

BÜHLMANN fPELA[®] turbo

Турбидиметричен анализ на панкреатична еластаза
за професионална употреба

Комплект реактиви

B-KPELA-RSET
Версия A2

За ин витро диагностична употреба



Производител

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Швейцария

Tel: +41 61 487 12 12

Fax: +41 61 487 12 34

info@buhlmannlabs.ch

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

BÜHLMANN fPELA[®] turbo е *in vitro* диагностичен тест за количествено определяне на панкреатична еластаза в човешки фекални екстракти. Резултатите могат да се използват като помощно средство за определяне на екзокринна панкреатична недостатъчност при пациенти, страдащи от състояния като хроничен панкреатит и кистозна фиброза, във връзка с други лабораторни и клинични находки. Анализът BÜHLMANN fPELA[®] turbo е предназначен за работа с клинични химични анализатори. Само за лабораторна употреба.

ПРИНЦИП НА ИЗПИТВАНЕТО

Тестът BÜHLMANN fPELA® turbo е турбидиметричен имуноанализ с усилване на частиците (PETIA) и позволява автоматизирано количествено определяне на панкреатичната еластаза във фекални екстракти на клинични химични анализатори. Фекалните проби се екстрахират с екстракционен буфер с помощта на устройството за екстракция CALEX® Cap и се прилагат при крайно разреждане от 1:500. Екстрактите се инкубират с реакционен буфер и се смесват с полистиренови наночастици, покрити със специфични за панкреасната еластаза антитела (имуночастици). Панкреасната еластаза, налична в пробата, медира имуночастичната аглутинация. Мътността на пробата, измерена чрез абсорбция на светлина, се увеличава с образуването на комплекс панкреатична еластаза-имуночастици и е пропорционална на концентрацията на панкреатична еластаза. Откритата абсорбция на светлина позволява количествено определяне на концентрацията на панкреатична еластаза чрез интерполация върху установена калибровъчна крива.

ДОСТАВЯНИ РЕАКТИВИ

Реактиви	Количество	Код	Подготовка
Реакционен буфер (R1) MES буфериран физиологичен разтвор	1 флакон 27,0 mL	B-KPELA-R1	Готов за употреба
Имуночастици (R2) Полистиренови перли, покрити със заешки антитела срещу човешка панкреатична еластаза	1 флакон 5,1 mL	B-KPELA-R2	Готов за употреба

Таблица 1: Доставени реагенти

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАГЕНТА

Неотворени реактиви
Съхранявайте при 2-8°C. Не използвайте комплекта с изтекъл срок на годност, отпечатан върху етикетите.
Стабилност на борда ¹
Съхранявайте до 3 месеца (91 дни) при 5-12°C.

Таблица 2: Съхранение и стабилност на реагентите

Не замразявайте реагентите!

¹ Стабилността на борда е установена на инструмента Roche cobas® 6000 c501

ИЗИСКВАНИ МАТЕРИАЛИ, НО НЕ СА ПРЕДОСТАВЕНИ

Реактиви	количество	код
BÜHLMANN fPELA® turbo Комплект калибратор Калибратори 1-6 за създаване на шестточкова калибровъчна крива	1 x 6 флакони 1 mL/флакон	B-KPELA-CASET
BÜHLMANN fPELA® turbo Контролен комплект Контролира ниско и високо	3 x 2 флакони 1 mL/ флакон	B-KPELA-CONSET
CALEX® Cap Устройство за екстракция, пълно с буфер за екстракция	50 туби 200 туби 500 туби	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500

Таблица 3: Необходими, но неосигурени материали

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- Този тест е само за *in vitro* диагностична употреба.
- Този комплект съдържа компоненти, класифицирани в съответствие с Регламент (ЕО) № 1272/2008: 2-метил-4-изотиазолин-3-он хидрохлорид (конц. $\geq 0,0015\%$), поради което реагентите могат да причинят алергични кожни реакции (H317).
- Избягвайте контакт на реагентите с кожата, очите или лигавиците. Ако се случи контакт, незабавно измийте обилно с вода; в противен случай може да възникне дразнене.
- Препоръчва се тестът да се извършва от квалифициран персонал в съответствие с Добрата лабораторна практика (GLP).
- Имуночастиците съдържат потенциално инфекциозни вещества от животински произход и с тях трябва да се работи внимателно. Изхвърлянето на всички изхвърлени материали трябва да бъде в съответствие с местните изисквания.
- R1 съдържа MES (2-(N-морфолино)етансулфонова киселина), който може да дразни очите и кожата. Работете с необходимото внимание.
- R2 съдържа полистиренови наночастици.
- Неизползваният разтвор трябва да се изхвърли в съответствие с местните щатски и федерални разпоредби.

Технически предпазни мерки

- Моля, уравновесете реагентите, контролите, калибраторите и пробите, както е описано в бележката за приложението.
- Изпаряването на калибратори и контроли на анализатора може да доведе до неправилни резултати. Пуснете анализа веднага след зареждане на анализатора.
- Не смесвайте реагенти R1 и R2 от различни партии реагенти и не сменяйте капачките между реагентите.
- Реагент R2, веднъж замразен, не може да се използва повече.
- Анализът е предназначен за проби от фекални екстракти, приготвени с помощта на устройството BÜHLMANN CALEX® Cap.
- Уверете се, че пробите нямат мехурчета, преди да започнете теста.
- Пренасянето на пробата зависи от клиничния химичен анализатор. За повече информация вижте бележката за конкретно приложение на анализатора.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ОБРАЗЦИ

За процедурата на екстракция е необходим по-малко от 1 g нативна проба от изпражненията. Съберете пробата от изпражнения в обикновени епруветки. Важно: Пробата трябва да бъде взета без никакви химически или биологични добавки.

Транспорт и съхранение на проби

Пробите от изпражнения трябва да бъдат обработени от лабораторията в рамките на 6 дни след вземането им. Пробите от изпражнения могат да се транспортират и съхраняват при стайна температура (до 28°C) или в хладилник. За по-дълго съхранение замразете пробите при -20°C. Не се препоръчват повече от 2 цикъла на замразяване-размразяване.

ВЗЕМАНЕ НА ПРОБА ОТ ИЗПРАЖНЕНИЯ И СЪХРАНЕНИЕ НА ЕКСТРАКТИТЕ

Пробите от течни изпражнения не могат да бъдат измерени с помощта на BÜHLMANN fPELA® turbo анализ (вижте раздел „Ограничения“ по-долу).

Следвайте инструкциите за употреба, предоставени с комплекта устройства CALEX® Cap. Екстрактите от фекални проби, приготвени с помощта на устройството CALEX® Cap, ще имат крайно разреждане 1:500 и са готови за употреба.

Важно: Оставете екстракта от изпражнения да престои поне един час, преди да продължите с центрофугиране и последващо измерване.

Важно: Центрофугирайте устройството CALEX® Cap за 10 минути при 1000-3000 x g преди провеждане на процедурата BÜHLMANN fPELA® turbo.

Екстрактите от панкреатична еластаза, получени с устройството CALEX® Cap, са стабилни при стайна температура ($\leq 28^{\circ}\text{C}$) в продължение на 8 дни; при $2-8^{\circ}\text{C}$ за 12 дни и при -20°C за най-малко 24 месеца.

Екстрактите от CALEX® Cap могат да бъдат замразени и съхранявани в устройството CALEX® Cap. Екстрактите могат да бъдат подложени на пет цикъла на замразяване-размразяване. Преди измерване оставете замразените екстракти да се урівновесят до стайна температура, разбъркайте старателно на вортекс за 10 секунди и центрофугирайте съгласно инструкциите за използване на анализа.

ПРОЦЕДУРА ЗА АНАЛИЗ

Бележки за приложението / инсталация на анализа

Процедурите за анализ на BÜHLMANN fPELA® turbo са установени на няколко клинични химични анализатори. Валидирани бележки за приложението, описващи инсталация и анализ на специфични инструменти, са достъпни от BÜHLMANN при поискване. Трябва да се имат предвид съответните ръководства за инструменти за настройка, поддръжка, работа и предпазни мерки.

Подготовка на реагента

Доставените реагенти са готови за употреба. Разбъркайте внимателно, преди да заредите върху инструмента. Бутилките с реагент могат да се поберат директно в инструмента, освен ако не е посочено друго в бележката за приложението.

Създаване на кривата на калибриране

Комплектът Калибратори BÜHLMANN fPELA® turbo се използва за установяване на шестточкова калибровъчна крива според ръководството за инструмента. Стойностите на калибратора са специфични за партидата. Трябва да се извърши ново калибриране за всеки нов калибратор и партида реагент. В противен случай трябва да се извършват периодични калибрации на всеки един до два месеца в съответствие със специфичните бележки за приложение на инструмента. Обърнете се към листа с данни за QC, предоставен с BÜHLMANN fPELA® turbo Калибратор комплект за зададените стойности на калибратора. Свържете се с поддръжката на BÜHLMANN, ако калибрирането не може да се извърши без грешка.

QC контроли

BÜHLMANN fPELA® turbo Контрол комплект трябва да се анализира всеки ден, преди да се пуснат екстракти от фекални проби на пациента, за да се потвърди кривата на калибриране. Контролите имат присвоени диапазони на

стойности, посочени в листа с данни за QC, доставен с всяка партида от BÜHLMANN fPELA® turbo Контрол комплект. Контролните измервания трябва да бъдат в рамките на посочените стойности, за да се получат валидни резултати за екстракти от фекални проби на пациенти.

Ако контролните стойности не са валидни, повторете измерването с нови контроли. Ако контролните стойности останат невалидни, калибрирайте повторно анализа. Ако валидните контролни стойности не могат да бъдат възпроизведени, след извършване на стъпките, описани по-горе, свържете се с поддръжката на BÜHLMANN.

Измерване на екстракт от фекална проба на пациент

След като калибрационната крива бъде установена и валидирана с контролите, могат да се измерват фекални екстракти на пациента. Извършете измерване на фекален екстракт на пациента според бележката за приложение и ръководството за инструмента.

Резултати

Резултатите се изчисляват автоматично на клинично-химичния анализатор и се представят в µg/g, освен ако не е посочено друго в съответните бележки за приложението на анализатора.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ

BÜHLMANN fPELA® turbo е стандартизиран спрямо вътрешен референтен материал.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Високото съдържание на вода в пробата от изпражнения (проби от течни изпражнения) води до подценяване на концентрацията на фекална панкреатична еластаза. Препоръчва се вземане на проби от изпражнения в друг ден.
- Резултатите от теста трябва да се интерпретират във връзка с наличната информация от клиничната оценка на пациента и други диагностични процедури.
- Рискът от фалшиво отрицателна диагноза е по-висок при пациенти с лека и умерена недостатъчност в сравнение с пациенти с тежка недостатъчност (реф. 1). Ползата от изследването на фекална панкреатична еластаза е ограничена при пациенти с диабет (реф. 2, 3).
- Проучванията за интерференция показват положително отклонение от 20% в проби, съдържащи панкреатин (Creon®), съответстващи на дневна доза от 757,5 kU/ден, като се приеме, че дневното тегло на изпражненията е 150 g. Това е умерено под максималната препоръчвана доза от 800 kU/ден.

- Проучванията за интерференция показват отрицателно отклонение от 20% в проби, съдържащи лансопризол, съответстващо на дневна доза от 229,1 mg/ден, като се приеме, че дневното тегло на изпражненията е 150 g и факторът на екскреция на лансопризол е 64%. Това е над максималната препоръчвана доза от 180 mg/ден.
- Проучванията за интерференция показват отрицателна грешка от 20% в проби, съдържащи езомепризол, съответстващи на дневна доза от 266,7 mg/ден. Това е над максималната препоръчвана доза от 160 mg/ден.
- Изследванията за интерференция показват отрицателно отклонение от 20% в пробите съдържащ омепризол, съответстващ на дневна доза от 285,0 mg/ден. Това е над максималната препоръчвана доза от 120 mg/ден.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НА РЕЗУЛТАТА

Концентрация на фекална еластаза	Индикация
200 на >500 µg/g	Нормална функция на панкреаса
<200 µg/g	Панкреатична недостатъчност

Таблица 4: Интерпретация на резултатите (реф.1)

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

Сто и двадесет и осем (128) проби от изпражнения от самодекларирани здрави доброволци бяха измерени с помощта на BÜHLMANN fPELA® turbo. Бяха получени следните резултати:

Концентрация на фекална еластаза	Брой здрави субекти
200 на >500 µg/g	114
<200 µg/g	14

Таблица 5: Очаквани стойности

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА РАБОТА

Представените работни характеристики са установени на инструмент Roche cobas® 6000 c501, освен ако не е посочено друго. Обърнете се към бележките за приложение, специфични за анализатора, за работните характеристики на други анализатори за клинична химия.

Сравнение на методите: BÜHLMANN fPELA® turbo срещу ScheBo® Pancreatic Elastase 1™

Проучването за сравнение на методите е извършено съгласно указанията на CLSI EP09-A3. Сто и осем (108) проби бяха измерени с помощта на 3 партии

BÜHLMANN fPELA® turbo в продължение на 4 дни. Средните референтни стойности, с концентрации на еластаза, попадащи в диапазона от 21,0-444,9 µg/g, бяха установени с 2 партиди (2 повторения на партида) от теста ScheBo® Pancreatic Elastase 1™. Отклонението се определя с помощта на линейна регресия на Passing-Bablok и анализ на Bland-Altman.

Bland-Altman Анализ			Passing-Bablok Регресионен анализ			
Mean bias (95% CI)	Lower LoA (95% CI)	Upper LoA (95% CI)	Slope (95% CI)	Intercept (95% CI)	Bias at 200 µg/g (95% CI)	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

Възпроизводимост: 1,9-6,2% CV

Възпроизводимостта е установена съгласно насоките EP05-A3 на CLSI, като се използва дизайн на изследването 3 инструмента/партиди x 5 дни x 5 повторения и критерий за приемане от 15% CV. Тестването беше извършено на инструменти Roche c501, Beckman Coulter AU480 и Mindray BS380. Бяха анализирани шест (6) екстракта от проби от изпражнения.

ID	средно [µg/g]	n	Между пускания		Между дни		Между партиди/апарати		Общо	
			SD [µg/g]	%CV	SD [µg/g]	%CV	SD [µg/g]	%CV	SD [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	1998,6	75	23,8	1,2%	9,5	0,5%	67,4	3,4%	72,1	3,6%

Повторяемост: 0,6-1,9% CV

Вътрешнолабораторна прецизност: 0,9-2,2% CV

Повторяемостта и вътрешнолабораторната прецизност са установени съгласно ръководството на CLSI EP05-A3, като се използва стандартизиран дизайн на изследването от 20 дни x 2 серии x 2 повторения и критерий за приемане от 10% CV. Бяха анализирани шест (6) екстракта от проби от изпражнения.

ID	Средно [µg/g]	n	Между пускания		Между дните		Между партиди/апарати		Общо	
			SD [µg/g]	%CV	SD [µg/g]	%CV	SD [µg/g]	%CV	SD [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	2046,0	80	11,8	0,6%	6,9	0,3%	21,5	1,1%	25,5	1,2%

Възпроизводимост на екстракцията – CALEX® Cap: 6,9%-13,8% CV

Възпроизводимостта на екстракцията е установена съгласно указанията на CLSI EP05-A3, използвайки 2 дни x 2 оператора x 3 партиди CALEX® Cap x 3 екстракции x 2 реплики на дизайна на изследването. Бяха анализирани шест (6) клинични проби от изпражнения.

ID	Средно [µg/g]	n	Между екстракции		Между екстракции		Обща прецизност	
			SD [µg/g]	%CV	SD [µg/g]	%CV	SD [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	2126,5	72	13,9	0,7%	189,1	8,9%	204,3	9,6%

Точност/ Възстановяване: 99,8-107,7%

Шест (6) екстракта от проби от изпражнения от клинични проби с нива на еластаза, вариращи от 15,8 - 355,7 µg/g, бяха добавени с 55 µg/g еластаза в материал за калибриране. Разпръскването се извършва при 10% от обема на екстракта на пробата. Пробите от „базова линия“ бяха добавени със съответното количество буфер за екстракция. Пробите „базова линия“ и „базова линия + пик“ бяха измерени в четири (4) повторения.

Пренасяне от проба

Пренасянето на пробата е установено съгласно насоките EP10-A2 на CLSI. Не беше открито статистически значимо пренасяне с турбо теста BÜHLMANN fPELA® на инструмент Roche cobas® 6000 c501.

Ограничение на бланка (LoB): 0,8 µg/g

LoB е установен съгласно насоките EP17-A2 на CLSI, използвайки класически подход и непараметричен анализ.

Граница на откриване (LoD): 2,3 µg/g

LoD е установен съгласно насоките EP17-A2 на CLSI, използвайки класическия подход и параметричен анализ.

Ограничение на количественото определяне (LoQ): 5,7 µg/g

Нивото на качество е установено съгласно насоките EP17-A2 на CLSI, въз основа на 60 определяния и цел за прецизност от 20% CV.

Диапазон на линейност: 3,4 to 5024,2 µg/g

Линейният обхват на BÜHLMANN fPELA® turbo е определен съгласно указанието EP06-A на CLSI. Проби с концентрация над 500 µg/g се разреждат автоматично 1:10 от анализатора. Допуска се максимално отклонение от линейността от 10% или 10 µg/g за проби под 100 µg/g.

Ефект на висока доза

Могат да се измерват проби с концентрации до 17'231 µg/g без ограничаване на обхвата на измерване на анализа. Включването на прозонова проверка разширява обхвата на тестване до 18'891 µg/g.

Кръстосана реактивност

Кръстосаната реактивност на BÜHLMANN fPELA® turbo анализ с молекули, подобни на човешката еластаза, беше оценена съгласно насоките на CLSI EP07-A2. Отклонение в резултатите над 10% се счита за намеса.

Не е открита кръстосана реактивност със следните молекули: свински химотрипсин или свинска еластаза при концентрации от 1 µg/mL в екстракт от проба от изпражнения.

Интерферентни вещества

Чувствителността на теста BÜHLMANN fPELA® turbo към перорални фармацевтични продукти, хранителни добавки, както и хемоглобин беше оценена съгласно насоките на CLSI EP07-A2. Отклонение в резултатите над 10% се счита за намеса.

Не е установена интерференция със следните вещества [Концентрация в mg² / 50 mg изпражнения]: преднизон (1,5), ацетилцистеин (Fluimucil®) (1,8); лумакафтор/ивакафтор (Symdeko®) (0,8), метформин (3,0), глимепирид (Amaryl®) (6,0 µg), ципрофлоксацин (Ciproxin®) (1,5), ибупрофен (2,4), мултивитами (Verocca®) (15 µg), пантопразол (Nycomed®) (0,16), хемоглобин (12,5).

Открита е интерференция за следните вещества: панкреатин (Creon®) (800 U), лансопразол (Agopton®) (0,18), езомепразол (Esomeprazol-Mepha®) (0,16),

² Освен ако не е посочено друго

омепразол (Omeprazol-Merpha®) (0,12). Полиномиалното приспособяване на отклонението спрямо интерферентната концентрация показва, че отклонението от 20% е превишено за концентрации над 252,5 U за панкреатин, 0,0475 mg за лансопразол, 0,0875 mg за езомепразол и 0,095 mg за омепразол.

ПРЕПРАТКИ

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.

РЕГИСТРАТОР ЗА ПРОМЕНИ

Дата	Версия	Промяна
2022-07-20	A2	Актуализация на глава „Предупреждения и предпазни мерки“, „Ограничения“, „Сравнение на методите“ и „Интерфериращи вещества“ Актуализация на стабилността на екстрактите от панкреатична еластаза при -20°C Ревизия на глава „Символи“ Включване на номер на нотифициран орган към CE-маркировката – процедура за оценка на съответствието съгласно IVDR 2017/746

ДОКЛАДВАНЕ НА ИНЦИДЕНТИ В ДЪРЖАВИТЕ-ЧЛЕНКИ НА ЕС

Ако е възникнал някакъв сериозен инцидент във връзка с това устройство, моля, докладвайте незабавно на производителя и компетентния орган на вашата държава членка.

ПОВРЕДИ ПРИ ДОСТАВКАТА

Моля, уведомете вашия дистрибутор, ако този продукт е бил получен повреден.

СИМВОЛИ

BÜHLMANN използва символи и знаци, изброени и описани в ISO 15223-1.

