


















Pancreatic Elastase ELISA

Dosage immunoenzymatique pour la détection quantitative de l'élastase pancréatique dans les échantillons de selles d'origine humaine

REF G09040 $\nabla \Sigma$ 96
IVD Diagnostic in vitro **CE**

 **Seramun Diagnostica GmbH** • Spreehagener Str. 1 • 15754 Heidesee • Germany •
T +49 33767 791-10 • info@seramun.com • www.seramun.com

 UDI	Identification unique des dispositifs	 IVD	Diagnostic in vitro	 Fabricant	
 DE	Date et pays de fabrication	 Ne pas réutiliser		 SN	Numéro de série
 %	Limitation de l'humidité de l'air	 Protéger de la lumière du soleil		 REF	Numéro d'article
 i	Respecter la notice d'utilisation	 Date de péremption		 LOT	Numéro de lot
 $\nabla \Sigma$	Convient pour <i>n</i> tests	 Risque biologique		 Plage de température	
				 Attention	

Destination

Le Pancreatic Elastase ELISA est un test IVD pour la détermination quantitative de l'élastase pancréatique dans des échantillons de selles d'origine humaine par un utilisateur spécialisé dans un environnement de laboratoire.

Ce test est utilisé en association avec, en accessoire, le kit de préparation des selles de Bioserv Diagnostics GmbH (GZ3008) ou le Stool Preparation Kit de Seramun Diagnostica GmbH (ACS-001) ou le tampon d'extraction (10x) de Bioserv Diagnostics GmbH (G09038P01) ou le tampon d'extraction (10x) de Seramun Diagnostica GmbH (ACS-002).

Il sert d'aide au diagnostic de l'insuffisance pancréatique exocrine dans des échantillons de patients présentant des symptômes d'insuffisance pancréatique exocrine.

Le test ne doit pas être utilisé avec d'autres matériaux que des échantillons de selles d'origine humaine, ni pour le dépistage, la surveillance, la prédiction, le diagnostic, le pronostic, comme diagnostic compagnon, dans un environnement près du patient et par des utilisateurs non professionnels.


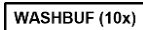
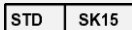

Principe du test

Le Pancreatic Elastase ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) est un dosage immunoenzymatique en phase solide basé sur la technique du double sandwich destiné à la détermination quantitative de l'élastase pancréatique dans les échantillons de selles humaines.

Les cavités de la plaque ELISA sont recouvertes d'anticorps polyclonaux qui, lors de la première étape d'incubation, immobilisent par une liaison anticorps-antigène les molécules d'élastase pancréatique humaine provenant d'échantillons de patients. Dans la deuxième étape d'incubation, on ajoute des anticorps polyclonaux marqués à la biotine qui se lient à l'élastase pancréatique humaine immobilisée. Lors de la troisième étape d'incubation, le conjugué streptavidine-peroxydase (HRP) se lie à la biotine. Pour éliminer les composants non liés, une étape de lavage est effectuée après chaque étape d'incubation.

Dans l'étape de réaction enzymatique suivante, la peroxydase du conjugué streptavidine-peroxydase transforme la solution de substrat incolore avec la 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) en un produit final bleu. La réaction colorée est stoppée après un temps défini par l'ajout d'acide sulfurique 0,25 M (H₂SO₄). La densité optique (DO) du produit final, mesurée à 450 nm pour le filtre de mesure et à 620 nm pour le filtre de référence, est directement proportionnelle à la concentration d'élastase pancréatique spécifiquement liée.

Composants du test (fournis)

		Pour 96 cavités		
1		Plaque de microtitrage Recouverte d'anticorps polyclonaux antiélastase pancréatique (lapin)	12 barrettes séparables de 8 cavités chacune, scellées sous vide avec sachet déshydratant	
2		Tampon de lavage (10x) Tampon à base de phosphate	2 x 100 mL de concentré, incolore, pour 2 x 1000 mL de solution, capuchon blanc	
3		Étalon SK15 STD SK15	15 µg/g	0,7 mL, prêt à l'emploi, incolore, capuchon rose
4		Étalons 1 à 4 STD 1 STD 2 STD 3 STD 4	50 µg/g 100 µg/g 200 µg/g 500 µg/g	0,7 mL chacun, prêt à l'emploi, incolore Capuchon incolore Capuchon blanc Capuchon jaune Capuchon bleu

5	CONTROL 1	Contrôle 1 70 à 110 µg/g	0,7 mL, prêt à l'emploi, incolore, capuchon brun
6	CONTROL 2	Contrôle 2 160 à 240 µg/g	0,7 mL, prêt à l'emploi, incolore, capuchon vert
7	CONJ BIOTIN (201x)	Anticorps antiélastase biotinylés (201x) Anticorps polyclonaux biotinylés antiélastase pancréatique (lapin)	0,12 mL, concentré, incolore, pour 24 mL de solution, capuchon rouge
8	CONJ STREPT	Conjugué de streptavidine	8,0 mL, prêt à l'emploi, coloration rougeâtre, capuchon violet
9	SUBSTR	Substrat < 0,1 % 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine	13 mL, prêt à l'emploi, incolore, capuchon bleu
10	STOP	Solution d'arrêt Acide sulfurique 0,25 M	13 mL, prêt à l'emploi, incolore, capuchon jaune
11	DIL BOTTLE	Flacon vide Pour la dilution des anticorps biotinylés antiélastase pancréatique	Non rempli, capuchon rouge
12		Mode d'emploi	1 pièce
13		Certificat d'analyse	1 pièce

Matériel et outils supplémentaires nécessaires à la réalisation du test

Micropipettes à un canal réglables • Pipettes à 8 canaux ou multipipettes avec pointes de pipettes • Peigne de lavage manuel à 8 canaux avec pompe à vide et conteneurs à déchets ou laveur de plaques de microtitrage • Photomètre pour plaques de microtitrage avec filtre de mesure à 450 nm et filtre de référence à 620 nm • Eau désionisée • Éprouvettes graduées • Tubes à essai pour la dilution des échantillons • Balance de précision pour peser les selles • Stool Preparation Kit (GZ3008 / ACS-001) ou tampon d'extraction (10x) (G09038P01 / ACS-002) • Étuve/incubateur

Remarques importantes



Ce kit de test est uniquement destiné à un usage diagnostique *in vitro* et ne doit être utilisé que par des professionnels de laboratoire formés.

Le mode d'emploi doit être strictement respecté. Le kit de test et ses réactifs ouverts ne doivent être utilisés que dans les délais de conservation indiqués. Les composants provenant d'emballages ou de flacons endommagés ne doivent pas être utilisés. Il est interdit de compléter un kit de test ouvert avec des réactifs d'autres fabricants.

Il est interdit de mélanger des composants de kits de différents lots.

Tout incident grave lié au Pancreatic Elastase ELISA doit être signalé au fabricant et aux autorités compétentes de l'État membre de l'UE dans lequel l'utilisateur et/ou le patient sont établis.

Remarques sur la réalisation du test

La température de stockage des réactifs jusqu'à leur réutilisation doit être comprise entre 2 et 8 °C. Réchauffer tous les composants du test à température ambiante avant de les utiliser.

Pour les grandes séries d'échantillons, il est recommandé de pipeter les réactifs dans les réservoirs de liquide à l'aide d'une pipette multicanaux afin d'éviter les retards.

L'ordre des étapes de pipetage et la durée des étapes d'incubation doivent être respectés.

Les étapes d'aspiration et de lavage peuvent être réalisées manuellement, ou bien à l'aide d'un laveur de plaques de microtitrage ou d'une trompe à eau.

Lors du processus de lavage, laisser agir le tampon de lavage dilué distribué pendant au moins 5 secondes et éliminer les restes de tampon de lavage en aspirant soigneusement ou en secouant les cavités !

Conserver le substrat à l'abri de la lumière !

Consignes de sécurité


Ne pas ingérer les réactifs et éviter tout contact avec les muqueuses.

Certains réactifs peuvent contenir des biocides comme agents de conservation.

Lors de la manipulation des composants du kit de test, des échantillons de patients et des contrôles, il convient de respecter les prescriptions relatives à la prévention des accidents en cas de manipulation de matériel potentiellement infectieux et de produits chimiques dangereux.

Des informations complémentaires à celles contenues dans le présent mode d'emploi sont disponibles dans la fiche de données de sécurité.

Le produit contient les substances dangereuses suivantes :

Composants de test	Symboles de danger et informations complémentaires sur les composants
WELLS	Contient des matières d'origine animale.
WASHBUF (10x)	-
STD SK15	Contient des matières d'origine animale.
STD 1 - 4	Contient des matières d'origine animale.
CONTROL 1	Contient des matières d'origine animale.
CONTROL 2	Contient des matières d'origine animale.
CONJ BIOTIN (201x)	Contient des matières d'origine animale.
CONJ STREPT	Contient des matières d'origine animale.
SUBSTR	EUH210 : fiche de données de sécurité disponible sur demande.
STOP	Composants dangereux : acide sulfurique 2,5 % Mention : Attention  H290 : Peut être corrosif pour les métaux.

Limites de la méthode

Lorsque la température ambiante est supérieure à 40 °C, les échantillons de patients doivent être transportés réfrigérés ou congelés (voir Conservation et stockage des échantillons). Les échantillons de selles aqueux peuvent donner des résultats faussement bas en raison de l'effet de dilution. Si les selles sont aqueuses, il faut essayer d'obtenir un autre échantillon de consistance plus solide. Si cela n'est pas possible, les selles peuvent être pipetées (10 µL de selles aqueuses + 1 mL de tampon d'extraction [1x]). Comme il existe un risque de valeurs faussement pathologiques (faussement basses) en raison de la dilution des selles, la consistance doit être notée et, en cas de résultat pathologique, le test doit être répété avec un échantillon de selles malléable.

Il est possible que des réactions croisées se produisent en cas de traitement de substitution par des protéines issues du pancréas de porc. Il peut donc être nécessaire d'interrompre un traitement de substitution. Il n'existe pas de certitude quant à la nécessité d'arrêter un traitement de substitution avant de réaliser le test.

Traitement des échantillons

Prélèvement des échantillons

Recueillir les selles dans un récipient de prélèvement approprié.

Conservation et stockage des échantillons

Les échantillons de selles peuvent être conservés à différentes températures pendant les durées suivantes :

Échantillons de selles humaines natives		Surnageant extrait de l'échantillon	
Stockage	Durée	Stockage	Durée
2 à 8 °C	7 jours	2 à 8 °C	3 jours
20 à 22 °C	5 jours	-18 à -27 °C	1 mois
40 °C	2 jours		

Les échantillons de selles et le surnageant extrait peuvent être congelés et décongelés jusqu'à deux fois ; au-delà, les échantillons doivent être divisés en portions si nécessaire afin d'éviter des cycles de congélation et décongélation trop fréquents.

Préparation des échantillons

En cas de pesée de l'échantillon :

1. Préparation du tampon d'extraction (10x) (G09038P01/ACS-002) par dilution au 1:10° (= 1+9) avec de l'eau désionisée (p. ex. 50 mL de tampon d'extraction [10x] + 450 mL d'eau désionisée)
2. Mélange d'échantillons de selles d'origine humaine au 1:101° avec le tampon d'extraction (1x) (p. ex. 10 mg de selles + 1 mL de tampon d'extraction [1x]).
3. Homogénéisation des échantillons à l'aide d'un agitateur rotatif, suivie d'une sédimentation des composants solides.
4. Enlèvement du surnageant après 15 à 30 minutes de sédimentation à température ambiante ou alternativement entre 2 et 8 °C pendant une nuit.

En cas d'utilisation du kit de préparation des selles :

En option pour la pesée des échantillons de selles, le Stool Preparation Kit (GZ3008/ACS-001) peut être utilisé, conformément au mode d'emploi.

Dilution finale de l'échantillon :

Le surnageant est dilué au 1:201° (1+200) avec le tampon de lavage (1x) (p. ex. 25 µL de surnageant + 5 mL de tampon de lavage [1x]). Les dilutions d'échantillons ainsi préparées sont désormais prêtes à l'emploi pour le test.

Remarque : si des cristaux de sel se sont déposés dans le tampon d'extraction ou le tampon de lavage, agiter légèrement la solution et la chauffer au bain-marie entre 30 et 35 °C avant utilisation pour les dissoudre.

Le surnageant prélevé peut être conservé à environ -18 °C pendant 4 semaines maximum en vue d'analyses ultérieures. Il est absolument nécessaire de séparer le surnageant des sédiments lors du stockage.

Traitement des réactifs

Conservation et stockage des réactifs

Le kit de test complet, avec les flacons de réactifs et les barrettes de microtitrage fermés, se conserve jusqu'à la date de péremption indiquée lorsqu'il est stocké entre 2 et 8 °C. Tous les composants des kits de test ouverts peuvent être conservés pendant 3 mois maximum s'ils sont stockés correctement entre 2 et 8 °C. Le tampon d'extraction dilué peut être conservé jusqu'à 1 mois entre 2 et 8 °C. Le tampon de lavage dilué peut être conservé pendant 1 mois maximum s'il est stocké entre 2 et 8 °C. La dilution prête à l'emploi du conjugué de biotine doit être fraîchement préparée, de préférence avant

chaque série de tests. D'autres études ont montré qu'un stockage entre 2 et 8 °C est possible jusqu'à 1 mois.

Préparation des réactifs

La plaque de microtitrage avec barrettes séparables est scellée sous vide dans un sachet en aluminium contenant un agent déshydratant. N'ouvrir l'emballage qu'une fois la température ambiante atteinte. Protéger les cavités non utilisées de l'humidité et les remettre dans leur sachet avec l'agent déshydratant, puis le fermer.

Diluer le tampon de lavage (10x) au 1:10^e avec de l'eau désionisée. Exemple : 10 mL de tampon de lavage (10x) + 90 mL d'eau désionisée.

Diluer le conjugué de biotine concentré (201x) avec le tampon de lavage (1x) au 1:201^e. Pour préparer le conjugué de biotine prêt à l'emploi, utiliser le flacon vide à capuchon rouge fourni dans le kit. Attention : le flacon vide est destiné à un usage unique !

Exemples : 1 volume de conjugué de biotine (201x) + 200 volumes de tampon de lavage (1x).

– 5 µL de conjugué de biotine (201x) dans 1 mL de tampon de lavage (1x) (pour 2 barrettes de microtitrage)

– 25 µL de conjugué de biotine (201x) dans 5 mL de tampon de lavage (1x) (pour 10 barrettes de microtitrage)

Réalisation du test

1. Chauffer les réactifs de test et le nombre de cavités nécessaires à température ambiante et agiter légèrement tous les réactifs avant utilisation, en évitant la formation de mousse.
2. Pour 50 µL de blanc (=étalon zéro ou tampon de lavage dilué), pipeter
50 µL

STD	SK15
-----	------

 d'étalon SK15
50 µL

STD	1 - 4
-----	-------

 d'étalons 1 à 4
50 µL

CONTROL	1
---------	---

 de contrôle 1
50 µL

CONTROL	2
---------	---

 de contrôle 2
50 µL d'échantillons de selles extraits et dilués.
3. Incuber la plaque pendant 60 min à 37 °C.
4. Décantier et laver 3 fois avec 300 µL de tampon de lavage dilué. Si nécessaire, éliminer le liquide résiduel en le secouant sur de la cellulose.
5. Pipeter 50 µL

CONJ BIOTIN

 de conjugué de biotine dilué par cavité.
6. Incuber la plaque pendant 30 min à 37 °C.
7. Décantier et laver 3 fois avec 300 µL de tampon de lavage dilué. Si nécessaire, éliminer le liquide résiduel en le secouant sur de la cellulose.
8. Pipeter 50 µL

CONJ STREPT

 de conjugué de streptavidine par cavité.
9. Incuber la plaque pendant 30 min à 37 °C.
10. Décantier et laver 3 fois avec 300 µL de tampon de lavage dilué. Si nécessaire, éliminer le liquide résiduel en le secouant sur de la cellulose.
11. Pipeter 100 µL

SUBSTR

 de substrat par cavité.
12. Incuber pendant 20 minutes à 37 °C à l'**abri de la lumière**.
13. Pipeter 100 µL

STOP

 de solution d'arrêt par cavité, agiter brièvement.
14. Mesurer la DO à 450 nm pour le filtre de mesure et à 620 nm pour le filtre de référence avec un photomètre pour plaques de microtitrage en 30 minutes.

Évaluation des résultats

Évaluation quantitative

Une courbe standard est construite en traçant les absorbances mesurées de l'étalon SK15 et des étalons 1 à 4 (axe des y) par rapport aux concentrations d'antigènes correspondantes (axe des x).

La régression linéaire ou le modèle de régression à 4 paramètres sont recommandés pour établir la courbe standard.

À l'aide de la courbe standard, les absorbances mesurées des échantillons dilués sont converties en microgrammes d'élastase pancréatique par gramme de selles (concentration d'antigène en µg/g de selles). Les concentrations indiquées pour les étalons tiennent déjà compte du facteur de dilution régulier du surnageant d'échantillon de selles de 1 : 201.

Le test peut être évalué si :

- Valeur moyenne de DO du blanc (=étalon zéro ou tampon de lavage dilué) < 0,15
- Valeur moyenne de concentration du Control 1 entre 70 µg/g et 110 µg/g
- Valeur moyenne de concentration du Control 2 entre 160 µg/g et 240 µg/g

Si les critères de validité mentionnés ne sont pas remplis, le test doit être recommencé. Le traitement doit être effectué conformément au mode d'emploi (préparation correcte des réactifs, temps et température d'incubation corrects, lavage soigneux). Si les critères de validité ne sont toujours pas remplis après avoir recommencé le test, contacter le fabricant.

Interprétation des résultats

Fonction pancréatique exocrine normale	> 200 µg d'élastase/g de selles
Insuffisance pancréatique exocrine légère à modérée	100 à 200 µg d'élastase/g de selles
Insuffisance pancréatique exocrine sévère	< 100 µg d'élastase/g de selles

Caractéristiques

Précision

Pour déterminer la précision (coefficient de variation intra-essai, inter-essai, lot à lot), 8 échantillons ont été analysés sur 20 jours, par 2 opérateurs en double avec 3 lots de Pancreatic Elastase ELISA.

Échantillon	Coefficient de variation intra-essai		Coefficient de variation inter-essai		Coefficient de variation lot à lot	
	\bar{x} µg d'élastase/g de selles	CV (%)	\bar{x} µg d'élastase/g de selles	CV (%)	\bar{x} µg d'élastase/g de selles	CV (%)
1	68,0	6,1	68,0	9,1	69,7	10,2
2	93,2	2,7	93,2	6,4	94,5	8,3
3	107,1	4,1	107,1	7,4	107,2	9,1
4	201,6	3,3	201,6	8,9	202,5	9,4
5	208,2	2,8	208,2	6,5	208,7	7,1
6	319,8	3,4	319,8	7,4	319,3	8,0
7	438,0	2,6	438,0	4,9	433,0	5,9
8	506,0	2,8	506,0	6,2	499,3	8,2

Linéarité

En utilisant un lot de Pancreatic Elastase ELISA, une plage linéaire de 1,2 à 233,2 µg d'élastase/g de selles a été déterminée avec un coefficient de détermination de 0,997.

Limites de détection (LoB, LoD, LoQ, effet prozone)

La limite du blanc (LoB) du Pancreatic Elastase ELISA a été déterminée par 80 dosages du tampon de lavage dilué avec 1,3 µg d'élastase/g de selles. La limite de détection (LoD) du Pancreatic Elastase ELISA a été déterminée par 80 dosages d'une dilution d'échantillons de selles dans la plage de concentration allant de la limite du blanc à 4 fois la limite du blanc avec 3,9 µg d'élastase/g de selles. La limite de quantification (LoQ) du Pancreatic Elastase ELISA a été déterminée par l'analyse de

5 dilutions d'échantillons de selles dans une plage de concentration préalablement déterminée empiriquement à 32,9 µg d'élastase/g de selles.

En raison du traitement successif des tests, un effet prozone est exclu, ce qui a pu être prouvé expérimentalement.

Sensibilité et spécificité

La sensibilité et la spécificité du Pancreatic Elastase ELISA ont été déterminées dans le cadre d'une étude comparative avec un test ELISA disponible sur le marché.

Pour déterminer la sensibilité, un panel de n=102 échantillons de selles cliniquement caractérisées a été soumis à des tests comparatifs et les résultats ont été comparés dans le tableau suivant à quatre entrées. Le panel se compose d'échantillons de patients diagnostiqués avec un cancer du pancréas, un diabète de type 2, une pancréatite chronique et une mucoviscidose.

n = 102 Échantillons de selles cliniques	Test ELISA de référence > 200 µg d'élastase/g de selles	Test ELISA de référence < 200 µg d'élastase/g de selles
Pancreatic Elastase ELISA > 200 µg d'élastase/g de selles	47	2
Pancreatic Elastase ELISA < 200 µg d'élastase/g de selles	5	48

Sensibilité : 96,0 %.

Pour déterminer la spécificité, une cohorte de n=200 donneurs sains d'échantillons de selles a été testée de manière comparative et les résultats ont été comparés dans le tableau suivant à quatre entrées.

n = 200 Distributeur d'échantillons de selles	Test ELISA de référence > 200 µg d'élastase/g de selles	Test ELISA de référence < 200 µg d'élastase/g de selles
Pancreatic Elastase ELISA > 200 µg d'élastase/g de selles	195	2
Pancreatic Elastase ELISA < 200 µg d'élastase/g de selles	1	2

Spécificité : 99,5 %.

Taux de récupération

Afin de pouvoir tirer des conclusions sur le taux de récupération des valeurs de concentration mesurées pour le Pancreatic Elastase ELISA, un échantillon peu réactif (~100 µg d'élastase/g de selles) a été mélangé avec un échantillon très réactif (> 300 µg d'élastase/g de selles) selon un rapport de 1 volume pour 9 volumes et l'écart entre la concentration d'élastase calculée et la concentration d'élastase mesurée a été déterminé. L'écart entre la concentration d'élastase calculée et la concentration mesurée se situait entre 9,7 et 15,2 %.

Réactivité croisée

Les micro-organismes suivants ont été testés avec le Pancreatic Elastase ELISA avec un nombre de bactéries $\geq 10^8$ unités formant des colonies (UFC) par millilitre dans un tampon d'échantillon ou des isolats cliniques dilués à 1 : 20 000°. Aucune réactivité croisée n'a été déterminée :

<i>Aeromonas hydrophila</i>	ATCC 7966	<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 8427
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 10145
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC 25285	<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC 49128
<i>Campylobacter coli</i>	ATCC 33559	<i>Salmonella anatum</i>	ATCC 9270
<i>Campylobacter fetus</i>	ATCC 27374	<i>Salmonella enterica</i> Serovar <i>thyphimurium</i>	ATCC 14028
<i>Campylobacter jejunii</i>	ATCC 32291	<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>galolyticus/enteritidis</i>	ATCC 13076
<i>Campylobacter lari</i>	ATCC 35221	<i>Salmonella infantis</i>	ATCC 51741
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	ATCC 43954	<i>Salmonella paratyphi</i> A	ATCC 11511

<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	<i>Salmonella paratyphi B</i>	ATCC 8759
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090	<i>Salmonella paratyphi C</i>	Pasteur n° 2
<i>Clostridium difficile</i>	VPI 10463	<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022
<i>Clostridium sordelli</i>	ATCC 9714	<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC 13813
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Vibrio cholerae</i>	Isolat clinique
<i>Klebsiella pneumonia</i>	ATCC 13883	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802
<i>Lactococcus lactis</i>	DSM 20481	<i>Yersinia enterocolitica 0:3</i>	Isolat clinique
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 25830	<i>Yersinia enterocolitica 0:9</i>	Isolat clinique
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	ATCC 27337	<i>Yersinia enterocolitica RKI 0803733</i>	Isolat clinique
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 29906	<i>Yersinia enterocolitica Y11</i>	Isolat clinique

Interférences

Les substances énumérées ci-dessous n'ont pas eu d'influence significative sur le résultat du test lorsqu'elles ont été ajoutées à des échantillons de selles contenant des substances à analyser et faiblement réactives. Les concentrations indiquées se réfèrent à 30 mg d'échantillon de selles:

(-)-scopolamine butylbromure (0,5 %, Buscopan®), sulfate de baryum (5 %), biotine (0,001 %), sous-salicylate de bismuth (III) (0,5 %, Pepto-Bismol), cyclamate (5 %), diclofénac (0,5 %), hémoglobine humaine (5 %), sang humain (5 %), Hylak® N (5 %), Iberogast® (5 %), Imodium® duo (0,12/7,5 %), chlorhydrate de lopéramide (5 %, lopéramide-CT aiguë), métronidazole (0,5 %), mucine (5 %), Nexium® (0,25 %), nifuroxazide (0,5 %, Pentofuryl®), acide palmitique (20 %), poudre de pancréas de porc (5 %, Pangrol® 25 000), poudre de pancréas de porc (2,5 %, Pankreatar® 36 000), poudre de pancréas de porc (2,5 %, Panzytrat® 40 000), pancréatine (5 %, Kreon® 35 000), Perenterol forte (0,5 %), Rennie® (20 %), Simagel® (1 %), acide stéarique (20 %), vancomycine (0,5 %).

Performances cliniques

Le Pancreatic Elastase ELISA a fait l'objet de 15 études cliniques entre 2003 et 2021 en Europe et dans d'autres régions, qui ont clairement démontré ses performances cliniques [1-15].

Le Pancreatic Elastase ELISA a été utilisé pour analyser une sélection d'échantillons cliniques dans le cadre d'une étude externe de performances cliniques, à partir de laquelle les paramètres de performances suivants ont été calculés rétrospectivement.

Sensibilité diagnostique	60 % pour la pancréatite chronique 79 % pour la mucoviscidose 41 % pour le diabète de type 2 61 % pour le cancer du pancréas 61 % en tout
Spécificité diagnostique	88 % en tout
Valeur prédictive positive	59,6 % pour la pancréatite chronique 79,2 % pour la mucoviscidose 41,2 % pour le diabète de type 2 61,1 % pour le cancer du pancréas 91,9 % en tout
Valeur prédictive négative	31,3 % pour la pancréatite chronique 9,8 % pour la mucoviscidose 17,9 % pour le diabète de type 2 13,2 % pour le cancer du pancréas 51,7 % en tout
Rapport de vraisemblance	5,2 = (LR+), 0,5 = (LR-) pour la pancréatite chronique 6,9 = (LR+), 0,2 = (LR-) pour la mucoviscidose 3,6 = (LR+), 0,7 = (LR-) pour le diabète de type 2 5,3 = (LR+), 0,4 = (LR-) pour le cancer du pancréas 6 = (LR+), 0,4 = (LR-) en tout

Une étude comparative du Pancreatic Elastase ELISA et d'un test ELISA de référence, avec des échantillons cliniquement caractérisés, a donné les résultats suivants :

Sensibilité diagnostique	92,6 %
Spécificité diagnostique	97,6 %
Valeur prédictive positive	89,3 %
Valeur prédictive négative	98,4 %
Rapport de vraisemblance	38,27 (LR+) 0,08 (LR-)

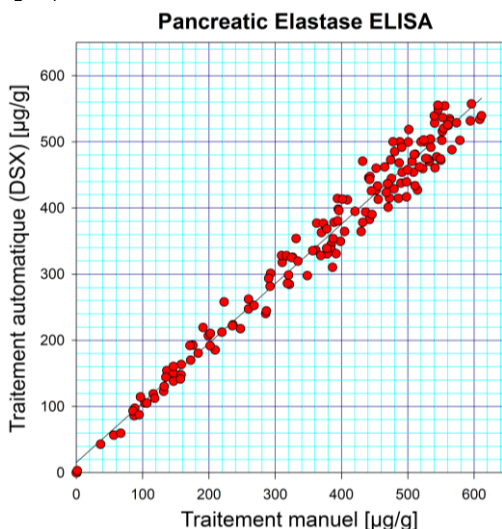
Application

Traitement automatique

En fonction de l'appareil utilisé et des réglages individuels de l'appareil, des valeurs de DO plus élevées peuvent être mesurées lors du traitement du Pancreatic Elastase ELISA sur un appareil entièrement automatisé pour plaques de microtitrage (comme DS2 ou DSX) par rapport au traitement manuel.

Corrélation : traitement manuel – automatique

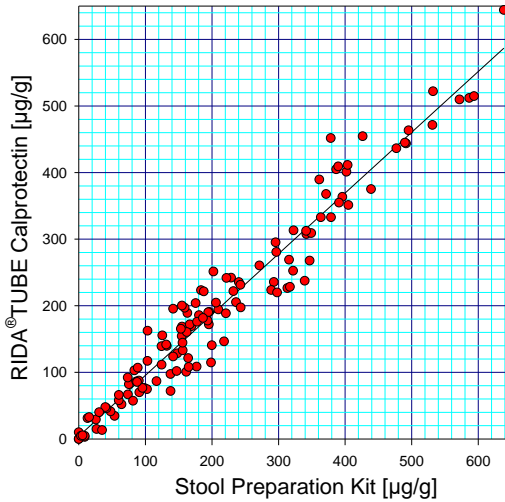
Dans le cadre de l'analyse de 160 échantillons de selles, un coefficient de corrélation moyen de $r=0,987$ a été déterminé lors d'un traitement manuel et automatique effectué en parallèle sur 3 lots (DSX[®], Dynex Technologies).



Étude d'équivalence des systèmes de préparation des selles

Dans le cadre de l'analyse de $n=120$ échantillons de selles, un coefficient de corrélation de $r=0,974$ a été obtenu avec un lot de Pancreatic Elastase ELISA (G09040) lors de la préparation parallèle des échantillons à l'aide du Stool Preparation Kit (ACS-001) et de RIDA[®]TUBE Calprotectin (R-Biopharm, GZ3016).

Pancreatic Elastase ELISA



Préparation des échantillons (en option)

En cas d'utilisation du kit de préparation des selles RIDA®TUBE Calprotectin (R-Biopharm, GZ3016)

En option pour la pesée des échantillons de selles, le kit de préparation des selles de R-Biopharm RIDA®TUBE Calprotectin peut être utilisé.

Dilution finale de l'échantillon :

Le surnageant est dilué au 1 : 81^e (1+80) avec le tampon de lavage (1x) (p. ex. 25 µL de surnageant + 2 mL de tampon de lavage [1x]). Les dilutions d'échantillons ainsi préparées sont prêtes à l'emploi pour le test.

Conservation et stockage des échantillons pour RIDA®TUBE Calprotectin (R-Biopharm, GZ3016)

Les échantillons de selles dans les tubes d'extraction ou le surnageant extrait d'échantillons peuvent être conservés à différentes températures pendant les durées suivantes :

<u>Échantillons de selles dans des tubes d'extraction</u>		<u>Surnageant extrait de l'échantillon</u>	
Stockage	Durée	Stockage	Durée
2 à 8 °C	3 jours	2 à 8 °C	Une nuit
23 °C	Impossible	23 °C	Impossible
-20 °C	Impossible	-20 °C	Impossible

Remarque : Il est recommandé d'effectuer le même jour l'extraction de l'échantillon, la dilution de l'échantillon avec RIDA®TUBE Calprotectin (R-Biopharm, GZ3016) et le test de l'échantillon avec Pancreatic Elastase ELISA. En outre, il est possible de conserver les extraits d'échantillons générés avec RIDA®TUBE Calprotectin (R-Biopharm, GZ3016) dans les tubes d'extraction jusqu'à 72 h entre 2 et 8 °C et d'utiliser le surnageant d'échantillons séparé conservé une nuit entre 2 et 8 °C pour un test ultérieur. Il n'est pas possible de tester les extraits d'échantillons, le surnageant d'échantillons ou les dilutions d'échantillons au-delà de la période indiquée, ni de les stocker et de les tester à des températures supérieures ou inférieures à la plage comprise entre 2 et 8 °C.

Remarque : pour plus d'informations, consulter le mode d'emploi de RIDA®TUBE Calprotectin (R-Biopharm, GZ3016).

Historique des modifications

Version	Section	Modifications
2022-10_v01	Document complet	Création
2023-09_v02	Remarques importantes ; évaluation des résultats	Mise à jour des consignes de sécurité ; symboles de danger Mise à jour de l'évaluation quantitative : régression linéaire

Les références

Citations appartenant à la section performance clinique.

- Pietzner, M., et al., Exocrine Pancreatic Function Modulates Plasma Metabolites Through Changes in Gut Microbiota Composition. *J Clin Endocrinol Metab*, 2021. **106**(5): p. e2290-e2298.
- Boga, S., et al., Liver and pancreas: 'Castor and Pollux' regarding the relationship between hepatic steatosis and pancreas exocrine insufficiency. *Pancreatol*, 2020. **20**(5): p. 880-886.
- Aksoz, Z., et al., The easy way of evaluating exocrine pancreatic insufficiency in type 2 diabetes : listen to the patients' complaints and look in their eyes! *Acta Gastroenterol Belg*, 2020. **83**(3): p. 407-412.
- Akay, S., B. Sirin, and B. Unsal, Fecal Elastase Levels Predict Honeycombing in Pancreas Detected with Endoscopic Ultrasound. *Can J Gastroenterol Hepatol*, 2018. **2018**: p. 4625247.
- Ellemunter, H., et al., Fecal Calprotectin in Cystic Fibrosis and Its Relation to Disease Parameters: A Longitudinal Analysis for 12 Years. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2017. **65**(4): p. 438-442.
- Aoufi Rabih, S., et al., Exocrine pancreatic insufficiency and chronic pancreatitis in chronic alcoholic liver disease: coincidence or shared toxicity? *Pancreas*, 2014. **43**(5): p. 730-4.
- Fernandez-Lorenzo, A.E., et al., V232D mutation in patients with cystic fibrosis: Not so rare, not so mild. *Medicine (Baltimore)*, 2018. **97**(28): p. e11397.
- Demoulin, N., et al., Enteric hyperoxaluria in chronic pancreatitis. *Medicine (Baltimore)*, 2017. **96**(19): p. e6758.
- Shin, Y.C., et al., Effects of pancreatotomy on nutritional state, pancreatic function, and quality of life over 5 years of follow up. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2020.
- Srivastava, A., et al., Prevalence and predictive factors of undernutrition and low bone mineral density in children with chronic pancreatitis. *Pancreatol*, 2021. **21**(1): p. 74-80.
- Singh, N., et al., Antioxidants for Pancreatic Functions in Chronic Pancreatitis: A Double-blind Randomized Placebo-controlled Pilot Study. *J Clin Gastroenterol*, 2020. **54**(3): p. 284-293.
- Chowdhury, S.D., et al., Pancreatic exocrine insufficiency: Comparing fecal elastase 1 with 72-h stool for fecal fat estimation. *Indian J Gastroenterol*, 2016. **35**(6): p. 441-444.
- O'Sullivan, B.P., et al., Evolution of pancreatic function during the first year in infants with cystic fibrosis. *J Pediatr*, 2013. **162**(4): p. 808-812 e1.
- Malluta, E.F., et al., Pancreatic endosonographic findings and clinical correlation in Crohn's disease. *Clinics (Sao Paulo)*, 2019. **74**: p. e853.
- Bartels, R.H., et al., Pancreatic Enzyme Replacement Therapy in Children with Severe Acute Malnutrition: A Randomized Controlled Trial. *J Pediatr*, 2017. **190**: p. 85-92 e2.

Citations courantes.

- Basturk, A., Y. Curek, R. Felek, G. Celmeli and R. Artan (2021). "Exocrine pancreas functions in children with type 1 diabetes mellitus." *Arab J Gastroenterol* **22**(3): 236-239.
- Beyer, G., Hoffmeister, A., Michl, P., Gress, T. M., Huber, W., Algül, H., ... & Mayerle, J. (2022). S3-Leitlinie Pankreatitis–Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs-und Stoffwechselkrankheiten (DGVS)–September 2021–AWMF Registernummer 021-003. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 60(03), 419-521.
- Dominici, R. and C. Franzini (2002). "Fecal elastase-1 as a test for pancreatic function: a review." *Clin Chem Lab Med* **40**(4): 325-332.
- Gonzales, A. C., S. M. Vieira, R. L. Maurer, F. A. Silva and T. R. Silveira (2011). "Use of monoclonal faecal elastase-1 concentration for pancreatic status assessment in cystic fibrosis patients." *J Pediatr (Rio J)* **87**(2): 157-162.
- Gullo, L., L. Graziano, S. Babbini, A. Battistini, R. Lazzari and R. Pezzilli (1997). "Faecal elastase 1 in children with cystic fibrosis." *Eur J Pediatr* **156**(10): 770-772.
- Keim, V., Teich, N., & Moessner, J. (2003). Clinical value of a new fecal elastase test for detection of chronic pancreatitis. *Clinical laboratory*, 49(5-6), 209-215.
- Löser, C., A. Möllgaard and U. R. Fölsch (1996). "Faecal elastase 1: a novel, highly sensitive, and specific tubeless pancreatic function test." *Gut* **39**(4): 580-586.
- Naruse, S., H. Ishiguro, S. B. Ko, T. Yoshikawa, T. Yamamoto, A. Yamamoto, S. Futakuchi, H. Goto, Y. Saito and S. Takahashi (2006). "Fecal pancreatic elastase: a reproducible marker for severe exocrine pancreatic insufficiency." *J Gastroenterol* **41**(9): 901-908.
- Rothembacher, D., M. Löw, P. D. Hardt, H. U. Klör, H. Ziegler and H. Brenner (2005). "Prevalence and determinants of exocrine pancreatic insufficiency among older adults: results of a population-based study." *Scand J Gastroenterol* **40**(6): 697-704.