

BÜHLMANN fPELA[®] turbo

Ensaio turbidimétrico de elastase pancreática
para uso profissional

Kit de reagentes

B-KPELA-RSET

Versão A2

Para uso em diagnósticos *in vitro*



Fabricante

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Suíça

Telefone: +41 61 487 12 12

Fax: +41 61 487 12 34

info@buhlmannlabs.ch

USO INTENDIDO

O BÜHLMANN fPELA[®] turbo é um teste de diagnóstico *in vitro* para a determinação quantitativa da elastase pancreática em extratos fecais humanos. Os resultados podem ser utilizados para auxiliar na determinação de insuficiência pancreática exócrina em pacientes que sofrem de condições como pancreatite crônica ou fibrose cística, em conjunção com outros resultados laboratoriais e clínicos. O teste BÜHLMANN fPELA[®] turbo é indicado para uso em analisadores químicos clínicos.

Somente para uso laboratorial.

PRINCÍPIO DO ENSAIO

O teste BÜHLMANN fPELA® turbo consiste em um imunoensaio turbidimétrico melhorado por partículas (PETIA) que permite a quantificação automática da elastase pancreática em extratos fecais usando analisadores químicos clínicos. As amostras fecais são extraídas com o tampão de extração usando-se o dispositivo de extração CALEX® Cap, e são aplicadas com uma diluição final de 1:500. Os extratos são incubados com o tampão de reação e misturados a nanopartículas de poliestireno revestidas com anticorpos específicos da elastase pancreática (imunopartículas). A elastase pancreática disponível na amostra realiza a aglutinação das imunopartículas. A turbidez da amostra, medida por absorvância de luz, aumenta com a formação do complexo elastase pancreática-imunopartícula, sendo proporcional à concentração da elastase pancreática. Assim, a absorvância de luz detectada permite a quantificação da concentração da elastase pancreática por meio de interpolação em uma curva de calibração estabelecida.

REAGENTES FORNECIDOS

Reagentes	Quantidade	Código	Preparação
Tampão de reação (R1) MES tamponado salino	1 frasco 27,0 mL	B-KPELA-R1	Pronto para utilização
Imunopartículas (R2) Esferas de poliestireno revestidas com anticorpos de coelho contra a elastase pancreática humana	1 frasco 5,1 mL	B-KPELA-R2	Pronto para utilização

Tabela 1: Reagentes fornecidos

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Reagentes não abertos
Armazenar a uma temperatura na faixa de 2-8 °C. Não use o kit depois da data de validade impressa nos rótulos.
Estabilidade <i>on-board</i>¹
Armazenar fechado por até 3 meses (91 dias) a uma temperatura na faixa de 5-12 °C

Tabela 2: Armazenamento e estabilidade dos reagentes

Não congele os reagentes!

¹ A estabilidade *on-board* foi estabelecida no instrumento Roche cobas® 6000 c501

MATERIAIS NECESSÁRIOS, PORÉM NÃO FORNECIDOS

Reagentes	Quantidade	Código
Kit de calibradores do BÜHLMANN fPELA® turbo Calibradores 1-6 para determinar uma curva de calibração de seis pontos	1 x 6 frascos 1 mL/frasco	B-KPELA-CASET
Kit de controles do BÜHLMANN fPELA® turbo Controles alto e baixo	3 x 2 frascos 1 mL/frasco	B-KPELA-CONSET
Dispositivo CALEX® Cap Dispositivo de extração preenchido com tampão de extração	50 tubos 200 tubos 500 tubos	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500

Tabela 3: Materiais necessários, porém não fornecidos

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- Este teste se destina somente ao uso para diagnóstico *in vitro*.
- Este kit contém componentes classificados de acordo com a Regulamentação (CE) n.º 1272/2008: cloridrato de 2-metil-4-isotioazolin-3-ona (conc. $\geq 0,0015\%$). Portanto, os reagentes podem provocar reações alérgicas na pele (H317).
- Evite o contato dos reagentes com a pele, os olhos ou as membranas mucosas. Em caso de contato, lave imediatamente com quantidades abundantes de água; caso contrário poderá ocorrer irritação.
- Recomenda-se que este teste seja executado por pessoal qualificado, de acordo com os princípios de Boas Práticas Laboratoriais (BPL).
- As imunopartículas contêm substâncias potencialmente infecciosas de origem animal e devem ser manuseadas com cuidado. A disposição dos materiais descartados deve ser executada de acordo com os requisitos locais pertinentes.
- O reagente R1 contém MES (ácido 2-(N-morfolino)etanossulfônico), que pode ser irritante para os olhos e a pele. Manuseie com o devido cuidado.
- O reagente R2 contém nanopartículas de poliestireno.
- As soluções não utilizadas devem ser eliminadas de acordo com a Regulamentação das Entidades Governamentais Locais.

Precauções técnicas

- Equilibre os reagentes, controles, calibradores e amostras conforme descrito nas notas de aplicação.
- A evaporação dos calibradores e controles no analisador também pode gerar resultados incorretos. Execute o ensaio imediatamente depois de carregar o analisador.
- Não misture reagentes R1 e R2 de lotes diferentes, nem troque as tampas dos frascos de reagentes.
- Se o reagente R2 for congelado, não poderá ser mais utilizado.
- O ensaio se destina a extratos de amostras fecais preparados com o dispositivo BÜHLMANN CALEX® Cap.
- Certifique-se de que as amostras não contêm bolhas de ar antes de executar o teste.
- O transporte de resíduos de amostras depende do analisador químico clínico. Para mais informações, consulte a nota de aplicação específica do analisador.

COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

Para o procedimento de extração, menos de 1 g da amostra nativa de fezes é necessário. Colete as amostras de fezes em tubos comuns.

Importante: A amostra deve ser coletada sem nenhum aditivo químico ou biológico.

Transporte e armazenamento das amostras

As amostras de fezes devem ser processadas pelo laboratório até 6 dias depois da coleta. As amostras de fezes podem ser transportadas e armazenadas à temperatura ambiente (até 28 °C) ou refrigeradas. Para períodos mais prolongados de armazenamento, congele as amostras a uma temperatura de -20 °C. Não se recomendam mais de 2 ciclos de congelamento-descongelamento.

EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS DE FEZES E ARMAZENAMENTO DOS EXTRATOS

Amostras líquidas de fezes não podem ser medidas usando-se o teste fPELA® turbo (consulte a seção “Limitações”, a seguir).

Siga as instruções de uso fornecidas com o kit do dispositivo CALEX® Cap. Os extratos de amostras fecais preparados usando-se o dispositivo CALEX® Cap terão uma diluição final de 1:500 e estarão prontos para utilização.

Importante: Deixe o extrato fecal descansar por pelo menos uma hora antes de proceder com a centrifugação e a medição subsequente.

Importante: Centrifugue o dispositivo CALEX® Cap por 10 minutos a 1000 - 3000 x g antes de executar o procedimento do BÜHLMANN fPELA® turbo.

Os extratos de elastase pancreática obtidos com o dispositivo CALEX® Cap permanecem estáveis por 8 dias à temperatura ambiente ($\leq 28\text{ °C}$) ; por 12 dias na faixa de temperatura de 2-8 °C; e por pelo menos 24 meses a -20 °C.

Os extratos do CALEX® Cap podem ser congelados diretamente e armazenados dentro do dispositivo CALEX® Cap. Os extratos podem ser submetidos a até cinco ciclos de congelamento-descongelamento. Antes da medição, deixe os extratos congelados atingirem o equilíbrio à temperatura ambiente, misture bem por agitação com vórtex por 10 segundos e então centrifugue de acordo com as instruções de uso do teste.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Notas de aplicação / instalação do ensaio

Os procedimentos de teste do BÜHLMANN fPELA® turbo foram estabelecidos em diversos analisadores químicos clínicos. Notas de aplicação validadas descrevendo a instalação e análise em instrumentos específicos podem ser fornecidas pela BÜHLMANN mediante solicitação. Os manuais correspondentes devem ser considerados para a instalação, manutenção e operação dos instrumentos em questão, assim como para as precauções pertinentes.

Preparação de reagentes

Os reagentes são fornecidos prontos para serem utilizados. Misture delicadamente antes de carregar no instrumento. Os frascos de reagentes podem ser encaixados diretamente no instrumento, a menos que indicado de outra forma na nota de aplicação.

Determinação da curva de calibração

O kit de calibradores do BÜHLMANN fPELA® turbo é utilizado para determinar uma curva de calibração de seis pontos, de acordo com o manual do instrumento. Os valores dos calibradores são específicos para cada lote. Uma nova calibração deve ser executada para cada novo lote de calibradores e reagentes. Caso contrário, calibrações periódicas deverão ser realizadas a cada um a dois meses, de acordo com as notas de aplicação específicas dos instrumentos. Consulte a folha de dados de CQ fornecida com o kit de calibradores do BÜHLMANN fPELA® turbo para

verificar os valores atribuídos aos calibradores. Entre em contato com o atendimento ao suporte da BÜHLMANN caso a calibração não possa ser realizada sem erros.

Controles de calidad

O kit de controles do BÜHLMANN fPELA® turbo deve ser testado diariamente, antes da execução dos testes com extratos de amostras fecais de pacientes, para validar a curva de calibração. Faixas de valores são atribuídas aos controles, conforme indicado na folha de dados de CQ fornecida com cada lote do kit de controles do BÜHLMANN fPELA® turbo. As medições dos controles devem ficar dentro das faixas de valores indicadas para que resultados válidos sejam obtidos para os extratos de amostras fecais dos pacientes.

Se os valores dos controles não forem válidos, repita a medição usando controles novos. Se os valores de controle continuarem inválidos, recalibre o instrumento. Se os valores de controle não puderem ser reproduzidos depois de os procedimentos acima terem sido executados, entre em contato com o atendimento ao suporte da BÜHLMANN.

Medição de extratos de amostras fecais de pacientes

Uma vez que a curva de calibração tenha sido determinada e validada com os controles, os extratos fecais dos pacientes podem ser medidos. A medição dos extratos fecais deve ser realizada de acordo com a nota de aplicação e com o manual do instrumento.

Resultados

Os resultados são calculados automaticamente no analisador químico clínico e apresentados em $\mu\text{g/g}$, exceto se indicado de outra forma nas notas de aplicação específicas do analisador.

PADRONIZAÇÃO

O BÜHLMANN fPELA® turbo é padronizado contra um material de referência interno.

LIMITAÇÕES

- Amostras fecais com teores elevados de água (amostras fecais líquidas) geram resultados subestimados da concentração de elastase pancreática fecal. Recomenda-se coletar a amostra fecal em um dia diferente.
- Os resultados dos testes devem ser interpretados em conjunto com as informações disponíveis da avaliação clínica do paciente e de outros procedimentos de diagnóstico.

- O risco de diagnósticos falsos negativos é maior para pacientes com insuficiência leve e moderada em comparação a pacientes com insuficiência severa (ref. 1). A utilidade do teste de elastase pancreática fecal é limitada no caso de pacientes com diabetes (ref. 2, 3).
- Estudos de interferência indicam um desvio positivo de 20% em amostras contendo pancreatina (Creon®) correspondente a uma dose diária de 757,5 kU/dia, assumindo-se um peso diário de fezes de 150 g. Esse valor é moderadamente inferior à dose máxima recomendada de 800 kU/dia.
- Estudos de interferência indicam um desvio negativo de 20% em amostras contendo lansoprazol correspondente a uma dose diária de 229,1 mg/dia, assumindo-se um peso diário de fezes de 150 g e um fator de excreção do lansoprazol de 64%. Esse valor é moderadamente superior à dose máxima recomendada de 180 mg/dia.
- Os estudos de interferência indicam um viés negativo de 20% em amostras contendo esomeprazol correspondente a uma dose diária de 266,7 mg/dia. Isto está acima da dose máxima recomendada de 160 mg/dia.
- Os estudos de interferência indicam um viés negativo de 20% em amostras contendo omeprazol correspondendo a uma dose diária de 285,0 mg/dia. Isto está acima da dose máxima recomendada de 120 mg/dia.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Concentração de elastase fecal	Indicação
200 a mais de 500 µg/g	Função pancreática normal
< 200 µg/g	Insuficiência pancreática

Tabela 4: Interpretação dos resultados (ref. 1)

VALORES ESPERADOS

Cento e vinte e oito (128) amostras fecais de voluntários autodeclarados como saudáveis foram medidas usando-se o BÜHLMANN fPELA® turbo. Os seguintes resultados foram obtidos:

Concentração de elastase fecal	Número de sujeitos saudáveis
200 a mais de 500 µg/g	114
< 200 µg/g	14

Tabela 5 (página anterior): Valores esperados

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

As características de desempenho apresentadas foram estabelecidas em um instrumento Roche cobas® 6000 c501, exceto se indicado de outra forma. Consulte as notas de aplicação específicas do analisador para verificar as características de desempenho com outros analisadores químicos clínicos.

Comparação de métodos: BÜHLMANN fPELA® turbo vs. ScheBo® Pancreatic Elastase 1™

O estudo de comparação de métodos foi realizado de acordo com a diretriz EP09-A3 do CLSI. Cento e oito (108) amostras foram medidas usando-se 3 lotes de BÜHLMANN fPELA® turbo por 4 dias. Valores médios de referência, com concentrações de elastase dentro da faixa de 21,0 - 444,9 µg/g, foram estabelecidos com 2 lotes (2 replicatas por lote) do teste ScheBo® Pancreatic Elastase 1™. O desvio foi determinado usando-se análise de regressão linear de Passing-Bablok e análise de Bland-Altman.

Análise de Bland-Altman			Análise de regressão de Passing-Bablok			
Desvio médio (95% do IC)	LoA inferior (95% do IC)	LoA superior (95% do IC)	Inclinação (95% do IC)	Intercepto (95% do IC)	Desvio a 200 µg/g (95% do IC)	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

Reprodutibilidade: 1,9-6,2% do CV

A reprodutibilidade foi estabelecida de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se um arranjo de estudo de 3 instrumentos/lotos x 5 dias x 5 replicatas e um critério de aceitação de 15% do CV. Os testes foram executados nos instrumentos Roche c501, Beckman Coulter AU480 e Mindray BS380. Seis (6) extratos de amostras fecais foram testados.

ID	Média [µg/g]	n	Intraensaio		Interdias		Interlotes/ Interinstrumentos		Total	
			SD [µg/g]	% do CV	SD [µg/g]	% do CV	SD [µg/g]	% do CV	SD [µg/g]	% do 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	1998,6	75	23,8	1,2%	9,5	0,5%	67,4	3,4%	72,1	3,6%

Repetibilidade: 0,6-1,9% do CV

Precisão intralaboratorial: 0,9-2,2% do CV

A repetibilidade e a precisão intralaboratorial foram determinadas de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se o arranjo padronizado de 20 dias x 2 corridas x 2 replicatas e um critério de aceitação de 10% do CV. Seis (6) extratos de amostras fecais foram testados.

ID	Média [µg/g]	n	Intraensaio		Interdias		Interlotes/ Interinstrumentos		Total	
			SD [µg/g]	% do CV	SD [µg/g]	% do CV	SD [µg/g]	% do CV	SD [µg/g]	% do 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	2046,0	80	11,8	0,6%	6,9	0,3%	21,5	1,1%	25,5	1,2%

Reprodutibilidade da extração – CALEX Cap: 6,9-13,8% do CV

A reprodutibilidade da extração foi estabelecida de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se um arranjo de 2 dias x 2 operadores x 3 lotes de CALEX® Cap x 3 extrações x 2 replicatas. Seis (6) amostras fecais clínicas foram testadas.

ID	Média [µg/g]	n	Intraextração		Interextrações		Precisão total	
			SD [µg/g]	% do CV	SD [µg/g]	% do CV	SD [µg/g]	% do 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	2126,5	72	13,9	0,7 %	189,1	8,9%	204,3	9,6%

Precisão / recuperação: 99,8-107,7%

Seis (6) extratos de amostras fecais de amostras clínicas com níveis de elastase variando entre 15,8 e 355,7 µg/g foram fortificados com 55 µg/g de elastase em material de calibrador. A fortificação foi realizada a 10% do volume do extrato da amostra. As amostras de "referência" foram fortificadas com a quantidade correspondente de tampão de extração. As

amostras de "referência" e as de "referência + fortificadas" foram medidas em quatro (4) replicatas.

Arraste das amostras

O arraste das amostras foi determinado de acordo com a diretriz EP10-A2 do CLSI. Nenhum arraste estatisticamente significativo foi detectado com o teste BÜHLMANN fPELA® turbo no instrumento Roche cobas® 6000 c501.

Limite do branco (LoB): 0,8 µg/g

O LoB foi determinado de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI, utilizando-se o método clássico e análise não paramétrica.

Limite de detecção (LoD): 2,3 µg/g

O LoD foi determinado de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI, utilizando-se o método clássico e análise paramétrica.

Limite de quantificação (LoQ): 5,7 µg/g

O LoQ foi determinado de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI, com base em 60 determinações e uma meta de precisão de 20% do CV.

Faixa de linearidade: 3,4 a 5024,2 µg/g

A faixa linear do BÜHLMANN fPELA® turbo foi determinada de acordo com a diretriz EP06-A do CLSI. As amostras com uma concentração acima de 500 µg/g foram diluídas automaticamente a 1:10 pelo analisador. Foi permitido um desvio máximo de 10% ou 10 µg/g da linearidade para amostras abaixo de 100 µg/g.

Efeito gancho com dose elevada

As amostras com concentrações de até 17.231 µg/g podem ser medidas sem limitar a faixa de medição do ensaio. A inclusão de uma verificação de prozona estende a faixa de teste até 18.891 µg/g.

Reatividade cruzada

A reatividade cruzada do teste BÜHLMANN fPELA® turbo com moléculas semelhantes à elastase humana foi avaliada de acordo com a diretriz EP07-A2 do CLSI. Desvios superiores a 10% nos resultados foram considerados como interferências.

Nenhuma reatividade cruzada foi detectada com as seguintes moléculas: quimotripsina suína ou elastase suína a concentrações de 1 µg/mL no extrato da amostra fecal.

Substâncias interferentes

A suscetibilidade do BÜHLMANN fPELA[®] turbo a produtos farmacêuticos orais, suplementos nutricionais e hemoglobina foi avaliada de acordo com a diretriz EP07-A2 do CLSI. Desvios superiores a 10% nos resultados foram considerados como interferências.

Nenhuma interferência foi detectada com as seguintes substâncias (concentração em mg²/ 50 mg de fezes): prednisona (1,5), acetilcisteína (Fluimucil[®]) (1,8), lumacaftor/ivacaftor (Symdeko[®]) (0,8), metformina (3,0), glimepirida (Amaryl[®]) (6,0 µg), ciprofloxacina (Ciproxin[®]) (1,5), Ibuprofen (2,4), multivitamina (Berocca[®]) (15 µg) pantoprazol (Nycomed[®]) (0.16), e hemoglobina (12,5)

Detectou-se interferência com as seguintes substâncias: pancreatina (Creon[®]) (800 U), lansoprazol (Agopton[®]) (0,18), esomeprazol (Esomeprazol-Mepha[®]) (0,16) e omeprazol (Omeprazol-Mepha[®]) (0,12). O ajuste polinomial de viés versus concentração de interferente indicou que o viés de 20% é excedido para concentrações acima de 252,5 U para pancreatina, 0,0475 mg para lansoprazol, 0,0875 mg para esomeprazol e 0,095 mg para omeprazol.

REFERÊNCIAS

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 Exceto se indicado de outra forma

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Data	Versão	Alteração
2022-07-20	A2	Atualizado o capítulo “ <i>Advertências e precauções</i> ”, “ <i>Limitações</i> ”, “ <i>Comparação de métodos</i> ” e “ <i>Substâncias interferentes</i> ” Revisão do capítulo “ <i>Símbolos</i> ” Atualização para elastase pancreática extraí estabilidade em -20°C Incluído o número do órgão notificado na marcação CE - procedimento de avaliação de conformidade de acordo com a regulamentação IVDR 2017/746

NOTIFICAÇÃO DE INCIDENTES EM ESTADOS-MEMBROS DA UE

Se algum incidente sério ocorrer associado a este dispositivo, notifique sem demora o fato ao fabricante e à autoridade competente de seu Estado-Membro.

DANOS DE TRANSPORTE

Informe seu distribuidor caso o produto seja recebido danificado.

SÍMBOLOS

BÜHLMANN utiliza os símbolos e sinais listados e descritos na norma ISO 15223-1.

