

BÜHLMANN fPELA[®] turbo

Turbidimetrisk pancreaselastase-analyse
til faglig anvendelse

Reagenskit

B-KPELA-RSET

Version A2

Til *in vitro*-diagnostisk anvendelse



Producent

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch
Schweiz
Tel.: +41 61 487 12 12
Fax: +41 61 487 12 34
info@buhlmannlabs.ch

TILSIGTET ANVENDELSE

BÜHLMANN fPELA[®] turbo er en *in vitro*-diagnostisk test til kvantitativ bestemmelse af pancreaselastase i fæcesekstrakter fra mennesker. Resultaterne kan anvendes som et hjælpemiddel til bestemmelse af eksokrin pancreasinsufficiens hos patienter, der lider af sygdomme som for eksempel kronisk pancreatitis og cystisk fibrose, i sammenhæng med andre laboratorieresultater og kliniske resultater. BÜHLMANN fPELA[®] turbo analysen er beregnet til at blive kørt på klinisk kemiske analyseapparater. Kun til laboratorieanvendelse.

ANALYSEPRINCIP

BÜHLMANN fPELA® turbo test er en partikelforstærket turbidimetrisk immunanalyse (PETIA), som muliggør automatiseret kvantificering af pancreaselastase i fæcesekstrakter på klinisk kemiske analyseapparater. Fæcesprøver ekstraheres med ekstraktionsbuffer ved anvendelse af CALEX® Cap ekstraktionsenheden og anvendes i en slutfortynding på 1:500. Ekstrakterne inkuberes med reaktionsbuffer og blandes med polystyrennanopartikler, der er coatet med pancreaselastase-specifikke antistoffer (immunopartikler). Det tilgængelige pancreaselastase i prøverne medierer immunopartikelagglutination. Prøvens turbiditet, målt ved lysabsorbans, stiger med dannelsen af pancreaselastase-immunopartikelkompleks og er proportional med pancreaselastasekoncentrationen. Den målte lysabsorbans muliggør kvantificering af pancreaselastasekoncentrationen ved interpolering på en fastlagt kalibreringskurve.

MEDFØLGENDE REAGENSER

Reagenser	Kvantitet	Kode	Fremstilling
Reaktionsbuffer (R1) MES-bufferet saltvand	1 hætteglas 27,0 mL	B-KPELA- R1	Brugsklar
Immunopartikler (R2) Polystyrenkugler, der er coatet med kaninantistoffer mod human pancreaselastase	1 hætteglas 5,1 mL	B-KPELA- R2	Brugsklar

Tabel 1: Medfølgende reagenser

REAGENSOPBEVARING OG -STABILITET

Uåbnede reagenser
Opbevares ved 2-8 °C. Kittet må ikke anvendes efter den udløbsdato, der er trykt på etiketterne.
Brugsstabilitet¹
Opbevares i op til 3 måneder (91 dage) ved 5-12 °C

Tabel 2: Reagensopbevaring og -stabilitet

Reagenserne må ikke nedfryses!

¹Brugsstabiliteten er fastlagt på et Roche cobas® 6000 c501 instrument

NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER

Reagenser	Kvantitet	Kode
BÜHLMANN fPELA® turbo Kalibratorkit Kalibrator 1-6 til fremstilling af en kalibreringskurve med seks punkter	1 x 6 hætteglas 1 mL/hætteglas	B-KPELA-CASET
BÜHLMANN fPELA® turbo Kontrolkit Lav og høj kontrol	3 x 2 hætteglas 1 mL/hætteglas	B-KPELA-CONSET
CALEX® Cap enhed Ekstraktionsenhed fyldt med ekstraktionsbuffer	50 reagensglas 200 reagensglas 500 reagensglas	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500

Tabel 3: Nødvendige materialer, der ikke medfølger

ADVARSLER OG FORSIGTIGHEDSREGLER

- Denne test er kun til *in vitro*-diagnostisk anvendelse.
- Dette kit indeholder komponenter, der er klassificeret i henhold til forordning (EF) nr. 1272/2008: 2-methyl-2-isothiazolin-3-on (konc. $\geq 0,0015\%$), reagenserne kan således forårsage allergiske hudreaktioner (H317).
- Undgå, at reagenserne kommer i kontakt med hud, øjne eller slimhinder. Hvis der opstår kontakt, skal det berørte område straks vaskes med rigelige mængder vand, da der ellers kan forekomme irritation.
- Det anbefales, at testen udføres af uddannet personale i overensstemmelse med god laboratoriepraksis (GLP).
- Immunopartiklerne indeholder potentielt infektiøse stoffer af animalsk oprindelse og skal håndteres med forsigtighed. Bortskaffelse af eventuelt kasseret materiale skal finde i sted i overensstemmelse med de lokale krav.
- R1 indeholder MES (2-(N-morpholino)ethansulfonsyre), der kan irritere huden og øjnene. Skal håndteres med forsigtighed.
- R2 indeholder polystyren-nanopartikler.
- Ubrugt opløsning skal bortskaffes i henhold til lokale, regionale og nationale regler.

Tekniske forsigtighedsregler

- Reagenser, kontroller, kalibratorer og prøver skal ækvilibreres som beskrevet i applikationsnoten.
- Fordampning af kalibratorer og kontroller på analyseapparatet kan medføre forkerte resultater. Kør analysen umiddelbart efter, at analyseapparatet er fyldt.
- Reagens R1 og R2 fra forskellige lots må ikke blandes, og der må ikke byttes om på reagenshætterne.
- Når R2 har været nedfrosset, kan det ikke længere anvendes.
- Analysen er designet til fæcesekstraktprøver, der er fremstillet ved anvendelse af den specifikke BÜHLMANN CALEX® Cap enhed.
- Kontrollér, at der ikke er bobler i prøverne, før testen køres.
- Carry-over mellem prøver afhænger af det klinisk kemiske analyseapparat. Der findes yderligere oplysninger i den analyseapparat-specifikke applikationsnote.

INDSAMLING OG OPBEVARING AF PRØVER

Til ekstraktionsproceduren kræves der mindre end 1 g nativ afføringsprøve. Afføringsprøven skal indsamles i almindelige reagensglas.

Vigtigt: Prøven skal indsamles uden nogen kemiske eller biologiske additiver.

Transport og opbevaring af prøver

Afføringsprøverne bør behandles på laboratoriet inden for 6 dage efter indsamling. Afføringsprøverne skal transporteres og opbevares ved omgivelsestemperatur (op til 28 °C) eller i køleskab. For længere opbevaring skal prøverne nedfryses ved -20 °C. Mere end 2 nedfrysningsoptøningscyklusser frarådes.

FÆCESPRØVEEKSTRAKTION OG OPBEVARING AF EKSTRAKTET

Flydende afføringsprøver kan ikke måles ved anvendelse af BÜHLMANN fPELA® turbo analysen (se afsnittet "Begrænsninger" i det følgende).

Følg den brugsanvisning, der følger med CALEX® Cap enhedskittet. Fæcesprøveekstrakter fremstillet ved anvendelse af CALEX® Cap enheden vil have en slutfortynding på 1:500 og er klar til brug.

Vigtigt: Lad fæcesekstraktet stå i mindst en time, før du går videre med centrifugering og efterfølgende måling.

Vigtigt: CALEX® Cap enheden skal centrifugeres i 10 minutter ved 1000-3000 x g før kørsel af BÜHLMANN fPELA® turbo proceduren.

Pancreaselastaseekstrakter opnået med CALEX[®] Cap er stabile ved stuetemperatur ($\leq 28\text{ °C}$) i 8 dage, ved 2-8 °C i 12 dage og ved -20 °C i mindst 24 måneder.

CALEX[®] Cap ekstrakter kan nedfryses og opbevares i CALEX[®] Cap enheden. Ekstrakterne kan udsættes for fem nedfrysings-/optøningscyklusser. Nedfrosne ekstrakter skal ækvilibrere til stuetemperatur før måling, vortex-mixes grundigt i 10 sekunder og centrifugeres i henhold til analysens brugsanvisning.

ANALYSEPROCEDURE

Applikationsnoter/analyseinstallation

Analyseprocedurer for BÜHLMANN fPELA[®] turbo er blevet etableret på flere klinisk kemiske analyseapparater. Validerede applikationsnoter, der beskriver installation og analyse på specifikke instrumenter, kan rekvireres hos BÜHLMANN. De tilhørende instrumentmanualer skal følges med hensyn til instrumentopsætning, vedligeholdelse, betjening og forsigtighedsregler.

Reagensfremstilling

De medfølgende reagenser er klar til brug. Bland dem forsigtigt, inden de sættes i instrumentet. Reagensflaskerne passer muligvis direkte ind i instrumentet, medmindre andet er angivet i applikationsnoten.

Fastlæggelse af kalibreringskurven

BÜHLMANN fPELA[®] turbo kalibratorkittet anvendes til at fremstille en kalibreringskurve med seks punkter i henhold til instrumentmanualen. Kalibratorværdierne er lotspecifikke. Der skal foretages en ny kalibrering for hver ny kalibrator- og reagenslot. I øvrigt skal der foretages periodiske kalibreringer hver til hver anden måned i henhold til de instrumentspecifikke applikationsnoter. Se det QC-dataark, der fulgte med BÜHLMANN fPELA[®] turbo kalibratorkittet, for tildelte kalibratorværdier. Kontakt BÜHLMANN support, hvis der ikke kan foretages en fejlfri kalibrering.

QC-kontroller

BÜHLMANN fPELA[®] turbo kontrolkittet skal analyseres hver dag, før der køres fæcesprøveekstrakter fra patienter, for at validere kalibreringskurven. Kontrollerne har tildelte værdiintervaller, der fremgår af det QC-dataark, der følger med hver lot af BÜHLMANN fPELA[®] turbo kontrolkittet. Kontrolmålingerne skal ligge inden for de angivne værdiintervaller, for at der kan opnås valide resultater for fæcesprøveekstrakt fra patienter.

Hvis kontrolværdierne ikke er valide, skal målingen gentages med friske kontroller. Hvis kontrolværdierne fortsat ikke er valide, skal analysen

genkalibreres. Kontakt BÜHLMANN support, hvis det ikke er muligt at reproducere valide kontrolværdier, efter at ovenstående trin er udført.

Måling af fæcesprøveekstrakt fra patienter

Når der er fremstillet en kalibreringskurve, og den er blevet valideret med kontrollerne, kan der måles på fæcesekstrakt fra patienter. Udfør målingerne på fæcesekstrakt fra patienter i henhold til applikationsnoten og instrumentmanualen.

Resultater

Resultaterne beregnes automatisk på det klinisk kemiske analyseapparat og præsenteres i $\mu\text{g/g}$, medmindre andet er angivet i de tilsvarende analyseapparatspecifikke applikationsnoter.

STANDARDISERING

BÜHLMANN fPELA[®] turbo er standardiseret mod et internt referencemateriale.

BEGRÆNSNINGER

- Et højt vandindhold i afføringsprøven (flydende afføringsprøver) medfører underestimering af den fækale pancreaselastasekoncentration. Det anbefales at indsamle afføringsprøven en anden dag.
- Testresultaterne skal fortolkes i sammenhæng med tilgængelige oplysninger fra klinisk vurdering af patienten og andre diagnostiske procedurer.
- Risikoen for en falsk negativ diagnose er højere for patienter med mild og moderat insufficiens sammenlignet med patienter med svær insufficiens (ref. 1). Nyttевærdien af testning for fækal pancreaselastase er begrænset for patienter med diabetes (ref. 2, 3).
- Interferensstudier angiver et positivt bias på 20 % i prøver, der indeholder pancreatin (Creon[®]) svarende til en daglig dosis på 757,5 kE/dag, under antagelse af en daglig afføringsvægt på 150 g. Dette ligger moderat under den maksimale anbefalede dosis på 800 kE/dag.
- Interferensstudier angiver et negativt bias på 20 % i prøver, der indeholder lansoprazol svarende til en daglig dosis på 229,1 mg/dag, under antagelse af en daglig afføringsvægt på 150 g og en lansoprazoludskillelsesfaktor på 64 %. Dette ligger over den maksimale anbefalede dosis på 180 mg/dag.
- Interferensstudier angiver et negativt bias på 20 % i prøver, der indeholder esomeprazol svarende til en daglig dosis på 266,7 mg/dag. Dette ligger over den maksimale anbefalede dosis på 160 mg/dag.

- Interferensstudier angiver et negativt bias på 20 % i prøver, der indeholder omeprazol svarende til en daglig dosis på 285,0 mg/dag. Dette ligger over den maksimale anbefalede dosis på 120 mg/dag.

FORTOLKNING AF RESULTATET

Fækal elastasekoncentration	Indikation
200 til >500 µg/g	Normal pancreasfunktion
<200 µg/g	Pancreasinsufficiens

Tabel 4: Fortolkning af resultatet (ref. 1)

FORVENTEDE VÆRDIER

Et hundrede og otteogtyve (128) afføringsprøver fra selverklæret raske frivillige blev målt med BÜHLMANN fPELA[®] turbo. Følgende resultater blev opnået:

Fækal elastasekoncentration	Antal raske frivillige
200 til >500 µg/g	114
<200 µg/g	14

Tabel 5: Forventede værdier

YDEEVNEKARAKTERISTIKA

De viste ydeevnekaraktistika er blevet fastlagt på et Roche cobas[®] 6000 c501 instrument, medmindre andet er angivet. Ydeevnekaraktistika for andre klinisk kemiske analyseapparater kan findes i de analyseapparatspecifikke applikationsnoter.

Metodesammenligning: BÜHLMANN fPELA[®] turbo vs. ScheBo[®] Pancreatic Elastase 1[™]

Metodesammenligningsforsøget blev udført i henhold til CLSI-retningslinje EP09-A3. Et hundrede og otte (108) prøver blev målt ved anvendelse af 3 lots af BÜHLMANN fPELA[®] turbo over 4 dage. Gennemsnitlige referenceværdier med elastasekoncentrationer i området 21,0-444,9 µg/g blev fastlagt med 2 lots (2 replikater pr. lot) af ScheBo[®] Pancreatic Elastase 1[™] testen. Bias blev bestemt ved anvendelse af Passing-Bablok lineær regression og Bland-Altman analyse.

Bland-Altman analyse			Passing-Bablok regressionsanalyse			
Gennemsnitlig bias (95 % CI)	Nedre LoA (95 % CI)	Øvre LoA (95 % CI)	Hældning (95 % CI)	Skæringspunkt (95 % CI)	Bias ved 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

Reproducerbarhed: 1,9-6,2 % CV

Reproducerbarheden blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved anvendelse af et forsøgsdesign med 3 instrumenter/lots x 5 dage x 5 replikater og et acceptkriterie på 15 % CV. Testning blev udført på instrumenterne Roche c501, Beckman Coulter AU480 og Mindray BS380. Seks (6) afføringsprøveekstrakter blev analyseret.

ID	Gennemsnit [µg/g]	n	Inden for kørsel		Mellem dage		Mellem lots/instrumenter		I alt	
			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 %

Repeterbarhed: 0,6-1,9 % CV

Præcision inden for laboratoriet: 0,9-2,2 % CV

Repeterbarheden og præcisionen inden for laboratoriet blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved anvendelse af det standardiserede forsøgsdesign med 20 dage x 2 kørsler x 2 replikater og et acceptkriterie på 10 % CV. Seks (6) afføringsprøveekstrakter blev analyseret.

ID	Gennemsnit [µg/g]	n	Inden for kørsel		Mellem dage		Mellem lots/instrumenter		I alt	
			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 %
----	--------	----	------	-------	-----	-------	------	-------	------	-------

Ekstraktionsreproducerbarhed – CALEX® Cap: 6,9 %-13,8 % CV

Ekstraktionsreproducerbarheden blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved anvendelse af et forsøgsdesign med 2 dage x 2 operatører x 3 CALEX® Cap lots x 3 ekstraktioner x 2 replikater. Seks (6) kliniske afføringsprøver blev analyseret.

ID	Gennemsnit [µg/g]	n	Inden for ekstraktion		Mellem ekstraktioner		I alt præcision	
			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 %

Nøjagtighed / genfindning: 99,8-107,7 %

Seks (6) afføringsprøveekstrakter fra kliniske prøver med elastaseniveauer i intervallet 15,8 - 355,7 µg/g fik tilsat 55 µg/g elastase i kalibratormateriale. Tilsætning blev udført med 10 % af prøveekstraktvolumenet. "Baseline"-prøver fik tilsat en tilsvarende mængde ekstraktionsbuffer. "Baseline"- og "baseline + tilsætning"-prøver blev målt i fire (4) replikater.

Carry-over mellem prøver

Carry-over mellem prøver blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP10-A2. Der blev ikke påvist nogen statistisk signifikant carry-over med BÜHLMANN fPELA® turbo test på Roche cobas® 6000 c501 instrumentet.

Blindprøvegrænse (LoB): 0,8 µg/g

LoB blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP17-A2 ved anvendelse af den klassiske tilgang og non-parametrisk analyse.

Detektionsgrænse (LoD): 2,3 µg/g

LoD blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP17-A2 ved anvendelse af den klassiske tilgang og parametrisk analyse.

Kvantifikationsgrænse (LoQ): 5,7 µg/g

LoQ blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP17-A2 baseret på 60 bestemmelser og et præcisionsmål på 20 % CV.

Linearitetsområde: 3,4 til 5024,2 µg/g

Det lineære område for BÜHLMANN fPELA® turbo blev bestemt i henhold til CLSI-retningslinje EP06-A. Prøver med en koncentration over 500 µg/g blev automatisk fortyndet 1:10 af analyseapparatet. En maksimal afvigelse fra linearitet på 10 % eller 10 µg/g for prøver under 100 µg/g var tilladt.

Højdosishook-effekt

Prøver med koncentrationer på op til 17,231 µg/g kan måles uden at begrænse analysens måleområde. Inklusion af en prozone-kontrol udvider testningsområdet op til 18,891 µg/g.

Krydsreaktivitet

BÜHLMANN fPELA® turbo analysens krydsreaktivitet med molekyler, der ligner human elastase, blev vurderet i henhold til CLSI-retningslinje EP07-A2. Bias i resultaterne på over 10 % blev betragtet som interferens.

Der blev ikke påvist krydsreaktivitet med følgende molekyler: porcine chymotrypsin eller porcine elastase ved koncentrationer på 1 µg/mL i afføringsprøveekstrakt.

Interfererende stoffer

BÜHLMANN fPELA® turbo analysens følsomhed over for perorale lægemidler, kosttilskud samt hæmoglobin blev vurderet i henhold til CLSI-retningslinje EP07-A2. Bias i resultaterne på over 10 % blev betragtet som interferens.

Der blev ikke påvist interferens med følgende stoffer [koncentration i mg²/50 mg afføring]: Prednison (1,5), acetylcystein (Fluimucil®) (1,8); lumacaftor/ivacaftor (Symdeko®) (0,8), metformin (3,0), glimepirid (Amaryl®) (6,0 µg), ciprofloxacin (Ciproxin®) (1,5), ibuprofen (2,4), multivitamin (Berocca®) (15 µg), pantoprazol (Nycomed®) (0,16), hæmoglobin (12,5).

Der blev påvist interferens for følgende stoffer: pancreatin (Creon®) (800 U), lansoprazol (Agopton®) (0,18), esomeprazol (Esomeprazol-Mepha®) (0,16), omeprazol (Omeprazol-Mepha®) (0,12). Polynomial fitting af bias versus interferentkoncentration viste, at bias på 20 % er overskredet for koncentrationer over 252,5 U for pancreatin, 0,0475 mg for lansoprazol, 0,0875 mg for esomeprazol og 0,095 mg for omeprazol.

² Medmindre andet er angivet

REFERENCER

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.

ÆNDRINGSLOG

Dato	Version	Ændring
2022-07-20	A2	Opdatering af kapitlerne "Advarsler og forsigtighedsregler", "Begrænsninger", "Metodesammenligning" og "Interfererende stoffer" Opdatering af pancreaselastaseekstrakters stabilitet ved -20°C Revision af kapitlet "Symboler" Tilføjelse af nummer på bemyndiget organ til CE-mærke – overensstemmelsesvurderingsprocedure i henhold til IVDR 2017/746

HÆNDELSESINDBERETNING I EU-MEDLEMSLANDE

En hvilken som helst alvorlig hændelse, der har forekommet med denne anordning, skal omgående indberettes til producenten og den kompetente myndighed i dit medlemsland.

TRANSPORTSKADER

Underret din forhandler, hvis produktet modtages i beskadiget stand.

SYMBOLER

BÜHLMANN anvender de symboler og tegn, der er anført og beskrevet i ISO 15223-1.

