

Pancreatic Elastase ELISA

Test immunoenzimatico per la determinazione quantitativa dell'elastasi pancreatica in campioni di feci di origine umana

REF G09040 $\nabla \Sigma$ 96
IVD Dispositivo medico-diagnostico in vitro **CE**



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

UDI Codice identificativo univoco del dispositivo



Paese di fabbricazione e data di fabbricazione



Limite di umidità dell'aria



Rispettare le istruzioni per l'uso



Quantità sufficiente per n test

IVD Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Non riutilizzare



Conservare al riparo dalla luce solare



Data di scadenza



Rischio biologico



Produttore



Numero di serie



Codice prodotto



Numero di lotto



Range di temperatura



Attenzione

Destinazione d'uso

Pancreatic Elastase ELISA è un test IVD per la determinazione quantitativa dell'elastasi pancreatica in campioni di feci di origine umana a cura di un operatore esperto in ambiente di laboratorio.

Il test viene utilizzato in abbinamento con il kit di preparazione del campione di Bioserv Diagnostics GmbH (GZ3008) o di Seramun Diagnostica GmbH (ACS-001) o con il tampone di estrazione (10x) di Bioserv Diagnostics GmbH (G09038P01) oppure con il tampone di estrazione (10x) di Seramun Diagnostica GmbH (ACS-002).

Serve di aiuto nella diagnosi di insufficienza pancreatica esocrina in pazienti che presentano sintomi di insufficienza pancreatica esocrina.

Il test non deve essere usato da personale non specializzato, né con materiali diversi da campioni di feci di origine umana, né per scopi di screening, monitoraggio, previsione, diagnosi, prognosi, come test diagnostico complementare o decentrato.


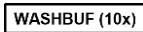
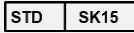
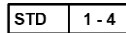

Principio del test

Pancreatic Elastase ELISA (acronimo di Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) è un test immunoenzimatico a fase solida utile alla determinazione quantitativa dell'elastasi pancreatica in campioni di feci umane sulla base della tecnica a doppio sandwich.

I pozzetti della piastra ELISA sono rivestiti di anticorpi policlonali che nella prima fase di incubazione immobilizzano molecole dell'elastasi pancreatica umana dei campioni attraverso un legame antigene-anticorpo. Nella seconda fase di incubazione vengono aggiunti anticorpi policlonali marcati con biotina che si legano all'elastasi pancreatica umana immobilizzata. Nella terza fase di incubazione il coniugato di streptavidina-perossidasi (HRP) si lega alla biotina. A ciascuna fase di incubazione segue una fase di lavaggio per rimuovere componenti non legati.

Nella successiva fase della reazione enzimatica, la perossidasi del coniugato di streptavidina-perossidasi trasforma la soluzione incolore del substrato in un prodotto finale blu attraverso la 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Dopo un intervallo di tempo definito, la reazione cromatica viene bloccata con l'aggiunta di 0,25 M di acido solforico (H₂SO₄). La densità ottica (DO) del prodotto finale letta attraverso un filtro di misurazione da 450 nm e uno di riferimento da 620 nm è direttamente proporzionale alla concentrazione dell'elastasi pancreatica specificamente legata.

Componenti del test (dotazione)

				Per 96 pozzetti
1		Piastra da microtitolazione Rivestita con anticorpi policlonali anti-elastasi pancreatica (coniglio)		12 strisce frazionabili di 8 pozzetti ciascuna, sigillate sottovuoto con sacchetto di materiale igroscopico
2		Tampone di lavaggio (10x) Tampone a base di fosfato		2 x 100 mL di concentrato incolore per 2 x 1000 mL di soluzione, tappo bianco
3		Standard SK15 STD SK15	15 µg/g	0,7 mL, pronto per l'uso, incolore, tappo rosa
4		Standard 1-4 STD 1 STD 2 STD 3 STD 4	50 µg/g 100 µg/g 200 µg/g 500 µg/g	0,7 mL ciascuno, pronto per l'uso, incolore tappo trasparente tappo bianco tappo giallo tappo blu
5		Controllo 1	70-110 µg/g	0,7 mL, pronto per l'uso, incolore, tappo marrone

6	CONTROL 2	Controllo 2 160-240 µg/g	0,7 mL, pronto per l'uso, incolore, tappo verde
7	CONJ BIOTIN (201x)	Anticorpo biotinilato anti-elastasi (201x) Anticorpo policlonale biotinilato, anti-elastasi pancreatico (coniglio)	0,12 mL, concentrato, incolore per 24 mL di soluzione, tappo rosso
8	CONJ STREPT	Coniugato di streptavidina	8,0 mL, pronto per l'uso, colore rossastro, tappo lilla
9	SUBSTR	Substrato < 0,1 % 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina	13 mL, pronto per l'uso, incolore, tappo blu
10	STOP	Soluzione bloccante 0,25 M di acido solforico	13 mL, pronto per l'uso, incolore, tappo giallo
11	DIL BOTTLE	Flacone vuoto per la diluizione dell'anticorpo biotinilato anti-elastasi pancreatico	vuoto, tappo rosso
12		Istruzioni per l'uso	1 copia
13		Certificato di analisi	1 copia

Materiali e strumenti necessari per l'esecuzione del test

Micropipetta monocolore regolabile • pipetta da 8 canali o multipipette con puntali • pettine a 8 canali per lavaggio manuale con pompa a vuoto e contenitori per rifiuti o dispositivo per il lavaggio delle piastre da microtitolazione • fotometro per piastre da microtitolazione con filtro di misurazione da 450 nm e filtro di riferimento da 620 nm • acqua deionizzata • cilindro graduato • provetta per la diluizione del campione • bilancia di precisione per pesare le feci • Stool Preparation Kit (GZ3008 / ACS-001) o tampone di estrazione (10x) (G09038P01 / ACS-002) • armadio termico/incubatore

Informazioni importanti



Questo dispositivo è destinato solo all'uso diagnostico *in-vitro* e può essere adoperato solo da personale specializzato di laboratorio con adeguata formazione.

Attenersi rigorosamente alle Istruzioni per l'uso. Utilizzare il dispositivo e i suoi reagenti aperti solo entro le scadenze indicate. Non utilizzare componenti di confezioni o flaconi danneggiati. Non integrare i reagenti di un dispositivo aperto con reagenti di altri produttori.

Non mescolare i componenti di dispositivi di lotti diversi.

Tutti gli incidenti gravi che si verificano in correlazione con il test Pancreatic Elastase ELISA devono essere comunicati al produttore e alle autorità competenti dello Stato membro dell'UE di residenza dell'operatore e/o del paziente.

Note sull'esecuzione del test

Conservare i reagenti aperti e avanzati a una temperatura 2...8 °C. Portare tutti i componenti del test a temperatura ambiente prima dell'uso.

Se il numero di campioni da processare è elevato, per evitare ritardi è consigliabile pipettare i reagenti da serbatoi mediante una pipetta multicanale.


Rispettare la sequenza delle fasi di pipettaggio e la durata delle fasi di incubazione.

Le fasi di aspirazione e di lavaggio possono avvenire manualmente o con l'aiuto di un dispositivo di lavaggio per piastre da microtitolazione o di una pompa a getto d'acqua.
Lasciare agire il tampone di lavaggio diluito come minimo per 5 secondi e rimuoverne i residui tramite accurata aspirazione dei pozzetti o picchiettando leggermente la piastra.
Conservare il substrato al riparo dalla luce.

Avvertenze di sicurezza

Non ingerire i reagenti ed evitare il contatto con le mucose.
Alcuni reagenti possono contenere biocidi come conservante.
Trattare i componenti del dispositivo, i campioni dei pazienti e i controlli alla stregua di sostanze chimiche pericolose o materiale potenzialmente infetto.
Per ulteriori informazioni consultare la scheda dei dati di sicurezza.

Il prodotto contiene le seguenti sostanze pericolose:

Componente di prova	Etichettatura di pericolo e informazioni supplementari sugli ingredienti
WELLS	Materiale di origine animale.
WASHBUF (10x)	-
STD SK15	Materiale di origine animale.
STD 1 - 4	Materiale di origine animale.
CONTROL 1	Materiale di origine animale.
CONTROL 2	Materiale di origine animale.
CONJ BIOTIN (201x)	Materiale di origine animale.
CONJ STREPT	Materiale di origine animale.
SUBSTR	EUH210: Scheda dei dati di sicurezza disponibile su richiesta.
STOP	Componenti pericolosi: Acido solforico al 2,5% Avvertenza: Attenzione  H290: Può essere corrosivo per i metalli.

Limiti del metodo

In presenza di temperature ambiente superiori ai 40 °C, trasportare i campioni dei pazienti refrigerati o congelati (vedere Durata e conservazione dei campioni). I campioni di feci acquose possono fornire risultati erroneamente bassi a causa dell'effetto di diluizione. In caso di feci acquose è consigliabile cercare di ottenere un altro campione di consistenza più solida. Qualora questo non sia possibile, le feci possono essere pipettate (10 µL di feci acquose + 1 mL di tampone di estrazione [1x]). Poiché la diluizione delle feci comporta il rischio di valori patologici (bassi) erronei, la consistenza deve essere annotata e, in caso di esito patologico, il test deve essere ripetuto con un campione di feci solido.
La sostituzione con proteine da pancreas suino potrebbe generare reazioni crociate. Di conseguenza potrebbe essere necessario interrompere una terapia sostitutiva. Non esistono evidenze certe riguardo alla necessità di sospendere la terapia sostitutiva prima di eseguire il test.

Trattamento dei campioni

Campionamento

Raccogliere le feci nell'apposito recipiente.

Durata e conservazione dei campioni

I campioni di feci possono essere conservati a temperature differenti per i seguenti periodi:

Campioni di feci originari		Surnatanti estratti dai campioni	
Conservazione	Durata	Conservazione	Durata
2...8 °C	7 giorni	2...8 °C	3 giorni

20...22 °C
40 °C

5 giorni
2 giorni

-18...-27 °C

1 mese

I campioni di feci e il surnatante estratto possono essere congelati e scongelati fino a due volte; si consiglia eventualmente di suddividere i campioni in aliquote più piccole per evitare cicli di congelamento e scongelamento troppo frequenti.

Preparazione dei campioni

Pesatura del campione:

1. Preparazione del tampone di estrazione (10x) (G09038P01/ACS-002) attraverso diluizione 1:10 (= 1+9) con acqua deionizzata (per es. 50 mL di tampone di estrazione (10x) + 450 mL di acqua deionizzata)
2. Miscelazione dei campioni 1:101 con il tampone di estrazione (1x) (per es. 10 mg di feci + 1 mL di tampone di estrazione [1x]).
3. Omogeneizzazione dei campioni tramite agitatore a vortice e successiva sedimentazione dei componenti solidi.
4. Prelievo dei surnatanti dopo 15-30 min di sedimentazione a temperatura ambiente o in alternativa a 2...8 °C per una notte.

In caso di utilizzo del kit di preparazione delle feci:

In alternativa alla pesatura è possibile utilizzare lo Stool Preparation Kit (GZ3008/ACS-001), rispettando le istruzioni per l'uso.

Diluizione finale dei campioni:

I surnatanti vengono diluiti 1:201 (1+200) con tampone di lavaggio (1x) (per es. 25 µL di surnatante + 5 mL di tampone di lavaggio [1x]). Le diluizioni così ottenute sono pronte per essere impiegate nel test.

Nota: Prima dell'uso, disciogliere gli eventuali cristalli di sale precipitati nel tampone di estrazione o nel tampone di lavaggio mediante lieve agitazione e riscaldamento a bagnomaria a 30...35 °C.

I surnatanti prelevati possono essere conservati a ca. -18 °C per un massimo di 4 settimane per eventuali esami successivi. Per la conservazione è assolutamente necessario separare i surnatanti dal sedimento.

Trattamento dei reagenti

Durata e conservazione dei reagenti

Il dispositivo completo con flaconi di reagenti e strisce per microtitolazione sigillati si mantiene fino alla data di scadenza stampata sulla confezione se conservato a 2...8 °C. Dopo l'apertura, tutti i componenti si mantengono fino a 3 mesi se correttamente conservati a 2...8 °C. Il tampone di estrazione diluito si mantiene fino a 1 mese se conservato a 2...8 °C. Il tampone di lavaggio diluito si mantiene fino a 1 mese se conservato a 2...8 °C. È preferibile preparare la diluizione pronta per l'uso del coniugato di biotina fresca prima di ogni test. Ulteriori ricerche hanno mostrato che si conserva a 2...8 °C per un massimo di 1 mese.

Preparazione dei reagenti

La piastra da microtitolazione con strisce frazionabili è sigillata sottovuoto con essiccante in una bustina rivestita di alluminio. Aprire la confezione solo dopo avere raggiunto la temperatura ambiente. Proteggere i pozzetti inutilizzati dall'umidità, riporli insieme all'essiccante nella bustina e chiuderla.

Diluire il tampone di lavaggio (10x) 1:10 con acqua deionizzata Esempio: 10 mL di tampone di lavaggio (10x) + 90 mL di acqua deionizzata.

Diluire il coniugato di biotina concentrato (201x) con tampone di lavaggio (1x) 1:201. Per la preparazione del coniugato di biotina servirsi del flacone vuoto con il tappo rosso contenuto nel kit. Attenzione: il flacone vuoto è monouso.

Esempi: (1 parte di coniugato di biotina (201x) + 200 parti di tampone di lavaggio [1x]).

– 5 µL di coniugato di biotina (201x) in 1 mL di tampone di lavaggio (1x) (per 2 strisce per microtitolazione)

– 25 µL di coniugato di biotina (201x) in 5 mL di tampone di lavaggio (1x) (per 10 strisce per microtitolazione)

Esecuzione del test

1. Portare i reagenti e i pozzetti necessari a temperatura ambiente; agitare leggermente tutti i reagenti prima dell'uso, evitando la formazione di schiuma.
2. Pipettare 50 µL di bianco (standard zero ovvero tampone di lavaggio diluito)
50 µL

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

 di standard SK15
50 µL

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

 di standard 1-4
50 µL

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

 di controllo 1
50 µL

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

 di controllo 2
50 µL campioni di feci estratti e diluiti.
3. Incubare la piastra

per 30 min

 a 37 °C.
4. Decantare e lavare 3 volte con 300 µL di tampone di lavaggio diluito. All'occorrenza rimuovere il liquido residuo picchiettando su carta assorbente.
5. Pipettare 50 µL di coniugato di biotina per ciascun pozzetto.
6. Incubare la piastra per 30 min. a 37 °C.
7. Decantare e lavare 3 volte con 300 µL di tampone di lavaggio diluito. All'occorrenza rimuovere il liquido residuo picchiettando su carta assorbente.
8. Pipettare 50 µL

CONJ STREPT

 di coniugato di streptavidina per ciascun pozzetto.
9. Incubare la piastra per 30 min. a 37 °C.
10. Decantare e lavare 3 volte con 300 µL di tampone di lavaggio diluito. All'occorrenza rimuovere il liquido residuo picchiettando su carta assorbente.
11. Pipettare 100 µL

SUBSTR

 di substrato per ciascun pozzetto.
12. Incubare a 37 °C per 20 min. **al riparo dalla luce**.
13. Pipettare 100 µL

STOP

 di soluzione di arresto per ciascun pozzetto, agitare brevemente.
14. Misurare la DO con filtro di misurazione da 450 nm e di riferimento da 620 nm utilizzando un fotometro per piastre da microtitolazione entro 30 min.

Valutazione dei risultati

Valutazione quantitativa

Generare una curva standard tracciando le assorbanze misurate dello standard SK15 e degli standard 1-4 (asse y) rispetto alle concentrazioni antigeniche corrispondenti (asse x).

Per generare la curva standard si raccomanda la regressione lineare o il modello di regressione a 4 parametri.

In base alla curva standard, le assorbanze dei campioni diluiti sono convertite in µg di elastasi pancreatica/g di feci (concentrazione antigenica in µg/g di feci). Le concentrazioni indicate degli standard tengono conto del fattore di diluizione regolare di 1:201 dei surnatanti dei campioni di feci.

Il test è valutabile quando:

- il valore medio DO del bianco (standard zero o tampone di lavaggio diluito) è < 0,15
- il valore medio di concentrazione del Control 1 è compreso tra 70 µg/g e 110 µg/g
- il valore medio di concentrazione del Control 2 è compreso tra 160 µg/g e 240 µg/g

Se i criteri di validità citati non sono soddisfatti, il test deve essere ripetuto seguendo scrupolosamente le istruzioni per l'uso (corretta preparazione dei reagenti, tempi e temperature di incubazione corretti,

lavaggio accurato). Qualora i criteri di validità continuino a non essere soddisfatti, contattare il produttore.

Interpretazione dei risultati

Funzione pancreatica esocrina normale	> 200 µg di elastasi/g di feci
Insufficienza pancreatica esocrina da lieve a moderata	100-200 µg di elastasi/g di feci
Insufficienza pancreatica esocrina grave	< 100 µg di elastasi/g di feci

Prestazioni e caratteristiche

Precisione

Per la determinazione della precisione (coefficiente di variazione intra-assay, inter-assay, lot-to-lot) sono stati esaminati 8 campioni su 20 giorni, da 2 operatori in determinazione in doppio e in 3 lotti di Pancreatic Elastase ELISA.

Campione	Coefficiente di variazione intra-assay		Coefficiente di variazione inter-assay		Coefficiente di variazione lot-to-lot	
	\bar{x} µg elastasi/g feci	CV (%)	\bar{x} µg elastasi/g feci	CV (%)	\bar{x} µg elastasi/g feci	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

Linearità

Utilizzando un lotto di Pancreatic Elastase ELISA è stato individuato un intervallo di linearità da 1,2 a 233,2 µg di elastasi/g di feci con un coefficiente di determinazione di 0,997.

Limiti di rivelabilità (LoB, LoD, LoQ, effetto gancio ad alte dosi)

Il limite del bianco (LoB) del test Pancreatic Elastase ELISA è stato determinato mediante 80 misurazioni del tampone di lavaggio diluito con 1,3 µg di elastasi/g di feci. Il limite di rivelabilità (LoD) del test Pancreatic Elastase ELISA è stato determinato mediante 80 misurazioni di una diluizione del campione di feci nell'intervallo di concentrazione dal LoB fino a 4 volte il LoB con 3,9 µg di elastasi/g di feci. Il limite di quantificazione (LoQ) del test Pancreatic Elastase ELISA è stato determinato dall'esame di 5 diluizioni del campione di feci in un intervallo di concentrazione individuato in precedenza in modo empirico con 32,9 µg di elastasi/g di feci.

La successiva processazione del test ha escluso un effetto gancio ad alte dosi, come è stato possibile dimostrare sperimentalmente.

Sensibilità e specificità

La sensibilità e la specificità del test Pancreatic Elastase ELISA sono state determinate nell'ambito di uno studio comparativo con un ELISA disponibile in commercio.

Per la determinazione della sensibilità è stato testato con modalità comparativa un gruppo di campioni di feci clinicamente caratterizzati n = 102; i risultati sono stati messi a confronto nella seguente tabella a quattro campi. Il gruppo è composto da pazienti con diagnosi di carcinoma pancreatico, diabete mellito, pancreatite cronica e fibrosi cistica.

n = 102 campioni clinici di feci	ELISA comparativo > 200 µg di elastasi/g di feci	ELISA comparativo < 200 µg di elastasi/g di feci
Pancreatic Elastase ELISA > 200 µg di elastasi/g di feci	47	2
Pancreatic Elastase ELISA < 200 µg di elastasi/g di feci	5	48

Sensibilità: 96,0%

Per la determinazione della specificità è stata testata con modalità comparativa una coorte di n = 200 donatori sani di campioni di feci; i risultati sono stati messi a confronto nella seguente tabella a quattro campi.

n = 200 donatori di campioni di feci	ELISA comparativo > 200 µg di elastasi/g di feci	ELISA comparativo < 200 µg di elastasi/g di feci
Pancreatic Elastase ELISA > 200 µg di elastasi/g di feci	195	2
Pancreatic Elastase ELISA < 200 µg di elastasi/g di feci	1	2

Specificità: 99,5%

Recupero

Per poter determinare il recupero delle concentrazioni per Pancreatic Elastase ELISA, un campione debolmente reattivo (~100 µg di elastasi/g di feci) è stato mescolato con un campione altamente reattivo (> 300 µg di elastasi/g di feci) in rapporto di 1 parte per 9 ed è stata determinata la deviazione fra la concentrazione di elastasi calcolata e la concentrazione di elastasi misurata. La deviazione fra la concentrazione di elastasi calcolata e a quella misurata era compresa tra il 9,7 e il 15,2 %.

Reattività crociata

Pancreatic Elastase ELISA è stato eseguito sui microrganismi sottoelencati diluiti in tampone alla concentrazione di $\geq 10^8$ unità formanti colonia (UFC) per mL o su isolati clinici diluiti 1:20.000. Non sono state riscontrate reattività crociate.

<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 A</i>	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>	N. 2 Pasteur
<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>	Isolato clinico
<i>Klebsiella pneumonia</i>	ATCC 13883	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802
<i>Lactococcus lactis</i>	DSM 20481	<i>Yersinia enterocolitica</i> 0:3	Isolato clinico
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 25830	<i>Yersinia enterocolitica</i> 0:9	Isolato clinico
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	ATCC 27337	<i>Yersinia enterocolitica</i> RKI 0803733	Isolato clinico
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 29906	<i>Yersinia enterocolitica</i> Y11	Isolato clinico

Sostanze interferenti

Le sostanze elencate di seguito aggiunte a campioni contenenti gli analiti e ai campioni debolmente reattivi non hanno influito in modo significativo sul risultato del test. Le concentrazioni indicate si riferiscono a campioni di feci da 30 mg:

(-)-scopolamina N-butilbromuro (0,5 %, Buscopan®), solfato di bario (5 %), biotina (0,001 %) subsalicilato di bismuto (III) (0,5 %, Pepto-Bismol), ciclamato (5 %), diclofenac (0,5 %), emoglobina umana (5 %), sangue umano (5 %), Hylak® N (5 %), Iberogast® (5 %), Imodium® akut duo (0,12/7,5 %), loperamide cloridrato (5 %, Loperamid-CT akut), metronidazolo (0,5 %), mucina (5 %), Nexium® (0,25 %), nifuroxazide (0,5 %, Pentofuryl®), acido palmitico (20 %), polvere di pancreas suino (5 %, Pangrol® 25.000), polvere di pancreas suino (2,5 %, Pankreatan® 36.000), polvere di pancreas suino (2,5 %, Panzytrat® 40.000), pancreatina (5 %, Kreon® 35.000), Perenterol forte (0,5 %), Rennie® (20 %), Simigel® (1 %), acido stearico (20 %), vancomicina (0,5 %).

Prestazione clinica

Nel periodo dal 2003 al 2021, nell'area europea e in altri territori sono stati eseguiti 15 studi clinici che hanno consentito di documentare con chiarezza la prestazione clinica del test Pancreatic Elastase ELISA [1-15].

Pancreatic Elastase ELISA è stato utilizzato per testare una selezione di campioni clinici nell'ambito di uno studio di prestazione clinica esterno; i seguenti parametri di prestazione sono stati quindi calcolati con metodo retrospettivo.

Sensibilità diagnostica	60 % pancreatite cronica 79 % fibrosi cistica 41 % diabete mellito 61 % carcinoma pancreatico 61 % Totale
Specificità diagnostica	88 % Totale
Valore predittivo positivo	59,6 % pancreatite cronica 79,2 % fibrosi cistica 41,2 % diabete mellito 61,1 % carcinoma pancreatico 91,9 % Totale
Valore predittivo negativo	31,3 % pancreatite cronica 9,8 % fibrosi cistica 17,9 % diabete mellito 13,2 % carcinoma pancreatico 51,7 % Totale
Rapporto di probabilità	5,2 = (LR+), 0,5 = (LR-) pancreatite cronica 6,9 = (LR+), 0,2 = (LR-) fibrosi cistica 3,6 = (LR+), 0,7 = (LR-) diabete mellito 5,3 = (LR+), 0,4 = (LR-) carcinoma pancreatico 6 = (LR+), 0,4 = (LR-) totale

Confrontando il test Pancreatic Elastase ELISA con un ELISA comparativo sulla base di campioni clinicamente caratterizzati si ottengono i seguenti risultati:

Sensibilità diagnostica	92,6 %
Specificità diagnostica	97,6 %
Valore predittivo positivo	89,3 %
Valore predittivo negativo	98,4 %
Rapporto di probabilità	38,27 (LR+) 0,08 (LR-)

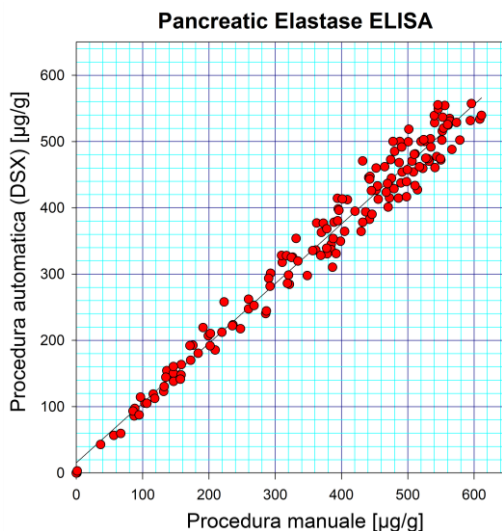
Applicazione

Procedura automatica

Utilizzando il test Pancreatic Elastase ELISA su un processore completamente automatizzato per piastre da microtitolazione (come per es. DS2 o DSX) è possibile misurare, a seconda dell'apparecchio impiegato e delle impostazioni dello strumento, valori DO superiori rispetto alla procedura manuale.

Correlazione: procedura manuale – automatica

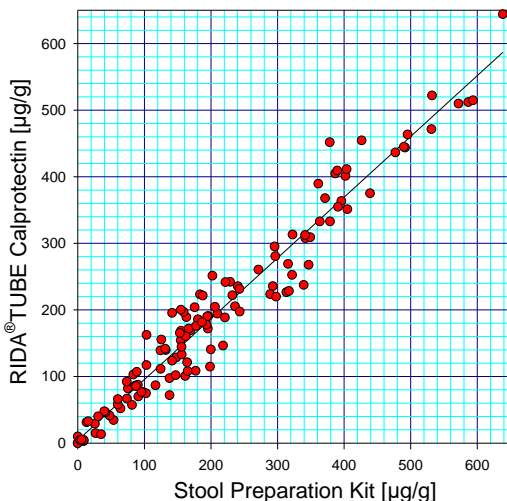
160 campioni di feci sono stati esaminati con procedura manuale e automatica eseguite in parallelo in 3 lotti (DSX[®], Dynex Technologies); è stato individuato un coefficiente di correlazione medio di $r = 0,987$.



Studio di equivalenza fra sistemi di preparazione delle feci

120 campioni di feci preparati con Stool Preparation Kit (ACS-001) e RIDA[®]TUBE Calprotectin (R-Biopharm, GZ3016) sono stati esaminati in parallelo in un lotto di Pancreatic Elastase ELISA (G09040); è stato individuato un coefficiente di correlazione di $r = 0,974$.

Pancreatic Elastase ELISA



Preparazione dei campioni (facoltativa)

Utilizzo del kit di preparazione del campione RIDA[®]TUBE Calprotectin (R-Biopharm, GZ3016)

In alternativa alla pesata dei campioni è possibile usare il kit di preparazione RIDA[®]TUBE Calprotectin di R-Biopharm.

Diluizione finale dei campioni:

I surnatanti vengono diluiti 1:81 (1+80) con tampone di lavaggio (1x) (per es. 25 µL di surnatante + 2 mL di tampone di lavaggio [1x]). Le diluizioni dei campioni così ottenute sono pronte per essere impiegate nel test.

Durata e conservazione dei campioni per RIDA[®]TUBE Calprotectin (R-Biopharm, GZ3016)

I campioni di feci in provette di estrazione o i surnatanti estratti possono essere conservati a temperature differenti per i seguenti periodi:

<u>Campioni di feci in provette di estrazione</u>		<u>Surnatanti estratti dai campioni</u>	
Conservazione	Durata	Conservazione	Durata
2...8 °C	3 giorni	2...8 °C	per una notte
23 °C	non possibile	23 °C	non possibile
-20 °C	non possibile	-20 °C	non possibile

Nota: Si raccomanda di eseguire l'estrazione, la diluizione con RIDA[®]TUBE Calprotectin (R-Biopharm, GZ3016) e l'analisi con il test Pancreatic Elastase ELISA nella stessa giornata. È inoltre possibile conservare gli estratti dei campioni preparati con RIDA[®]TUBE Calprotectin (R-Biopharm, GZ3016) nella provetta di estrazione fino a 72 ore a 2...8 °C e conservare i surnatanti separati dei campioni per una notte a 2...8 °C prima del test. Non è possibile conservare e testare gli estratti, i surnatanti o le diluizioni dei campioni per un periodo più lungo di quello indicato o a temperature superiori o inferiori a 2...8 °C.

Nota: ulteriori informazioni sono reperibili nelle istruzioni per l'uso di RIDA[®]TUBE Calprotectin (R-Biopharm, GZ3016).

Cronologia delle modifiche

Versione	Sezione	Modifiche
2022-10_v01	Intero documento	Nuova stesura
2023-09_v02	Informazioni importanti Valutazione dei risultati	Aggiornamento delle istruzioni di sicurezza; etichettatura di pericolo Aggiornamento della valutazione quantitativa: regressione lineare

Riferimenti

Citazioni appartenenti alla sezione Prestazioni Cliniche.

1. 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.
2. Boga, S., et al., Liver and pancreas: 'Castor and Pollux' regarding the relationship between hepatic steatosis and pancreas exocrine insufficiency. *Pancreatology*, 2020. **20**(5); p. 880-886.
3. 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.
4. 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.
5. 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. 383-442.
6. 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.
7. 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.
8. Demoulin, N., et al., Enteric hyperoxaluria in chronic pancreatitis. *Medicine (Baltimore)*, 2017. **96**(19); p. e6758.
9. 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.
10. Srivastava, A., et al., Prevalence and predictive factors of undernutrition and low bone mineral density in children with chronic pancreatitis. *Pancreatology*, 2021. **21**(1); p. 74-80.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. Malluta, E.F., et al., Pancreatic endosonographic findings and clinical correlation in Crohn's disease. *Clinics (Sao Paulo)*, 2019. **74**; p. e853.
15. 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.

Citazioni comuni.

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.

9. Rothenbacher, 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.