

Elaprest Turbo

Immunoturbidimetric assay for quantitative detection of pancreatic elastase from fecal specimens



REF 9298

INTENDED PURPOSE

Elaprest Turbo is a quantitative latex turbidimetric assay for specifically detecting the concentration of fecal human pancreatic elastase E1 that is intended to aid in the evaluation of pancreatic exocrine functionality. For professional use only.

TEST PRINCIPLE

Pancreatic elastase E1 is an enzyme produced and secreted by the pancreas which, thanks to its proteolytic activity, promotes the digestion of food ingested as it passes through the gastrointestinal tract. Unlike other pancreatic enzymes, pancreatic elastase is not significantly degraded during intestinal transit, therefore determining the concentration of this marker in the stool allows to evaluate the exocrine functionality of the pancreas¹. The use of pancreatic elastase as a biological marker in fecal samples makes it possible to distinguish patients with pancreatic exocrine insufficiency (PEI) from those with similar symptoms (abdominal pain, vomiting and diarrhoea), attributable, however, to other pathologies such as peptic ulcer, Crohn's disease and ulcerative colitis²⁻⁴.

Elaprest Turbo is a particle-enhanced turbidimetric immunoassay (PETIA) for the quantitative detection of pancreatic elastase in human stool samples. The test was designed to be used on several automated analyzers. It is easy to use, widely applicable and the results are obtained in a very short period of time. **Elaprest Turbo** is based on the in vitro agglutination of antibodies anti-pancreatic elastase coated polystyrene latex particles with the pancreatic elastase antigen present in the analyzed solution. If there is no pancreatic elastase present in the sample, the mixture will keep its smooth appearance. With the presence of pancreatic elastase, the turbidity of the medium will increase after the aggregation of the antigen with the antibodies on the latex particles. Such turbidity is measured as an increase in absorbance at the determinate wavelength and is proportional to the quantity of pancreatic elastase present in the sample. Compared to normal values, a low concentration of pancreatic elastase in the feces indicates a reduced function of the pancreas, a direct consequence of PEI.

MATERIALS PROVIDED (QUANTITY SUFFICIENT FOR AT LEAST 100 TESTS)

Component	Quantity	Cap color	Composition
Elaprest Turbo Reagent 1	1 bottle x 24 ml		Enhancer reagent, ready to use
Elaprest Turbo Reagent 2	1 bottle x 4 ml		Solution with latex particles coated with antibodies against human pancreatic elastase, ready to use
Elaprest Turbo Calibrator 0	1 vial x 1 ml	Yellow	Pancreatic elastase solution (0 µg/g), ready to use
Elaprest Turbo Calibrator 1	1 vial x 1 ml	Pink	Pancreatic elastase solution (25 µg/g), ready to use
Elaprest Turbo Calibrator 2	1 vial x 1 ml	Red	Pancreatic elastase solution (50 µg/g), ready to use
Elaprest Turbo Calibrator 3	1 vial x 1 ml	Violet	Pancreatic elastase solution (100 µg/g), ready to use
Elaprest Turbo Calibrator 4	1 vial x 1 ml	Green	Pancreatic elastase solution (200 µg/g), ready to use
Elaprest Turbo Calibrator 5	1 vial x 1 ml	Blue	Pancreatic elastase solution (400 µg/g), ready to use
Elaprest Turbo Control 1	2 vials x 1 ml	White	Human recombinant pancreatic elastase in buffer solution ready to use, do not dilute The range of values is printed on the label
Elaprest Turbo Control 2	2 vials x 1 ml	Brown	Human recombinant pancreatic elastase in buffer solution ready to use, do not dilute The range of values is printed on the label

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Specimen container.
- Transport container.
- Disposable gloves and laboratory equipment.
- Stool sample collection device (*i.e.* **EasyCal Turbo** ref. 9302).
- Disposable, breakable sterile inoculation loops or wooden stick (if using fecal manual extraction method described on page 2).
- Disposable screw cap tubes, 14 ml (if using fecal manual extraction method described on page 2).
- Extraction solution 1x (**Calprest Turbo** Extraction kit ref. 9299, if using fecal manual extraction method described on page 2).
- Microcentrifuge tubes (1-1.5 ml).
- Sensitive digital scale (40-150 mg) (if using fecal manual extraction method described on page 2).
- Vortex mixer.
- Shaker or roller (if using fecal manual extraction method described on page 2).
- Microcentrifuge (10,000 x g) (if using fecal manual extraction method described on page 2).
- Precision pipettes.

Equipment for turbidimetric measurements

Any turbidimetric automated analyzer; for the instrument-specific protocol, see additional Application note.

STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS AND WORKING SOLUTIONS

- All reagents and working solutions must be stored at 2-8°C.
- The expiration date is printed on all component labels.
- Avoid exposure to high temperature, direct sunlight or extreme humidity.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

- Patient specimens and samples should be handled in accordance with Good Laboratory Practice (GLP) using appropriate precautions and anyway as if capable of transmitting infections.
- For *in vitro* diagnostic use.
- The kit does not contain materials of human origin.
- A trained person in turbidimetric technique and autoanalyzer use is required.
- Do not exchange components from different lots. Good performance can only be guaranteed by using components from the same lot of **Elaprest Turbo**.
- Do not mix screw caps from different reagent vials.
- The analyzer should be ready before performing any assay.
- Components must not be used after the expiry date printed on the labels.
- If the outer packaging is damaged, ensure that all components listed in the “Materials Provided” section are present and intact. In case of leakage of liquid from the bottles, the kit must not be used.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The solutions should be discarded in a proper container after testing following local regulations.
- EUH210 - Safety data sheet available upon request.

SPECIMEN COLLECTION

Collect sufficient and representative quantity of human stool samples. These specimens should be collected in clean and dry single-use containers (no preservatives or transport media). Collection of stool specimen from diapers should be avoided unless the specimen can be taken from a portion which is not in contact with the diaper material.

Specimen requirements

1-5 g stool in a screw-cap clean vial. No preservative is necessary or indicated.

Specimen transport

Stool specimens should be received by the laboratory and extracted within 3 days of collection. Temperature during shipment should not exceed 30°C, use of ice packs is highly recommended.

Specimen storage

Stool samples at the laboratory shall be stored at 2-8°C for up to 2 days before testing, if not tested, freeze the stool samples at -20°C for up to 1 year. Avoid more than 3 freeze / thaw cycles.

PROCEDURE

Sample preparation

Thaw frozen stool specimen and ensure that all reagents for extraction procedure reach room temperature (20-25°C). There are two alternative stool sample preparation methods, manual or by using **EasyCal Turbo** stool extraction device. Users can choose their preferred sample preparation method.

A. **EasyCal Turbo** sample preparation

1. For the collection/extraction procedure, please refer to **EasyCal Turbo** ref. 9302 instruction for use.
2. After the extraction procedure the fecal extract is ready to be tested. Insert the **EasyCal Turbo** tube (devoid of funnel and stick) directly into the turbidimetric analyzer or transfer the supernatant to an adaptor cup (not provided) for the analytical procedure.
3. If the extract is not analyzed immediately, it can be stored according to the instructions for use of **EasyCal Turbo** (Ref. 9302).

B. **Manual** sample preparation

Use a screw cap centrifugation tube for each sample to be tested. Label centrifugation tube with patient name or number.

1. Weigh (tare) the empty screw cap tube together with the inoculation loop or the wooden applicator stick.
2. Mix well the stool by means of the inoculation loop or wooden applicator stick in order to make the sample as homogenous as possible. Using the inoculation loop (or wooden applicator stick) take out approximately 50 mg (between 40-60 mg) of stool and place into the screw-cap-tube (weighted in point 1).
3. Weigh the tube with loop and feces inside and calculate net feces weight (between 40-60 mg).
4. Break off the loop handle or the wooden applicator stick, leaving the loop or wooden stick with feces and a 4-6 cm handle inside the screw cap tube.
5. Add ready to use extraction solution (**Calprest Turbo** Extraction kit ref. 9299, with final weight/volume ratio 1:100), *i.e.* 50 mg feces + 4.95 ml extraction solution as described in the table below. Fecal sample concentration in the extraction solution will be 10 mg/ml. Close the tube.

Feces (mg)	Extraction solution (ml)	Feces (mg)	Extraction solution (ml)
60	5.94	45	4.45
55	5.45	40	3.96
50	4.95		

6. Shake/mix vigorously for 30 seconds by means of a vortex.
7. Homogenize 25 ± 5 minutes on a shaker or roller. The inoculation loop or the wooden stick inside the tube will act as an agitator.
8. Transfer the homogenate (1 ml) to a microcentrifuge tube and centrifuge for 20 minutes at 10,000 x g at room temperature.
9. Transfer 0.5 ml of the clear extract supernatant to a new microcentrifuge tube. Avoid contact with the pellet as aggregates or particles may lead to erroneous pancreatic elastase values.
10. The extracts can be tested immediately or stored at the following conditions:
 - Up to 72 hours at room temperature
 - Up to 14 days at 2-8°C
 - Up to 90 days at -20°C. Frozen samples can be subjected to up to 4 freeze/thaw cycles

ANALYTICAL PROCEDURE

1. Ensure that all reagents reach room temperature (20-25°C).
2. Thaw frozen sample at room temperature.
3. **Elaprest Turbo** Reagent 1 and **Elaprest Turbo** Reagent 2 are ready to use solutions filled in bottles that can be loaded directly into the Eu-Turbo Analyzer (ref. 9194). Shall the test be used on a different turbidimetric analyzer, the content of the bottles has to be transferred into bottles proprietary of the used system.
4. **Elaprest Turbo** Calibrator vials (0 to 5) and **Elaprest Turbo** Control vials (1 and 2) are ready to use.
5. **Setting up the calibration curve:**
 - 5.1 For the calibration of the curve use only **Elaprest Turbo** Calibrator vials. The concentration is indicated on the label of each vial.
 - 5.2 Once set up, calibration curve is stable up to 30 days on board, although it is highly recommended to calibrate the system every week.
 - 5.3 Recalibrate the system when reagent lot is changed or when the controls are out of the assigned range given on the control label or certificate of analysis provided with the kit.
6. **Quality control:**
 - 6.1 For quality control use **Elaprest Turbo** Control vials. The concentration is indicated on the label of each vial.
 - 6.2 **Elaprest Turbo** Controls should be assayed every day before running patient fecal samples extract to validate the calibration curve.
 - 6.3 If the obtained results are out of the control lot-specific indicated range, the equipment, the reagents or the technique must be reviewed.
7. **Running the test:**
 - 7.1 The methodology can be applied to the most common turbidimetric analyzer. For the list of validated turbidimetric analyzers and the relative application notes, please contact Eurospital at the following email address:

marketing.diagnostics@eurospital.it

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

- **Negative results**, pancreatic elastase values higher than 200 µg/g indicate a normal level of human pancreatic elastase in the analyzed fecal sample.
- **Positive results**, pancreatic elastase values lower than 100 µg/g indicate an abnormal concentration of human pancreatic elastase in the analyzed fecal sample. Adult individuals with these values are identified as patients with reduced pancreatic function and therefore require further diagnostic investigations.
- **Borderline results**, pancreatic elastase values in the gray zone (100-200 µg/g), must be re-analyzed after 2-6 weeks.

The following chart summarizes the interpretation of results:

Pancreatic elastase concentration	Interpretation	Follow-Up
> 200 µg/g	Normal	None
100 - 200 µg/g	Borderline	Re-evaluate after 2-6 weeks
< 100 µg/g	Abnormal	Repeat as clinically indicated

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Elaprest Turbo cutoff value:

- Pancreatic elastase concentration values higher than 200 µg/g determined from stool samples are to be considered normal values, therefore not indicative of reduced pancreatic function.
- Pancreatic elastase concentration values lower than 100 µg/g determined from stool samples are indicative of reduced pancreatic function.

LIMITATIONS

Elaprest Turbo should be used for the determination of pancreatic elastase only from human stool samples. The use of the test on samples different than human stool has not been validated yet. The kit is not intended to be used for different matrixes such as blood, serum, plasma, urine, cerebrospinal fluid, oral fluid, synovial fluid or empyema fluid. The quality of the test depends also on the quality of the analyzed sample; proper fecal specimens must be obtained.

INTERFERENCES AND CROSS REACTIVITY

An evaluation study was performed to determine the interferences and the cross reactivity of **Elaprest Turbo**. No interferences were founded against BSA, Hemin, Ascorbic acid and no cross reactivity was founded against porcine pancreatic elastase.

CLINICAL PERFORMANCE

A method comparison study was performed between Eurospital **Elaprest Turbo** and a predicate (ScheBo® Pancreatic Elastase 1™ Stool Test) with 93% diagnostic specificity and 93% diagnostic sensibility. In the study 40 samples from donors with gastrointestinal disorders were tested with both methods according to the manufacturer's instruction for use. Results are summarized in the following tables:

		Predicate		
		Positive	Negative	Total
Elaprest Turbo ref. 9298	Positive	10	2	12
	Negative	0	28	28
	Total	10	30	40

Positive percent agreement	100%
Negative percent agreement	93%
Overall percent agreement	95%

Test immunoturbidimetrico per il rilevamento quantitativo dell'elastasi pancreatica da campioni fecali

REF 9298

DESTINAZIONE D'USO

Elaprest Turbo è un test turbidimetrico con particelle di lattice per la determinazione quantitativa specifica dell'elastasi pancreatica E1 umana nelle feci, che può essere utilizzato come complemento diagnostico *in vitro* per valutare la funzionalità esocrina del pancreas. Solo per uso professionale.

PRINCIPIO DEL TEST

L'elastasi pancreatica E1 è un enzima prodotto e secreto dal pancreas che, grazie all'attività proteolitica, favorisce la digestione del cibo ingerito durante il suo passaggio nel tratto gastrointestinale. A differenza di altri enzimi pancreatici, l'elastasi pancreatica non viene degradata significativamente durante il transito intestinale, pertanto determinare la concentrazione di questo marcatore nelle feci permette di valutare la funzionalità esocrina del pancreas¹. L'utilizzo dell'elastasi pancreatica come marcatore biologico nei campioni fecali permette di distinguere un paziente con insufficienza pancreatica esocrina (IPE o PEI, pancreatic exocrine insufficiency) da uno che presenta sintomi simili (dolori addominali, vomito e diarrea), attribuibili però ad altre patologie quali l'ulcera peptica, il morbo di Crohn e la rettocolite ulcerosa²⁻⁴.

Elaprest Turbo è un saggio turbidimetrico immunologico potenziato da particelle (particle-enhanced turbidimetric immunoassay, PETIA) per la determinazione quantitativa dell'elastasi pancreatica in campioni fecali umani. Il test è stato messo a punto per essere utilizzato su diversi analizzatori automatici. È facile da usare, ampiamente applicabile ed i risultati sono ottenuti in breve tempo. **Elaprest Turbo** si basa sull'agglutazione *in vitro* di particelle di lattice di polistirene rivestite di anticorpi anti-elastasi pancreatica con l'antigene elastasi pancreatica presente nella soluzione analizzata. Qualora non vi fosse elastasi pancreatica nel campione, la miscela mantiene un aspetto limpido. Con la presenza dell'elastasi pancreatica, la turbidità del mezzo aumenta a seguito dell'aggregazione dell'antigene con gli anticorpi che rivestono le particelle di lattice. Tale turbidità viene misurata come un aumento dell'assorbanza a determinate lunghezze d'onda ed è proporzionale alla quantità di elastasi pancreatica umana presente nel campione. Rispetto ai valori di normalità, una bassa concentrazione di elastasi pancreatica nelle feci, è indice di una ridotta funzionalità del pancreas, conseguenza diretta della PEI.

MATERIALI FORNITI (QUANTITÀ SUFFICIENTE PER ALMENO 100 TEST)

Componente	Quantità	Colore tappo	Composizione
Elaprest Turbo Reagent 1	1 bottiglia x 24 ml		Reagente amplificante, pronto all'uso
Elaprest Turbo Reagent 2	1 bottiglia x 4 ml		Soluzione di particelle di lattice rivestite con anticorpi contro l'elastasi pancreatica umana, pronta all'uso
Elaprest Turbo Calibrator 0	1 fiala x 1 ml	Giallo	Soluzione di elastasi pancreatica (0 µg/g), pronta all'uso
Elaprest Turbo Calibrator 1	1 fiala x 1 ml	Rosa	Soluzione di elastasi pancreatica (25 µg/g), pronta all'uso
Elaprest Turbo Calibrator 2	1 fiala x 1 ml	Rosso	Soluzione di elastasi pancreatica (50 µg/g), pronta all'uso
Elaprest Turbo Calibrator 3	1 fiala x 1 ml	Viola	Soluzione di elastasi pancreatica (100 µg/g), pronta all'uso
Elaprest Turbo Calibrator 4	1 fiala x 1 ml	Verde	Soluzione di elastasi pancreatica (200 µg/g), pronta all'uso
Elaprest Turbo Calibrator 5	1 fiala x 1 ml	Blu	Soluzione di elastasi pancreatica (400 µg/g), pronta all'uso
Elaprest Turbo Control 1	2 fiale x 1 ml	Bianco	Elastasi pancreatica ricombinante umana in soluzione tampone pronta all'uso, non diluire L'intervallo dei valori è stampato sull'etichetta
Elaprest Turbo Control 2	2 fiale x 1 ml	Marrone	Elastasi pancreatica ricombinante umana in soluzione tampone pronta all'uso, non diluire L'intervallo dei valori è stampato sull'etichetta

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Provette per raccolta campioni.
- Contenitore per trasporto.
- Guanti monouso e attrezzatura da laboratorio.
- Dispositivo di prelievo campioni fecali (ad es. **EasyCal Turbo** ref. 9302).
- Anse per inoculazione monouso, sterili, oppure bastoncini di legno (per la metodica di estrazione fecale manuale descritta a pag. 6).
- Provette monouso con tappo a vite da circa 14 ml (per la metodica di estrazione fecale manuale descritta a pag. 6).
- Tampone di estrazione 1x (**Calprest Turbo** Extraction kit ref. 9299, per la metodica di estrazione fecale manuale descritta a pag. 6).
- Provette tipo Eppendorf (1-1,5 ml).
- Bilancia digitale (range di misurazione 40-150 mg) (per la metodica di estrazione fecale manuale descritta a pag. 6).
- Agitatore Vortex.
- Agitatore basculante (per la metodica di estrazione fecale manuale descritta a pag. 6).
- Microcentrifuga (10.000 x g) (per la metodica di estrazione fecale manuale descritta a pag. 6).
- Pipette di precisione.

Apparecchiatura per la misurazione turbidimetrica

Qualsiasi analizzatore automatico per turbidimetria, per il protocollo specifico per lo strumento fare riferimento alla Application note.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ REAGENTI E SOLUZIONI DI LAVORO

- Tutti i reagenti e le soluzioni di lavoro devono essere conservati a 2-8°C.
- La data di scadenza è stampata sull'etichetta di ogni componente.
- Evitare l'esposizione ad alte temperature, luce solare diretta o condizioni di estrema umidità.

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- I campioni dei pazienti devono essere trattati in accordo con la buona pratica di laboratorio (BPL), usando appropriate precauzioni e ad ogni modo considerandoli come potenzialmente infettivi.
- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Il kit non contiene materiale di origine umana.
- È richiesta una persona con formazione per utilizzare l'analizzatore per tecnica turbidimetrica.
- Non scambiare i componenti di lotti diversi. Una buona performance può essere garantita solo usando componenti dello stesso lotto di **Elaprest Turbo**.
- Non scambiare i tappi delle diverse fiale.
- L'analizzatore deve essere pronto all'uso prima dell'esecuzione del test.
- Le componenti del kit non devono essere usate dopo la data di scadenza stampata sulle etichette.
- In caso di danneggiamento dell'imballo esterno, accertarsi che siano presenti e integre tutte le componenti elencate nella sezione "Materiali forniti". In presenza di perdita di liquido dai flaconi il kit non deve essere utilizzato.
- Seguire la buona pratica di laboratorio (BPL), indossare abbigliamento protettivo, usare guanti monouso, occhiali di protezione e mascherina. Non mangiare, bere o fumare nell'area di lavoro.
- Tutti i campioni devono essere trattati come potenzialmente pericolosi e maneggiati alla stregua di agenti infettivi.
- Le soluzioni devono essere eliminate dopo l'utilizzo in un apposito contenitore, secondo le regolamentazioni locali.
- EUH210 - Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

Raccogliere una quantità sufficiente di campione fecale umano, prelevato da più zone. I campioni devono essere raccolti in un contenitore monouso asciutto e pulito (senza conservanti o soluzioni di trasporto). Da evitare la raccolta di campioni fecali da pannolini a meno che la raccolta non possa avvenire da una porzione non in contatto diretto col materiale del pannolino.

Caratteristiche del campione

Prelevare circa 1-5 g di feci e porle in un contenitore adatto. Non sono richiesti conservanti.

Trasporto del campione

I campioni di feci devono essere ricevuti dal laboratorio ed estratti entro 3 giorni dalla raccolta. La temperatura durante la spedizione non deve superare i 30°C. Si consiglia vivamente l'uso di ghiaccini.

Conservazione del campione

Il campione di feci in laboratorio deve essere conservato a 2-8°C per 2 giorni prima di essere testato. Se non testati immediatamente, congelare i campioni di feci a -20°C fino a 1 anno. Evitare più di 3 cicli di congelamento / scongelamento.

PROCEDURA

Preparazione del campione

Scongelare i campioni di feci e assicurarsi che tutti i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (20-25°C).

Ci sono due diversi metodi di preparazione del campione fecale, manuale oppure mediante l'utilizzo del dispositivo di estrazione fecale. L'utente può scegliere il metodo di preparazione del campione preferito.

A. Preparazione del campione con **EasyCal Turbo**

1. Per la procedura di raccolta/estrazione, si prega di consultare le istruzioni per l'uso di **EasyCal Turbo** ref. 9302.
2. A seguito della procedura di estrazione, l'estratto fecale è pronto per essere testato. Inserire il tubo di **EasyCal Turbo** (privo di imbuto e asta sagomata) direttamente nell'analizzatore turbidimetrico, oppure trasferire il surnatante in un adattatore dello strumento utilizzato (non fornito) per iniziare la procedura analitica.
3. Se l'estratto non viene analizzato immediatamente, può essere conservato come indicato nelle istruzioni per l'uso di **EasyCal Turbo** (Ref. 9302).

B. Preparazione del campione manuale

Per ciascun campione da testare, usare una provetta da centrifuga con tappo a vite. Contrassegnare le provette con nome o numero del paziente.

1. Pesare (tara) la provetta vuota, con tappo a vite assieme all'ansa da inoculazione o al bastoncino di legno.
2. Mescolare bene le feci con l'ansa da inoculazione o con il bastoncino di legno in modo da omogenizzare al meglio il campione. Con l'ansa da inoculo (o bastoncino) prelevare approssimativamente 50 mg (tra 40 e 60 mg) di feci e metterli nella provetta con tappo a vite (pesata nel punto 1).
3. Pesare la provetta (contenente l'ansa ed il campione) e calcolare il peso netto delle feci (tra 40 e 60 mg).
4. Rompere il manico dell'ansa lasciando la parte inferiore con le feci e 4-6 cm del manico all'interno della provetta.
5. Aggiungere il tampone di estrazione pronto all'uso (**Calprest Turbo** Extraction kit ref. 9299, con rapporto peso/volume finale 1:100), per esempio 50 mg feci + 4,95 ml di tampone di estrazione, come descritto nella tabella sottostante. La concentrazione del campione fecale nella soluzione di estrazione sarà di 10 mg/ml. Chiudere la provetta.

Feci (mg)	Tampone di estrazione (ml)	Feci (mg)	Tampone di estrazione (ml)
60	5,94	45	4,45
55	5,45	40	3,96
50	4,95		

6. Agitare/mescolare vigorosamente con vortex per 30 sec.
7. Omogeneizzare per 25 ± 5 minuti su agitatore. L'ansa all'interno della provetta funzionerà da agitatore.
8. Trasferire l'omogenato (1 ml) in una provetta tipo Eppendorf e centrifugare per 20 minuti a $10.000 \times g$ a temperatura ambiente usando una centrifuga da tavolo.
9. Trasferire 0,5 ml del sopranatante chiaro in una provetta tipo Eppendorf nuova. Evitare il contatto con il fondello poiché aggregati o particolati possono generare valori errati di elastasi pancreatica.
10. L'estratto può essere analizzato immediatamente oppure conservato alle seguenti condizioni:
 - Fino a 72 ore a temperatura ambiente
 - Fino a 14 giorni a $2-8^{\circ}\text{C}$
 - Fino a 90 giorni a -20°C . I campioni congelati possono essere utilizzati per un massimo di 4 cicli di congelamento/scongelo

PROCEDURA ANALITICA

1. Assicurarsi che tutti i reagenti raggiungano la temperatura ambiente ($20-25^{\circ}\text{C}$).
2. Scongelo i campioni e portarli a temperatura ambiente.
3. **Elaprest Turbo** Reagent 1 e **Elaprest Turbo** Reagent 2 sono soluzioni pronte all'uso in bottiglie che possono essere caricate direttamente nell'Eu-Turbo Analyzer (ref. 9194). Qualora il test dovesse essere utilizzato su un diverso analizzatore turbidimetrico, il contenuto delle bottiglie deve essere trasferito in bottiglie proprietarie del sistema utilizzato.
4. Le fiale dei calibratori **Elaprest Turbo** Calibrator (da 0 a 5) e le fiale dei controlli **Elaprest Turbo** Control (1 e 2) sono pronte all'uso.
5. **Impostare la curva di calibrazione:**
 - 5.1 Per la curva di calibrazione usare solo le fiale dei calibratori **Elaprest Turbo** Calibrator. La concentrazione è indicata sull'etichetta di ciascuna fiala.
 - 5.2 Una volta impostata, la curva è stabile a bordo fino a 30 giorni, sebbene sia altamente raccomandabile calibrare il sistema almeno settimanalmente.
 - 5.3 Ricalibrare il sistema ad ogni cambio lotto o qualora i controlli dovessero uscire dai limiti indicati sulle etichette dei controlli stessi o sul certificato d'analisi fornito con il kit.
6. **Controllo di qualità:**
 - 6.1 Per il controllo di qualità usare le fiale dei controlli **Elaprest Turbo** Control. La concentrazione è indicata sull'etichetta di ciascuna fiala.
 - 6.2 Si consiglia di testare i controlli **Elaprest Turbo** Control ogni giorno prima di testare campioni fecali di pazienti, in modo da validare la curva di calibrazione.
 - 6.3 Qualora i valori ottenuti dovessero risultare fuori dai limiti lotto-specifici, si consiglia di revisionare la strumentazione, i reagenti e la tecnica utilizzata.
7. **Eseguire il test:**
 - 7.1 La metodica può essere applicata ai più comuni analizzatori turbidimetrici. Per la lista degli strumenti validati e le relative note applicative (Application note), si prega di contattare Eurospital al seguente indirizzo email:

marketing.diagnostics@eurospital.it

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

- Risultati negativi, vale a dire valori di elastasi pancreatica superiori a $200 \mu\text{g/g}$, indicano un normale livello di elastasi pancreatica umana nel campione fecale analizzato.
- Risultati positivi, vale a dire valori di elastasi pancreatica minori di $100 \mu\text{g/g}$, indicano un'anormale concentrazione di elastasi pancreatica umana nel campione fecale analizzato. Individui adulti che presentano questi valori, sono identificati come pazienti con una ridotta funzionalità pancreatica e richiedono pertanto ulteriori approfondimenti diagnostici.
- Risultati borderline, con valori di elastasi pancreatica nella zona grigia ($100-200 \mu\text{g/g}$), devono essere analizzati nuovamente dopo 2-6 settimane.

La seguente tabella riassume l'interpretazione dei risultati:

Concentrazione elastasi pancreatica	Interpretazione	Follow-Up
$> 200 \mu\text{g/g}$	Normale	Nessuno
$100 - 200 \mu\text{g/g}$	Borderline	Ri-analizzare dopo 2-6 settimane
$< 100 \mu\text{g/g}$	Anormale	Ripetere secondo indicazioni cliniche

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE

Valore di cutoff di **Elaprest Turbo**:

- Concentrazioni di elastasi pancreatica determinate da campioni fecali, risultanti essere maggiori di $200 \mu\text{g/g}$, sono da considerarsi normali, di conseguenza non indicative di ridotta funzionalità pancreatica.
- Concentrazioni di elastasi pancreatica determinate da campioni fecali, risultanti essere minori di $100 \mu\text{g/g}$, sono indicative di una ridotta funzionalità pancreatica.

LIMITI

Elaprest Turbo dovrebbe essere usato per la determinazione di elastasi pancreatica solo da campioni fecali umani. L'utilizzo del test su campioni diversi dalle feci umane non è stato ancora validato. Il kit non è stato progettato per essere usato su altre matrici come sangue, siero, plasma, urine, fluido cerebrospinale, fluido orale, fluido spinale o empiema. La qualità del test dipende anche dalla qualità del campione analizzato; è necessario ottenere campioni fecali appropriati.

INTERFERENZE E CROSS REATTIVITÀ

È stato eseguito uno studio di valutazione per determinare le interferenze e la cross reattività di **Elaprest Turbo**. Non sono state riscontrate interferenze contro albumina di siero bovino, emina, acido ascorbico e non è stata riscontrata cross reattività contro l'elastasi pancreatica suina.

PRESTAZIONE CLINICA

È stato eseguito uno studio di confronto tra metodi comparando **Elaprest Turbo** di Eurospital con un predicato (ScheBo® Pancreatic Elastase 1™ Stool Test) riportante una specificità diagnostica del 93% ed una sensibilità diagnostica del 93%. Nello specifico sono stati testati 40 campioni provenienti da donatori con disturbi gastrointestinali, con entrambe le metodiche, seguendo le rispettive istruzioni d'uso. I risultati sono riportati nelle seguenti tabelle:

		Predicato		
		Positivi	Negativi	Totale
Elaprest Turbo ref. 9298	Positivi	10	2	12
	Negativi	0	28	28
	Totale	10	30	40

Concordanza percentuale positiva	100%
Concordanza percentuale negativa	93%
Concordanza percentuale totale	95%

Dosage immunoturbidimétrique pour la détection quantitative d'élastase pancréatique à partir d'échantillons fécaux

REF 9298

UTILISATION PRÉVUE

Elaprest Turbo est un test turbidimétrique quantitatif au latex destiné à détecter spécifiquement la concentration d'élastase pancréatique E1 humaine fécale destinée à aider à l'évaluation de la fonctionnalité exocrine pancréatique. À usage professionnel uniquement.

PRINCIPE DU TEST

L'élastase pancréatique E1 est une enzyme produite et sécrétée par le pancréas qui, grâce à son activité protéolytique, favorise la digestion des aliments ingérés lors de leur passage dans le tractus gastro-intestinal. Contrairement aux autres enzymes pancréatiques, l'élastase pancréatique n'est pas significativement dégradée pendant le transit intestinal, donc la détermination de la concentration de ce marqueur dans les selles permet d'évaluer la fonctionnalité exocrine du pancréas¹. L'utilisation de l'élastase pancréatique comme marqueur biologique dans les échantillons fécaux permet de distinguer les patients présentant une insuffisance pancréatique exocrine (IPE, ou pancreatic exocrine insufficiency, PEI) de ceux présentant des symptômes similaires (douleurs abdominales, vomissements et diarrhée), attribuables cependant à d'autres pathologies telles que l'ulcère gastroduodénal, Maladie de Crohn et colite ulcéreuse²⁻⁴.

Elaprest Turbo est un essai turbidimétrique immunologique renforcé par des particules (particle-enhanced turbidimetric immunoassay, PETIA) pour la détermination quantitative d'élastase pancréatique dans des échantillons de selles humaines. Le test a été mis au point pour être utilisé sur différents dispositifs d'analyse automatiques. Il est facile à utiliser, amplement applicable et les résultats s'obtiennent rapidement. **Elaprest Turbo** se base sur l'agglutination in vitro de particules de latex de polystyrène revêtues d'anticorps anti-élastase pancréatique avec l'antigène élastase pancréatique présent dans la solution analysée. S'il n'y a pas d'élastase pancréatique dans l'échantillon, le mélange conserve un aspect limpide. En présence d'élastase pancréatique, la turbidité du mélange augmente suite à l'agrégation de l'antigène avec les anticorps qui revêtent les particules de latex. Cette turbidité est mesurée comme une augmentation de l'absorbance à certaines longueurs d'onde et est proportionnelle à la quantité d'élastase pancréatique, présente dans l'échantillon. Par rapport aux valeurs normales, une faible concentration d'élastase pancréatique dans les selles indique une fonction réduite du pancréas, conséquence directe de la PEI.

MATÉRIEL FOURNI (QUANTITÉ SUFFISANTE POUR AU MOINS 100 TESTS)

Composant	Quantité	Bouchon couleur	Composition
Elaprest Turbo Reagent 1	1 bouteille x 24 ml		Réactif amplifiant, prêt à l'emploi
Elaprest Turbo Reagent 2	1 bouteille x 4 ml		Solution de particules de latex revêtues avec des anticorps contre la élastase pancréatique humaine. Prête à l'emploi
Elaprest Turbo Calibrator 0	1 flacon x 1 ml	Jaune	Solution d'élastase pancréatique (0 µg/g), prête à l'emploi
Elaprest Turbo Calibrator 1	1 flacon x 1 ml	Rose	Solution d'élastase pancréatique (25 µg/g), prête à l'emploi
Elaprest Turbo Calibrator 2	1 flacon x 1 ml	Rouge	Solution d'élastase pancréatique (50 µg/g), prête à l'emploi
Elaprest Turbo Calibrator 3	1 flacon x 1 ml	Violet	Solution d'élastase pancréatique (100 µg/g), prête à l'emploi
Elaprest Turbo Calibrator 4	1 flacon x 1 ml	Vert	Solution d'élastase pancréatique (200 µg/g), prête à l'emploi
Elaprest Turbo Calibrator 5	1 flacon x 1 ml	Bleu	Solution d'élastase pancréatique (400 µg/g), prête à l'emploi
Elaprest Turbo Control 1	2 flacons x 1 ml	Blanc	Élastase pancréatique humaine recombinante en solution tampon, prêt à l'emploi, ne pas diluer La plage des valeurs est imprimée sur l'étiquette
Elaprest Turbo Control 2	2 flacons x 1 ml	Marron	Élastase pancréatique humaine recombinante en solution tampon, prêt à l'emploi, ne pas diluer La plage des valeurs est imprimée sur l'étiquette

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Tubes pour la collecte des échantillons.
- Conteneur pour le transport.
- Gants à usage unique et équipement de laboratoire.
- Dispositif de prélèvement des échantillons de selles (par ex. **EasyCal Turbo** ref. 9302).
- Anses d'inoculation jetables, stériles ou bâtonnets en bois (pour la méthode d'extraction fécale manuelle décrite à la page 10).
- Tubes à usage unique avec bouchon à vis d'environ 14 ml (pour la méthode d'extraction fécale manuelle décrite à la page 10).
- Tampon d'extraction 1x (Extraction solution présent dans le **Calprest Turbo** Extraction kit ref. 9299, pour la méthode d'extraction fécale manuelle décrite à la page 10).
- Tubes de type Eppendorf (1-1,5 ml).
- Balance de précision numérique (plage de mesure 40-150 mg) (pour la méthode d'extraction fécale manuelle décrite à la page 10).
- Agitateur Vortex.
- Agitateur à rouleaux (pour la méthode d'extraction fécale manuelle décrite à la page 10).
- Micro centrifugeuse (10.000 x g) (pour la méthode d'extraction fécale manuelle décrite à la page 10).
- Pipettes de précision.

Dispositif pour la mesure turbidimétrique

Tout dispositif d'analyse automatique de turbidimétrie, pour le protocole spécifique à l'instrument faire référence à l'Application note.

CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS ET SOLUTIONS DE TRAVAIL

- Tous les réactifs et les solutions de travail doivent être conservés à 2-8°C.
- La date d'expiration est imprimée sur l'étiquette de chaque élément.
- Éviter l'exposition à des températures élevées, à la lumière solaire directe ou à des conditions de très forte humidité.

PRÉCAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

- Les échantillons patients doivent être traités conformément aux bonnes pratiques de laboratoire (BPL), en utilisant des précautions appropriées et en les considérant dans tous les cas comme potentiellement infectieux.
- Pour usage diagnostique *in vitro*.
- Le kit ne contient pas de matériel d'origine humaine.
- Une personne ayant reçu une formation appropriée devra être chargée d'utiliser le dispositif d'analyse avec technique turbidimétrique.
- Ne pas échanger les éléments de lots différents. Une bonne performance peut être garantie seulement en utilisant les éléments du même lot de **Elaprest Turbo**.
- Ne pas échanger les bouchons des différents flacons.
- Le dispositif d'analyse doit être prêt à l'emploi avant l'exécution du test.
- Les éléments du kit ne doivent pas être utilisés après la date d'expiration imprimée sur les étiquettes.
- Si l'emballage extérieur est endommagé, s'assurer que tous les éléments indiqués dans la rubrique matériel fourni sont présents et intacts. En cas de fuite de liquide des flacons, le kit ne doit pas être utilisé.
- Suivre les bonnes pratiques de laboratoire (BPL), porter des vêtements de protection, des gants à usage unique, des lunettes de protection et un masque. Ne pas manger, boire ou fumer dans l'espace de travail.
- Tous les échantillons doivent être traités comme potentiellement dangereux et manipulés comme des agents infectieux.
- Les solutions doivent être éliminées après l'utilisation dans un conteneur prévu à cet effet, conformément aux réglementations locales.
- EUH210 - Fiche de données de sécurité disponible sur demande.

COLLECTE DES ÉCHANTILLONS

Recueillir une quantité suffisante et représentative d'échantillons de selles humaines. Les échantillons doivent être collectés dans un conteneur jetable sec et propre (sans conservateurs ou solutions de transport). Il faut éviter la collecte d'échantillons de selles sur les couches, sauf si la collecte peut s'effectuer sur une partie qui n'est pas directement en contact avec le matériau de la couche.

Caractéristiques de l'échantillon

Prélever environ 1-5 g de selles et les placer dans un conteneur adéquat. Aucun conservateur n'est nécessaire.

Transport de l'échantillon

Les échantillons de selles doivent être reçus par le laboratoire et extraits dans les 3 jours suivant le prélèvement. La température pendant le transport ne doit pas dépasser 30°C, l'utilisation de poche de glace est fortement recommandée.

Conservation de l'échantillon

L'échantillon de selles en laboratoire doit être conservé à 2-8°C pendant 2 jours avant d'être testé. S'ils ne sont pas testés immédiatement, congeler les échantillons de selles à -20°C jusqu'à 1 an. Évitez plus de 3 cycles de gel / dégel.

PROCÉDURE

Préparation de l'échantillon

Décongeler les échantillons de selles et s'assurer que tous les réactifs atteignent la température ambiante (20-25°C).

Il existe deux différentes méthodes de préparation des échantillons de selles, manuelle ou avec l'utilisation du dispositif d'extraction fécale. L'utilisateur peut choisir la méthode de préparation de l'échantillon qu'il préfère.

A. Préparation de l'échantillon avec **EasyCal Turbo**

1. Pour la procédure de collecte/extraction, nous vous prions de consulter la notice d'utilisation de **EasyCal Turbo** ref. 9302.
2. Suite à la procédure d'extraction, l'extrait fécal est prêt à être testé. Insérer le tube d'**EasyCal Turbo** (sans entonnoir et sans sonde) directement dans l'analyseur turbidimétrique ou transférer le surnageant dans un adaptateur du dispositif utilisé (non fourni) pour commencer la procédure d'analyse.
3. Si l'extrait n'est pas analysé immédiatement, il peut être conservé selon la notice d'utilisation de **EasyCal Turbo** (Ref. 9302).

B. Préparation manuelle de l'échantillon

Pour chaque échantillon à tester, utiliser un tube de centrifugeuse avec bouchon à vis. Marquer sur les tubes le nom ou le numéro du patient.

1. Peser (tare) le tube avec bouchon à vis avec l'anse d'inoculation ou le bâtonnet en bois.
2. Bien mélanger les selles avec l'anse d'inoculation ou avec le bâtonnet en bois de façon à homogénéiser au mieux l'échantillon. Avec l'anse d'inoculation (ou le bâtonnet), prélever à peu près 50 mg (entre 40 et 60 mg) de selles et les mettre dans le tube avec bouchon à vis (pesé au point 1).
3. Peser le tube (contenant l'anse et l'échantillon) et calculer le poids net des selles (entre 40 et 60 mg).
4. Casser le manche de l'anse en laissant la partie inférieure avec les selles et 4-6 cm du manche à l'intérieur du tube.
5. Ajouter le tampon d'extraction prêt à l'emploi (**Calprest Turbo** Extraction kit ref. 9299, avec un rapport poids / volume finale 1:100), par exemple 50 mg de selles + 4,95 ml de tampon d'extraction, tel que cela est décrit dans le tableau ci-dessous. La concentration d'échantillon fécal dans la solution d'extraction sera de 10 mg / ml. Fermer le tube.

Selles (mg)	Tampon d'extraction (ml)	Selles (mg)	Tampon d'extraction (ml)
60	5,94	45	4,45
55	5,45	40	3,96
50	4,95		

6. Agiter/mélanger vigoureusement au vortex pendant 30 secondes.
7. Homogénéiser pendant 25 ± 5 minutes à l'aide de l'agitateur. L'anse à l'intérieur du tube fera fonction d'agitateur.
8. Transférer l'extrait obtenu (1 ml) dans un tube de type Eppendorf et centrifuger pendant 20 minutes à 10000 x g à température ambiante en utilisant une centrifugeuse de table.
9. Transférer 0,5 ml de surnageant clair dans un tube neuf de type Eppendorf. Éviter le contact avec le culot car des agrégats ou des particules déposés peuvent générer des valeurs d'élastase pancréatique erronées.
10. Les extraits peuvent être testés immédiatement ou conservés dans les conditions suivantes:
 - Jusqu'à 72 heures à la température ambiante
 - Jusqu'à 14 jours à 2-8°C
 - Jusqu'à 90 jours à -20°C. Les échantillons congelés peuvent être soumis à 4 cycles de congélation/décongélation maximum

PROCÉDURE D'ANALYSE

1. S'assurer que tous les réactifs atteignent la température ambiante (20-25°C).
2. Décongeler les échantillons et les porter à température ambiante.
3. **Elaprest Turbo** Reagent 1 et **Elaprest Turbo** Reagent 2 sont des solutions prêtes à l'emploi remplies dans des bouteilles qui peuvent être chargées directement dans l'Eu-Turbo Analyzer (réf. 9194). Si le test est utilisé sur un autre analyseur turbidimétrique, le contenu des flacons doit être transféré dans des flacons propriétaires du système utilisé.
4. Les flacons des calibrateurs **Elaprest Turbo** Calibrator (de 0 à 5) et les flacons des contrôles **Elaprest Turbo** Control (1 et 2) sont prêts à l'emploi.
5. Paramétrer la courbe d'étalonnage:
 - 5.1 Pour la courbe d'étalonnage, utiliser seulement les flacons des calibrateurs **Elaprest Turbo** Calibrator. La concentration est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon.
 - 5.2 Une fois paramétrée, la courbe est stable jusqu'à 30 jours, bien qu'il soit fortement recommandé d'étalonner le système au moins une fois par semaine.
 - 5.3 Étalonner à nouveau le système à chaque changement de lot ou si les contrôles sortaient des limites indiquées sur les étiquettes des contrôles eux-mêmes ou sur les certificats d'analyse fournis avec le kit.
6. Contrôle qualité:
 - 6.1 Pour le contrôle qualité, utiliser les flacons des contrôles **Elaprest Turbo** Control. La concentration est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon.
 - 6.2 Nous conseillons de tester les contrôles **Elaprest Turbo** Control chaque jour avant de tester les échantillons de selles de patients, de façon à valider la courbe d'étalonnage.
 - 6.3 Si les valeurs obtenues dépassent les limites lots-spécifiques, nous conseillons de réviser les instruments, les réactifs et la technique utilisée.
7. Effectuer le test:
 - 7.1 La méthode peut être appliquée aux analyseurs turbidimétriques les plus communs. Pour la liste des instruments validés et les notes d'application relatives (Application note), nous vous prions de contacter Eurospital à l'adresse e-mail ci-dessous:

marketing.diagnostics@eurospital.it

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- Les résultats négatifs, c'est-à-dire des valeurs d'élastase pancréatique supérieure à 200 µg/g, indiquent un niveau normal d'élastase pancréatique humaine dans l'échantillon fécal analysé.
- Les résultats positifs, c'est-à-dire des valeurs d'élastase pancréatique inférieure à 100 µg/g, indiquent une concentration anormale d'élastase pancréatique humaine dans l'échantillon fécal analysé. Les individus adultes présentant ces valeurs sont identifiés comme des patients présentant une fonction pancréatique réduite et nécessitent donc des investigations diagnostiques supplémentaires.
- Les résultats borderline, avec des valeurs d'élastase pancréatique dans la zone grise (100-200 µg/g), doit être retestée après 2-6 semaines.

Le tableau suivant résume l'interprétation des résultats:

Concentration d'élastase pancréatique	Interprétation	Suivi
> 200 µg/g	Normal	Aucun
100 - 200 µg/g	Borderline	Ré-analyser dans un délai de 2-6 semaines
< 100 µg/g	Anormal	Répéter selon les indications cliniques

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Valeur de cutoff de *Elaprest Turbo*:

- Les concentrations d'élastase pancréatique déterminées d'échantillons de selles supérieures à 200 µg/g doivent être considérées normales donc n'indiquant pas une altération de la fonction pancréatique.
- Les concentrations d'élastase pancréatique déterminées d'échantillons de selles inférieures à 100 µg/g il doit être considéré comme indiquant une altération de la fonction pancréatique.

LIMITES

Elaprest Turbo devrait être utilisé pour la détermination d'élastase pancréatique seulement dans des échantillons de selles humaines. L'utilisation du test sur des échantillons autres que des selles humaines n'a pas encore été validée. Le kit n'a pas été conçu pour être utilisé sur d'autres matrices telles que sang, plasma, urines, liquide cébrospinal, liquide oral, liquide spinal ou empyème. La qualité du test dépend aussi de la qualité de l'échantillon analysé; il est nécessaire d'obtenir des échantillons de selles adéquats.

INTERFÉRENCES ET CROSS-RÉACTIVITÉ

Une étude d'évaluation a été réalisée pour déterminer l'interférence et la cross-réactivité d'*Elaprest Turbo*. Aucune interférence n'a été trouvée contre l'albumine sérique bovine, l'hémine, l'acide ascorbique et aucune cross-réactivité contre l'élastase pancréatique porcine n'a été trouvée.

PERFORMANCE CLINIQUE

Une étude comparative de méthodes a été réalisée entre Eurospital *Elaprest Turbo* et un prédictat (ScheBo® Pancreatic Elastase 1™ Stool Test) avec 93% de spécificité diagnostique et 93% de sensibilité diagnostique. Dans l'étude, 40 échantillons provenant de donneurs souffrant de troubles gastro-intestinaux ont été testés avec les deux méthodes conformément aux instructions d'utilisation du fabricant. Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants:

		Prédictat		
		Positif	Négatif	Total
Elaprest Turbo ref. 9298	Positif	10	2	12
	Négatif	0	28	28
	Total	10	30	40

Concordance positif	100%
Concordance négatif	93%
Concordance total	95%

Ensayo inmunturbidimétrico para la detección cuantitativa de elastasa pancreática de muestras fecales

REF 9298

INTENCIÓN DE USO

Elaprest Turbo es un ensayo turbidimétrico de látex cuantitativo para detectar específicamente la concentración de elastasa pancreática E1 humana fecal que está destinado a ayudar en la evaluación de la funcionalidad exocrina pancreática. Solo para uso profesional.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

La elastasa pancreática E1 es una enzima producida y secretada por el páncreas que, gracias a su actividad proteolítica, favorece la digestión de los alimentos ingeridos a su paso por el tracto gastrointestinal. A diferencia de otras enzimas pancreáticas, la elastasa pancreática no se degrada significativamente durante el tránsito intestinal, por lo que determinar la concentración de este marcador en las heces permite evaluar la funcionalidad exocrina del páncreas¹. El uso de elastasa pancreática como marcador biológico en muestras fecales permite distinguir a los pacientes con insuficiencia pancreática exocrina (IPE o pancreatic exocrine insufficiency, PEI) de aquellos con síntomas similares (dolor abdominal, vómitos y diarreas), atribuibles, sin embargo, a otras patologías como la úlcera péptica, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa²⁻⁴.

Elaprest Turbo es un inmunoensayo turbidimétrico potenciado con partículas (particle-enhanced turbidimetric immunoassay, PETIA) para la determinación cuantitativa de elastasa pancreática en muestras de heces humanas. La prueba ha sido desarrollada para su uso en varios analizadores automatizados. Es fácil de usar, se aplica ampliamente y los resultados se obtienen en poco tiempo. **Elaprest Turbo** se basa en la aglutinación in vitro de partículas de látex de poliestireno recubiertas con anticuerpos anti-elastasa pancreática y el antígeno elastasa pancreática presente en la solución analizada. Si no hay elastasa pancreática en la muestra, la mezcla mantiene un aspecto claro. Con la presencia de elastasa pancreática la turbidez del medio aumenta como resultado de la agregación del antígeno con los anticuerpos que recubren las partículas de látex. Esta turbidez se mide como un aumento de la absorbancia a ciertas longitudes de onda y es proporcional a la cantidad de elastasa pancreática presente en la muestra. En comparación con los valores normales, una concentración baja de elastasa pancreática en las heces indica una función reducida del páncreas, una consecuencia directa de la PEI.

MATERIALES SUMINISTRADOS (CANTIDAD SUFICIENTE PARA AL MENOS 100 ENSAYOS)

Componente	Cantidad	Color de tapa	Composición
Elaprest Turbo Reagent 1	1 botella x 24 ml		Reactivo amplificador, listo para usar
Elaprest Turbo Reagent 2	1 botella x 4 ml		Solución de partículas de látex recubiertas de anticuerpos contra la elastasa pancreática humana; listo para usar
Elaprest Turbo Calibrator 0	1 tubos x 1 ml	Amarillo	Solución de elastasa pancreática (0 µg/g), listo para ser usados
Elaprest Turbo Calibrator 1	1 tubos x 1 ml	Rosa	Solución de elastasa pancreática (25 µg/g), listo para ser usados
Elaprest Turbo Calibrator 2	1 tubos x 1 ml	Rojo	Solución de elastasa pancreática (50 µg/g), listo para ser usados
Elaprest Turbo Calibrator 3	1 tubos x 1 ml	Púrpura	Solución de elastasa pancreática (100 µg/g), listo para ser usados
Elaprest Turbo Calibrator 4	1 tubos x 1 ml	Verde	Solución de elastasa pancreática (200 µg/g), listo para ser usados
Elaprest Turbo Calibrator 5	1 tubos x 1 ml	Azul	Solución de elastasa pancreática (400 µg/g), listo para ser usados
Elaprest Turbo Control 1	2 tubos x 1 ml	Blanco	Elastasa pancreática humana recombinante en solución tampón, listo para usar, no lo diluya El rango de valores está impreso en la etiqueta
Elaprest Turbo Control 2	2 tubos x 1 ml	Marrón	Elastasa pancreática humana recombinante en solución tampón, listo para usar, no lo diluya El rango de valores está impreso en la etiqueta

MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

- Tubos de recolección de muestras.
- Contenedor de transporte.
- Guantes desechables y equipo de laboratorio.
- Dispositivo de muestreo fecal (por ejemplo, **EasyCal Turbo** ref. 9302).
- Asas bacteriológicas desechables y estériles o palos de madera (para el método de extracción fecal manual descrito en la pág. 14).
- Tubos de ensayo desechables con capuchón de rosca de aprox. 14 ml (para el método de extracción fecal manual descrito en la pág. 14).
- Tampón de extracción 1x (Extraction solution presente en el kit **Calprest Turbo** Extraction ref. 9299, para el método de extracción fecal manual descrito en la pág. 14).
- Tubos de microcentrifuga tipo Eppendorf (1-1,5 ml).
- Escala digital (rango de medición 40-150 mg) (para el método de extracción fecal manual descrito en la pág. 14).
- Agitador Vortex.
- Agitador rodante (para el método de extracción fecal manual descrito en la pág. 14).
- Microcentrifuga (10.000 x g) (para el método de extracción fecal manual descrito en la pág. 14).
- Pipetas de precisión.

Equipo de medición turbidimétrica

Cualquier analizador automático de turbidimetría; para el protocolo específico del instrumento, consulte la nota de aplicación.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS Y SOLUCIONES DE TRABAJO

- Todos los reactivos y soluciones de trabajo deben almacenarse a 2-8°C.
- La fecha de caducidad está impresa en la etiqueta de cada componente.
- Evite la exposición a altas temperaturas, la luz solar directa o condiciones de extrema humedad.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- Las muestras de los pacientes deben tratarse de conformidad con las buenas prácticas de laboratorio (BPL), tomando las precauciones adecuadas y, en cualquier caso, considerándolas como potencialmente infecciosas.
- Para diagnóstico *in vitro*.
- El kit no contiene material de origen humano.
- Se requiere una persona capacitada para utilizar el analizador para la técnica turbidimétrica.
- No intercambie componentes de diferentes lotes. El buen funcionamiento solo puede garantizarse utilizando componentes del mismo lote de **Elaprest Turbo**.
- No intercambie los capuchones de los diferentes viales.
- El analizador debe estar listo para ser usado antes de realizar el ensayo.
- Los componentes del kit no deben utilizarse después de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas.
- Si el embalaje exterior está dañado, asegúrese de que todos los componentes enumerados en la sección “Materiales suministrados” estén presentes e intactos. En caso de fuga de líquido de los frascos, el kit no debe ser utilizado.
- Siga las buenas prácticas de laboratorio (BPL), lleve ropa de protección, guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No coma, beba o fume en el área de trabajo.
- Todas las muestras deben ser tratadas como potencialmente peligrosas y manipuladas como agentes infecciosos.
- Las soluciones deben ser eliminadas después de su uso en un contenedor apropiado de acuerdo con las regulaciones locales.
- EUH210 - Ficha de datos de seguridad disponible a pedido.

RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Recolecte una cantidad suficiente y representativa de muestras de heces humanas. Las muestras deben recogerse en un recipiente desechable limpio y seco (sin conservantes ni soluciones de transporte). Las muestras fecales de los pañales no deben recogerse a menos que se recojan de una porción que no esté en contacto directo con el material del pañal.

Características de la muestra

Tome unos 1-5 g de heces y colóquelas en un recipiente adecuado. No se requieren conservantes.

Transporte de la muestra

Las muestras de heces deben ser recibidas por el laboratorio y extraídas dentro de los 3 días posteriores a la recolección. La temperatura durante el envío no debe superar los 30°C, se recomienda encarecidamente el uso de paquetes de hielo.

Almacenamiento de la muestra

La muestra de heces en el laboratorio debe ser almacenada a 2-8°C durante 2 días antes de la prueba. Si no se analizan inmediatamente, congele las muestras de heces a -20°C hasta por 1 año. Evite más de 3 ciclos de congelación / descongelación.

PROCEDIMIENTO

Preparación de la muestra

Descongele las muestras de heces y asegúrese de que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (20-25°C).

Hay dos métodos diferentes de preparación de muestras fecales, el manual o el uso del dispositivo de extracción fecal **EasyCal Turbo**. El usuario puede elegir el método de preparación de la muestra que prefiera.

A. Preparación de la muestra con **EasyCal Turbo**

1. Para el procedimiento de recolección/extracción, consulte las instrucciones de uso de **EasyCal Turbo** ref. 9302.
2. Después del procedimiento de extracción, el extracto fecal está listo para ser probado. Inserte el tubo de **EasyCal Turbo** (sin embudo y varilla moldeada) directamente en el analizador turbidimétrico, o transfiera el sobrenadante a un adaptador de instrumento (no suministrado) para iniciar el procedimiento analítico.
3. Si el extracto no se analiza inmediatamente, se puede almacenar de acuerdo con las instrucciones de uso de **EasyCal Turbo** (Ref. 9302).

B. Preparación de la muestra manual

Para cada muestra que se vaya a analizar, utilice un tubo de centrifuga con capuchón de rosca. Marque los tubos con el nombre o el número de paciente.

1. Pese (tara) el tubo de centrifuga con capuchón de rosca vacío, junto con el asa bacteriológica o el palo de madera.
2. Mezcle bien las heces con el asa bacteriológica o el palo de madera para homogeneizar correctamente la muestra. Utilizando el asa bacteriológica (o palo de madera), tome aproximadamente 50 mg (entre 40 y 60 mg) de heces y colóquelas en el tubo con capuchón de rosca (pesado en el punto 1).
3. Pese el tubo (que contiene el asa y la muestra) y calcule el peso neto de las heces (entre 40 y 60 mg).
4. Rompa el mango del asa, dejando la parte inferior con las heces y 4-6 cm del mango dentro del tubo.
5. Añada el tampón de extracción listo para ser usado (**Calprest Turbo** Extraction kit ref. 9299, relación peso/volumen 1:100), por ejemplo, 50 mg de heces + 4,95 ml de tampón de extracción, como se describe en la tabla siguiente. La concentración de la muestra fecal en la solución de extracción será de 10 mg / ml. Cierre el tubo.

Heces (mg)	Tampón de extracción (ml)	Heces (mg)	Tampón de extracción (ml)
60	5,94	45	4,45
55	5,45	40	3,96
50	4,95		

6. Agite/mezcle vigorosamente con el agitador vortex durante 30 segundos.
7. Homogenice durante 25 ± 5 minutos en el agitador. El asa dentro del tubo actuará como un agitador.
8. Transfiera el homogeneizado (1 ml) a un tubo tipo Eppendorf y centrifugue durante 20 minutos a $10.000 \times g$ a temperatura ambiente con una centrífuga de mesa.
9. Transfiera 0,5 ml del sobrenadante claro a un nuevo tubo tipo Eppendorf. Evite el contacto con el fondo, ya que los agregados o las partículas pueden generar valores erróneos de elastasa pancreática.
10. El extracto puede ser analizado inmediatamente o almacenarse en las siguientes condiciones:
 - Hasta 72 horas a temperatura ambiente
 - Hasta 14 días a $2-8^{\circ}\text{C}$
 - Hasta 90 días a -20°C . Las muestras congeladas pueden utilizarse hasta para 4 ciclos de congelación/descongelación

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

1. Asegúrese de que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente ($20-25^{\circ}\text{C}$).
2. Descongele las muestras y llévelas a temperatura ambiente.
3. **Elaprest Turbo** Reagent 1 y **Elaprest Turbo** Reagent 2 son soluciones listas para usar llenado en botellas que pueden ser cargadas directamente en el Eu-Turbo Analyzer (ref. 9194). Si la prueba se utiliza en un analizador turbidimétrico diferente, el contenido de las botellas tiene que ser transferido a botellas propias del sistema utilizado.
4. Los viales de los calibradores **Elaprest Turbo** Calibrator (0 a 5) y los viales de **Elaprest Turbo** Control (1 y 2) están listos para su uso.
5. Ajuste la curva de calibración:
 - 5.1 Utilice solo los viales de los calibradores **Elaprest Turbo** Calibrator para la curva de calibración. La concentración se indica en la etiqueta de cada vial.
 - 5.2 Una vez ajustada, la curva es estable a bordo hasta 30 días, aunque se recomienda encarecidamente calibrar el Sistema al menos semanalmente.
 - 5.3 Volver a calibrar el sistema en cada cambio de lote o si los controles superen los límites indicados en las etiquetas de control o en el certificado de análisis suministrado con el kit.
6. Control de calidad:
 - 6.1 Utilice los viales de los controles **Elaprest Turbo** Control para el control de calidad. La concentración se indica en la etiqueta de cada vial.
 - 6.2 Se recomienda que los controles **Elaprest Turbo** Control sean probados diariamente antes de probar las muestras fecales de los pacientes para validar la curva de calibración.
 - 6.3 Si los valores obtenidos estuvieran fuera de los límites específicos del lote, se recomienda revisar la instrumentación, los reactivos y la técnica utilizados.
7. Realice el ensayo:
 - 7.1 El método puede aplicarse a los analizadores turbidimétricos más comunes. Para la lista de instrumentos validados y sus notas de aplicación (Application note), por favor contacte con Eurospital en la siguiente dirección de correo electrónico:

marketing.diagnostics@eurospital.it

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Los resultados negativos, es decir, valores de elastasa pancreática superiores a $200 \mu\text{g/g}$ indican un nivel normal de elastasa pancreática humana en la muestra fecal analizada.
- Los resultados positivos, es decir, valores de elastasa pancreática inferior a $100 \mu\text{g/g}$, indican una concentración anormal de elastasa pancreática humana en la muestra fecal analizada. Los individuos adultos con estos valores se identifican como pacientes con función pancreática reducida y, por lo tanto, requieren más investigaciones diagnósticas.
- Los resultados límite con valores de elastasa pancreática en la zona gris ($100-200 \mu\text{g/g}$), debe volver a analizarse después de 2-6 semanas.

En la siguiente tabla se resume la interpretación de los resultados:

Concentración de elastasa pancreática	Interpretación	Seguimiento
$> 200 \mu\text{g/g}$	Normal	Ninguno
$100 - 200 \mu\text{g/g}$	Al límite	Volver a analizar después de 2-6 semanas
$< 100 \mu\text{g/g}$	Anormal	Repetición según las indicaciones clínicas

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Valor de cutoff de *Elaprest Turbo*:

- Unas concentraciones de elastasa pancreática determinadas a partir de muestras fecales, que resultan ser superiores a 200 µg/g, se consideran normales y, por lo tanto, no son indicativas de función pancreática alterada.
- Unas concentraciones de elastasa pancreática determinadas a partir de muestras fecales, que resultan ser inferiores a 100 µg/g, son indicativas de función pancreática alterada.

LÍMITES

Elaprest Turbo solo debería utilizarse para la determinación de elastasa pancreática a partir de muestras de heces humanas. Todavía no se ha validado el uso del ensayo en muestras diferentes a las heces humanas. El kit no está diseñado para ser usado en otras matrices como sangre, suero, plasma, orina, líquido cefalorraquídeo, líquido oral, líquido espinal o empiema. La calidad de la prueba depende también de la calidad de la muestra analizada; se deben obtener muestras fecales adecuadas.

INTERFERENCIAS Y REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó un estudio de evaluación para determinar la interferencia y la reactividad cruzada de *Elaprest Turbo*. No se encontró interferencia contra albúmina de suero bovino, hemina, ácido ascórbico y no se encontró reactividad cruzada contra elastasa pancreática porcina.

DESEMPEÑO CLÍNICO

Se realizó un estudio de comparación de métodos comparando *Elaprest Turbo* de Eurospital con un predicado (ScheBo® Pancreatic Elastase 1™ Stool Test) que informaba una especificidad diagnóstica del 93% y una sensibilidad diagnóstica del 93%. En concreto, se analizaron 40 muestras de donantes con trastornos gastrointestinales con ambos métodos, siguiendo las respectivas instrucciones de uso. Los resultados se informan en las siguientes tablas:

		Prédicado		
		Positivo	Negativo	Total
Elaprest Turbo ref. 9298	Positivo	10	2	12
	Negativo	0	28	28
	Total	10	30	40

Porcentaje de acuerdo positivo	100%
Porcentaje de acuerdo negativo	93%
Porcentaje de acuerdo total	95%

Immunturbidimetrischer Test zum quantitativen Nachweis von Pankreas-Elastase aus Stuhlproben

REF 9298

VERWENDUNGSZWECK

Elaprest Turbo ist ein quantitativer turbidimetrischer Latex-Assay zum spezifischen Nachweis der Konzentration humaner Pankreas-Elastase E1 in Stuhlproben, der bei der Bewertung der exokrinen Pankreas-Funktionalität helfen soll. Nur für professionelle Anwendung.

TESTPRINZIP

Pankreas-Elastase E1 ist ein Enzym, das von der Bauchspeicheldrüse produziert und sekretiert wird und dank seiner proteolytischen Aktivität die Verdauung von aufgenommenen Nahrungsmitteln beim Durchgang durch den Magen-Darm-Trakt fördert. Im Gegensatz zu anderen Pankreasenzymen wird die Pankreas-Elastase während der Darmpassage nicht signifikant abgebaut. Die Konzentration dieses Markers im Stuhl ermöglicht die Bewertung der exokrinen Funktionalität der Bauchspeicheldrüse¹ und dadurch die Unterscheidung eines Patienten mit exokriner Pankreasinsuffizienz (EPI oder PEI, pancreatic exocrine insufficiency) von einem Patienten mit ähnlichen Symptomen (Bauchschmerzen, Erbrechen und Durchfall), die jedoch auf andere Pathologien wie Magengeschwür, Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa zurückzuführen sind²⁻⁴.

Elaprest Turbo ist ein partikelverstärkter turbidimetrischer Immunoassay (PETIA) zum quantitativen Nachweis von Pankreas-Elastase in humanen Stuhlproben. Der Test wurde zur Verwendung an verschiedenen automatischen Analysegeräten entwickelt. Er ist einfach, vielseitig anwendbar und die Testergebnisse stehen nach kurzer Zeit zur Verfügung. **Elaprest Turbo** basiert auf der *In-vitro* Agglutination von mit anti-Pankreas-Elastase-Antikörpern beschichteten Polystyrol-Latexpartikeln mit der in der analysierten Lösung vorhandenen Pankreas-Elastase. Ist in der Stuhlprobe keine Pankreas-Elastase vorhanden, bleibt die Mischung als gleichmäßige Suspension erhalten. In Gegenwart von Pankreas-Elastase erhöht sich die Trübung des Mediums durch die Aggregation mit den Antikörpern auf den Latexpartikeln. Eine solche Trübung wird als Zunahme der Extinktion bei der determinierten Wellenlänge gemessen und ist proportional zur Menge des in der Probe enthaltenen Antigens. Im Vergleich zu normalen Werten weist eine geringe Konzentration an Pankreas-Elastase in Stuhl auf eine verminderte Funktion der Bauchspeicheldrüse hin, eine direkte Folge der PEI.

INHALT (AUSREICHEND FÜR MINDESTENS 100 TESTS)

Komponente	Menge	Deckelfarbe	Inhalt
Elaprest Turbo Reagent 1	1 Fläschchen x 24 ml		Enhancing Reagenz, gebrauchsfertig
Elaprest Turbo Reagent 2	1 Fläschchen x 4 ml		Lösung mit Latexpartikeln, die mit Antikörpern gegen humane Pankreas-Elastase beschichtet sind; gebrauchsfertig.
Elaprest Turbo Calibrator 0	1 Röhrchen x 1 ml	Gelb	Pankreas-Elastase-Lösung (0 µg/g); gebrauchsfertig.
Elaprest Turbo Calibrator 1	1 Röhrchen x 1 ml	Rosa	Pankreas-Elastase-Lösung (25 µg/g); gebrauchsfertig.
Elaprest Turbo Calibrator 2	1 Röhrchen x 1 ml	Rot	Pankreas-Elastase-Lösung (50 µg/g); gebrauchsfertig.
Elaprest Turbo Calibrator 3	1 Röhrchen x 1 ml	Violett	Pankreas-Elastase-Lösung (100 µg/g); gebrauchsfertig.
Elaprest Turbo Calibrator 4	1 Röhrchen x 1 ml	Grün	Pankreas-Elastase-Lösung (200 µg/g); gebrauchsfertig.
Elaprest Turbo Calibrator 5	1 Röhrchen x 1 ml	Blau	Pankreas-Elastase-Lösung (400 µg/g); gebrauchsfertig.
Elaprest Turbo Control 1	2 Röhrchen x 1 ml	Weiß	Rekombinante menschliche Pankreas-Elastase in Pufferlösung; gebrauchsfertig, nicht verdünnen. Der Wertebereich ist auf dem Etikett angegeben.
Elaprest Turbo Control 2	2 Röhrchen x 1 ml	Braun	Rekombinante menschliche Pankreas-Elastase in Pufferlösung; gebrauchsfertig, nicht verdünnen. Der Wertebereich ist auf dem Etikett angegeben.

ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE MATERIALIEN

- Stuhlprobenbehälter
- Transportbehälter
- Einweghandschuhe und Laborausüstung
- Stuhlsammelröhrchen (z.B. **EasyCal Turbo** ref. 9302)
- Brechbare sterile Einweg-Impfösen oder -Holzstäbchen (Bei Verwendung der auf Seite 19 beschriebenen manuellen Extraktionsmethode für Stuhlproben)
- Polystyrol-Einwegröhrchen (14 ml) mit Schraubverschluss (Bei Verwendung der auf Seite 19 beschriebenen manuellen Extraktionsmethode für Stuhlproben)
- Extraktionspuffer 1x (**Calprest Turbo** Extraction kit ref. 9299, Bei Verwendung der auf Seite 19 beschriebenen manuellen Extraktionsmethode für Stuhlproben)
- Mikrozentrifugenröhrchen (1-1,5 ml)
- Digitale Feinwaage (40-150 mg) (Bei Verwendung der auf Seite 19 beschriebenen manuellen Extraktionsmethode für Stuhlproben)
- Vortex-Mischer
- Schüttler oder Rollmischer (Bei Verwendung der auf Seite 19 beschriebenen manuellen Extraktionsmethode für Stuhlproben)
- Mikrozentrifuge (10.000 x g) (Bei Verwendung der auf Seite 19 beschriebenen manuellen Extraktionsmethode für Stuhlproben)
- Präzisionspipetten

Ausrüstung für turbidimetrische Messungen

Jede turbidimetrische automatische Analysevorrichtung; für das gerätespezifische Protokoll siehe den zusätzlichen Anwendungshinweis.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT VON REAGENZIEN UND ARBEITSLÖSUNGEN

- Alle Reagenzien und Arbeitslösungen müssen bei 2-8°C aufbewahrt werden.
- Das Verfallsdatum ist auf dem jeweiligen Etikett der Kit-Komponenten angegeben.
- Nicht hohen Temperaturen, direktem Sonnenlicht oder extremer Feuchtigkeit aussetzen.

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Patientenpräparate und Stuhlproben unter Beachtung der Guten Laborpraxis (GLP) mit geeigneten Vorsichtsmaßnahmen und als potentiell infektiös behandeln. Schutzkleidung tragen, Einweghandschuhe, Schutzbrille und Maske verwenden. Im Arbeitsbereich nicht essen, trinken oder rauchen.
- Nur zur *In-vitro* Diagnostik.
- Der Kit enthält kein humanes Material.
- Eine in Turbidimetrietechnik und im Gebrauch des Autoanalysators ausgebildete Person ist erforderlich.
- Kit-Komponenten verschiedener Chargen nicht zusammen verwenden. Eine zufriedenstellende Testleistung ist nur dann gewährleistet, wenn Komponenten aus derselben **Elaprest Turbo** Charge verwendet werden.
- Die Drehverschlüsse verschiedener Reagenzien nicht vertauschen.
- Das Analysegerät muss einsatzbereit sein, bevor ein Assay durchgeführt wird.
- Komponenten nicht nach dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Bei beschädigter Verpackung sich vergewissern, dass alle unter „Inhalt“ aufgeführten Komponenten vorhanden und unbeschädigt sind. Tritt aus den Röhrchen Flüssigkeit aus, den Kit nicht verwenden.
- Die Lösungen sollten nach dem Test gemäß den örtlichen Vorschriften in einem geeigneten Behälter entsorgt werden.
- EUH210 -Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.

STUHLPROBENENTNAHME

Eine ausreichende und repräsentative Menge humanen Stuhl sammeln. Diese Stuhlproben in sauberen und trockenen Einwegbehältern (ohne Konservierungsmittel oder Transportmedien) sammeln. Die Abgabe von Stuhlproben aus Windeln sollte vermieden werden, es sei denn, die abgegebene Probe kann aus einem Teil des Stuhls entnommen werden, der nicht mit dem Windelmaterial in Berührung gekommen ist.

Stuhlprobenanforderungen

1-5 g Stuhl in einem sauberen Röhrchen mit Schraubverschluss sammeln. Es sind keine Konservierungsmittel erforderlich, noch angezeigt.

Stuhlprobentransport

Die Transportzeit der Stuhlprobe darf 3 Tage nicht überschreiten. Die Temperatur während des Versands sollte 30°C nicht überschreiten. Die Verwendung von Kühlelementen wird dringend empfohlen.

Stuhlprobenlagerung

Stuhlproben im Labor können bis zu 2 Tage bei 2-8 °C gelagert werden, bevor der Test durchgeführt werden muss. Für eine längere Lagerung (bis zu 1 Jahr) die Stuhlproben bei -20 °C einfrieren. Mehr als 3 Einfrier-/Auftauzyklen vermeiden.

VERFAHREN

Stuhlprobenvorbereitung

Gefrorene Stuhlproben auftauen lassen und sicherstellen, dass alle Reagenzien für das Extraktionsverfahren Raumtemperatur (20-25°C) angenommen haben. Es gibt zwei alternative Methoden der Stuhlprobenvorbereitung: manuell oder mit dem **EasyCal Turbo** Stuhlentnahmeröhrchen. Die Anwender können ihre bevorzugte Methode zur Stuhlprobenvorbereitung wählen.

A. **EasyCal Turbo** Stuhlprobenvorbereitung

1. Informationen über das Verfahren zur Probenentnahme/Extraktion sind in der Arbeitsanleitung von **EasyCal Turbo** (Ref. 9302) aufgeführt.
2. Nach dem Extraktionsverfahren ist der Stuhlextrakt für die Testdurchführung vorbereitet. Das **EasyCal Turbo** Röhrchen (ohne Trichter und Stäbchen) direkt in die turbidimetrische Analysevorrichtung einsetzen oder den Überstand für das Analyseverfahren in einen Adapter (nicht mitgeliefert) überführen.
3. Wird der Extrakt nicht sofort analysiert, kann er gemäß der Gebrauchsanweisung von **EasyCal Turbo** (Ref. 9302) gelagert werden.

B. Manuelle Probenvorbereitung

Für jede zu testende Probe ein Zentrifugenröhrchen mit Schraubverschluss verwenden. Das Zentrifugenröhrchen mit dem Namen oder der Nummer des Patienten beschriften.

1. Das leere Zentrifugenröhrchen zusammen mit der Impföse oder dem hölzernen Applikatorstäbchen wiegen (tarieren).
2. Die Stuhlprobe mittels der Impföse oder des hölzernen Applikatorstäbchens gut mischen, damit die Stuhlprobe so homogen wie möglich ist. Mit Hilfe der Impföse (oder des hölzernen Applikatorstäbchens) etwa 50 mg (zwischen 40-60 mg) an Stuhl entnehmen und in das zuvor gewogene Zentrifugenröhrchen überführen.
3. Das Röhrchen mit der Impföse oder dem Holzstäbchen und der enthaltenen Stuhlprobe wiegen und das Nettogewicht der Probe berechnen (40-60 mg).
4. Den Ösengriff oder das Holzstäbchen abbrechen, und die Öse oder das Holzstäbchen mit der Stuhlprobe und einem 4 bis 6 cm langen Griff im Zentrifugenröhrchen lassen.
5. Fügen Sie die gebrauchsfertige 1X fache Extraktionslösung (Calprest Turbo Extraction Kit, Ref. 9299) in einem Gewichts-Volumen-Verhältnis von 1:100 hinzu, z. B. 50 mg Stuhlprobe + 4,95 ml Extraktionslösung (siehe Tabelle unten). Die Stuhlprobenkonzentration in der Extraktionslösung wird dann 10 mg/ml betragen. Das Röhrchen verschließen.

Stuhlprobe (mg)	Extraktionslösung (ml)	Stuhlprobe (mg)	Extraktionslösung (ml)
60	5,94	45	4,45
55	5,45	40	3,96
50	4,95		

6. Mit einem Vortex-Mischer 30 Sekunden lang kräftig mischen.
7. Mit einem Schüttler oder Rollmischer für 25 ± 5 Minuten homogenisieren. Die Impföse oder das Holzstäbchen im Röhrchen wirken als Rüttler.
8. Das Homogenat (1 ml) in ein Mikrozentrifugenröhrchen überführen und für 20 Minuten mit $10000 \times g$ bei Raumtemperatur zentrifugieren.
9. 0,5 ml des klaren Überstandes in ein neues Mikrozentrifugenröhrchen überführen. Kontakt mit dem Sediment vermeiden, da Aggregate oder Partikel zu fehlerhaften Pankreas-Elastase-Werten führen können.
10. Die Extrakte können sofort getestet oder unter folgenden Bedingungen gelagert werden:
 - Bis zu 72 Stunden bei Raumtemperatur
 - Bis zu 14 Tage bei $2-8^{\circ}\text{C}$
 - Bis zu 90 Tage bei -20°C . Gefrorene Proben können bis zu 4 Einfrier- / Auftauzyklen unterzogen werden.

ANALYTISCHES VERFAHREN

1. Sicherstellen, dass alle Reagenzien Raumtemperatur ($20-25^{\circ}\text{C}$) erreicht haben.
2. Gefrorene Stuhlproben bei Raumtemperatur auftauen.
3. **Elaprest Turbo** Reagent 1 und **Elaprest Turbo** Reagent 2 sind gebrauchsfertig in Flaschen abgefüllt werden, die direkt in den Eu-Turbo Analyzer (Ref. 9194) geladen werden können. Soll der Test auf einem anderen turbidimetrischen Analysator durchgeführt werden, muss der Inhalt der Flaschen in Flaschen umgefüllt werden, die dem verwendeten System eigen sind.
4. Die Reagenzien **Elaprest Turbo** Calibrator (0 bis 5) und **Elaprest Turbo** Control (1 und 2) sind gebrauchsfertig.
5. Erstellung der Kalibrierungskurve:
 - 5.1 Zur Kalibrierung nur **Elaprest Turbo** Calibrator verwenden. Die Konzentration ist auf dem Etikett jedes Röhrchens angegeben.
 - 5.2 Nach der Einstellung ist die Kalibrierungskurve bis zu 30 Tage zulässig stabil. Es wird jedoch dringend empfohlen, das System wöchentlich zu kalibrieren.
 - 5.3 Das System ist neu zu kalibrieren, sobald die Reagenzien-Charge geändert wird oder wenn die Kontrollen außerhalb des auf dem jeweiligen Etikett bzw. dem Kit beigefügten Analysezertifikat angegebenen Bereichs liegen.
6. Qualitätskontrolle:
 - 6.1 Für die Qualitätskontrolle **Elaprest Turbo** Control verwenden. Die Konzentration ist auf dem Etikett jedes Röhrchens angegeben.
 - 6.2 Zur Validierung der Kalibrierungskurve sollten die Kontrollen täglich vor den Patientenproben durchlaufen.
 - 6.3 Wenn die Ergebnisse außerhalb des für die Kontroll-Charge angegebenen Bereichs liegen, müssen Ausrüstung, Reagenzien oder die Technik überprüft werden.
7. Testablauf:
 - 7.1 Der Test kann mit den gängigsten turbidimetrischen Geräten durchgeführt werden. Für die Liste der validierten turbidimetrischen Analysegeräte und die dazugehörigen Anwendungshinweise unter der folgenden E-Mail-Adresse an Eurospital wenden.

marketing.diagnostics@eurospital.it

BEWERTUNG DER TESTERGEBNISSE

- **Negative Ergebnisse:** Pankreas-Elastase-Werte über $200 \mu\text{g/g}$ zeigen einen normalen Gehalt an menschlicher Pankreas-Elastase in der analysierten Stuhlprobe an.
- **Positive Ergebnisse:** Pankreas-Elastase-Werte unter $100 \mu\text{g/g}$ zeigen eine anormal Konzentration an menschlicher Pankreas-Elastase in der analysierten Stuhlprobe an. Erwachsene Personen mit diesen Werten werden als Patienten mit eingeschränkter Pankreasfunktion identifiziert, weitere diagnostische Untersuchungen sind daher erforderlich.
- **Grenzwertige Ergebnisse:** Pankreas-Elastase-Werte in der Grauzone ($100-200 \mu\text{g/g}$) müssen nach 2-6 Wochen erneut analysiert werden.

Die folgende Tabelle fasst die Beurteilung der Ergebnisse zusammen:

Pankreas-Elastase-Konzentration	Bewertung	Weiterverfolgung
> 200 µg/g	Normal	Entfällt
100 - 200 µg/g	Grenzwertig	Nach 2 bis 6 Wochen erneut überprüfen
< 100 µg/g	Anormal	Wiederholen wie klinisch indiziert

LEISTUNGSMERKMALE

Elaprest Turbo Grenzwert:

- Pankreas-Elastase-Konzentrationen über 200 µg/g Stuhl gelten als normal und weisen nicht auf eine verminderte Pankreasfunktion hin.
- Pankreas-Elastase-Konzentrationen unter 100 µg/g weisen auf eine beeinträchtigte Pankreasfunktion hin.

EINSCHRÄNKUNGEN

Elaprest Turbo sollte nur zur Bestimmung von Pankreas-Elastase aus humanen Stuhlproben verwendet werden. Der Kit ist nicht für die Verwendung mit Körperflüssigkeiten (z. B. Blut, Serum, Plasma, Urin, Rückenmarkflüssigkeit, Speichel, Gelenksflüssigkeit oder Emphysemflüssigkeit) vorgesehen. Die Verwendung des Tests mit anderen Proben als humanem Stuhl wurde noch nicht validiert. Die Qualität der Untersuchung hängt von der Qualität der analysierten Stuhlprobe ab. Es müssen geeignete Stuhlproben entnommen werden.

INTERFERENZEN UND KREUZREAKTIVITÄT

Eine Evaluierungsstudie wurde durchgeführt, um die Interferenz und Kreuzreaktivität von **Elaprest Turbo** zu bestimmen. Es wurde keine Interferenz mit Rinderserumalbumin, Hämin, Ascorbinsäure und keine Kreuzreaktivität mit Schweinepankreas-Elastase gefunden.

KLINISCHE LEISTUNG















Eine Methodenvergleichsstudie wurde zwischen Eurospital **Elaprest Turbo** und einem Vergleichsprodukt (ScheBo® Pancreatic Elastase 1™ Stool Test) mit 93% diagnostischer Spezifität und 93% diagnostischer Sensibilität durchgeführt. In der Studie wurden 40 Proben von Spendern mit Magen-Darm-Störungen mit beiden Methoden gemäß der Gebrauchsanweisung des Herstellers getestet. Die Ergebnisse sind in folgenden Tabellen zusammengefasst:

		Vergleichsprodukt		
		Positiv	Negativ	Gesamt
Elaprest Turbo ref. 9298	Positiv	10	2	12
	Negativ	0	28	28
	Gesamt	10	30	40

Positive Übereinstimmung	100%
Negative Übereinstimmung	93%
Gesamtübereinstimmung	95%

REFERENCES / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFÍA / LITERATUR

1. A. Szegoleit & D. Linder: Studies on the Sterol-Binding Capacity of Human Pancreatic Elastase 1; Gastroenterology; 1991
2. Andriulli et al.: Exocrine Pancreatic Insufficiency, as Assessed by Fecal Elastase-1 Levels, in Diabetic Patients: An Estimate of Prevalence in Prospective Studies; Journal of Diabetes and Metabolism; 2014
3. Dominguez-Muñoz, J.E. et al.: Potential for Screening for Pancreatic Exocrine Insufficiency Using the Fecal Elastase-1 Test; Digestive Diseases and Sciences; 2017.
4. R. Vanga et al.: Diagnostic Performance of Measurement of Fecal Elastase-1 in Detection of Exocrine Pancreatic Insufficiency: Systematic Review and Meta-analysis; Clinical Gastroenterology and Hepatology; 2018

Legend / Legenda / Légende / Leyenda / Legende	
 Consult electronic instructions for use / Consultare le istruzioni per l'uso elettroniche / Consulter la notice d'utilisation électronique / Consultense las instrucciones electrónicas de uso / Elektronischen Gebrauchsanweisung beachten	 Sufficient for / Sufficiente per / Suffisant pour / Válido para / Ausreichend für
 Use by / Data di scadenza / Date de péremption / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	 Manufacturer / Fabricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller
 European Conformity / Conformità agli standard europei / Conformité aux normes européennes / Conformidad europea / Europäische Konformität	 In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Producto sanitario para diagnóstico in vitro / In-vitro-Diagnostikum
 Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limitación de temperatura / Temperaturbegrenzung	 Reagent / Reagente / Réactif / Reactivo / Reagens
 Catalogue number / Numero di Catalogo / Référence du catalogue / Número de catálogo / Bestel Nummer	 Control / Controllo / Contrôle / Control / Kontrolle
 Keep dry / Conservare in luogo asciutto / Garder au sec / Almacenar en lugar seco / Bleib trocken	 Calibrator / Calibratore / Calibrateur / Calibrador / Kalibrator
 Keep out of the sunlight / Tenere lontano dalla luce del sole / Gardez hors de la lumière du soleil / Manténgase fuera de la luz del sol / Vor dem Sonnenlicht schützen	 Batch number / Numero di lotto / Numéro de lot / Número de lote / Chargennummer

**ANNEX INFORMATION OF THE VALIDATED COMPATIBLE TURBIDIMETRIC INSTRUMENTS
 INFORMAZIONI DEGLI STRUMENTI TURBIDIMETRICI COMPATIBILI VALIDATI
 ANNEXE INFORMATIONS SUR LES INSTRUMENTS TURBIDIMÉTRIQUES COMPATIBLES VALIDÉS
 ANEXO INFORMACIÓN DE LOS INSTRUMENTOS TURBIDIMÉTRICOS COMPATIBLES VALIDADOS
 ANHANG INFORMATIONEN DER VALIDIERTEN KOMPATIBLEN TURBIDIMETRISCHEN INSTRUMENTE**

Manufacturer	Model
Eurospital	Eu-Turbo Analyzer
Abbott	Architect c4000 / c8000 / c16000
Abbott	Alinity c-series
Awareness	Chemwell-T
Binding Site	Optlite
Mindray	BS-200
Roche	cobas c111
Tecom	TC220
Tokyo Boeki	Biolis i24/i50

Elaprest Turbo

- Ref. 9298**, 100 tests.
Ref. 9298, 100 test.
Ref. 9298, 100 tests.
Ref. 9298, 100 ensayos.
Ref. 9298, 100 tests.



Eurospital SpA
 Via Flavia 122, 34147 Trieste, Italia
 Tel. +39 040 8997.1 - Fax +39 040 280944
 www.eurospital.com - info@eurospital.it

