

BÜHLMANN fPELA[®] turbo

Pankreasna elastaza turbidimetrijski test
Za profesionalnu upotrebu

Reagent Kit

B-KPELA-RSET
Verzija A2

za *in vitro* dijagnostičku upotrebu



Proizvođač

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Švajcarska

Tel.: +41 61 487 12 12

Fax: +41 61 487 12 34

info@buhlmannlabs.ch

NAMENA

BÜHLMANN fPELA[®] turbo je *in vitro* dijagnostički test za kvantitativno određivanje pankreasne elastaze u ekstraktima humanog fecesa. Rezultati se mogu koristiti kao pomoć pri određivanju egzokrine insuficijencije pankreasa kod pacijenata koji su oboljeli kao što su hronični pankreatitis i cistična fibroza, u kombinaciji sa drugim laboratorijskim i kliničkim nalazima. BÜHLMANN fPELA[®] turbo je namenjen za rad na analizatorima za kliničku hemiju. Samo za laboratorijsku upotrebu.

PRINCIP TESTA

BÜHLMANN fPELA® turbo test je particle enhanced turbidimetric immunoassay (PETIA) i omogućava automatizovanu kvantifikaciju pankreasne elastaze u ekstraktima fecesa, na analizatorima za kliničku hemiju. Uzorci fecesa se ekstrahuju puferom za ekstrakciju pomoću CALEX® Cap sistema za ekstrakciju i koriste se u konačnom razblaženju od 1:500. Ekstrakti se inkubiraju sa reakcionim puferom i mešaju sa nanočesticama polistirena obloženim antitelima (imunopartikulama) specifičnim za pankreasnu elastazu. Pankreasna elastaza u uzorku posreduje u aglutinaciji imunopartikula. Zamućenost uzorka, merena putem apsorpcije svetlosti, raste sa formiranjem kompleksa pankreasna elastaza-immunopartikule i proporcionalna je koncentraciji pankreasne elastaze. Detektovana apsorbanca svetlosti omogućava kvantifikaciju koncentracije pankreasne elastaze interpolacijom na utvrđenoj kalibracionoj krivoj.

OBEZBEĐENI REAGENSI

Reagensi	Količina	Kod	Priprema
Reaction Buffer (R1) Fiziološki rastvor puferovan MES-om	1 bočica 27,0 mL	B-KPELA-R1	Spreman za upotrebu
Imunopartikule (R2) Partikule od polistirena obložene zečjim antitelima na humanu pankreasnu elastazu	1 bočica 5,1 mL	B-KPELA-R2	Spreman za upotrebu

Tabela 1: Obezbeđeni reagensi

ČUVANJE I STABILNOST REAGENASA

Neotvoreni reagensi
Čuvati na 2-8 °C. Ne koristiti kit nakon isteka roka upotrebe koji je odštampan na nalepnici.
On-board stabilnost¹
Čuvati do 3 meseca (91 dan) na 5-12 °C.

Tabela 2: Čuvanje i stabilnost reagenasa

NE ZAMRZAVATI REAGENSE!

¹On-board stabilnost na Roche cobas® 6000 c501 instrumentu

MATERIJALI KOJI SU POTREBNI I NISU OBEZBEĐENI

Reagensi	Količina	Kod
BÜHLMANN fPELA® turbo Calibrator Kit Kalibratori 1-6 sadrže određene koncentracije rekombinantne humane pankreasne elastaze	1 x 6 bočice 1 mL/bočici	B-KPELA-CASET
BÜHLMANN fPELA® turbo Control Kit Kontrole visokih i niskih vrednosti	3 x 2 bočice 1 mL/ bočici	B-KPELA-CONSET
CALEX® Cap sistem Sistem za ekstrakciju sa ekstrakcionim puferom	50 tuba 200 tuba 500 tuba	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500

Tabela 3: Materijali koji su potrebni i nisu obezbeđeni

UPOZORENJA I PREDOSTROŽNOSTI

- Ovaj test je namenjen isključivo za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.
- Ovaj kit sadrži komponente klasifikovane u skladu sa Uredbom (EC) br. 1272/2008: 2-metil-2-izotiazolin-3-on (konc. $\geq 0,0015\%$), tako da reagensi mogu izazvati alergijske reakcije kože (H317).
- Sprečiti kontakt reagensa sa kožom, očima ili sluzokožom. Ako dođe do kontakta, odmah oprati sa dosta vode; u suprotnom može doći do iritacije.
- Preporučuje se da testom rukuje kvalifikovano osoblje, u skladu sa smernicama Dobre laboratorijske prakse (DLP).
- Imunopartikule sadrže potencijalno infektivne supstance animalnog porekla i sa njima treba postupati oprezno. Odlaganje svih odbačenih materijala treba da bude u skladu sa lokalnim zahtevima.
- R1 sadrži MES (2-(N-morfolino) etansulfonsku kiselinu) koja može da iritira oči i kožu. Rukovati sa oprezom.
- R2 sadrži nanopartikule polistirena.
- Neiskorišćeni rastvor treba odložiti u skladu sa lokalnim i državnim propisima.

Tehničke predostrožnosti

- Pre merenja omogućiti da reagensi, kontrole, kalibratori i uzorci dostignu sobnu temperaturu, kako je opisano u napomeni o primeni.
- Isparavanje kalibratora i kontrola na analizatoru može dovesti do netačnih rezultata. Otpočeti test odmah nakon postavljanja u analizator.
- Ne kombinovati reagens R1 i R2 različitih lotova reagensa i ne menjati čepove reagenasa.
- Ako se Reagens R2 zamrzne, više se ne može koristiti.
- Test je dizajniran za ekstrahovane uzorke fecesa pripremljene korišćenjem BÜHLMANN CALEX® Cap sistema.
- Proveriti da uzorci nemaju mehuriće pre pokretanja testa.
- Prenosjenje uzorka zavisi od analizatora. Za više informacija pogledati aplikaciju specifičnu za analizator.

SAKUPLJANJE I ČUVANJE UZORAKA

Za proceduru ekstrakcije potrebno je manje od 1 g nativnog uzorka fecesa. Sakupiti uzorak fecesa u obične epruvete.

Važno: Uzorak se mora uzeti bez ikakvih hemijskih ili bioloških dodataka.

Transport i čuvanje uzoraka

Uzorke fecesa treba obraditi u laboratoriji u roku od 6 dana od uzimanja. Uzorci fecesa se mogu transportovati i čuvati na ambijentalnoj temperaturi (do 28 °C) ili u frižideru. Za duže skladištenje, zamrznuti uzorke na -20 °C. Ne preporučuje se više od 2 ciklusa zamrzavanja i odmrzavanja.

EKSTRAKCIJA UZORAKA FECESA I ČUVANJE EKSTRAKTA

Tečni uzorci fecesa ne mogu se koristiti za merenje pomoću BÜHLMANN fPELA® turbo testa (pogledati odeljak “Ograničenja” dole).

Slediti uputstva data sa CALEX® Cap sistemom. Ekstrakti uzoraka fecesa pripremljeni pomoću CALEX® Cap sistema imaju finalno razblaženje od 1:500 i spremni su za upotrebu.

Važno: Ostaviti ekstrakte uzoraka fecesa da stoje najmanje jedan sat pre centrifugiranja i merenja nakon toga.

Važno: Centrifugirati CALEX® Cap sistem 10 minuta na 1000-3000 x g pre započinjanja BÜHLMANN fPELA® turbo procedure.

Ekstrakti pankreasne elastaze dobijeni sa CALEX® Cap sistemom stabilni su na sobnoj temperaturi (≤ 28 °C) 8 dana; na 2-8 °C 12 dana i na -20 °C najmanje 24 meseca.

CALEX® Cap ekstrakti se mogu zamrznuti i čuvati u CALEX® Cap sistemu. Ekstrakti mogu biti podvrgnuti pet ciklusa zamrzavanja i odmrzavanja. Pre merenja, ostaviti zamrznute ekstrakte da dostignu sobnu temperaturu, dobro mešati 10 sekundi i centrifugirati u skladu sa uputstvima za upotrebu testa.

PROCEDURA TESTIRANJA

Napomene o aplikaciji / postavljanju testa

Procedure ispitivanja za BÜHLMANN fPELA® turbo su ustanoveljne na nekoliko analizatora za kliničku hemiju. Potvrđene napomene o primeni koje opisuju instalaciju i analizu na određenim instrumentima su dostupne od BÜHLMANN-a na zahtev. Za podešavanje, održavanje, rad i mere predostrožnosti moraju se uzeti u obzir odgovarajući priručnici za instrumente.

Priprema reagensa

Isporučeni reagensi su spremni za upotrebu. Pažljivo promućkati pre stavljanja u instrument. Boce reagensa mogu direktno da se postave u instrument, osim ako nije drugačije navedeno u napomeni o primeni.

Uspostavljanje kalibracione krive

BÜHLMANN fPELA® turbo Calibrator Kit se koristi za uspostavljanje kalibracione krive u šest tačaka, prema priručniku za instrument. Vrednosti kalibratora su specifične za lot. Nova kalibracija se mora izvršiti za svaki novi kalibrator i lot reagensa. U suprotnom, periodične kalibracije treba obaviti svakih jedan do dva meseca, u skladu sa aplikacijama specifičnim za instrument. Za dodeljene vrednosti kalibratora pogledati QC list koji se dobija uz BÜHLMANN fPELA® turbo Calibrator Kit. Ako se kalibracija ne može izvršiti bez greške kontaktirati BÜHLMANN podršku.

QC kontrole

BÜHLMANN fPELA® turbo Control Kit treba testirati svaki dan pre nego što se ispituju ekstrakti uzoraka fecesa pacijenta, da bi se utvrdila kalibraciona kriva. Kontrole imaju dodeljene opsege vrednosti naznačene na QC listu isporučenom sa svakim setom BÜHLMANN fPELA® turbo Control Kita. Da bi se dobili validni rezultati za ekstrakte uzoraka fecesa pacijenta kontrolna merenja moraju biti unutar naznačenih opsega vrednosti.

Ako kontrolne vrednosti nisu važeće, ponoviti merenje sa novim kontrolama. Ako kontrolne vrednosti ostanu nevažeće, ponovo kalibrisati test. Ako se važeće kontrolne vrednosti ne mogu reprodukovati, nakon izvođenja gore opisanih koraka, kontaktirati BÜHLMANN podršku.

Merenje ekstrahovanog uzorka fecesa pacijenta

Kada se kalibraciona kriva ustanovi i validira pomoću kontrola, mogu se meriti ekstrakti fecesa pacijenata. Izvršiti merenje ekstrakta fecesa pacijenta u skladu sa napomenom o primeni i priručnikom za instrument.

Rezultati

Analizator automatski izračunava rezultate i predstavlja ih u $\mu\text{g/g}$ osim ako nije drugačije navedeno u odgovarajućim aplikacionim napomenama specifičnim za analizator.

STANDARDIZACIJA

BÜHLMANN fPELA[®] turbo je standardizovan u odnosu na interni referentni materijal.

OGRANIČENJA

- Visok sadržaj vode u uzorku fecesa (uzorci tečne stolice) dovodi do snizenih koncentracija fekalne pankreasne elastaze. Preporučuje se uzimanje uzoraka fecesa drugog dana.
- Rezultate testa treba tumačiti u vezi sa informacijama dobijenih kliničkom procenom pacijenta i drugim dijagnostičkim procedurama.
- Rizik od lažno negativne dijagnoze je veći kod pacijenata sa blagom i umerenom insuficijencijom u poređenju sa pacijentima sa teškom insuficijencijom (ref. 1). Korisnost testiranja fekalne pankreasne elastaze je ograničena kod pacijenata sa dijabetesom (ref. 2, 3).
- Studije interferencije ukazuju na pozitivan bias od 20% u uzorcima koji sadrže pankreatin (Creon[®]) koji odgovara dnevnoj dozi od 757,5 kU/dan, pod pretpostavkom da je dnevna težina fecesa 150 g. Ovo je umereno ispod maksimalne preporučene doze od 800 kU/dan.
- Studije interferencije ukazuju na negativan bias od 20% u uzorcima koji sadrže lansoprazol koji odgovara dnevnoj dozi od 229,1 mg/dan, uz pretpostavku dnevne težine fecesa od 150 g i faktora izlučivanja lansoprazola od 64%. Ovo je iznad maksimalne preporučene doze od 180 mg/dan.
- Studije interferencije ukazuju na negativan bias od 20% u uzorcima koji sadrže esomeprazol koji odgovara dnevnoj dozi od 266,7 mg/dan. Ovo je iznad maksimalne preporučene doze od 160 mg/dan.
- Studije interferencije ukazuju na negativan bias od 20% u uzorcima koji sadrže omeprazol koji odgovara dnevnoj dozi od 285,0 mg/dan. Ovo je iznad maksimalne preporučene doze od 120 mg/dan.

INTERPRETACIJA REZULTATA

Koncentracije elastaze u fecesu	Indikacija
200 do >500 µg/g	Normalna funkcija pankreasa
<200 µg/g	Insuficijencija pankreasa

Tabela 4: Interpretacija rezultata (ref. 1)

OČEKIVANE VREDNOSTI

Stotinu dvadeset i osam (128) uzoraka fecesa zdravih dobrovoljaca izmereno je pomoću BÜHLMANN fPELA® turbo. Dobijeni su sledeći rezultati:

Koncentracije elastaze u fecesu	Broj zdravih dobrovoljaca
200 do >500 µg/g	114
<200 µg/g	14

Tabela 5: očekivane vrednosti

KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

Prikazane karakteristike performansi su utvrđene na Roche cobas® 6000 c501 instrumentu, osim ako nije drugačije naznačeno. Pogledati aplikaciju specifičnu za analizator za karakteristike performansi drugih analizatora.

Metod poređenja: BÜHLMANN fPELA® turbo vs ScheBo® Pancreatic Elastase 1™

Studija metoda poređenja je sprovedena prema CLSI smernici EP09-A3. Sto osam (108) uzoraka je mereno korišćenjem 3 lota BÜHLMANN fPELA® turbo testa tokom 4 dana. Srednje referentne vrednosti, sa koncentracijom elastaze u opsegu od 21,0-444,9 µg/g, ustanovljene su sa 2 lota (2 ponavljanja po seriji) ScheBo® Pancreatic Elastase 1™ testa. Bias je određen korišćenjem Passing-Bablokove linearne regresije i Bland-Altman analize.

Bland-Altman analiza			Passing-Bablok regresiona analiza			
Srednji bias (95% CI)	Donji LoA (95% CI)	Gornji LoA (95% CI)	Slope (95% CI)	Intercept (95% CI)	Bias na 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

Reproducibilnost: 1,9-6,2% CV

Reproducibilnost je utvrđena u skladu sa CLSI smernicom EP05-A3 korišćenjem 3 instrumenta/lota x 5 dana x 5 ponavljanja i kriterijuma prihvatanja od 15% CV. Testiranje je obavljeno na instrumentima Roche c501, Beckman Coulter AU480 i Mindray BS380. Ispitano je šest (6) ekstrakata uzoraka fecesa.

ID	Sred. vred. [µg/g]	n	Unutar serije		Između dana		Između lotova/instrumenata		Ukupno	
			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%

Ponovljivost: 0,6-1,9% CV

Preciznost unutar laboratorije: 0,9-2,2% CV

Ponovljivost i preciznost unutar laboratorije utvrđene su prema CLSI smernici EP05-A3 korišćenjem standardizovanog dizajna studije od 20 dana x 2 ciklusa x 2 ponavljanja i kriterijuma prihvatanja od 10% CV. Ispitano je šest (6) ekstrakata uzoraka fecesa.

ID	Sred. vred. [µg/g]	n	Sred.vred.		Između dana		Između lotova/instrumenata		Ukupno	
			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%

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

Reproducibilnost ekstrakcije je utvrđena prema CLSI smernicama EP05-A3 tokom 2 dana x 2 operatera x 3 CALEX® Cap lota x 3 ekstrakata x 2 ponavljanja. Ispitano je šest (6) kliničkih uzoraka fecesa.

ID	Sred.vred. [µg/g]	n	Unutar ekstrakcije		Između ekstrakcija		Ukupna preciznost	
			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%

Tačnost / Recovery: 99,8-107,7%

U šest (6) ekstrakata uzoraka fecesa iz kliničkih uzoraka sa nivoima elastaze u rasponu od 15,8 – 355,7 µg/g, dodato je 55 µg/g elastaze u kalibratoru. Dodavanje je izvršeno na 10% zapremine ekstrakta uzorka. U „osnovne“ uzoke dodate su odgovarajuće količine pufera za ekstrakciju. „Osnovni“ i „osnovni + spajk“ uzorci su mereni u četiri (4) ponavljanja.

Prenošenje uzoraka

Prenošenje uzoraka je utvrđeno prema CLSI smernicama EP10-A2. Nije bilo statistički značajnog prenošenja sa BÜHLMANN fPELA® turbo testom na Roche cobas® 6000 c501 aparatu.

Limit slepe probe (LoB): 0,8 µg/g

LoB je ustanovljen u skladu sa CLSI smernicama EP17-A2 upotrebom klasičnog pristupa i neparametarske analize.

Limit detekcije (LoD): 2,3 µg/g

LoD je ustanovljen u skladu sa CLSI smernicama EP17-A2 upotrebom klasičnog pristupa i parametarske analize.

Limit kvantifikacije (LoQ): 5,7 µg/g

LoQ je ustanovljen u skladu sa CLSI smernicama EP17-A2, na osnovu 60 određivanja i cilja preciznosti od 20% CV.

Opseg linearnosti: 3,4 do 5024,2 µg/g

Linearni opseg BÜHLMANN fPELA[®] turbo je određen prema CLSI smernici EP06-A. Uzorci sa koncentracijom preko 500 µg/g automatski su razblaženi u analizatoru u odnosu 1:10. Dozvoljeno je maksimalno odstupanje linearnosti od 10% ili 10 µg/g, za uzorke ispod 100 µg/g.

Visokodozni Hook efekat

Uzorci sa koncentracijama do 17'231 µg/g mogu se meriti bez ograničenja opsega merenja testa. Uključujući proveru prozone, opseg testiranja proširuje se do 18'891 µg/g.

Unakrsna reaktivnost

Unakrsna reaktivnost BÜHLMANN fPELA[®] turbo testa sa molekulima sličnim humanoj elastazi je procenjena prema CLSI smernici EP07-A2. Bias rezultata koji prelazi 10% smatrao se interferencijom.

Nije detektovana unakrsna reaktivnost sa sledećim molekulima: svinjski himotripsin ili svinjska elastaza u koncentracijama od 1 µg/mL u ekstraktu uzorka fecesa.

Interferirajuće supstance

Osetljivost BÜHLMANN fPELA[®] turbo testa na oralne lekove, dodatke ishrani i hemoglobin je procenjena prema CLSI smernici EP07-A2. Bias rezultata koji prelazi 10% smatrao se interferencijom.

Nije detektovana interferencija sa sledećim supstancama [koncentracije u mg² / 50 mg fecesa]: Prednisone (1,5), acetilcistein (Fluimucil[®]) (1,8); lumakaftor/ivakaftor (Symdeko[®]) (0,8), metformin (3,0), glimepirid (Amaryl[®]) (6,0 µg), ciprofloxacina (Ciproxin[®]) (1,5), ibuprofen (2,4), multivitamin (Berocca[®]) (15 µg), pantoprazol (Nycomed[®]) (0,16), hemoglobin (12,5).

Interferencija je detektovana sa sledećim supstancama: pankreatin (Creon[®]) (800 U), lansoprazol (Agopton[®]) (0,18), esomeprazol (Esomeprazol-Mepha[®]) (0,16), omeprazol (Omeprazol-Mepha[®]) (0,12). Polinomsko uklapanje pristrasnosti u odnosu na koncentraciju interferirajućih supstanci je pokazalo da je bias od 20% prekoračen za koncentracije iznad 252,5 U za pankreatin, 0,0475 mg za lansoprazol, 0,0875 mg za esomeprazol i 0,095 mg za omeprazol.

²Osim ako nije drugačije navedeno

REFERENCE

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

LOG IZMENA

Datum	Verzija	Izmena
2022-07-20	A2	Ažuriranje odeljaka „upozorenja i mere predostrožnosti“, „ograničenja“, „poređenje metoda“ i „interferirajuće supstance“ Ažuriranje stabilnosti ekstrahovane pankreasne elastaze na -20 °C Revizija odeljka “simboli” Notifikovanog tela CE znaku – postupak ocenjivanja usaglašenosti sa IVDR 2017/746

IZVEŠTAVANJE O INCIDENTIMA U ZEMLJAMA EU

Ako se desio bilo kakav ozbiljan incident u vezi sa ovim medicinskim sredstvom, molimo da ga bez odlaganja prijavite proizvođaču i nadležnom organu svoje države članice EU.

OŠTEĆENJE PRILIKOM TRANSPORTA

Ukoliko ste proizvod primili u oštećenom stanju, molimo da kontaktirate svog distributera.

SIMBOLI

BÜHLMANN koristi simbole i oznake navedene u ISO 15223-1 standardu

