

BÜHLMANN fPELA[®] turbo

Dosage de l'élastase pancréatique par turbidimétrie
pour utilisation professionnelle

Coffret de réactifs

B-KPELA-RSET
Version A2

Pour utilisation en diagnostic *in vitro*



Fabricant

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Suisse

Téléphone: +41 61 487 12 12

Fax: +41 61 487 12 34

info@buhlmannlabs.ch

UTILISATION PRÉVUE

Le dosage BÜHLMANN fPELA[®] turbo est un test diagnostic *in vitro* pour la détermination quantitative de l'élastase pancréatique dans des extraits de selles humaines. Les résultats peuvent aider à déterminer une insuffisance pancréatique exocrine chez les patients souffrant d'affections telles qu'une pancréatite chronique et une mucoviscidose, en conjonction avec d'autres résultats de laboratoire et biologiques. Le dosage BÜHLMANN fPELA[®] turbo est destiné à être utilisé sur des analyseurs de chimie clinique. Pour utilisation en laboratoire uniquement.

PRINCIPE DU DOSAGE

Le test BÜHLMANN fPELA® turbo est un immunodosage turbidimétrique amplifié par particules (PETIA) et permet la quantification automatisée de l'élastase pancréatique dans les extraits fécaux sur différents analyseurs de chimie clinique. Les échantillons de selles sont extraits à l'aide du tampon d'extraction contenu dans le dispositif d'extraction CALEX® Cap et utilisés à une dilution finale de 1:500. Les extraits sont incubés avec du tampon de réaction avant d'être mélangés à des nanoparticules de polystyrène revêtues d'anticorps spécifiques de l'élastase pancréatique (immunoparticules). L'élastase pancréatique présente dans les échantillons permet l'agglutination des immunoparticules. La turbidité de l'échantillon, mesurée par absorbance la lumière, augmente avec la formation de complexes élastase pancréatique-immunoparticules et est proportionnelle à la concentration en élastase pancréatique. L'absorbance détectée permet la quantification de la concentration en élastase pancréatique grâce à l'interpolation sur une courbe d'étalonnage établie.

RÉACTIFS FOURNIS

Réactifs	Quantité	Code	Préparation
Tampon de réaction (R1) Tampon salin MES	1 flacon 27.0 mL	B-KPELA-R1	Prêt à l'emploi
Immunoparticules (R2) Billes de polystyrène revêtues d'anticorps de lapin anti-élastase pancréatique humaine	1 flacon 5.1 mL	B-KPELA-R2	Prêt à l'emploi

Tableau 1 : Réactifs fournis

STOCKAGE ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Réactifs non ouverts
Stocker à 2-8°C. Ne pas utiliser le coffret au-delà de la date de péremption figurant sur les étiquettes.
Stabilité à bord¹
Stable jusqu'à 3 mois (91 jours) à 5-12 °C.

Tableau 2 : Stockage et stabilité des réactifs

Ne pas congeler les réactifs !

¹ Stabilité à bord a été établi sur un instrument Roche cobas® 6000 c501

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Réactifs	Quantité	Code
BÜHLMANN fPELA® turbo Coffret de calibrateurs Calibrateurs 1 à 6 pour la détermination d'une courbe d'étalonnage en six points	1 x 6 flacons 1 mL/flacon	B-KPELA-CASET
BÜHLMANN fPELA® turbo Coffret de contrôles Contrôles haut et bas	3 x 2 flacons 1 mL/flacon	B-KPELA-CONSET
Dispositif CALEX® Cap Dispositif d'extraction rempli de tampon d'extraction	50 tubes 200 tubes 500 tubes	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500

Tableau 3 : Matériel requis mais non fourni

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Ce test est exclusivement destiné à un usage diagnostique *in vitro*.
- Ce kit contient des composants classés selon la réglementation (CE) n°1272/2008 : chlorhydrate de 2-méthyl-4-isothiazolin-3-one (conc. $\geq 0,0015\%$), les réactifs peuvent alors provoquer des réactions cutanées allergiques (H317).
- Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact accidentel, rincer immédiatement à grande eau pour éviter tout risque d'irritation.
- Il est recommandé que le test soit réalisé par un personnel qualifié, conformément aux Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).
- Les immunoparticules contiennent des substances potentiellement infectieuses d'origine animale et doivent être manipulées avec prudence. L'élimination des déchets doit être conforme aux exigences locales.
- R1 contient du MES (acide 2-(N-morpholino)éthanesulfonique) qui peut être irritant pour les yeux et la peau. A manipuler avec précaution.
- R2 contient des nanoparticules de polystyrène.
- Toute solution non utilisée doit être éliminée conformément aux réglementations locales et nationales en vigueur.

Précautions techniques

- Equilibrer les réactifs, les contrôles, les calibrateurs et les échantillons comme décrit dans la note d'application.
- L'évaporation des calibrateurs et des contrôles de l'analyseur peut entraîner des résultats incorrects. Exécuter le dosage immédiatement après le chargement de l'analyseur.
- Ne pas mélanger les réactifs R1 et R2 issus de lots différents et n'intervertissez pas les capuchons des réactifs.
- Une fois congelé, le réactif R2 ne peut plus être utilisé.
- Le dosage est conçu pour les échantillons d'extraits de selles préparés à l'aide du dispositif CALEX® Cap de BÜHLMANN.
- Vérifier que les échantillons sont exempts de bulles avant l'exécution du test.
- La contamination inter-échantillons dépend de l'analyseur de chimie clinique. Pour plus d'informations, consulter la note d'application spécifique à l'analyseur.

COLLECTE ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

Pour la procédure d'extraction, moins de 1 g de prélèvement de selles d'origine est requis. Recueillir les échantillons de selles dans des tubes ordinaires.

Important : l'échantillon de selle doit être prélevé sans aucun additif chimique ou biologique.

Transport et stockage des échantillons

Les échantillons de selles doivent être traités par le laboratoire dans les 6 jours qui suivent le prélèvement. Les échantillons de selles peuvent être expédiés et conservés à température ambiante (jusqu'à 28 °C) ou réfrigérés. Pour un stockage plus long, congeler les prélèvements à -20 °C. Il n'est pas recommandé de pratiquer plus de 2 cycles de congélation-décongélation.

EXTRACTION DES ÉCHANTILLONS DE SELLES ET STOCKAGE DES EXTRAITS

Les échantillons de selles liquides ne peuvent pas être mesurés grâce au dosage fPELA® turbo (voir la section « Limitations » ci-dessous).

Suivre les instructions d'utilisation fournies avec le kit du dispositif CALEX® Cap. Les extraits d'échantillons de selles préparés à l'aide du dispositif CALEX® Cap auront une dilution finale de 1:500 et sont prêts à l'emploi.

Important : l'aisser reposer les extraits de selles pendant au moins une heure avant de réaliser la centrifugation et la mesure qui s'ensuit.

Important : centrifuger le dispositif CALEX® Cap pendant 10 minutes à 1000-3000 x g avant de démarrer la procédure de test BÜHLMANN fPELA® turbo.

Les extraits d'élastase pancréatique obtenus à l'aide du dispositif CALEX® Cap sont stables à température ambiante (≤ 28 °C) pendant 8 jours, à 2-8 °C pendant 12 jours et à -20 °C pendant au moins 24 mois.

Les extraits CALEX® Cap peuvent être directement congelés et stockés dans le dispositif CALEX® Cap. Les extraits peuvent être soumis à cinq cycles de congélation-décongélation. Avant la mesure, laisser les extraits congelés s'équilibrer à température ambiante, les mélanger vigoureusement au vortex pendant 10 secondes et centrifuger selon les instructions d'utilisation du dosage.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Notes d'application/installation du dosage

Les procédures de test pour le dosage BÜHLMANN fPELA® turbo sont établies sur plusieurs analyseurs de chimie clinique. Les notes d'application validées décrivant l'installation et l'analyse sur des instruments spécifiques sont disponibles auprès de BÜHLMANN sur simple demande. Se référer au manuel de l'instrument pour le paramétrage, la maintenance, la réalisation du dosage et les précautions générales.

Préparation des réactifs

Les réactifs fournis sont prêts à l'emploi. Mélanger avec précaution avant chargement dans l'instrument. Les flacons de réactifs peuvent être installés directement dans l'instrument, sauf indication contraire précisée dans la note d'application.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Le coffret de calibrateurs BÜHLMANN fPELA® turbo permet de réaliser une courbe d'étalonnage à six points conformément au manuel de l'instrument. Les valeurs des calibrateurs sont spécifiques au lot. Une nouvelle calibration doit être réalisée pour chaque nouveau lot de calibrateur et de réactifs. Autrement, effectuer un étalonnage régulier tous les un à deux mois conformément aux notes d'application spécifiques à l'instrument. Se référer à la fiche de données de contrôle qualité fournie avec le coffret de calibrateurs BÜHLMANN fPELA® turbo pour connaître les valeurs de calibrateurs attribuées. Contacter l'assistance de BÜHLMANN si la calibration ne peut être effectuée sans erreur.

Contrôles CQ

Le coffret de contrôles BÜHLMANN fPELA® turbo devrait être dosé chaque jour avant le dosage des extraits d'échantillons de selles de patient pour valider la courbe d'étalonnage. L'intervalle de valeur des contrôles est attribué par lot et est indiqué dans la fiche de données de contrôle qualité fournie pour chaque lot de coffret de contrôles BÜHLMANN fPELA® turbo. Les valeurs des contrôles doivent être comprises dans l'intervalle de mesure indiqué afin de pouvoir valider les résultats obtenus à partir des extraits d'échantillons de selles de patients.

Si les valeurs de contrôle ne sont pas valides, répéter la mesure avec de nouveaux contrôles. Si les valeurs des contrôles ne sont toujours pas valides, calibrer à nouveau le dosage. S'il est impossible de reproduire des valeurs de contrôle valides après avoir suivi les étapes décrites ci-dessus, contacter l'assistance de BÜHLMANN.

Mesure des extraits d'échantillons de selles de patient

Une fois la courbe d'étalonnage établie et validée à l'aide des contrôles, les extraits de selles de patient peuvent être dosés. Démarrer le dosage des extraits de selles de patient conformément à la note d'application et au manuel d'utilisation de l'analyseur.

Résultats

Les résultats sont calculés automatiquement par l'analyseur de chimie clinique et présentés en $\mu\text{g/g}$ sauf autre indication précisée dans la note d'application spécifique à l'analyseur utilisé.

STANDARDISATION

Le dosage BÜHLMANN fPELA® est standardisé par rapport à un matériel de référence interne.

LIMITATIONS

- Une forte teneur en eau de l'échantillon de selles (échantillons de selles liquides) entraîne une sous-estimation de la concentration en élastase pancréatique fécale. Il est recommandé de reporter le recueil de l'échantillon de selles à un jour ultérieur.
- Les résultats des tests devraient être interprétés en conjonction avec les informations issues de l'évaluation clinique du patient et des autres procédures diagnostiques.
- Le risque d'un diagnostic faussement négatif est plus important pour les patients atteints d'insuffisance légère et modérée que pour les patients

atteints d'insuffisance sévère (réf. 1). L'utilité du dosage de l'élastase pancréatique fécale est limitée chez les patients souffrant de diabète (réf. 2, 3).

- Les études d'interférences indiquent un biais positif de 20% pour les échantillons contenant de la pancréatine (Creon®) correspondant à une dose quotidienne de 757.5 kU/jour, en supposant un poids quotidien de selles de 150 g. Ceci est modérément inférieur à la dose maximale recommandée de 800 kU/jour.
- Les études d'interférences indiquent un biais négatif de 20% pour les échantillons contenant du lansoprazole correspondant à une dose quotidienne de 229.1 mg/jour, en supposant un poids quotidien de selles de 150 g et un facteur d'excrétion du lansoprazole de 64 %. Ceci est supérieur à la dose maximale recommandée de 180 mg/jour.
- Les études d'interférence indiquent un biais négatif de 20% dans les échantillons contenant de l'ésoméprazole correspondant à une dose quotidienne de 266,7 mg/jour. C'est au-dessus de la dose maximale recommandée de 160 mg/jour.
- Les études d'interférence indiquent un biais négatif de 20% dans les échantillons contenant de l'oméprazole correspondant à une dose quotidienne de 285,0 mg/jour. C'est au-dessus de la dose maximale recommandée de 120 mg/jour.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Concentration en élastase fécale	Indication
200 à > 500 µg/g	Fonction pancréatique normale
< 200 µg/g	Insuffisance pancréatique

Tableau 4 : Interprétation des résultats (réf. 1)

VALEURS ATTENDUES

Cent vingt-huit (128) échantillons de selles obtenus auprès de volontaires se déclarant en bonne santé ont été analysés à l'aide du dosage BÜHLMANN fPELA® turbo. Les résultats suivants ont été obtenus :

Concentration en élastase fécale	Nombre de sujets sains
200 à > 500 µg/g	114
< 200 µg/g	14

Tableau 5 : Valeurs attendues

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Les caractéristiques de performance présentées ont été établies sur un instrument Roche cobas® 6000 c501, sauf indication contraire. Se référer aux notes d'application spécifiques de l'analyseur de chimie clinique utilisé pour prendre connaissance des caractéristiques de performance de celui-ci.

Comparaison des méthodes : BÜHLMANN fPELA® turbo vs ScheBo® Pancreatic Elastase 1™

L'étude de comparaison des méthodes a été réalisée en suivant la ligne directrice EP09-A3 du CLSI. Cent huit (108) échantillons ont été analysés en utilisant 3 lots de BÜHLMANN fPELA® turbo sur 4 jours. Les valeurs de référence moyennes, avec des concentrations en élastase comprises dans la gamme de 21.0-444.9 µg/g, ont été établies avec 2 lots (2 réplicats par lot) du test ScheBo® Pancreatic Elastase 1™. Le biais a été déterminé en utilisant une régression linéaire de Passing-Bablok et une analyse de Bland-Altman.

Analyse de Bland-Altman			Analyse par régression de Passing-Bablok			
Biais moyen (IC 95 %)	LdA inférieure (IC 95 %)	LdA supérieure (IC 95 %)	Pente (IC 95 %)	Ordonnée à l'origine (IC 95 %)	Biais à 200 µg/g (IC 95 %)	r
3.6% (-4.8%, 12.1%)	-83.0% (-97.4%, -68.5%)	90.2% (75.8%, 104.7%)	0.90 (0.80, 1.04)	13.7 (-3.0, 27.2)	-2.7% (-17.2%, 14.0%)	0.847

Reproductibilité : 1.9-6.2 % CV

La reproductibilité a été établie conformément à la ligne directrice EP05-A3 du CLSI en utilisant un modèle d'étude 3 instruments/lots x 5 jours x 5 réplicats et un critère d'acceptation de 15% CV. Les analyses ont été effectuées sur des instruments Roche c501, Beckman Coulter AU480 et Mindray BS380. Six (6) extraits de prélèvements de selles ont été analysés.

ID	Moyenne [µg/g]	n	Intra-analyse		Jour-à-jour		Entre lots/instruments		Total	
			ET [µg/g]	CV en %	ET [µg/g]	CV en %	ET [µg/g]	CV en %	ET [µg/g]	CV en %
S1	78.8	75	1.6	2.1 %	0.4	0.5 %	1.1	1.4 %	2.0	2.5 %
S2	188.7	75	1.3	0.7 %	0.7	0.3 %	3.4	1.8 %	3.7	1.9 %
S3	284.3	75	1.6	0.6 %	2.1	0.8 %	10.2	3.6 %	10.5	3.7 %
S4	400.5	75	2.2	0.5 %	1.7	0.4 %	11.2	2.8 %	11.6	2.9 %
S5	912.3	75	21.6	2.4 %	0.0	0.0 %	52.7	5.8 %	56.9	6.2 %
S6	1998.6	75	23.8	1.2 %	9.5	0.5 %	67.4	3.4 %	72.1	3.6 %

Répétabilité : 0.6-1.9 % CV

Précision intra-laboratoire : 0.9-2.2 % CV

La répétabilité et la précision intra-laboratoire ont été établies en accord avec la directive EP05-A3 du CLSI en utilisant le modèle d'étude normalisé de 20 jours x 2 analyses x 2 réplicats et un critère d'acceptation de 10% CV. Six (6) extraits de prélèvements de selles ont été analysés.

ID	Moyenne [µg/g]	n	Intra-analyse		Jour-à-jour		Entre lots/ instruments		Total	
			ET [µg/g]	CV en %	ET [µg/g]	CV en %	ET [µg/g]	CV en %	ET [µg/g]	CV en %
S1	77.0	80	1.5	1.9 %	0.8	1.1 %	0.0	0.0 %	1.7	2.2 %
S2	188.9	80	1.2	0.7 %	1.3	0.7 %	1.8	1.0 %	2.6	1.4 %
S3	273.0	80	2.1	0.8 %	2.1	0.8 %	1.8	0.7 %	3.5	1.3 %
S4	404.1	80	2.4	0.6 %	1.4	0.4 %	2.3	0.6 %	3.6	0.9 %
S5	946.6	80	9.1	1.0 %	7.5	0.8 %	7.9	0.8 %	14.2	1.5 %
S6	2046.0	80	11.8	0.6 %	6.9	0.3 %	21.5	1.1 %	25.5	1.2 %

Reproductibilité de l'extraction – CALEX Cap : 6.9 %-13.8 % CV

La reproductibilité de l'extraction a été établie en accord avec la directive EP05-A3 du CLSI en utilisant un modèle d'étude de 2 jours x 2 opérateurs x 3 lots de CALEX® Cap x 3 extractions x 2 réplicats. Six (6) prélèvements de selles cliniques ont été analysés.

ID	Moyenne [µg/g]	n	Intra-extraction		Entre extractions		Précision totale	
			ET [µg/g]	CV en %	ET [µg/g]	CV en %	ET [µg/g]	CV en %
10236	54.7	72	1.1	2.1 %	2.9	5.3 %	4.4	8.1 %
10202	97.9	72	0.8	0.8 %	4.5	4.6 %	10.7	10.9 %
10265	230.8	72	2.0	0.9 %	13.4	5.8 %	16.0	6.9 %
10192	396.6	72	2.9	0.7 %	34.7	8.8 %	44.2	11.1 %
10177	930.9	72	13.8	1.5 %	98.0	10.5 %	128.8	13.8 %
10185	2126.5	72	13.9	0.7 %	189.1	8.9 %	204.3	9.6 %

Exactitude/Récupération : 99.8-107.7 %

Six (6) extraits de prélèvements de selles issus d'échantillons cliniques avec des niveaux d'élastase compris entre 15.8 et 355.7 µg/g ont été additionnés de 55 µg/g d'élastase dans du matériel de calibration. L'addition a été réalisée à 10% du volume d'extrait de prélèvement. Les échantillons « initiaux » ont été additionnés de la quantité correspondante de tampon

d'extraction. Les échantillons « initiaux » et « initiaux + addition » ont été mesurés en quatre (4) réplicats.

Contamination inter-échantillons

La contamination inter-échantillons a été établie en accord avec la directive EP10-A2 du CLSI. Aucune contamination inter-échantillons statistiquement significative n'a été détectée dans le test BÜHLMANN fPELA® turbo sur un instrument Roche cobas® 6000 c501.

Limite de blanc (LoB) : 0.8 µg/g

La LoB a été établie en accord avec la directive EP17-A2 du CLSI en utilisant une approche classique et une analyse non paramétrique.

Limite de détection (LoD) : 2.3 µg/g

La LoD a été établie en accord avec la directive EP17-A2 du CLSI en utilisant une approche classique et une analyse paramétrique.

Limite de quantification (LoQ) : 5.7 µg/g

La LoQ a été établie en accord avec la directive EP17-A2 du CLSI, en se basant sur 60 déterminations et un objectif de précision de 20 % CV.

Linéarité : 3.4 à 5024.2 µg/g

La linéarité du test BÜHLMANN fPELA® turbo a été déterminée en accord avec la directive EP06-A du CLSI. Les échantillons de concentration supérieure à 500 µg/g ont été dilués automatiquement au 1:10 par l'analyseur. Un écart maximal par rapport à la linéarité de 10 % ou de 10 µg/g, pour les échantillons inférieurs à 100 µg/g, a été autorisé.

« Effet crochet » à dose élevée

Les échantillons ayant des concentrations allant jusqu'à 17 231 µg/g peuvent être analysés sans limiter la gamme de mesure du dosage. L'inclusion d'un contrôle de prozone étend la gamme de mesure jusqu'à 18 891 µg/g.

Réactivité croisée

La réactivité croisée du dosage BÜHLMANN fPELA® turbo avec des molécules similaires à l'élastase humaine a été évaluée en accord avec la directive EP07-A2 du CLSI. Un biais dans les résultats dépassant 10% a été considéré comme une interférence.

Aucune réactivité croisée n'a été détectée avec les molécules suivantes : chymotrypsine porcine ou élastase porcine à des concentrations de 1 µg/mL dans l'extrait d'échantillons de selles.

Substances interférentes

La sensibilité du dosage BÜHLMANN fPELA[®] turbo aux produits pharmaceutiques oraux, aux suppléments nutritionnels ainsi qu'à l'hémoglobine a été évaluée en accord avec la directive EP07-A2 du CLSI. Un biais dans les résultats dépassant 10% a été considéré comme une interférence.

Aucune interférence n'a été détectée avec les substances suivantes [concentration en mg² / 50 mg de selles] ; Prednisone (1.5), acétylcystéine (Fluimucil[®]) (1.8) ; lumacaftor/ivacaftor (Symdeko[®]) (0.8), metformine (3.0), glimépiride (Amaryl[®]) (6.0 µg), ciprofloxacine (Ciproxine[®]) (1.5), Ibuprofène (2.4), multivitamine (Berocca[®]) (15 µg), pantoprazole (Nycomed[®]) (0.16), hémoglobine (12.5)

Une interférence a été détectée pour les substances suivantes : pancréatine (Creon[®]) (800 U), lansoprazole (Agopton[®]) (0.18), ésomeprazole (Esomeprazol-Mepha[®]) (0.16) et oméprazole (Omeprazol-Mepha[®]) (0.12). L'ajustement polynomial du biais par rapport à la concentration interférente a indiqué un biais supérieur à 20% pour des concentrations supérieures à 252,5 U pour la pancréatine, 0,0475 mg pour le lansoprazole, 0,0875 mg pour l'ésomeprazole et 0,095 mg pour l'oméprazole.

RÉFÉRENCES

1. Vanga et al., 2018; Diagnostic Performance of Measurement of Fecal Elastase-1 in Detection of Exocrine Pancreatic Insufficiency – Systematic Review and Meta-analysis
2. Hahn et al., 2008, Low fecal elastase 1 levels do not indicate exocrine pancreatic insufficiency in type-1 diabetes mellitus
3. Creutzfeldt et al., 2005, Follow-Up of Exocrine Pancreatic Function in Type-1 Diabetes mellitus.

² Sauf indication contraire

JOURNAL DES MODIFICATIONS

Date	Version	Modification
2022-07-20	A2	Mise à jour du chapitre "Avertissements et précautions", "Limitations", "Comparaison des méthodes" et "Substances interférentes" Mise à jour de la stabilité des extraits d'élastase pancréatique à -20°C Révision du chapitre "Symboles" Inclusion du numéro de l'organisme notifié au marquage CE – procédure d'évaluation de la conformité selon IVDR 2017/746

RAPPORTS D'INCIDENTS DANS LES ÉTATS MEMBRES DE L'UE

En cas d'incident grave en lien avec ce dispositif, le signaler sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État Membre.

DOMMAGES PENDANT L'EXPEDITION

Informez le distributeur si ce produit a été reçu endommagé.

SYMBOLES

BÜHLMANN utilise des symboles et des signes énumérés et décrits dans l'ISO 15223-1.

