75.8%, 104.7%)	0.90 (0.80, 1.04)	13.7 (-3.0, 27.2)	-2.7% (-17.2%, 14.0%)	0,847

Riproducibilità: CV dell'1,9-6,2%

La riproducibilità è stata determinata secondo le linee guida EP05-A3 del CLSI applicando il seguente disegno di studio: 3 strumenti/lotti x 5 giorni x 5 replicati e un criterio di accettabilità corrispondente a un CV del 15%. I test sono stati eseguiti con gli strumenti Roche c501, Beckman Coulter AU480 e Mindray BS380. Sono stati analizzati sei (6) estratti di campioni fecali.

ID	Media [µg/g]	n	Nella singola analisi		Tra giorni		Tra lotti/ strumenti		Totale	
			DS [µg/g]	CV (%)	DS [µg/g]	CV (%)	DS [µg/g]	CV (%)	DS [µg/g]	CV (%)
S1	78,8	75	1,6	2,1%	0,4	0,5%	1,1	1,4%	2,0	2,5%
S2	188,7	75	1,3	0,7%	0,7	0,3%	3,4	1,8%	3,7	1,9%
S3	284,3	75	1,6	0,6%	2,1	0,8%	10,2	3,6%	10,5	3,7%
S4	400,5	75	2,2	0,5%	1,7	0,4%	11,2	2,8%	11,6	2,9%
S5	912,3	75	21,6	2,4%	0,0	0,0%	52,7	5,8%	56,9	6,2%
S6	1.998,6	75	23,8	1,2%	9,5	0,5%	67,4	3,4%	72,1	3,6%

invalid

Riproducibilità: CV dello 0,6-1,9%

Precisione intra-laboratorio: CV dello 0,9-2,2%

La riproducibilità e la precisione intra-laboratorio sono state determinate secondo le linee guida EP05-A3 del CLSI usando il seguente disegno standardizzato: 20 giorni x 2 analisi x 2 replicati e un criterio di accettabilità corrispondente a un CV del 10%. Sono stati analizzati sei (6) estratti di campioni fecali.

ID	Media [µg/g]	n	Nella singola analisi		Tra giorni		Tra lotti/ strumenti		Totale	
			DS [µg/g]	CV (%)	DS [µg/g]	CV (%)	DS [µg/g]	CV (%)	DS [µg/g]	CV (%)
S1	77,0	80	1,5	1,9%	0,8	1,1%	0,0	0,0%	1,7	2,2%
S2	188,9	80	1,2	0,7%	1,3	0,7%	1,8	1,0%	2,6	1,4%
S3	273,0	80	2,1	0,8%	2,1	0,8%	1,8	0,7%	3,5	1,3%
S4	404,1	80	2,4	0,6%	1,4	0,4%	2,3	0,6%	3,6	0,9%
S5	946,6	80	9,1	1,0%	7,5	0,8%	7,9	0,8%	14,2	1,5%
S6	2.046,0	80	11,8	0,6%	6,9	0,3%	21,5	1,1%	25,5	1,2%

Riproducibilità dell'estrazione – CALEX Cap: CV del 6,9%-13,8%

La riproducibilità dell'estrazione è stata determinata secondo le linee guida EP05-A3 del CLSI applicando il seguente disegno: 2 giorni x 2 operatori x 3 lotti di CALEX® Cap x 3 estrazioni x 2 replicati. Sono stati analizzati sei (6) campioni fecali clinici.

ID	Media [µg/g]	n	Nella singola estrazione		Tra le estrazioni		Totale totale	
			DS [µg/g]	CV (%)	DS [µg/g]	CV (%)	DS [µg/g]	CV (%)
10236	54,7	72	1,1	2,1%	2,9	5,3%	4,4	8,1%
10202	97,9	72	0,8	0,8%	4,5	4,6%	10,7	10,9%
10265	230,8	72	2,0	0,9%	13,4	5,8%	16,0	6,9%
10192	396,6	72	2,9	0,7%	34,7	8,8%	44,2	11,1%
10177	930,9	72	13,8	1,5%	98,0	10,5%	128,8	13,8%
10185	2.126,5	72	13,9	0,7%	189,1	8,9%	204,3	9,6%

Accuratezza/Recupero: 99,8-107,7%

Sei (6) estratti di campioni fecali ottenuti da campioni clinici con livelli di elastasi variabili da 15,8 a 355,7 µg/g sono stati arricchiti (spiking) con 55 µg/g di elastasi nel materiale del calibratore. Lo spiking è stato eseguito al 10% del volume dell'estratto del campione. I campioni "basali" sono stati

invalid

arricchiti con la corrispondente quantità di tampone di estrazione. I campioni “basali” e “basali + arricchiti” sono stati misurati in quattro (4) replicati.

Carry-over dei campioni

Il carry-over dei campioni è stato determinato secondo le linee guida EP10-A2 del CLSI. L’esecuzione del test BÜHLMANN fPELA® turbo su uno strumento Roche cobas® 6000 c501 non ha comportato un carry-over dei campioni statisticamente significativo.

Limite del bianco (LoB): 0,8 µg/g

Il LoB è stato determinato secondo le linee guida EP17-A2 del CLSI usando l’approccio classico e l’analisi non parametrica.

Limite di rilevabilità (LoD): 2,3 µg/g

Il LoD è stato determinato secondo le linee guida EP17-A2 del CLSI usando l’approccio classico e l’analisi parametrica.

Limite di quantificazione (LoQ): 5,7 µg/g

Il LoQ è stato determinato secondo le linee guida EP17-A2 del CLSI, basandosi su 60 determinazioni e un obiettivo di precisione in termini di coefficiente di variazione (CV) del 20%.

Range di linearità: da 3,4 a 5.024,2 µg/g

Il range di linearità di BÜHLMANN fPELA® turbo è stato determinato secondo le linee guida EP06-A del CLSI. I campioni con una concentrazione superiore a 500 µg/g sono stati diluiti 1:10 automaticamente dall’analizzatore. È stata accettata una deviazione massima dalla linearità del 10% o di 10 µg/g, per campioni inferiori a 100 µg/g.

Effetto “hook” delle concentrazioni elevate

È possibile misurare campioni con concentrazioni fino a 17.231 µg/g senza limitare il range di misurazione del dosaggio. L’inclusione di un controllo prozona estende il range di misurazione fino a 18.891 µg/g.

Reattività incrociata

La reattività incrociata del dosaggio BÜHLMANN fPELA® turbo con molecole simili all’elastasi umana è stata analizzata secondo le linee guida EP07-A2 del CLSI. Nei risultati, un bias eccedente il 10% è stato considerato come interferenza.

Non è stata rilevata reattività incrociata con le seguenti molecole: chemotripsina porcina o elastasi porcina a concentrazioni di 1 µg/mL nell’estratto del campione fecale.

invalid

Sostanze interferenti

La sensibilità del dosaggio BÜHLMANN fPELA® turbo a farmaci orali, integratori nutrizionali ed emoglobina è stata analizzata secondo le linee guida EP07-A2 del CLSI. Nei risultati, un bias eccedente il 10% è stato considerato come interferenza.

Non è stata rilevata interferenza con le sostanze seguenti [concentrazione in mg [2] /50 mg di feci]: prednisone (1,5), acetilcisteina (Fluimucil®) (1,8); lumacaftor/ivacaftor (Symdeko®) (0,8), metformina (3,0), glimepiride (Amaryl®) (6,0 µg), ciprofloxacina (Ciproxin®) (1,5), ibuprofene (2,4), multivitaminico (Berocca®) (15 µg), pantoprazolo (Nycomed®) (0,16), emoglobina (12,5)

È stata rilevata interferenza con le sostanze seguenti: pancreatina (Creon®) (800 U), lansoprazolo (Agopton®) (0,18), esomeprazolo (Esomeprazol-Mepha®) (0,16) e omeprazolo (Omeprazol-Mepha®) (0,12). L'adattamento polinomiale del bias rispetto alla concentrazione interferente ha indicato che il bias del 20% è superato per concentrazioni superiori a 252,5 U per la pancreatina, 0,0475 mg per lansoprazolo, 0,0875 mg per esomeprazolo e 0,095 mg per omeprazolo.

invalid

RIFERIMENTI

1. Vanga et al., 2018; Diagnostic Performance of Measurement of Fecal Elastase-1 in Detection of Exocrine Pancreatic Insufficiency – Systematic Review and Meta-analysis
2. Hahn et al., 2008, Low fecal elastase 1 levels do not indicate exocrine pancreatic insufficiency in type-1 diabetes mellitus
3. Creutzfeldt et al., 2005, Follow-Up of Exocrine Pancreatic Function in Type-1 Diabetes mellitus.

[2] Salvo diversamente indicato

REGISTRO DELLE MODIFICHE

Data	Versione	Modifica
2022-07-20	A2	Aggiornamento del capitolo "*Avvertenze e precauzioni*", "*Limitazioni*", "*Confronto tra metodi*" e "*Sostanze interferenti*" Aggiornamento della stabilità degli estratti di elastasi pancreatica a -20°C Revisione del capitolo "*Simboli*", Inserimento del numero dell'organismo notificato al marchio CE – procedura di valutazione della conformità conformemente al Regolamento sui dispositivi diagnostici *in vitro* (IVDR) 2017/746

SEGNALAZIONE DI INCIDENTI NEGLI STATI MEMBRI UE

Si prega di segnalare immediatamente al produttore e alle autorità competenti del proprio paese eventuali incidenti gravi avvenuti in relazione all'uso di questo dispositivo.

DANNI DOVUTI ALLA SPEDIZIONE

Informare il proprio distributore se il prodotto è stato ricevuto danneggiato.

SIMBOLI

BÜHLMANN utilizza i simboli e i segni elencati e descritti nella norma ISO 15223-1.

invalid

CE 0123