

# IDK<sup>®</sup> Pankreatische Elastase ELISA

*Zur in-vitro-Bestimmung der humanen  
pankreatischen Elastase in Stuhl*

# IDK<sup>®</sup> Pancreatic Elastase ELISA

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

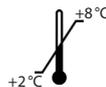
Gültig ab / Valid from 2019-12-20

REF K 6915

REF K 6915.20

Σ 96

Σ 20 x 96



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

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: [info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)



# Inhalt

<b>1. VERWENDUNGSZWECK</b>	<b>2</b>
<b>2. EINLEITUNG</b>	<b>2</b>
<b>3. INHALT DER TESTPACKUNG</b>	<b>2</b>
<b>4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL</b>	<b>3</b>
<b>5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN</b>	<b>4</b>
<b>6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG</b>	<b>5</b>
<i>Probenstabilität und -lagerung</i>	5
<i>Stuhlprobenextraktion</i>	5
<i>Probenverdünnung</i>	6
<b>7. TESTDURCHFÜHRUNG</b>	<b>7</b>
<i>Testprinzip</i>	7
<i>Pipettierschema</i>	7
<b>8. ERGEBNISSE</b>	<b>8</b>
<b>9. EINSCHRÄNKUNGEN</b>	<b>9</b>
<b>10. QUALITÄTSKONTROLLE</b>	<b>9</b>
<i>Referenzwerte</i>	10
<b>11. TESTCHARAKTERISTIKA</b>	<b>10</b>
<i>Genauigkeit – Präzision</i>	10
<i>Analytische Spezifität</i>	11
<i>Genauigkeit – Richtigkeit</i>	11
<i>Analytische Sensitivität</i>	12
<i>Linearität</i>	12
<b>12. VORSICHTSMASSNAHMEN</b>	<b>13</b>
<b>13. TECHNISCHE MERKMALE</b>	<b>13</b>
<b>14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST</b>	<b>14</b>
<b>15. LITERATUR</b>	<b>14</b>

## 1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Assay ist für die Bestimmung der humanen pankreatischen Elastase in Stuhl geeignet. Nur zur *in-vitro*-Diagnostik.

## 2. EINLEITUNG

Pankreas-Elastase ist eine anionische Endoprotease aus der Familie der Serinproteasen mit einem Molekulargewicht von 26 kDa. Sie wird zusammen mit anderen Verdauungsenzymen als inaktives Proenzym in den Azinuszellen der Bauchspeicheldrüse gebildet und in den Zwölffingerdarm abgegeben. Nach ihrer Aktivierung spaltet die Pankreas-Elastase Peptide nach neutralen Aminosäuren.

Während der Darmpassage liegt die Pankreas-Elastase an Gallensalze gebunden vor und wird nicht abgebaut. Sie ist in menschlichem Stuhl fünf- bis sechsfach höher konzentriert als im Pankreassaft. Die Stuhlkonzentration spiegelt die sekretorische Leistungsfähigkeit der Bauchspeicheldrüse wieder.

### Indikationen

- Diagnose/Ausschluss von exokriner Pankreasinsuffizienz bei unklaren Durchfällen, Verstopfung, Fettstühlen, Blähungen, Gewichtsverlust, Oberbauchschmerzen sowie Nahrungsmittelunverträglichkeiten
- Überwachung der exokrinen Pankreasfunktion bei Mukoviszidose, Diabetes mellitus oder chronischer Bauchspeicheldrüsenentzündung

## 3. INHALT DER TESTPACKUNG

Artikelnr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge für Art.-Nr.	
			K 6915	K 6915.20
K 6915	PLATE	Mikrotitermodul, vorbeschichtet	12x 8 Vertiefungen	20x 12x 8 Vertiefungen
K 0001.C.100	WASHBUF	Waschpufferkonzentrat, 10x	2 x 100 ml	40x 100 ml
K 6999.C.100	IDK Extract®	Extraktionspufferkonzentrat <i>IDK Extract®</i> , 2,5x	1 x 100 ml	-
K 6915	CONJ	Konjugatkonzentrat, peroxidase markiert (Maus-anti-Pankreas-Elastase)	1 x 200 µl	15 x 200 µl

Artikelnr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge für Art.-Nr.	
			K 6915	K 6915.20
K 6915	STD	Standards, lyophilisiert (Konzentrationen der Spezifikation entnehmen)	4 x 5 vials	25 x 5 vials
K 6915	CTRL1	Kontrolle, lyophilisiert (Bereich der Spezifi- kation entnehmen)	4 x 1 vial	25 x 1 vial
K 6915	CTRL2	Kontrolle, lyophilisiert (Bereich der Spezifi- kation entnehmen)	4 x 1 vial	25 x 1 vial
K 0002.15	SUB	Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	1 x 15 ml	20 x 15 ml
K 0003.15	STOP	Stopplösung, gebrauchsfertig	1 x 15 ml	20 x 15 ml

Für Nachbestellungen von Einzelkomponenten verwenden Sie als Bestellnummer die Artikelnummer gefolgt von der Bezeichnung.

#### 4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Reinstwasser\*
- Stuhlprobenaufbereitungssystem wie z.B. Artikel-Nr. K 6998SAS
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10–1000 µl
- Folie zum Abkleben der Mikrotiterplatte
- Mikrotiterplattenschüttler
- Multikanal- bzw. Multipipette
- Vortex-Mixer
- Laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Mikrotiterplattenphotometer (benötigte Filter siehe Kapitel 7)

\* Immundiagnostik AG empfiehlt die Verwendung von Reinstwasser nach ISO 3696. Es handelt sich dabei um Wasser des Typs 1, welches frei von ungelösten und kolloidalen Ionen und organischen Molekülen ist (frei von Partikeln > 0,2 µm) mit einer elektrischen Leitfähigkeit von 0,055 µS/cm bei 25 °C (≥ 18,2 MΩ cm).

## 5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Bitte achten Sie bei mehrfachem Einsatz des Kits darauf, dass die Reagenzien wie auf dem Etikett angegeben gelagert und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden**. Der Kit kann so bis zu 4x je nach Probenaufkommen bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.
- Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch kurz anzentrifugiert werden, um Volumenverluste zu vermeiden.
- **Vorbereitung des Waschpuffers:** Das **Waschpufferkonzentrat (WASHBUF)** muss vor Gebrauch **1:10** in Reinstwasser verdünnt werden (100 ml WASHBUF + 900 ml Reinstwasser), gut mischen. Aufgrund des hohen Salzgehalts im Konzentrat kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur bzw. im Wasserbad bei 37 °C auf. Das **WASHBUF** kann bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Der **Waschpuffer** (1:10 verdünntes WASHBUF) ist **1 Monat bei 2–8 °C** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- **Vorbereitung des Extraktionspuffers:** Das **Extraktionspufferkonzentrat IDK Extract®** muss vor Gebrauch **1:2,5 in Reinstwasser** verdünnt werden (100 ml *IDK Extract®* + 150 ml Reinstwasser), gut mischen. Aufgrund des hohen Salzgehalts im Konzentrat kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich im Wasserbad bei 37 °C auf. Das *IDK Extract®* kann bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Der **Extraktionspuffer** (1:2,5 verdünntes *IDK Extract®*) ist **4 Monate bei 2–8 °C** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- **Die lyophilisierten Standards (STD) und Kontrollen (CTRL)** sind bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Die **Rekonstitutionsvorgaben** sind dem **Spezifikationsdatenblatt** zu entnehmen. **Standards und Kontrollen** (rekonstituierte STD und CTRL) **sind nicht stabil und können nicht gelagert werden**.
- **Vorbereitung des Konjugats:** Das **Konjugatkonzentrat (CONJ)** wird vor Gebrauch **1:101** in **Waschpuffer** verdünnt (100 µl CONJ + 10 ml Waschpuffer). Das CONJ ist bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. **Konjugat** (1:101 verdünntes CONJ) **ist nicht stabil und kann nicht aufbewahrt werden**.
- Alle anderen Testreagenzien sind gebrauchsfertig und, bei **2–8 °C** gelagert, bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

## 6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG

### *Probenstabilität und -lagerung*

Laut Literatur beträgt die Stabilität von pankreatischer Elastase im **Rohstuhl** 3 Tage bei Raumtemperatur [5], 3 Tage bei 4–8 °C [1] und bis zu einem Jahr bei -20 °C [1].

**Stuhlextrakt** ist bei Raumtemperatur (15–30 °C) drei Tage, bei 2–8 °C sowie bei -20 °C sieben Tage haltbar. Die Extrakte sollten maximal einem Einfrier-/Auftauzyklus unterzogen werden.

### *Stuhlprobenextraktion*

Der **Extraktionspuffer** (1:2,5 verdünntes *IDK Extract*®) wird als **Probenextraktionspuffer** verwendet. Wir empfehlen folgende Probenvorbereitung:

### **Stuhlprobenaufbereitungssystem (SAS) (Artikel-Nr. K 6998SAS)**

#### ***Stuhlprobenröhrchen - Anwendung***

Bitte beachten Sie, dass der Verdünnungsfaktor der Stuhlsuspension von der aufgenommenen Stuhlmenge und dem Puffervolumen abhängig ist:

#### ***SAS mit 1,5 ml Probenextraktionspuffer:***

Aufgenommene Stuhlmenge:	15 mg
Puffervolumen:	1,5 ml
Verdünnungsfaktor:	1:100

Die Aufbereitung von Stuhlproben mit Hilfe des SAS wird wie folgt durchgeführt:

- Die Rohprobe muss aufgetaut sein, bei auffallend inhomogenen Proben empfiehlt sich eine mechanische Homogenisierung durch Spatel, Impföse o. Ä.
- Das **unbefüllte Stuhlprobenröhrchen** vor der Verwendung mit **1,5 ml Probenextraktionspuffer** (1:2,5 verdünntes *IDK Extract*®) **befüllen**. **Wichtig:** Probenextraktionspuffer vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen!
- Röhrchen aufschrauben (gelbes Gewinde), der untere Teil des Stäbchens weist Einkerbungen auf, welche durch Einstechen in die Stuhlprobe vollkommen mit Probe bedeckt werden müssen. Anschließend das Stäbchen durch den Abstreifring zurück ins Röhrchen stecken (leichter Widerstand) und fest verschrauben.

- d) Das Röhrchen so lange vortexen bis keine Stuhlreste mehr in den Einkerbungen auszumachen sind. **Wichtig:** Für die Erhebung valider Messwerte ist darauf zu achten, dass die Stuhlsuspension nach dem Mischungsprozess eine möglichst homogene Konsistenz aufweist. Bei besonders festen Stühlen kann die Homogenität der Suspension durch längeres Einweichen (ca. 10 min) des Stuhls im Probenextraktionspuffer bedeutend gesteigert werden.
- e) Nach erfolgter Suspendierung der Probe wird das Röhrchen ca. 10 Minuten stehen gelassen. Aufschwimmende Schalen von Körnern u. Ä. können hierbei vernachlässigt werden.
- f) Anschließend wird der gesamte Kopf des Stuhlprobenröhrchens (blauer Ring) zusammen mit dem Stäbchen vorsichtig abgeschraubt und verworfen. Beim Abschrauben des Kopfes ist darauf zu achten, dass das abgesetzte Sediment nicht erneut aufgewirbelt wird.

## **Verdünnung I                      1:100**

### *Probenverdünnung*

Die Suspension aus der Probenvorbereitung (Verdünnung I) wird **1:100 mit Waschpuffer** weiterverdünnt. Hierfür kann eine der folgenden beiden Verdünnungsmöglichkeiten gewählt werden:

#### **Version A (von Immundiagnostik AG empfohlen):**

- **100 µl** Überstand (Verdünnung I) + **900 µl** Waschpuffer, mischen = **1:10 (Verdünnung IIa)**
- **100 µl** Verdünnung IIa + **900 µl** Waschpuffer = **1:10 (Verdünnung IIIa)**. Diese entspricht nun einer Gesamtverdünnung von 1:10 000.  
**100 µl** der **Verdünnung IIIa** im Test pro Vertiefung einsetzen.

#### **Version B:**

Alternativ kann die 1:100-Weiterverdünnung in einem Schritt durchgeführt werden. Zum Beispiel:

- **10 µl** Überstand (Verdünnung I) + **990 µl** Waschpuffer, mischen = **1:100 (Verdünnung IIb)**. Diese entspricht nun einer Gesamtverdünnung von 1:10 000.  
**100 µl** der **Verdünnung IIb** im Test pro Vertiefung einsetzen.

## 7. TESTDURCHFÜHRUNG

### *Testprinzip*

Dieser ELISA dient zur quantitativen Bestimmung der pankreatischen Elastase im Stuhl.

In diesem ELISA wird die pankreatische Elastase aus den Proben an auf Mikrotiterplatten fixierte monoklonale Antikörper gebunden. Während eines Waschschrilles werden ungebundene Komponenten entfernt. Gebundene pankreatische Elastase wird mit Hilfe eines peroxidasemarkierten Antikörpers (Maus-anti-humane-Pankreaselastase) spezifisch detektiert. Nach einem weiteren Waschschrill wird das Substrat TMB auf die Mikrotiterplatte gegeben und durch die Peroxidase umgesetzt. Nach Zugabe einer Stopplösung wechselt die Farbe von blau nach gelb. Die Farbentwicklung ist dabei zur nachgewiesenen Analytmenge (Probe bzw. Standard) proportional. Anhand einer mitgeführten Standardkurve – optische Dichte (Absorption bei 450 nm) versus Standardkonzentration – lässt sich die Konzentration der Probe ermitteln.

### *Pipettierschema*

Vor Gebrauch **alle Reagenzien und Proben** auf **Raumtemperatur** (15–30 °C) bringen, gut mischen.

Markieren Sie die Positionen für Standards/Kontrollen/Proben im Protokollblatt.

Die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Kit nehmen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen müssen zusammen mit dem Trockenmittelbeutel in der verschlossenen Aluminiumverpackung bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum bei 2–8 °C gelagert werden.

Im Fall einer automatisierten Abarbeitung des Tests können automatenspezifische Anpassungen der Prozedur notwendig sein, um den jeweiligen technischen Gegebenheiten gerecht zu werden. Für Unterstützung und Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihren Anbieter oder Immundiagnostik AG.

Wir empfehlen, die Bestimmungen in Doppelwerten durchzuführen.

1.	<b>100 µl Standards/Kontrollen/verdünnte Proben</b> in die jeweiligen Vertiefungen pipettieren.
2.	Streifen abdecken und <b>30 min</b> bei Raumtemperatur (15–30 °C) <b>unter Schütteln*</b> inkubieren.
3.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und <b>5 x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Nach dem letzten Waschschrill Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.

4.	<b>100 µl Konjugat</b> (verdünntes CONJ) in jede Vertiefung pipettieren.
5.	Streifen abdecken und <b>30 min</b> bei Raumtemperatur (15–30 °C) <b>unter Schütteln*</b> inkubieren.
6.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und <b>5x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
7.	<b>100 µl Substrat</b> (SUB) in jede Vertiefung pipettieren.
8.	<b>10–20 min**</b> bei Raumtemperatur (15–30 °C) <b>im Dunkeln</b> inkubieren.
9.	<b>100 µl Stopplösung</b> (STOP) in jede Vertiefung pipettieren, gut mischen.
10.	<b>Extinktion sofort</b> im Mikrotiterplattenphotometer bei <b>450 nm</b> gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) messen. Ist keine Referenzwellenlänge vorhanden, wird nur bei 450 nm gelesen. Falls die Extinktion des höchsten Standards den Messbereich des Photometers übersteigt, sollte sofort bei <b>405 nm</b> gegen 620 nm (690 nm) gemessen werden.

\* Wir empfehlen die Streifen bei 550 rpm (Umdrehungen pro Minute) mit einem Orbit von 2 mm zu schütteln.

\*\* Die Intensität der Farbentwicklung ist temperaturabhängig. Es wird empfohlen, den Farbumschlag während der Inkubationszeit zu beobachten und entsprechend der Farbentwicklung die Reaktion zu stoppen.

## 8. ERGEBNISSE

Die unten beschriebenen mathematischen Modelle können alternativ zur Auswertung benutzt werden. Wir empfehlen die 4-Parameter-Funktion:

### 1. 4-Parameter-Funktion

Für die optische Dichte empfehlen wir eine lineare Ordinate und für die Konzentration eine logarithmische Abszisse (bei einer logarithmischen Abszisse muss für den Standard mit der Konzentration 0 ein Wert kleiner 1 eingegeben werden z.B. 0,001).

### 2. Punkt-zu-Punkt-Auswertung

Für die optische Dichte und für die Konzentration empfehlen wir eine lineare Ordinate bzw. Abszisse.

### 3. Gewichtete Spline-Funktion

Für die optische Dichte und für die Konzentration empfehlen wir eine lineare Ordinate bzw. Abszisse.

Vor jeder automatischen Auswertung sollte stets eine Kontrolle der Doppelwerte auf Plausibilität („Ausreißerkontrolle“) durchgeführt werden; falls dies nicht durch das verwendete Programm erfolgt, sollte die Kontrolle manuell durchgeführt werden.

### Stuhlproben

Die ermittelten Ergebnisse werden mit dem **Verdünnungsfaktor 10 000** multipliziert, um die tatsächlichen Konzentrationen zu erhalten.

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

## 9. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit Konzentrationen oberhalb des Messbereichs (Definition siehe unten) können stärker verdünnt und erneut gemessen werden. Bitte beachten Sie diese stärkere Verdünnung bei der Ergebnisberechnung.

Proben mit Konzentrationen unterhalb des Messbereichs (Definition siehe unten) können nicht klar quantifiziert werden.

Die Obergrenze des Messbereichs ergibt sich aus:

*höchste Konzentration der Standardkurve × anzuwendender Probenverdünnungsfaktor*

Die Untergrenze des Messbereichs ergibt sich aus:

*LoB × anzuwendender Probenverdünnungsfaktor*

LoB siehe Kapitel „Testcharakteristika“.

Da flüssige Stühle bekanntermaßen zu einer Verfälschung der Pankreas-Elastase-Werte führen können, empfehlen wir in diesem Fall, eine abschließende Beurteilung ausschließlich in Zusammenhang mit der Klinik und weiteren diagnostischen Mitteln zu erstellen und/oder eine weitere Probe des Patienten anzufordern.

## 10. QUALITÄTSKONTROLLE

Immundiagnostik AG empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollen für die interne Qualitätskontrolle, wenn möglich.

Wir empfehlen, bei jedem Testansatz Kontrollen mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kon-

trollen außerhalb des angegebenen Bereiches, kann Immundiagnostik AG die Richtigkeit der Messergebnisse nicht gewährleisten.

### Referenzwerte

Wir empfehlen jedem Labor, einen eigenen Referenzbereich zu etablieren.

### Referenzwerte im Stuhl<sup>[4]</sup>

1 g Stuhl entspricht 1 ml.

> 200 µg/ml	Normalwert
100 - 200 µg/ml	leichte bis mittlere exokrine Pankreasinsuffizienz
< 100 µg/ml	exokrine Pankreasinsuffizienz

## 11. TESTCHARAKTERISTIKA

### Genauigkeit – Präzision

#### Wiederholbarkeit (Intra-Assay); n = 42

Die Wiederholbarkeit wurde mit 2 Stuhlproben unter **gleichbleibenden** Bedingungen (Bediener, System, Tag, Kitcharge) bestimmt.

Probe	Mittelwert [µg/ml]	VK [%]
1	187,92	5,7
2	308,06	4,0

#### Reproduzierbarkeit (Inter-Assay); n = 20

Die Reproduzierbarkeit wurde mit 2 Stuhlproben unter **variablen** Bedingungen (Bediener, System, Tag, Kitcharge) bestimmt.

Probe	Mittelwert [µg/ml]	VK [%]
1	209,01	9,7
2	349,12	7,4

### Analytische Spezifität

Die Spezifität wurde nachgewiesen durch Bestimmung der Kreuzreaktivität verwandter Substanzen. Es wurde keine Kreuzreaktivität nachgewiesen.

Getestete Substanz	Eingesetzte Konzentration	Gefundene Konzentration [ng/ml]	Fazit
Chymotrypsin	166,67 ng/ml	< 0,906	< LoB
PMN-Elastase	10 µg/ml	< 0,906	< LoB
Pankreatische Amylase	37 ng/ml	< 0,906	< LoB
Hämoglobin	500 ng/ml	< 0,906	< LoB
Pankreatische Lipase	200 U/l	< 0,906	< LoB
Calprotectin	840 ng/ml	< 0,906	< LoB
α1-Antitrypsin	90 µg/ml	< 0,906	< LoB
Pankreatin	80 mg/ml	< 0,906	< LoB

### Genauigkeit – Richtigkeit

Die Richtigkeit gibt das Verhältnis zwischen dem Messergebnis und der wahren Konzentration einer Probe an. 3 Stuhlproben wurden dafür mit bekannten pankreatische Elastase-Konzentrationen versetzt und gemessen.

Probe [ng/ml]	Spike [ng/ml]	Erwartet [ng/ml]	Gemessen [ng/ml]	Wiederfindung [%]
23,69	4,0	27,69	27,05	97,70
	6,0	29,69	30,12	101,45
	8,0	31,69	32,59	102,82
	9,0	32,69	34,74	106,25
68,63	4,0	72,63	74,16	102,12
	6,0	74,63	76,35	102,31
	8,0	76,63	76,32	99,60
	9,0	77,63	80,11	103,20
22,96	4,0	26,96	29,17	108,19
	6,0	28,96	29,71	102,58
	8,0	30,96	30,96	100,00

### Analytische Sensitivität

Die im Folgenden aufgeführten Werte wurden in Bezug auf die Standardkurve ohne Berücksichtigung eventuell verwendeter Probenverdünnungsfaktoren ermittelt.

Leerwert ( <i>limit of blank</i> , LoB)	0,906 ng/ml
Nachweisgrenze ( <i>limit of detection</i> , LoD)	1,884 ng/ml
Bestimmungsgrenze ( <i>limit of quantitation</i> , LoQ)	2,055 ng/ml

Die Auswertung wurde gemäß der CLSI-Richtlinie EP17-A2 durchgeführt. Das festgelegte Präzisionsziel für die Bestimmungsgrenze lag bei 20 % VK.

### Linearität

Die Linearität zeigt die Fähigkeit einer Methode, ein Ergebnis proportional zur Analytkonzentration in einer Probe zu liefern. Sie wurde gemäß CLSI-Richtlinie EP6-A mittels einer seriellen Verdünnung von 3 Stuhlproben nachgewiesen.

Für pankreatische Elastase in Stuhl wurde ein lineares Verhalten im Bereich von 3,42 bis 48,89 ng/ml nachgewiesen. Die Nicht-Linearität lag bei weniger als  $\pm 20\%$ .

Probe	Verdünnung	Erwartet [ng/ml]	Gemessen [ng/ml]	Wiederfindung [%]
A	1:40 000	48,89	48,89	100,00
	1:80 000	24,44	28,52	116,69
	1:160 000	12,22	12,69	103,84
	1:320 000	6,11	6,86	112,24
	1:640 000	3,06	3,42	111,92
B	1:80 000	40,10	40,10	100,00
	1:160 000	20,05	22,85	113,97
	1:320 000	10,03	10,95	109,22
	1:640 000	5,01	5,34	106,49
C	1:40 000	40,68	40,68	100,00
	1:80 000	20,34	23,54	115,71
	1:160 000	10,17	11,71	115,10
	1:320 000	5,09	5,73	112,76

## 12. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befunden. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Die Kitkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder ProClin. Natriumazid bzw. ProClin sind giftig. Auch Substrate für enzymatische Farbreaktionen sind als giftig und karzinogen beschrieben. Jeder Kontakt mit Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.
- Die Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure ( $H_2SO_4$ ).  $H_2SO_4$  ist eine starke Säure und muss auch in verdünnter Form mit Vorsicht benutzt werden.  $H_2SO_4$  verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen, Schutzkleidung und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Säure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden. Dämpfe nicht einatmen und Inhalation vermeiden.

## 13. TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden. Ferner dürfen Kavitäten unterschiedlicher Mikrotiterplatten, selbst der gleichen Charge, nicht zusammengefügt und zur Analyse verwendet werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Kitverpackung angegebenen Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Substratlösung muss vor Gebrauch farblos sein.
- Mikrotiterstreifen müssen während der Inkubationen mit Folie abgedeckt sein.
- Vermeiden Sie Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Der Assay ist immer nach der dem Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen.

## 14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD-Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- *IDK*<sup>®</sup> und *IDK Extract*<sup>®</sup> sind Marken der Immundiagnostik AG.
- Die Testcharakteristika wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden vom Hersteller festgelegt. 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.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller, der Immundiagnostik AG, zurückzusenden.

## 15. LITERATUR

1. Nandhakumar, N. & Green, M.R., 2010. Interpretations: How to use faecal elastase testing. *Archives of disease in childhood. Education and practice edition*, **95**(4), pp.119–23.
2. Whitcomb, D.C. & Lowe, M.E., 2007. Human pancreatic digestive enzymes. *Digestive diseases and sciences*, **52**(1), pp.1–17.
3. Dominici, R. & Franzini, C., 2002. Fecal elastase-1 as a test for pancreatic function: a review. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*, **40**(4), pp.325–32.
4. 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.
5. Stein, J. et al., 1996. Immunoreactive elastase I: clinical evaluation of a new noninvasive test of pancreatic function. *Clinical chemistry*, **42**(2), pp.222–6.

**Verwendete Symbole:**

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



# **IDK<sup>®</sup> Pancreatic Elastase**

## **ELISA**

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

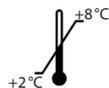
Valid from 2019-12-20

**REF** **K 6915**

**REF** **K 6915.20**

 96

 20 x 96



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

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: [info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

# Table of Contents

<b>1. INTENDED USE</b>	<b>19</b>
<b>2. INTRODUCTION</b>	<b>19</b>
<b>3. MATERIAL SUPPLIED</b>	<b>19</b>
<b>4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED</b>	<b>20</b>
<b>5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS</b>	<b>20</b>
<b>6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES</b>	<b>21</b>
<i>Sample stability and storage</i>	21
<i>Extraction of the stool samples</i>	21
<i>Dilution of samples</i>	23
<b>7. ASSAY PROCEDURE</b>	<b>23</b>
<i>Principle of the test</i>	23
<i>Test procedure</i>	24
<b>8. RESULTS</b>	<b>25</b>
<b>9. LIMITATIONS</b>	<b>25</b>
<b>10. QUALITY CONTROL</b>	<b>26</b>
<i>Reference range</i>	26
<b>11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS</b>	<b>26</b>
<i>Accuracy – Precision</i>	26
<i>Accuracy – Trueness</i>	27
<i>Analytical sensitivity</i>	27
<i>Analytical specificity</i>	28
<i>Linearity</i>	28
<b>12. PRECAUTIONS</b>	<b>29</b>
<b>13. TECHNICAL HINTS</b>	<b>29</b>
<b>14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE</b>	<b>30</b>
<b>15. REFERENCES</b>	<b>30</b>

## 1. INTENDED USE

This Immundiagnostik AG assay is an enzyme immunoassay intended for the quantitative determination of human pancreatic elastase in stool. For *in vitro* diagnostic use only.

## 2. INTRODUCTION

Pancreatic elastase is an anionic endoprotease of the serine protease family with a molecular weight of 26 kDa. Together with other digestive enzymes it is synthesised as an inactive pro-enzyme in the acinar cells of the pancreas and is secreted into the duodenum. After its activation, pancreas elastase cleaves peptides after neutral amino acids.

Pancreas elastase is mainly bound to bile salts during intestinal passage and is not degraded. In human faeces it is 5–6 fold more concentrated than in pancreatic juice. The stool concentration reflects the secretory capacity of the pancreas.

### Indications:

- Diagnosis/exclusion of exocrine pancreas insufficiency in case of unexplained diarrhea, constipation, steatorrhea, flatulence, weight loss, upper abdominal pain, and food intolerances
- Monitoring of exocrine pancreas function in cystic fibrosis, diabetes mellitus, or chronic pancreatitis

## 3. MATERIAL SUPPLIED

Art. no.	Label	Kit components	Quantity for cat. no.	
			K 6915	K 6915.20
K 6915	PLATE	Microtiter plate, pre-coated	12 x 8 wells	20 x 12 x 8 wells
K 0001.C.100	WASHBUF	Wash buffer concentrate, 10x	2 x 100 ml	40 x 100 ml
K 6915	CONJ	Conjugate concentrate, peroxidase-labelled (mouse anti pancreatic elastase)	1 x 200 µl	15 x 200 µl
K 6915	STD	Standards, lyophilised (see specification for concentrations)	4 x 5 vials	25 x 5 vials

Art. no.	Label	Kit components	Quantity for cat. no.	
			K 6915	K 6915.20
K 6915	CTRL1	Control, lyophilised (see specification for range)	4 x 1 vial	25 x 1 vial
K 6915	CTRL2	Control, lyophilised (see specification for range)	4 x 1 vial	25 x 1 vial
K 0002.15	SUB	Substrate (tetramethyl- benzidine), ready-to-use	1 x 15 ml	20 x 15 ml
K 0003.15	STOP	Stop solution, ready-to-use	1 x 15 ml	20 x 15 ml
K 6999.C.100	IDK Extract®	Extraction buffer concentrate <i>IDK Extract® 2.5x</i>	1 x 100 ml	-

For reorders of single components, use the catalogue number followed by the label as product number.

#### 4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Ultrapure water\*
- Stool sample application system such as Cat. No.: K 6998SAS
- Calibrated precision pipettors and 10–1000 µl single-use tips
- Foil to cover the microtiter plate
- Horizontal microtiter plate shaker
- Multi-channel pipets or repeater pipets
- Vortex
- Standard single-use laboratory glass or plastic vials, cups, etc.
- Microtiter plate reader (required filters see chapter 7)

\* Immundiagnostik AG recommends the use of ultrapure water (water type 1; ISO 3696), which is free of undissolved and colloidal ions and organic molecules (free of particles >0.2 µm) with an electrical conductivity of 0.055 µS/cm at 25 °C (≥ 18.2 MΩ cm).

#### 5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS

- To run the assay more than once, ensure that reagents are stored at the conditions stated on the label. **Prepare only the appropriate amount necessary for each run.** The kit can be used up to 4 times within the expiry date stated on the label.
- Reagents with a volume less than **100 µl** should be centrifuged before use to avoid loss of volume.

- **Preparation of the wash buffer:** The **wash buffer concentrate (WASHBUF)** has to be diluted with ultrapure water **1:10** before use (100 ml WASHBUF + 900 ml ultrapure water), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the concentrate. Before dilution, the crystals have to be redissolved at room temperature or in a water bath at 37°C. The **WASHBUF** is stable at **2–8°C** until the expiry date stated on the label. **Wash buffer** (1:10 diluted WASHBUF) can be stored in a closed flask at **2–8°C for 1 month**.
- **Preparation of the extraction buffer:** The **extraction buffer concentrate IDK Extract®** has to be diluted with ultrapure water **1:2.5** before use (100 ml *IDK Extract®* + 150 ml ultrapure water), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the concentrate. Before dilution, the crystals have to be redissolved at 37°C in a water bath. The *IDK Extract®* is stable at **2–8°C** until the expiry date stated on the label. Extraction buffer (1:2.5 diluted *IDK Extract®*) can be stored in a closed flask at **2–8°C for 4 months**.
- The **lyophilised standards (STD)** and **controls (CTRL)** are stable at **2–8°C** until the expiry date stated on the label. **Reconstitution** details are given in the **specification data sheet**. **Standards and controls** (reconstituted STD and CTRL) **are not stable and cannot be stored**.
- **Preparation of the conjugate:** Before use, the **conjugate concentrate (CONJ)** has to be diluted **1:101** in wash buffer (100 µl CONJ + 10 ml wash buffer). The CONJ is stable at **2–8°C** until the expiry date stated on the label. **Conjugate** (1:101 diluted CONJ) **is not stable and cannot be stored**.
- All other test reagents are ready-to-use. Test reagents are stable until the expiry date (see label) when stored at **2–8°C**.

## 6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES

### *Sample stability and storage*

According to literature, the stability of pancreatic elastase in **raw stool** is 3 days at room temperature [5], 3 days at 4–8°C [1], and up to a year at -20°C [1].

**Stool extract** is stable at room temperature (15–30°C) for three days, at 2–8°C as well as at -20°C for seven days. Avoid more than one freeze-thaw cycle.

### *Extraction of the stool samples*

**Extraction buffer** (1:2.5 diluted *IDK Extract®*) is used as a **sample extraction buffer**. We recommend the following sample preparation:

## Stool Sample Application System (SAS) (Cat. No.: K 6998SAS)

### **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.

### **SAS 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 SAS as follows:

- a) The raw stool sample has to be thawed. For particularly heterogeneous samples we recommend a mechanical homogenisation using an applicator, inoculation loop or similar device.
- b) Fill the **empty stool sample tube** with **1.5 ml sample extraction buffer** (1:2.5 diluted *IDK Extract*®) before using it with the sample. **Important:** Allow the sample extraction buffer to reach room temperature.
- c) 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.
- d) 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.
- e) Allow sample to stand for ~10 minutes until sediment has settled. Floating material like shells of grains can be neglected.
- f) 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.

**Dilution I:                      1:100**

### *Dilution of samples*

The supernatant of the sample preparation procedure (dilution I) is diluted **1:100 in wash buffer**. For this purpose, one of the two following dilution procedure variants can be used:

#### **Variant A (recommended by Immundiagnostik AG):**

- **100 µl** supernatant (dilution I) + **900 µl** wash buffer, mix well = **1:10 (dilution IIa)**
- **100 µl** dilution IIa + **900 µl** wash buffer, mix well = **1:10 (dilution IIIa)**.  
This results in a final dilution of 1:10 000.

For analysis, pipet **100 µl** of **dilution IIIa** per well.

#### **Variant B:**

Alternatively, the 1:100 dilution can be done in one step. For example:

- **10 µl** supernatant (dilution I) + **990 µl** wash buffer, mix well = **1:100 (dilution IIb)**. This results in a final dilution of 1:10 000.

For analysis, pipet **100 µl** of **dilution IIb** per well.

## **7. ASSAY PROCEDURE**

### *Principle of the test*

This ELISA is intended for the quantitative determination of pancreatic elastase in stool. In a first incubation step, the pancreatic elastase in the samples is bound to monoclonal antibodies, immobilised to the surface of the microtiter wells. To remove all unbound substances, a washing step is carried out. In a second incubation step, a peroxidase-labelled conjugate (mouse anti pancreatic elastase) is added which recognises specifically the bound pancreatic elastase. After another washing step to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the substrate, tetramethyl-benzidine (TMB), which reacts with the peroxidase. An acidic stop solution is added to stop the reaction. The colour changes from blue to yellow. The intensity of the yellow colour is directly proportional to the concentration of pancreatic elastase. A dose response curve of absorbance unit (optical density, OD at 450 nm) vs. concentration is generated using the values obtained from the standards. Pancreatic elastase, present in the patient samples, is determined directly from this curve.

### Test procedure

Bring all **reagents and samples to room temperature** (15–30 °C) and mix well.

Mark the positions of standards/controls/samples on a protocol sheet.

Take as many microtiter strips as needed from the kit. Store unused strips together with the desiccant bag in the closed aluminium packaging at 2–8 °C. Strips are stable until expiry date stated on the label.

For automated ELISA processors, the given protocol may need to be adjusted according to the specific features of the respective automated platform. For further details please contact your supplier or Immundiagnostik AG.

We recommend to carry out the tests in duplicate.

1.	Add each <b>100 µl standards/controls/diluted samples</b> into the respective wells.
2.	Cover the strips and incubate for <b>30 min</b> at room temperature (15–30 °C) on a <b>horizontal shaker*</b> .
3.	Discard the content of each well and wash <b>5 times</b> with <b>250 µl wash buffer</b> . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
4.	Add <b>100 µl conjugate</b> (diluted CONJ) into each well.
5.	Cover the strips and incubate for <b>30 min</b> at room temperature (15–30 °C) on a <b>horizontal shaker*</b> .
6.	Discard the content of each well and wash <b>5 times</b> with <b>250 µl wash buffer</b> . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
7.	Add <b>100 µl substrate</b> (SUB) into each well.
8.	Incubate for <b>10–20 min**</b> at room temperature (15–30 °C) in the <b>dark</b> .
9.	Add <b>100 µl stop solution</b> (STOP) into each well and mix well.
10.	Determine <b>absorption immediately</b> with an ELISA reader at <b>450 nm</b> against 620 nm (or 690 nm) as a reference. If no reference wavelength is available, read only at 450 nm. If the extinction of the highest standard exceeds the range of the photometer, absorption must be measured immediately at <b>405 nm</b> against 620 nm as a reference.

\* We recommend shaking the strips at 550 rpm with an orbit of 2 mm.

\*\* The intensity of the colour change is temperature sensitive. We recommend observing the colour change and stopping the reaction upon good differentiation.

## 8. RESULTS

The following algorithms can be used alternatively to calculate the results. We recommend using the “4 parameter algorithm”.

### 1. 4 parameter algorithm

It is recommended to use a linear ordinate for the optical density and a logarithmic abscissa for the concentration. When using a logarithmic abscissa, the zero standard must be specified with a value less than 1 (e.g. 0.001).

### 2. Point-to-point calculation

We recommend a linear ordinate for the optical density and a linear abscissa for the concentration.

### 3. Spline algorithm

We recommend a linear ordinate for the optical density and a linear abscissa for the concentration.

The plausibility of the duplicate values should be examined before the automatic evaluation of the results. If this option is not available with the programme used, the duplicate values should be evaluated manually.

### Stool samples

The obtained results have to be multiplied by the **dilution factor of 10 000** to get the actual concentrations.

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

## 9. LIMITATIONS

Samples with concentrations above the measurement range (see definition below) can be further diluted and re-assayed. Please consider this higher dilution when calculating the results.

Samples with concentrations lower than the measurement range (see definition below) cannot be clearly quantified.

The upper limit of the measurement range can be calculated as:

*highest concentration of the standard curve × sample dilution factor to be used*

The lower limit of the measurement range can be calculated as:

*LoB × sample dilution factor to be used*

LoB see chapter “Performance Characteristics”.

Liquid stools may lead to false pancreatic elastase results. In such cases, we recommend to also consider clinical symptoms and other diagnostic tests for the final diagnosis and/or to request another patient sample.

## 10. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik AG recommends the use of external controls for internal quality control, if possible.

Control samples should be analysed with each run. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. The results for the patient samples may not be valid if within the same assay one or more values of the quality control sample are outside the acceptable limits.

### *Reference range*

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

### **Reference range in stool samples<sup>[4]</sup>**

1 g stool is equivalent to 1 ml.

> 200 µg/ml	normal value
100–200 µg/ml	slight to moderate exocrine pancreatic insufficiency
< 100 µg/ml	exocrine pancreatic insufficiency

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### *Accuracy – Precision*

### **Repeatability (Intra-Assay); n = 42**

The repeatability was assessed with 2 stool samples under **constant** parameters (same operator, measurement system, day and kit lot).

Sample	Mean value [µg/ml]	CV [%]
1	187.92	5.7
2	308.06	4.0

### Reproducibility (Inter-Assay); n = 20

The reproducibility was assessed with 2 stool samples under **varying** parameters (different operators, measurement systems, days and kit lots).

Sample	Mean value [µg/ml]	CV [%]
1	209.01	9.7
2	349.12	7.4

### Accuracy – Trueness

The trueness states the closeness of the agreement between the result of a measurement and the true value of the measurand. Therefore, pancreatic elastase spikes with known concentrations were added to 3 different stool samples.

Sample [ng/ml]	Spike [ng/ml]	Expected [ng/ml]	Obtained [ng/ml]	Recovery [%]
23.69	4.0	27.69	27.05	97.70
	6.0	29.69	30.12	101.45
	8.0	31.69	32.59	102.82
	9.0	32.69	34.74	106.25
68.63	4.0	72.63	74.16	102.12
	6.0	74.63	76.35	102.31
	8.0	76.63	76.32	99.60
	9.0	77.63	80.11	103.20
22.96	4.0	26.96	29.17	108.19
	6.0	28.96	29.71	102.58
	8.0	30.96	30.96	100.00

### Analytical sensitivity

The following values have been estimated based on the concentrations of the standard without considering possibly used sample dilution factors.

Limit of blank, LoB	0.906 ng/ml
Limit of detection, LoD	1.884 ng/ml
Limit of quantitation, LoQ	2.055 ng/ml

The evaluation was performed according to the CLSI guideline EP-17-A2. The specified accuracy goal for the LoQ was 20% CV.

### *Analytical specificity*

The specificity of the antibody was tested by measuring the cross-reactivity against a range of compounds with structural similarity to pancreatic elastase. There was no cross-reactivity observed.

Substance tested	Concentration added	Concentration obtained [ng/ml]	Conclusion
Chymotrypsin	166.67 ng/ml	< 0.906	< LoB
PMN-elastase	10 µg/ml	< 0.906	< LoB
Pankreatic amylase	37 ng/ml	< 0.906	< LoB
Hemoglobin	500 ng/ml	< 0.906	< LoB
Pankreatic lipase	200 U/l	< 0.906	< LoB
Calprotectin	840 ng/ml	< 0.906	< LoB
α1-antitrypsin	90 µg/ml	< 0.906	< LoB
Pancreatin	80 mg/ml	< 0.906	< LoB

### *Linearity*

The linearity states the ability of a method to provide results proportional to the concentration of analyte in the test sample within a given range. This was assessed according to CLSI guideline EP06-A with a serial dilution of 3 different stool-samples.

For pancreatic elastase in stool, the method has been demonstrated to be linear from 3.42 to 48.89 ng/ml, showing a non-linear behaviour of less than ±20% in this interval.

Sample	Dilution	Expected [ng/ml]	Obtained [ng/ml]	Recovery [%]
A	1:40 000	48.89	48.89	100.00
	1:80 000	24.44	28.52	116.69
	1:160 000	12.22	12.69	103.84
	1:320 000	6.11	6.86	112.24
	1:640 000	3.06	3.42	111.92
B	1:80 000	40.10	40.10	100.00
	1:160 000	20.05	22.85	113.97
	1:320 000	10.03	10.95	109.22
	1:640 000	5.01	5.34	106.49

Sample	Dilution	Expected [ng/ml]	Obtained [ng/ml]	Recovery [%]
C	1:40 000	40.68	40.68	100.00
	1:80 000	20.34	23.54	115.71
	1:160 000	10.17	11.71	115.10
	1:320 000	5.09	5.73	112.76

## 12. PRECAUTIONS

- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- Human materials used in kit components were tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
- Kit reagents contain sodium azide or ProClin as bactericides. Sodium azide and ProClin are toxic. Substrates for the enzymatic colour reactions are toxic and carcinogenic. Avoid contact with skin or mucous membranes.
- The stop solution consists of diluted sulphuric acid, a strong acid. Although diluted, it still must be handled with care. It can cause burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spill should be wiped up immediately with copious quantities of water. Do not breath vapour and avoid inhalation.

## 13. TECHNICAL HINTS

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay. Furthermore we recommend not assembling wells of different microtiter plates for analysis, even if they are of the same batch.
- Control samples should be analysed with each run.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated on kit label.
- Substrate solution should remain colourless until use.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Avoid foaming when mixing reagents.

- Do not mix plugs and caps from different reagents.
- The assay should always be performed according to the enclosed manual.

## 14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The guidelines for medical laboratories should be followed.
- *IDK®* and *IDK Extract®* are trademarks of Immundiagnostik AG.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. 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.
- Warranty claims and complaints regarding deficiencies must be logged within 14 days after receipt of the product. The product should be send to Immundiagnostik AG along with a written complaint.

## 15. REFERENCES

1. Nandhakumar, N. & Green, M.R., 2010. Interpretations: How to use faecal elastase testing. Archives of disease in childhood. *Education and practice edition*, **95**(4), pp.119–23.
2. Whitcomb, D.C. & Lowe, M.E., 2007. Human pancreatic digestive enzymes. *Digestive diseases and sciences*, **52**(1), pp.1–17.
3. Dominici, R. & Franzini, C., 2002. Fecal elastase-1 as a test for pancreatic function: a review. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*, **40**(4), pp.325–32.
4. 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.
5. Stein, J. et al., 1996. Immunoreactive elastase I: clinical evaluation of a new noninvasive test of pancreatic function. *Clinical chemistry*, **42**(2), pp.222–6.

**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		