

IDK[®] TurbiPEL[®]

*Zur quantitativen in-vitro-Bestimmung von
humaner Pankreas-Elastase in Stuhl*

*For the quantitative in vitro determination
of human pancreatic elastase in stool*

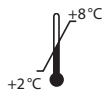
Gültig ab / Valid from 2022-05-18



TU1011.1
TU1011.2
TU1011.8



100/200/800



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Inhalt

| | |
|---|-----------|
| 1. VERWENDUNGSZWECK | 2 |
| 2. EINLEITUNG | 2 |
| 4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL | 3 |
| 5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN | 3 |
| 6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG | 4 |
| <i>Probenlagerung und Stabilität</i> | 4 |
| <i>Extraktion der Stuhlproben</i> | 4 |
| 7. TESTDURCHFÜHRUNG | 5 |
| <i>Testprinzip</i> | 5 |
| <i>Testdurchführung</i> | 5 |
| 8. QUALITÄTSKONTROLLE | 6 |
| <i>Referenzbereich</i> | 7 |
| 9. TESTCHARAKTERISTIKA | 7 |
| <i>Analytische Sensitivität</i> | 7 |
| <i>Prozone</i> | 7 |
| <i>Klinische Sensitivität und Spezifität</i> | 7 |
| <i>Interferenzen</i> | 8 |
| <i>Kreuzreaktionen</i> | 8 |
| 10. EINSCHRÄNKUNGEN | 8 |
| 11. VORSICHTSMASSNAHMEN | 8 |
| 12. ENTSORGUNG | 9 |
| 13. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST | 9 |
| 14. LITERATUR | 10 |
| 15. ANHANG - KOMPATIBLE TURBIDIMETRISCHE ANALYSEGERÄTE | 11 |

1. VERWENDUNGSZWECK

IDK® TurbiPEL® ist ein latex-turbidimetrischer Test zum quantitativen Nachweis von humaner Pankreas-Elastase in Stuhlproben. Die Testergebnisse sollten ausschließlich zur Beurteilung der exokrinen Pankreasfunktion in Stuhlproben verwendet werden. Dieser Test ist einfach anwendbar und für viele Analysegeräte optimiert. Nur für den professionellen Einsatz in der *in-vitro*-Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Die Pankreas-Elastase spielt eine wichtige Rolle bei der Verdauung, indem sie aufgenommenes Eiweiß enzymatisch aufspaltet. Es wird ausschließlich im exokrinen Gewebe der Bauchspeicheldrüse produziert und anschließend in den Zwölffingerdarm sezerniert. Da die pankreatische Elastase selbst während der Darmpassage unverdaut bleibt, stellt sie einen guten nicht-invasiven Biomarker, zur Bestimmung der sekretorischen Funktion des exokrinen Pankreasgewebes, dar. Eine exokrine Pankreasinsuffizienz (EPI) ist beispielsweise gekennzeichnet durch die Maldigestion von Nährstoffen aufgrund einer unzureichenden Produktion, Freisetzung und/oder verminderten Aktivierung von Enzymen (z. B. Amylasen, Lipasen und Proteasen) aus den Azinuszellen des Pankreas. Patienten, die an EPI leiden, sind daher nicht in der Lage, ihre Nahrung richtig zu verdauen. Dies verursacht eine Malabsorption von Nährstoffen und führt schließlich zu einem Mangel an fettlöslichen Vitaminen (A, E, D und K) und Eisen. Aus diesem Grund ist es wichtig betroffene Patienten frühzeitig zu diagnostizieren, um Mangelerscheinungen und Folgeschäden zu vermeiden. Die häufigsten Ursachen für EPI sind chronische Pankreatitis bei Erwachsenen und Mukoviszidose bei Kindern. Darüber hinaus haben auch Patienten mit *Diabetes mellitus* Typ 1 und Typ 2 ein erhöhtes Risiko. Typische klinische Symptome der EPI sind Steatorrhoe, Gewichtsverlust, abdominale Schmerzen und Blähungen. Klinische Symptome zeigen sich jedoch erst, wenn die exokrine Funktion des Pankreas unter 10% fällt. Daher ist es wichtig, die sekretorische Funktion der Bauchspeicheldrüse bei Risikopatienten regelmäßig zu überwachen. **IDK® TurbiPEL®** ist ein nicht invasives *in-vitro*-Diagnoseverfahren, basierend auf monoklonalen Antikörpern, welche zur Überwachung der exokrinen Pankreasfunktion beim Menschen eingesetzt werden.

3. INHALT DER TESTPACKUNG

| Bezeichnung | Kit-Komponenten | Menge für Art.-Nr. | | |
|-------------|---------------------------------|--------------------|----------|----------|
| | | TU1011.1 | TU1011.2 | TU1011.8 |
| Reagent 1 | Reagenz 1, gebrauchsfertig | 1x 24 ml | 2x 24 ml | 8x 24 ml |
| Reagent 2 | Reagenz 2, gebrauchsfertig | 1 x 4 ml | 1 x 6 ml | 4 x 6 ml |
| CAL 0–5 | Kalibrator 0–5, gebrauchsfertig | 6x 1 ml | 6x 1 ml | 6x 1 ml |
| CTRL 1 | Kontrolle 1, gebrauchsfertig | 2x 1 ml | 2x 1 ml | 2x 1 ml |
| CTRL 2 | Kontrolle 2, gebrauchsfertig | 2x 1 ml | 2x 1 ml | 2x 1 ml |

Die mitgelieferten Reagenzien befinden sich in neutralen Röhrchen, diese sind nicht mit dem verwendeten Analysegerät kompatibel. Daher ist es notwendig, die entsprechenden Reagenzien in kompatible Reagenzgefäße umzufüllen.

4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Probenentnahmebehälter
- Zentrifuge, 3 000 g
- Vortex-Mixer
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10–1 000 µl
- Laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen, Handschuhe (Einmalartikel)
- Analysegerät (Liste der kompatiblen Geräte - siehe Informationen im Anhang)
- Reagenzgefäße, die für das verwendete Analysesystem geeignet sind
- **IDK® TurbiTUBE®** zur Probenentnahme (Art.-Nr.: TU0091.A)

5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Alle Testreagenzien sind gebrauchsfertig und, bei **2–8 °C** gelagert, bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum (siehe Etikett) verwendbar. Frieren Sie keine Komponente des Testkits ein. Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen.
- Beachten Sie immer, dass die Reagenzienbehälter ordnungsgemäß verschlossen sein müssen, um eine Kontamination zu vermeiden.

6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG

Probenlagerung und Stabilität

- Sammeln Sie eine ausreichende Menge menschlichen Stuhl in einem sauberen und trockenen Gefäß (es sind keine besonderen Konservierungsmittel oder Transportmedien erforderlich).
- Laut Literatur ist pankreatische Elastase in rohem Stuhl 3 Tage bei Raumtemperatur und 7 Tage bei 2–8°C stabil. Wenn sie nicht sofort getestet werden, können die Stuhlproben eingefroren und bei -20°C für maximal 6 Monate gelagert werden. In diesem Fall muss die Probe vor der Untersuchung vollständig aufgetaut und auf Raumtemperatur (15–30°C) gebracht werden.
- Die Stuhlproben müssen vor der Aufbereitung so gründlich wie möglich homogenisiert werden.

Extraktion der Stuhlproben

Stuhlproben-Applikationssystem (IDK® TurbiTUBE®) (Kat. Nr.: TU0091.A)

Stuhlprobenröhrchen - Gebrauchsanweisung

Bitte beachten Sie, dass der Verdünnungsfaktor der endgültigen Stuhlsuspension von der Menge der verwendeten Stuhlprobe und dem Volumen des Puffers abhängt.

IDK® TurbiTUBE® mit 1,5 ml Probenextraktionspuffer:

Aufgetragene Stuhlmenge: 15 mg

Puffervolumen: 1,5 ml

Verdünnungsfaktor: 1:100

Bitte befolgen Sie die Anweisungen zur Vorbereitung von Stuhlproben mit den **IDK® TurbiTUBE®** wie folgt:

- a) Die rohe Stuhlprobe muss aufgetaut werden. Bei besonders heterogenen Proben empfehlen wir eine mechanische Homogenisierung mit einem Applikator, einer Impföse oder ähnliches.
- b) Schrauben Sie den gelben Teil der Kappe ab, um das Röhrchen zu öffnen. Führen Sie den gelben Messstab in die Probe ein. Der untere Teil des Messstabs hat Einkerbungen, die nach dem Einführen in die Probe vollständig mit Stuhl bedeckt sein müssen. Führen Sie das Stäbchen anschließend wieder in das Röhrchen ein. Beim Zurückstecken des Stäbchens in das Röhrchen wird

überschüssiges Probenmaterial abgestreift, so dass exakt 15 mg der Probe zum Verdünnen übrig bleibt. Schrauben Sie das Röhrchen fest zu.

Tipp: Bei flüssigen Stuhlproben empfehlen wir, 15 µl der flüssigen Probe in das Röhrchen zu pipettieren.

- c) Vortexen Sie das Röhrchen bis keine Stuhlprobe mehr in den Einkerbungen verbleibt. **Wichtig:** Achten Sie darauf, dass Sie nach dem Schütteln eine möglichst homogene Suspension haben. Insbesondere bei festeren Proben verbessert ein Einweichen der Probe im Röhrchen mit Probenextraktionspuffer für ~ 10 Minuten das Ergebnis.
- d) Die Proben sollten ~ 10 Minuten bei 3 000 g zentrifugiert werden, um eine sedimentfreie Probe zu erhalten. Schwebendes Material wie z. B. Getreidehülsen können vernachlässigt werden.
- e) Schrauben Sie den kompletten Deckel des Röhrchens - einschließlich des blauen Rings und des Messstabs - vorsichtig ab. Entsorgen Sie Deckel und Messstab. Achten Sie darauf, dass das Sediment nicht wieder aufgewirbelt wird.

7. TESTDURCHFÜHRUNG

Testprinzip

IDK® TurbiPEL® ist ein latex-turbidimetrischer Test zum quantitativen Nachweis der Pankreas-Elastase-Konzentration, bei Patienten, die mit einer Pankreas Insuffizienz assoziiert sind.

Der IDK® TurbiPEL® Test basiert auf einer Agglutinationsreaktion. Dabei handelt es sich um eine *in-vitro*-Aggregation von mikroskopisch kleinen, mit spezifischen Antikörpern beschichteten, Latexpartikeln. Diese Aggregation entsteht, wenn das Antigen in der Probe vorhanden ist und an die spezifischen Antikörper auf den Latexpartikeln bindet. Ist kein Antigen in der Probe vorhanden, behält die Mischung ihr klares Aussehen.

Testdurchführung

Erstellung der Kalibrierkurve

Verwenden Sie zur Kalibrierung ausschließlich die mitgelieferten IDK® TurbiPEL® Kalibratoren. Hierbei handelt es sich um gebrauchsfertige Flüssigkalibratoren, die rekombinante Pankreas-Elastase in verschiedenen Konzentrationen enthalten. Die genauen Konzentrationen sind auf dem Etikett jedes Fläschchens angegeben.

Es wird dringend empfohlen, das System mindestens einmal im Monat neu zu kalibrieren. Auf jeden Fall muss das System neu kalibriert werden, wenn die Reagenziencharge gewechselt wird oder wenn die Kontrollen außerhalb des zugewiesenen Bereichs liegen (siehe Produktdatenblatt; dem Kit beiliegend).

Kalibrator- und Kontrollvials

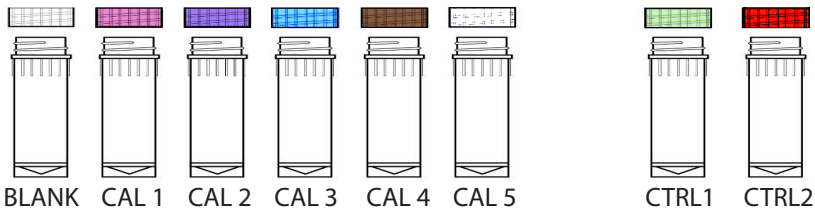


Abb. 1: Vorbereitete Kalibratoren (5 Punkte und Blank) und Kontrollen zur Durchführung der Kalibrierkurve.

| Bezeichnung | Konzentration | Deckelfarbe |
|-------------|---------------|-------------|
| CAL 0 | 0 µg/g | Transparent |
| CAL 1 | 25 µg/g | Rosa |
| CAL 2 | 50 µg/g | Lila |
| CAL 3 | 100 µg/g | Blau |
| CAL 4 | 200 µg/g | Braun |
| CAL 5 | 400 µg/g | Weiß |
| CTRL 1 | Kontrolle 1* | Grün |
| CTRL 2 | Kontrolle 2* | Rot |

* Die chargenabhängige Konzentration ist dem beiliegenden Produktdatenblatt zu entnehmen.

8. QUALITÄTSKONTROLLE

Verwenden Sie zur Qualitätskontrolle nur **IDK® TurbiPEL®** Kontrolle 1 (CTRL 1) und **IDK® TurbiPEL®** Kontrolle 2 (CTRL 2). Hierbei handelt es sich um zwei gebrauchsfertige Flüssigkontrollen, die unterschiedliche Konzentrationen von rekombinanter Pankreas-Elastase enthalten. Die entsprechende Konzentration ist für jedes Fläschchen auf dem Produktdatenblatt angegeben.

Die Verwendung von Kontrollmaterialien in zwei verschiedenen Konzentrationen wird empfohlen, um die Testgenauigkeit zu überprüfen.

Die Kontrollmessungen sollten jeden Tag, vor der Messung von extrahierten Patientenproben, durchgeführt werden, um die Kalibrierungskurve zu validieren.

Wenn die dabei erzielten Ergebnisse außerhalb des Toleranzbereichs liegen, müssen die Geräte, die Reagenzien und die Testdurchführung überprüft werden.

Da die Probenverdünnung bereits in der Kalibrierkurve berücksichtigt ist, beträgt der Verdünnungsfaktor 1.

Sollte ein **anderer Verdünnungsfaktor** verwendet worden sein, so ist die ermittelte Konzentration mit dem verwendeten Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.

Referenzbereich

Wir empfehlen jedem Labor, einen eigenen Referenzbereich zu etablieren.

Referenzbereich in Stuhlproben^[5]

1 g Stuhl entspricht 1 ml.

| | |
|---------------|--|
| ≥ 200 µg/ml | Normalwert |
| 100–200 µg/ml | leichte bis mittlere exokrine Pankreasinsuffizienz |
| < 100 µg/ml | exokrine Pankreasinsuffizienz |

9. TESTCHARAKTERISTIKA

Analytische Sensitivität

Detektionsgrenze (LoD): **siehe Anwendungshinweis**

Prozone

Es wurden Studien bis zu einer Konzentration von 1250 µg Pankreas-Elastase/g Stuhl durchgeführt und keine falsch negativen Ergebnisse beobachtet. Studien mit höheren Konzentrationen sind nicht durchgeführt worden.

Die Daten wurden mit dem Analysegerät Biolis 24i (Tokyo Boeki) ermittelt.

Klinische Sensitivität und Spezifität

Es wurde ein Vergleich zwischen dem turbidimetrischen Test **IDK® TurbiPEL®** und einem anderen kommerziellen Immunoassay (Pancreatic elastase 1™, Schebo®) mit 40 Stuhlproben durchgeführt. Die Ergebnisse waren wie folgt:

| | Sensitivität | Spezifität |
|--|--------------|------------|
| IDK® TurbiPEL® vs Pancreatic elastase 1™ Schebo | 100% | 93% |

Die Ergebnisse zeigten eine hohe Sensitivität und Spezifität beim Nachweis von menschlicher Pankreas-Elastase mit **IDK® TurbiPEL®**.

Interferenzen

Es wurde eine Evaluierung durchgeführt, um die Interferenzen von **IDK® TurbiPEL®** zu bestimmen. Es wurden keine Interferenzen mit anderen getesteten Substanzen festgestellt: BSA, Hämin, Ascorbinsäure.

Kreuzreaktionen

Es wurde eine Evaluierung durchgeführt, um die Kreuzreaktivität gegen Pankreas Elastase vom Schwein zu bestimmen. Es wurden **keine** Kreuzreaktivitäten festgestellt.

10. EINSCHRÄNKUNGEN

IDK® TurbiPEL® ist nur für menschliche Stuhlproben bestimmt und sollte nur mit ordnungsgemäß extrahierten Stuhlproben verwendet werden (siehe Anleitung).

Die erhaltenen Ergebnisse bestimmen die Konzentration von menschlicher Pankreas-Elastase in fäkalen Proben. Werte im Bereich von 100–200 µg/g sind als leichte bis mittelschwere Pankreasinsuffizienz zu betrachten und sollten vom Facharzt, mit zusätzlichen diagnostischen Verfahren, verifiziert werden, um deren Ursache zu bestimmen.

11. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Eine geschulte Person für die turbidimetrische Technik und den Gebrauch des Analysegerätes ist erforderlich. Eine manuelle Anwendung des Testkits ist nicht möglich.
- Das Analysegerät sollte vor Beginn der Testdurchführung bereit sein.

- Der Assay ist immer nach der dem Kit beigelegten Arbeitsanleitung durchzuführen.
- Wenn das Ergebnis den Messbereich überschreitet, verwenden Sie den Probenextraktionspuffer, um die Probe zu verdünnen, und wiederholen Sie den Test.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Kitverpackung angegebenen Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Die Reagenzien sollten nicht verwendet werden, wenn die Primärverpackung beschädigt oder bereits geöffnet wurde.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Es müssen ausschließlich neue, leere Reagenzgefäße verwendet werden, da gewaschene oder recycelte/wiederverwendete Reagenzgefäße das Testergebnis beeinflussen können.

12. ENTSORGUNG

- Flüssige Testkomponenten, Pipettenspitzen, Röhrchen usw. sind wie gewöhnlicher Laborabfall zu behandeln, sofern nicht anders angegeben. Die Lösungen sollten nach dem Test in einem dafür geeigneten Behälter, gemäß den örtlichen Vorschriften, entsorgt werden.
- Alle Proben sind als potentiell gefährlich zu betrachten und sollten daher wie ein infektiöses Agens behandelt werden. Andere potentiell infektiöse Materialien (z. B. Probensammelbehälter) müssen entsprechend den offiziellen Vorschriften entsorgt werden.

13. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD-Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- **IDK® TurbiPEL®** ist eine Marke der Immundiagnostik AG.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu befolgen.

- Verwenden Sie Schutzkleidung, Einmalhandschuhe, Augenschutz und Maske. Im Arbeitsbereich nicht essen, trinken oder rauchen.
- Bei Gewährleistungsansprüchen, Beschwerden oder schwerwiegenden Vorkommnissen ist unverzüglich die Immundiagnostik AG zu benachrichtigen; spätestens jedoch innerhalb von 14 Tagen nach Auftreten des Problems. Bitte senden Sie das Produkt zusammen mit einer schriftlichen Stellungnahme (mit E-Mail, Adresse und Telefonnummer) an die Immundiagnostik AG.
- Bei sachgerechter Lagerung (2–8°C) garantiert die Immundiagnostik AG, nach dem ersten Öffnen, für die folgenden drei Monate und mindestens 20 Öffnungs-/Schließzyklen, keinen Aktivitätsverlust der Kitkomponenten.
- Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.

14. LITERATUR












1. Andriulli, A. et al. Exocrine pancreatic insufficiency, as assessed by fecal elastase-1 levels in diabetic patients: an estimate of prevalence in prospective studies. *J Diabetes Metab* 2014, 5:6.
2. Borowitz, D. et al. Use of fecal elastase-1 to classify pancreatic status in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr* 145 : 322–326. 2004.
3. Cade, A. et al. Evaluation of fecal pancreatic elastase as a measure of pancreatic exocrine function in children with cystic fibrosis. *Pedr Pulmonol* 29 (3): 172–176. 2000.
4. Dominguez-Muñoz, J.E. et al. Potential for screening for pancreatic exocrine insufficiency using the fecal elastase-1 test. *Dig Dis Sci.* 62 (5) : 1119–1130.
5. Löser, C., Möllgaard, A. & Fölsch, U.R., 1996. Faecal elastase 1: a novel, highly sensitive, and specific tubeless pancreatic function test. *Gut*, 39(4), pp.580–6.

15. ANHANG - KOMPATIBLE TURBIDIMETRISCHE ANALYSEGERÄTE

| | |
|---------------------|------------------------|
| Abbott: | Alinity c-Serie |
| Abbott: | Architect c-Serie |
| Awareness: | Chemwell-T |
| Binding Site | Optilite |
| Biobase: | BK-Mini |
| Mindray: | BS200E |
| Siemens: | Atellica |
| Tokyo Boeki: | Biolis 24i / 30i / 50i |

Die Anwendungshinweise zur Verwendung unserer turbidimetrischen Produkte mit den verschiedenen Analysegeräten erhalten Sie auf Anfrage bei unserem technischen Support.

Verwendete Symbole:

| | | | |
|---|-----------------------------------|---|--------------------------------------|
|  | Temperaturbegrenzung |  | Bestellnummer |
|  | In-Vitro-Diagnostikum |  | Zu verwenden mit |
|  | Hersteller |  | Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen |
|  | Chargenbezeichnung |  | Verwendbar bis |
|  | Achtung |  | Gebrauchsanweisung beachten |
|  | Spezifikationsdatenblatt beachten | | |

IDK[®] TurbiPEL[®]

*For the quantitative in vitro determination
of human pancreatic elastase in stool*

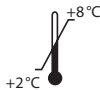
Valid from 2022-05-18



TU1011.1
TU1011.2
TU1011.8



100/200/800



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Table of Contents

| | |
|---|-----------|
| 1. INTENDED USE | 14 |
| 2. INTRODUCTION | 14 |
| 3. MATERIAL SUPPLIED | 15 |
| 4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED | 15 |
| 5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS | 15 |
| 6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES | 16 |
| <i>Sample storage and stability</i> | 16 |
| <i>Extraction of the stool samples</i> | 16 |
| 7. ASSAY PROCEDURE | 17 |
| <i>Principle of the test</i> | 17 |
| <i>Test Procedure</i> | 17 |
| 8. QUALITY CONTROL | 18 |
| 9. PERFORMANCE CHARACTERISTICS | 19 |
| <i>Analytical sensitivity</i> | 19 |
| <i>Prozone</i> | 19 |
| <i>Clinical sensitivity and specificity</i> | 19 |
| <i>Interferences</i> | 20 |
| <i>Cross reactivity</i> | 20 |
| 10. LIMITATIONS | 20 |
| 11. PRECAUTIONS | 20 |
| 12. DISPOSAL | 21 |
| 13. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE | 21 |
| 14. REFERENCES | 22 |
| 15. ANNEX - COMPATIBLE TURBIDIMETRIC ANALYSERS | 22 |

1. INTENDED USE

IDK® TurbiPEL® assay is a latex turbidimetric assay for the quantitative detection of human pancreatic elastase in stool samples. Test results should be exclusively used to evaluate exocrine pancreatic function in stool samples.

This assay has a simple performance and is optimized for several automated analyzers. For professional *in vitro* diagnostic use only.

2. INTRODUCTION

The enzyme pancreatic elastase plays an important role in the digestion of food by breaking down ingested protein. It is exclusively produced in the exocrine tissue of the pancreas and is afterwards secreted into the duodenum. As pancreatic elastase itself remains undigested during the intestinal transit, it is a good non-invasive biomarker to determine the secretory function of the exocrine pancreas tissue.

An exocrine pancreas insufficiency (EPI) is marked by the maldigestion of nutrients due to insufficient production, release, and/or decreased activation of enzymes (e.g. amylases, lipases, and proteases) from pancreatic acinar cells. Patients suffering from EPI are unable to digest their food properly. This causes malabsorption of nutrients and eventually leads to deficiencies of fat-soluble vitamins (A, E, D, and K) and iron. Thus, it is essential to diagnose affected patients early in order to avoid secondary disorders.

The most common causes of EPI are chronic pancreatitis in adults and cystic fibrosis in children. In addition, patients suffering from diabetes type 1 and type 2 are also at an increased risk. Typical clinical symptoms of EPI are steatorrhea, weight loss, abdominal pain and bloating. However, clinical symptoms only become evident when the exocrine function of the pancreas falls below 10%. Therefore, it is important to regularly monitor the secretory function of the pancreas in patients at risk.

IDK® TurbiPEL® is a non-invasive *in vitro* diagnostic method, based on monoclonal antibodies and used to monitor exocrine pancreatic function of humans.

3. MATERIAL SUPPLIED

| Label | Kit components | Quantity for cat. no. | | |
|-----------|-------------------------------|-----------------------|----------|----------|
| | | TU1011.1 | TU1011.2 | TU1011.8 |
| Reagent 1 | Reagent 1, ready-to-use | 1x 24 ml | 2x 24 ml | 8x 24 ml |
| Reagent 2 | Reagent 2, ready-to-use | 1 x 4 ml | 1 x 6 ml | 4 x 6 ml |
| CAL 0–5 | Calibrators 0–5, ready-to-use | 6x 1 ml | 6x 1 ml | 6x 1 ml |
| CTRL 1 | Control 1, ready-to-use | 2x 1 ml | 2x 1 ml | 2x 1 ml |
| CTRL 2 | Control 2, ready-to-use | 2x 1 ml | 2x 1 ml | 2x 1 ml |

The supplied reagents are in neutral tubes that are not compatible with the used analyzer. Therefore, it is necessary to fill the corresponding reagents into compatible reagent vessels.

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Sample collection container
- Centrifuge, 3000g
- Vortex
- Calibrated precision pipets (adjustable volume) and 10–1000µl single-use tips
- Disposable gloves and laboratory equipment
- Automated analyser (list of compatible analysers see annex information)
- Reagent vessels that are approved for the used analyser
- **IDK® TurbiTUBE®** for sample collection (cat. no.: TU0091.A)

5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS

- All test reagents are ready-to-use. Test reagents are stable until the expiry date (see label) when stored at 2–8°C. Do not freeze any component of the kit. Keep away from direct sunlight.
- Always consider that the reagent containers must be properly closed to avoid any contamination.

6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES

Sample storage and stability

- Collect a sufficient amount of human stool in a clean and dry container (no preservatives or transport media is necessary).
- According to literature, the stability of pancreatic elastase in raw stool is 3 days at room temperature and 7 days at 2–8°C. If not immediately tested, stool samples can be frozen and stored at -20°C for a maximum of 6 months. In this case, the sample must be totally thawed and brought to room temperature (15–30°C) before testing.
- Stool samples must be homogenised as thoroughly as possible prior to preparation.

Extraction of the stool samples

Stool Sample Application System (IDK® TurbiTUBE®) (cat. no.: TU0091.A)

Stool sample tube – Instructions for use

Please note that the dilution factor of the final stool suspension depends on the amount of stool sample used and the volume of the buffer.

IDK® TurbiPEL® with 1.5 ml sample extraction buffer:

| | |
|--------------------------|--------|
| Applied amount of stool: | 15 mg |
| Buffer Volume: | 1.5 ml |
| Dilution Factor: | 1:100 |

Please follow the instructions for the preparation of stool samples using the IDK® TurbiTUBE® as follows:

- a) The raw stool sample has to be thawed and brought to room temperature (15–30°C). For particularly heterogeneous samples we recommend a mechanical homogenisation using an applicator, inoculation loop or similar device.
- b) Unscrew the tube (yellow part of cap) to open. Insert the yellow dipstick into the sample. The lower part of the dipstick has notches which need to be covered completely with stool after inserting it into the sample. Place dipstick back into the tube. When putting the stick back into the tube, excess material will be stripped off, leaving 15 mg of sample to be diluted. Screw tightly to close the tube.

Hint: In case of liquid stool samples we recommend to pipette 15 µl of liquid sample into the tube.

Vortex the tube well until no stool sample remains in the notches.

Important: Please make sure that you have a maximally homogenous suspension after shaking. Especially with more solid samples, soaking the sample in the tube with sample extraction buffer for ~10 minutes improves the result.

- c) Samples should be centrifuged for ~10 minutes at 3000g to obtain a sediment-free sample. Floating material such as grain shells can be neglected.
- d) Carefully unscrew the complete cap of the tube including the blue ring plus the dipstick. Discard cap and dipstick. Make sure that the sediment will not be dispersed again.

7. ASSAY PROCEDURE

Principle of the test

IDK® TurbiPEL® is a latex turbidimetric assay for the quantitative detection of pancreatic elastase in human stool samples. It is exclusively intended to be used to evaluate pancreatic elastase levels in stool samples associated with pancreatic insufficiency.

IDK® TurbiPEL® assay is based on agglutination reactions. These involve *in vitro* aggregation of microscopic latex particles. This aggregation consists in the specific reaction between antigen and monoclonal antibodies. Antigens contained in the sample bind with the antibodies' anti-antigen coated on polystyrene latex particles. The sample is mixed with a suspension containing antibodies against the antigen bound to latex particles. If antigen is present in the sample, it will react with the antibodies and form an aggregate. If no antigen is present in the sample, the mixture will maintain its clear appearance.

Test Procedure

Preparation of the calibration curve

For calibration use only **IDK® TurbiPEL®** calibrator vials. They are ready-to-use liquid calibrators containing recombinant pancreatic elastase at different concentrations. The exact concentrations are indicated on the label of each vial.

Calibration of the system at least once a month is highly recommended. The system must be recalibrated when the reagent lot is changed or when the controls are out of the assigned range (see the quality control protocol provided with the kit).

Calibration and control vials

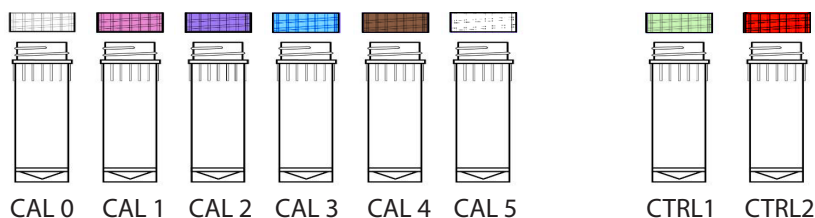


Fig 1: Prepared calibrators (5 points and blank) and controls for performing the calibration curve.

| Label | Concentration | Lid Colour |
|--------|---------------|-------------|
| CAL 0 | 0 µg/g | transparent |
| CAL 1 | 25 µg/g | pink |
| CAL 2 | 50 µg/g | purple |
| CAL 3 | 100 µg/g | blue |
| CAL 4 | 200 µg/g | brown |
| CAL 5 | 400 µg/g | white |
| CTRL 1 | Control 1* | green |
| CTRL 2 | Control 2* | red |

* The batch-dependent concentration is given by the quality control protocol.

8. QUALITY CONTROL

For quality control use only *IDK® TurbiPEL®* Control 1 (CTRL 1) and *IDK® TurbiPEL®* Control 2 (CTRL 2). These are two ready-to-use liquid controls containing different concentrations of recombinant pancreatic elastase. The respective concentration for each vial is given by the quality control protocol.

The use of control materials at two different concentrations is recommended in order to verify test precision. Controls should be assayed every day before running extracted patient samples to validate the calibration curve. If the obtained results are out of the tolerance range, the equipment, the reagents, and the technique must be reviewed.

Since the sample dilution is already considered in the calibration curve, the dilution factor is 1.

In case **another dilution factor** has been used, multiply the obtained result by the dilution factor used.

Reference Range

We recommend each laboratory to establish its own reference concentration range.

Reference range in stool samples^[5]

1 g stool is equivalent to 1 ml.

| | |
|--------------|--|
| ≥ 200 µg/g | normal value |
| 100–200 µg/g | slight to moderate exocrine pancreatic insufficiency |
| < 100 µg/g | exocrine pancreatic insufficiency |

9. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity

Limit of Detection (LoD): See application note.

Prozone

Studies have been carried out to a concentration of 1 250 µg of pancreatic elastase /g of stool and no false negative results have been observed. Studies using higher concentrations have not been carried out.

Data obtained by the analyser Biolis 24i (Tokyo Boeki)

Clinical sensitivity and specificity

An evaluation with 40 stool samples was performed comparing a turbidimetric assay (IDK® TurbiPEL®) and another commercial immunoassay (Pancreatic elastase 1™, Schebo®). The results were as follows:

| | Sensitivity | Specificity |
|--|-------------|-------------|
| <p style="text-align: center;">IDK® TurbiPEL®</p> <p style="text-align: center;">vs</p> <p style="text-align: center;">Pancreatic elastase 1™ Schebo®</p> | 100% | 93% |

The results showed a high sensitivity and specificity to detect human pancreatic elastase using IDK® TurbiPEL®.

Interferences

An evaluation was performed to determine the interferences of **IDK® TurbiPEL®** with other substances. No interferences were found against tested substances: BSA, Hemin, Ascorbic acid.

Cross reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity against porcine pancreatic elastase; no cross reactivity was found.

10. LIMITATIONS

IDK® TurbiPEL® should only be used in human stool samples. **IDK® TurbiPEL®** must be used with properly extracted faecal samples.

Values in the range of 100–200 µg/g should be considered as mild to moderate pancreatic insufficiency, and they should be reviewed by the specialist.

11. PRECAUTIONS

- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- A trained person in the turbidimetric technique and the use of the auto-analyser is required. Manual application of the test kit is not possible.
- The analyser should be ready before performing any assay.
- Read and follow the instructions for use provided with the kit.
- If the result exceeds the measurement range, use the sample diluent to dilute the sample and repeat the assay again.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated on the kit label.
- Reagents should not be used if the primary packaging is damaged or opened.
- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- Only **new** empty reagent vessels are strictly recommended, because washed or recycled/reused reagent vessels may influence the test result.

12. DISPOSAL

- Liquid test components, pipets tips, tubes etc. are to be treated as ordinary laboratory waste, unless otherwise stated. The solutions should be discarded in a proper container after testing following local regulations.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. Other potentially infectious materials (e.g. sample collection container) must be disposed in accordance with official regulations.

13. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- **IDK® TurbiPEL®** is a trademark of Immundiagnostik AG.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, eye protection and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- In the event of warranty claims, notifications of defects or serious incidents, notify Immundiagnostik AG immediately, but at the latest within 14 days after the problem occurring. Please send the product together with a written complaint (including e-mail, address and telephone number) to Immundiagnostik AG.
- If stored properly (2–8°C), Immundiagnostik AG guarantees, after the first opening, no loss of activity of the kit components for the following three months and at least 20 opening-closing cycles.
- Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from incorrect use.

14. REFERENCES












1. Andriulli, A. et al. Exocrine pancreatic insufficiency, as assessed by fecal elastase-1 levels in diabetic patients: an estimate of prevalence in prospective studies. *J Diabetes Metab* 2014, 5:6.
2. Borowitz, D. et al. Use of fecal elastase-1 to classify pancreatic status in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr* 145 : 322–326. 2004.
3. Cade, A. et al. Evaluation of fecal pancreatic elastase as a measure of pancreatic exocrine function in children with cystic fibrosis. *Pedr Pulmonol* 29 (3): 172–176. 2000.
4. Dominguez-Muñoz, J.E. et al. Potential for screening for pancreatic exocrine insufficiency using the fecal elastase-1 test. *Dig Dis Sci.* 62 (5) : 1119–1130.
5. Löser, C., Möllgaard, A. & Fölsch, U.R., 1996. Faecal elastase 1: a novel, highly sensitive, and specific tubeless pancreatic function test. *Gut*, 39(4), pp.580–6.

15. ANNEX - COMPATIBLE TURBIDIMETRIC ANALYSERS

| | |
|---------------------|------------------------|
| Abbott: | Alinity c-series |
| Abbott: | Architect c-series |
| Awareness: | Chemwell-T |
| Binding Site | Optilite |
| Biobase: | BK-Mini |
| Mindray: | BS200E |
| Siemens: | Atellica |
| Tokyo Boeki: | Biolis 24i / 30i / 50i |

Applications notes for the use of our turbidimetric products on various instruments can be obtained on request from our technical support.

Used symbols:

| | | | |
|---|------------------------------------|---|-----------------------------------|
|  | Temperature limitation |  | Catalogue number |
|  | In Vitro Diagnostic Medical Device |  | To be used with |
|  | Manufacturer |  | Contains sufficient for <n> tests |
|  | Lot number |  | Use by |
|  | Attention |  | Consult instructions for use |
|  | Consult specification data sheet | | |

Immundiagnostik AG

Stubenwald-Allee 8a
64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: +49 6251 70190-363

info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

