

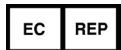
**English**

## IB10 sphingotest® penKid®

For the Quantitative Determination of  
Proenkephalin in EDTA Whole Blood and Plasma



Nexus Dx, Inc.,  
6759 Mesa Ridge Road  
San Diego, California 92121 USA  
Telephone: 1 (858) 410 4600  
Fax: 1 (858) 410 4700









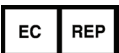






TheraGenesis GmbH  
Bahnhofstrasse 5  
55276 Oppenheim, Germany  
Tel: +49 (0) 151 506 403 14



022-00075 REV D

### Explanation of Symbols

	CE Mark of Conformity
	Manufacturer
	Catalog Number
	Expiry date/Use by
	Lot number
	<i>In Vitro</i> Diagnostic medical device
	Consult instructions for use
	Store between 2 °C and 8 °C
	European Authorized Representative
	Contains sufficient for <n> test
	Do not reuse
	Serial Number
	Insert disc label side up

# IB10 sphingotest® penKid®

## For *In Vitro* Diagnostic Use

### INTENDED USE

The IB10 sphingotest® penKid® is a rapid point-of-care (POC) immunoassay for the in vitro quantitative determination of Proenkephalin A 119-159 in human EDTA whole blood and plasma. This Test is intended for use in conjunction with the Nexus IB10 Analyzer and provides quantitative results within 20 minutes.

The IB10 sphingotest® penKid® is designed for professional use only and may be used in hospital central laboratories and in alternate care settings such as emergency departments, critical care units, and other sites where near patient testing is practiced.

### SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

The IB10 sphingotest® penKid® quantitatively measures the level of Proenkephalin A 119-159 (Proenkephalin) circulating in the bloodstream. Proenkephalin is a stable mid-regional fragment of Proenkephalin A and has been established as a surrogate blood marker for the instable Enkephalin peptides that are derived from the same precursor.<sup>1,2</sup> The blood concentration of Proenkephalin is a reliable surrogate marker for the true glomerular filtration rate (GFR) and is highly dynamic, reflecting worsening and improvement of renal function up to 2 days earlier than standard of care.<sup>2,7</sup> In contrast to most other kidney markers, Proenkephalin is unaffected by inflammation and other comorbidities which makes it suitable for timely monitoring of the actual kidney status in several acute diseases.<sup>3,8-10</sup> It proved to be applicable in a range of populations including critically ill patients, sepsis, heart failure, cardiac surgery, acute myocardial infarction, renal transplantation, and patients with chronic kidney disease.<sup>5,8-15</sup>

The measurement of Proenkephalin levels by IB10 sphingotest® penKid® may hence enable physicians to predict and assess worsening of kidney function in real-time and to improve risk stratification and patient management in acute care settings. Clinicians should use the IB10 sphingotest® penKid® results in conjunction with the patient's other laboratory findings and clinical signs, and interpret the concrete patient values in the context of the patient's clinical situation.

### PROENKEPHALIN

Enkephalins are short-lived pentapeptide hormones that are proteolytically cleaved from Preproenkephalin A and co-released together with stable prohormone fragments, one of which is 4.5 kDa Proenkephalin A 119-159 (also described as Proenkephalin, pro-ENK, and PENK).<sup>1</sup> The mature Enkephalins are endogenous ligands of opioid receptors, and are involved in various physiological processes such as pain signaling, stress response, inflammation and cardiovascular regulation with natriuretic and diuretic effects in the kidneys.<sup>3,16,17</sup> Enkephalins and their receptors are expressed in the central nervous system and peripheral organs, and are highly abundant in the kidneys making direct stimulatory effects on the kidneys very likely.<sup>3,18</sup> Proenkephalin does not interact with plasma proteins and is freely filtrated through the glomerulus, thus blood levels demonstrated to be a functional biomarker of GFR.<sup>3</sup>

### PRINCIPLE

The Nexus IB10 immunochemistry system combines chemistry with microfluidics and centrifugal flow to rapidly prepare a cell free plasma from whole blood that can then be moved through a channel to rehydrate, solubilize and mix with freeze dried immunoconjugates. Using a combination of active flow and capillary action, the test sample is quantitatively measured within 20 minutes with an optical signal level proportional to the analyte(s) concentration.

After addition of the patient sample, the entire test is performed within the Nexus IB10 Analyzer, which provides control of the temperature of the disc, as well as the reaction sequence, centrifugal flow, mixing, incubation time, final signal measurement, quantitation and reporting of results. The Test disc includes a positive internal control to ensure that the Test has operated properly. Each lot is calibrated to provide accurate analyte concentration. Lot specific calibration along with additional information such as the lot expiration date is contained on a QR code label affixed to each disc. It is recommended that external controls be tested at appropriate time intervals to confirm that the system and test lot are performing within acceptable limits.

### REAGENTS

The IB10 sphingotest® penKid® contains all required reagents to evaluate the level of Proenkephalin including dye-conjugated monoclonal anti-Proenkephalin antibody, biotin-conjugated monoclonal anti-Proenkephalin antibodies and streptavidin immobilized at the detection area on the disc.

### MATERIALS PROVIDED

Each box contains the following:

- 10 IB10 sphingotest® penKid® discs, each individually sealed in a foil pouch with a desiccant.
- Instructions for Use (IFU).

## MATERIALS/EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Nexus IB10 Analyzer - Model #BCA-IB10.
2. Commercially available Proenkephalin Controls for external Quality Control (QC). **Contact the Distributor in your area** for recommended external QC materials or related technical assistance.
3. Calibrated reusable fixed or variable volume pipette gun with high precision and accuracy capable of delivering 500 µL of whole blood or plasma.
4. Disposable pipette tips capable of accepting and delivering 500 µL of whole blood or plasma.

## PRECAUTIONS AND WARNINGS

- For *in vitro* diagnostic use only.
- Carefully follow the Instructions for Use.
- Prior to testing controls or patient samples, ensure that the Analyzer software is updated to the latest version. (Refer to the Nexus IB10 manual for specific instructions).
- Wear disposable gloves while handling samples.
- Handle samples with care. Samples and used test discs should be treated as potentially infectious and should be discarded as biohazardous material according to local regulations.
- Thoroughly wash hands following handling.
- The result obtained from the IB10 sphingotest® penKid® does not provide a definitive diagnosis and should be interpreted by a physician in conjunction with other laboratory test results and according to current medical guidelines and patient clinical findings.
- Keep the test disc in the sealed pouch until ready for use.
- Do not use the test disc if the pouch is damaged or the seal is broken.
- Do not use the test disc after the expiration date printed on the pouch.
- Prior to use, place the unopened pouch at room temperature (19 to 25 °C/66 to 77 °F) for at least 15 minutes.
- Always pay attention to cleanliness when handling the test disc. Avoid any contamination from fingerprints or foreign substances. Do not contaminate the sample channel inlet.
- Do not drop or damage the test disc.
- The test disc should be inserted with the label side up, into the Nexus IB10 Analyzer tray immediately after injecting the sample into the disc.
- Do not turn the disc upside down.
- This is a quantitative test; therefore no visual interpretation of the results should be made.

## STORAGE AND STABILITY

- Store the IB10 sphingotest® penKid® disc between 2 and 8 °C (35 and 46 °F) until the expiration date printed on the pouch is reached.
- The IB10 sphingotest® penKid® in its sealed pouch is stable between 18 and 30 °C (64 and 86 °F) for 30 days, provided the expiration date printed on the pouch is not exceeded.

## SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

- The IB10 sphingotest® penKid® is to be run using EDTA whole blood or plasma samples.
- It is recommended that samples be tested as soon as possible after collection.
- Plasma samples should be kept frozen at -20 °C (-4 °F) or lower if longer storage is required.
- Allow samples to equilibrate to room temperature (19 to 25 °C/66 to 77 °F) prior to testing.

## PROCEDURE

### Nexus IB10 Analyzer

 **Consult the Nexus IB10 Analyzer User Manual**

For Analyzer installation, start up and complete instructions for use, refer to the **Nexus IB10 User Manual**. Operator must consult the User Manual prior to use to become familiar with the proper operation and quality control procedures.

## PERFORMING SYSTEM CHECK AND DISC CALIBRATION

Each time the Nexus IB10 Analyzer is turned on, a Self Check is automatically performed. The QR code on each test disc contains information for disc calibration which the Analyzer automatically reads when running a test.

## RUNNING QC WITH EXTERNAL CONTROLS

The manufacturer recommends the use of commercially available Proenkephalin Controls (please refer to section **Materials/Equipment Required But Not Provided**). Ensure that the Proenkephalin controls are handled and prepared according to the corresponding Instructions for Use (IFU).

1. Remove an unopened test pouch from refrigeration and place it at room temperature (19 to 25 °C/66 to 77 °F) for at least 15 minutes prior to testing.
2. Open the pouch and remove the test disc.
3. Place the test disc on a level surface.
4. On the Nexus IB10 Analyzer press **New Analysis**.
5. The Analyzer will perform a general system check.
6. Enter the external control ID manually (up to 20 characters can be used for the ID) or enter the external control ID by using the barcode scanner.
7. Mix the external quality control vial by gently inverting the vial several times before sampling.
8. **Testing External Control Samples on the IB10 sphingotest® penKid®**
  - Using a precision pipette (fixed or adjusted to 500 µL), slowly draw well-mixed external quality control sample into the pipette tip.
  - Positioning the tapered pipette tip at a 45° angle, pierce the **X** on the red dot to expose the sample channel inlet.
  - Slowly express the external control sample into the inlet applying minimum, but continuous force, on the pipette plunger.
  - Express sample to the first stop on the pipette, at a rate that allows the fluid to fill the channel completely and eliminates any back pressure that could result in sample splatter or the introduction of air bubbles.
  - Press **QC** on the Nexus IB10 Analyzer display.
  - When the tray opens, insert the filled Test disc into the tray and press **Run**.
  - The tray will close and perform a disc validity check.
  - A screen appears for selecting quality control materials (please refer to the **Quality Control Settings** section of the **Nexus IB10 Analyzer User Manual** for how to update quality control material [external controls]).
  - Select the quality control material to be tested.
  - Press **OK** on the Nexus IB10 Analyzer display.
  - Within 20 minutes, the Nexus IB10 Analyzer will display the results on the screen.
  - Results will print automatically (if selected during Set Up) or press **Print**.
  - When the test is complete, analyze and compare the result with the Expected Value reported in the external control IFU for the external control level as measured using the IB10 sphingotest® penKid®.
  - Remove the test disc and discard in appropriate receptacle.
  - If the external control result is outside the expected range, refer to the Quality Control section below.

*Note: If the test run is cancelled before a test result is displayed, the test disc cannot be reused and should be disposed of appropriately.*

## TESTING PATIENT SAMPLES ON THE NEXUS IB10 ANALYZER

1. Remove an unopened Test pouch from refrigeration and place it at room temperature (19 to 25 °C/66 to 77 °F) for at least 15 minutes.
2. Open the pouch and remove the Test disc.
3. Place the Test disc on a level surface.
4. On the Nexus IB10 Analyzer press **New Analysis**.
5. The Analyzer will perform a general system check.
6. Enter the Patient ID manually (up to 20 characters can be used for the ID) or enter the Patient ID by using the barcode scanner.
7. Mix the whole blood patient sample tube by gently inverting the tube several times before testing.

## 8. Testing Patient Samples on the IB10 sphingotest® penKid®

- Using a precision pipette (fixed or adjusted to 500 µL), slowly draw well-mixed patient sample into the pipette tip.
- Positioning the tapered pipette tip at a 45° angle, pierce the **X** on the red dot to expose the sample channel inlet.
- Slowly express the patient sample into the inlet applying minimum, but continuous force, on the pipette plunger.
- Express sample to the first stop on the pipette, at a rate that allows the fluid to fill the channel completely and eliminates any back pressure that could result in sample splatter or the introduction of air bubbles.
- Press **OK** on the Nexus IB10 Analyzer display.
- When the tray opens, insert the filled Test disc into the tray and press **Run**.
- Within 20 minutes, the Nexus IB10 Analyzer will display the results on the screen.
- Results will print automatically (if selected during Set Up) or press **Print**.
- Remove the test disc and discard in appropriate receptacle.

*Note: If the test run is cancelled before a test result is displayed, the test disc cannot be reused and should be disposed of appropriately.*

## INTERPRETATION OF RESULTS

The range of Proenkephalin concentrations reported by the Nexus IB10 is 50 pmol/L to 500 pmol/L. Results below or above this range will be shown as “<50 pmol/L” or “>500 pmol/L”, respectively.

## Quality Control

### EXTERNAL CONTROLS

Good laboratory practice includes the use of external controls to ensure proper test performance. It is recommended that prior to using a new lot or shipment of IB10 sphingotest® penKid®, the performance of the lot should be confirmed by testing with external controls (see section **Materials/Equipment Required But Not Provided**) to ensure the test will deliver the correct result. The frequency of quality control testing should be determined according to individual laboratory standard quality control procedures. Upon confirmation of the expected results, the test discs are ready for use with patient samples. Controls should also be used any time the validity of test results is questionable. If external controls do not perform as expected, do not use the IB10 sphingotest® penKid® and contact the Distributor in your area for Technical Assistance.

### INTERNAL CONTROL

The IB10 sphingotest® penKid® has a built in positive procedural control. The Nexus IB10 Analyzer automatically determines the presence of this control thereby confirming that the test run has delivered a valid result. If the control does not form or if it is not recognized by the Analyzer, the test result is considered “invalid” and the test must be repeated.

### LIMITATIONS

The test result should be evaluated and interpreted in conjunction with the patient’s medical history, symptoms and other clinical information.

As with any assay employing mouse antibodies, the possibility exists for interference by heterophilic antibodies in the sample.<sup>19,20</sup> Specimens from individuals who have been regularly exposed to animals or who have been treated with animal products may contain these antibodies.

Other substances and/or factors not listed, e.g. technical or procedural error, may interfere with the test and cause inaccurate results.

*Nexus Dx, Inc. offers products for their intended use. Refer to the specific product literature for the intended use statements for each product. Product claims are subject to change. Nexus Dx, Inc.’s expressed and implied warranties (inclusive of implied warranties of merchantability and fitness) are conditional upon adherence to, or observance of Nexus Dx, Inc. published directions with regard to the use of Nexus Dx, Inc. products. Under no circumstances will Nexus Dx, Inc. be liable for any indirect or consequential damages.*

For Technical Assistance please contact your local Distributor.

## Performance Characteristics

### MEASURING RANGE

The IB10 sphingotest® penKid® has been demonstrated to provide measurable results at Proenkephalin levels from 50 pmol/L to 500 pmol/L.

### ANALYTICAL SENSITIVITY

The LoD (Limit of Detection) of the IB10 sphingotest® penKid® is 50.0 pmol/L, determined according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Approved Guideline EP17-A2.<sup>21</sup> The proportion of false positives ( $\alpha$ ) and false negatives ( $\beta$ ) is less than 5% (limit of blank = 21.5 pmol/L).

LoQ (Limit of Quantitation) is the lowest Proenkephalin concentration that can be reproducibly measured with a total coefficient of variation of at most 20%. It was determined to be 50.0 pmol/L.

## INTERFERING SUBSTANCES

The following substances were tested for potential interference with Proenkephalin measurement in the IB10 sphingotest® penKid® based on CLSI Approved Guideline EP7-A2 and EP37 (Table 1).<sup>22-23</sup> No significant interference was observed at the maximum concentration for substances listed in the table below.

Table 1.

Potential Interferents	Maximum Concentration
Bilirubin (Conjugated)	40 mg/dL
Bilirubin (Free)	60 mg/dL
Biotin	600 mg/mL
Cholesterol	400 mg/dL
Citrate	16.3 mmol/L
Creatinine	15 mg/dL
Glucose	250 mg/dL
Hemoglobin	5 mg/dL
Unfractionated Heparin	300 U/dL
Fractionated Heparin	3000 U/L
Human anti-mouse antibody (HAMA)	645 ng/mL
Rheumatoid factor (RF)	1500 IU/mL
Total Protein	3000 mg/dL
Triglycerides	1500 mg/dL
Urea	120 mg/dL

## HOOK EFFECT

No high dose hook effect is observed for Proenkephalin concentrations up to 250,000 pmol/L.

## PRECISION

The precision of Proenkephalin measurement of the IB10 sphingotest® penKid® was determined using samples where Proenkephalin was added to normal human plasma at three concentrations (Table 2). The within-run and total precision was performed in two runs per day, in replicates of 4 per run at each concentration level for a 20 day period for a total number of repetitions of 160 at each concentration level. The within-run and total precision were computed according to the CLSI Approved Guideline EP05-A3.<sup>24</sup>

Table 2.

Sample	Test lot	Mean (pmol/l)	Within-run Precision		Total Precision	
			Std. dev. (pmol/L)	CV (%)	Std. dev. (pmol/L)	CV (%)
1	A	82.9	8.4	10.1%	9.4	11.4%
	B	80.1	8.0	10.0%	8.5	10.6%
2	A	203.0	19.0	9.4%	20.7	10.2%
	B	204.5	24.5	12.0%	25.0	12.2%

## WHOLE BLOOD Vs. PLASMA CORRELATION

A comparison study was performed using matching EDTA whole blood and EDTA plasma samples. When performing a Passing-Bablok regression analysis comparing the whole blood concentrations versus the corresponding plasma concentrations from the same subject samples (N=30), a slope of 1.06 (95% C.I. = [0.83-1.17]), an intercept of -9.3 pmol/L, and a correlation coefficient of  $r = 0.96$  were obtained.

## METHOD COMPARISON

An equivalence study was performed between the IB10 sphingotest® penKid® using the Nexus IB10 Analyzer, and the sphingotest® penKid® immuoluminometric (ILMA) assay. A total of 197 samples were tested within a concentration range of Proenkephalin of 50.0 pmol/L to 497.9 pmol/L. The Passing-Bablok regression was:

**IB10 sphingotest® penKid® = 0.93 x (sphingotest® penKid® ILMA) – 0.3 pmol/L**

**Correlation coefficient,  $r = 0.92$**

## REFERENCES

1. Ernst A, Köhrle J, Bergmann A. Proenkephalin A 119-159, a stable proenkephalin A precursor fragment identified in human circulation. *Peptides*. 2006;27: 1835-40.
2. Donato LJ, Meeusen JW, Lieske JC, Bergmann D, Sparwasser A, Jaffe AS. Analytical performance of an immunoassay to measure proenkephalin. *Clin Biochem*. 2018;58: 72-77.
3. Beunders R, Struck J, Wu AH, Zarbock A, Di Somma S, Mehta RL, Koyner JL, Nadim MK, Maisel AS, Murray PT, Neath SX, Jaffe AS, Pickkers P. Proenkephalin (PENK) as a novel biomarker for kidney function. *J Appl Lab Med*. 2017; DOI: 10.1373/jalm.2017.023598 400-12.
4. Matsue Y, Ter Maaten JM, Struck J, Metra M, O'Connor CM, Ponikowski P, Teerlink JR, Cotter G, Davison B, Cleland JG, Givertz MM, Bloomfield DM, Dittrich HC, van Veldhuisen DJ, van der Meer P, Damman K, Voors AA. Clinical correlates and prognostic value of proenkephalin in acute and chronic heart failure. *J Card Fail*. 2017;23: 231-39.
5. Kieneker LM, Hartmann O, Struck J, Bergmann A, Gansevoort RT, Joosten MM, van den Berg E, de Boer RA, Bakker SJL. Plasma proenkephalin and poor long-term outcome in renal transplant recipients. *Transplant Direct*. 2017;3: e190.
6. Leitje G, Beunders R, van Groenendal R, Peters E, Kox M, Pickkers P. Proenkephalin, the new marker for kidney function on the Intensive care unit? *Intensive Care Med Exp*. 2017;5 (Suppl 2): 51-52.
7. Beunders R, Meekes M, Struck J, Pickkers P. Proenkephalin, a novel biomarker for kidney function, is earlier in detecting acute kidney injury compared to creatinine. *Intensive Care Med Exp*. 2019;7 (Suppl 3): 000960.
8. Marino R, Struck J, Hartmann O, Maisel AS, Rehfeldt M, Magrini L, Melander O, Bergmann A, Di Somma S. Diagnostic and short-term prognostic utility of plasma pro-enkephalin (pro-ENK) for acute kidney injury in patients admitted with sepsis in the emergency department. *J Nephrol*. 2015;28: 717-24.
9. Hollinger A, Wittebole X, Francois B, Pickkers P, Antonelli M, Gayat E, Chousterman BG, Lascarrou JB, Dugernier T, Di Somma S, Struck J, Bergmann A, Beishuizen A, Constatin JM, Damoiseil C, Deye N, Gaudry S, Huberlant V, Marx G, Mercier E, Oueslati H, Hartmann O, Sonnevile R, Laterre PF, Mebazaa A, Legrand M. Proenkephalin A 119-159 (Penkid) is an early biomarker of septic acute kidney injury: The Kidney in Sepsis and Septic Shock (Kid-SSS) study. *Kidney Int Rep*. 2018;3: 1424-33.
10. Gayat E, Cariou A, Deye N, Vieillard-Baron A, Jaber S, Damoiseil C, Lu Q, Monnet X, Rennuit I, Azoulay E, Leone M, Oueslati H, Guidet B, Friedman D, Tesniere A, Sonnevile R, Montravers P, Pili-Floury S, Lefrant JY, Duranteau J, Laterre PF, Brechot N, Chevrel K, Michel M, Cholley B, Legrand M, Launay JM, Vicaut E, Singer M, Resche-Rigon M, Mebazaa A. Determinants of long-term outcome in ICU survivors: results from the FROG-ICU study. *Crit Care*. 2018;22: 8.
11. Ng LL, Sandhu JK, Narayan H, Quinn PA, Squire IB, Davies JE, Bergmann A, Maisel A, Jones DJ. Proenkephalin and prognosis after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63: 280-9.
12. Shah KS, Taub P, Patel M, Rehfeldt M, Struck J, Clopton P, Mehta RL, Maisel AS. Proenkephalin predicts acute kidney injury in cardiac surgery patients. *Clin Nephrol*. 2015;83: 29-35.
13. Ng LL, Squire IB, Jones DJL, Cao TH, Chan DCS, Sandhu JK, Quinn PA, Davies JE, Struck J, Hartmann O, Bergmann A, Mebazaa A, Gayat E, Arrigo M, Akiyama E, Sabti Z, Lohrmann J, Twerenbold R, Herrmann T, Schumacher C, Kozhuharov N, Mueller C, and Great Network. Proenkephalin, renal dysfunction, and prognosis in patients with acute heart failure: A GREAT Network study. *J Am Coll Cardiol*. 2017;69: 56-69.
14. Breidthardt T, Jaeger C, Christ A, Klima T, Mosimann T, Twerenbold R, Boeddinghaus J, Nestelberger T, Badertscher P, Struck J, Bergmann A, Hartmann O, Kalbermatter S, Marenzi G, Mueller C. Proenkephalin for the early detection of acute kidney injury in hospitalized patients

with chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest*. 2018: e12999.














15. Emmens JE, Ter Maaten JM, Damman K, van Veldhuisen DJ, de Boer RA, Struck J, Bergmann A, Sama IE, Streng KW, Anker SD, Dickstein K, Lang CC, Metra M, Samani NJ, Ng LL, Voors AA. Proenkephalin, an opioid system surrogate, as a novel comprehensive renal marker in heart failure. *Circ Heart Fail*. 2019;12: e005544.
16. Holaday, JW. Cardiovascular effects of endogenous opiate systems. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1983;23: 541-94.
17. Sezen, SF, Kenigs VA, Kapusta DR. Renal excretory responses produced by the delta opioid agonist, BW373U86, in conscious rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998;287: 238-45.
18. Denning, GM, Ackermann LW, Barna TJ, Armstrong JG, Stoll LL, Weintraub NL, Dickson EW. Proenkephalin expression and enkephalin release are widely observed in non-neuronal tissues. *Peptides*. 2008;29: 83-92.
19. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45: 942-6.
20. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay Interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15: 108-15.
21. Pierson-Perry J, Vaks JE, Durham AP, et al. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP17-A2, Volume 32 Number 8, 2012.
22. McEnroe RJ, Burritt MF, Powers DM, et al. Interference testing in clinical chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2, Volume 25 Number 27, 2005.
23. McEnroe RJ, Dimeski G, Miller WG, et al. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI Document EP37, First Edition, 2018.
24. McEnroe RJ, Magari R, Durham PA, et al. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI Document EP05-A3, Volume 34 Number 13, 2014.



## IB10 sphingotest® penKid®

Für die quantitative Bestimmung von  
Proenkephalin in EDTA-Vollblut und Plasma

### Erklärung der Symbole

	CE-Konformitätskennzeichnung
	Hersteller
	Katalognummer
	Ablaufdatum/Verwenden bis
	Chargennummer
	Medizinprodukt zur <i>In-vitro</i> -Diagnostik
	Gebrauchsanweisung lesen
	Bei 2 °C bis 8 °C lagern
	Autorisierter Vertreter in Europa
	Enthält ausreichend Material für <n> Tests
	Nicht wiederverwenden
	Seriennummer
	Mit Beschriftung nach oben einlegen

# IB10 sphingotest® penKid®

## Für die *In-vitro*-Diagnostik

### VERWENDUNGSZWECK

Der IB10 sphingotest® penKid® ist ein schneller patientennahe (POC) Immunassay für die quantitative *In-vitro*-Bestimmung von Proenkephalin A 119-159 in humanem EDTA-Vollblut und Plasma. Dieser Test ist für den Gebrauch zusammen mit dem Nexus-IB10-Analysegerät vorgesehen und liefert innerhalb von 20 Minuten quantitative Ergebnisse.

Der IB10 sphingotest® penKid® ist ausschließlich für den professionellen Gebrauch vorgesehen und kann im Zentrallabor von Krankenhäusern und alternativen Pflegeeinrichtungen, wie Notaufnahmen, Intensivstationen und anderen-Einrichtungen verwendet werden, in denen patientennahe Tests durchgeführt werden.

### ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG DES TESTS

Der IB10 sphingotest® penKid® misst quantitativ den im Blutkreislauf zirkulierenden Gehalt an Proenkephalin A 119-159 (Proenkephalin). Proenkephalin ist ein stabiles mid-regionales Fragment des Proenkephalin A und hat sich als Surrogatmarker im Blut für die instabilen Enkephalin-Peptide etabliert, die vom gleichen Vorläufer stammen.<sup>1,2</sup> Die Blutkonzentration von Proenkephalin ist ein zuverlässiger Surrogatmarker für die tatsächliche glomeruläre Filtrationsrate (GFR) und ist hochdynamisch. Verschlechterungen und Verbesserungen der Nierenfunktion werden damit bis zu 2 Tage früher als mit Standardmethoden angezeigt.<sup>2-7</sup> Im Gegensatz zu den meisten anderen Nierenmarkern wird Proenkephalin durch Entzündungen und andere Komorbiditäten nicht beeinflusst, daher eignet es sich für die frühzeitige Überwachung des tatsächlichen Nierenstatus bei verschiedenen akuten Erkrankungen.<sup>3,8-10</sup> Es erwies sich bei verschiedenen Patientengruppen als anwendbar, darunter schwerkranke Patienten, bei Sepsis, Herzinsuffizienz, Herzchirurgie, akutem Myokardinfarkt, Nierentransplantationen und Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen.<sup>5,8-15</sup>

Die Messung des Proenkephalinspiegels mit IB10 sphingotest® penKid® kann Ärzten daher ermöglichen, eine Verschlechterung der Nierenfunktion in Echtzeit vorherzusagen und zu beurteilen, sowie die Risikostratifizierung und das Patientenmanagement in der Akutversorgung zu verbessern. Kliniker sollten die IB10 sphingotest® penKid® Ergebnisse in Verbindung mit den anderen Laborbefunden und klinischen Symptomen des Patienten verwenden, und die konkreten Patientenwerte im Kontext der klinischen Situation des Patienten interpretieren.

### PROENKEPHALIN

Enkephaline sind kurzlebige Pentapeptid-Hormone, die proteolytisch von Präproenkephalin A abgespalten und zusammen mit stabilen Prohormonfragmenten freigesetzt werden, eines von ihnen ist das 4,5 kDa Proenkephalin A 119-159 (auch als Proenkephalin, pro-ENK und PENK bezeichnet).<sup>1</sup> Die reifen Enkephaline sind endogene Liganden der Opioidrezeptoren und Teil verschiedener physiologischer Prozesse wie Schmerzsignalisierung, Stressreaktionen, Entzündungen sowie der kardiovaskulären Regulation mit natriuretischen und diuretischen Wirkungen in den Nieren.<sup>3,16,17</sup> Enkephaline und ihre Rezeptoren werden im zentralen Nervensystem und in den peripheren Organen exprimiert und treten sehr häufig in den Nieren auf, was direkte stimulierende Auswirkungen auf die Nieren impliziert.<sup>3,18</sup> Proenkephalin interagiert nicht mit Plasmaproteinen und wird frei durch den Glomerulus filtriert, sodass sich die Blutwerte als funktioneller Biomarker für GFR erwiesen haben.<sup>3</sup>

### PRINZIP

Das Nexus IB10 Immunhistochemie-System kombiniert Chemie mit Mikrofluidik und Zentrifugalfluss, um schnell ein zellfreies Plasma aus Vollblut herzustellen, das dann durch einen Kanal geleitet werden kann, zum Rehydrieren, Lösen und Mischen mit gefriergetrockneten Immunkonjugaten. Mit einer Kombination aus aktivem Fluss und Kapillarfunktion wird die Testprobe innerhalb von 20 Minuten mit einem optischen Signalwert, der proportional zur Analytkonzentration ist, quantitativ gemessen.

Nach der Zugabe der Patientenprobe wird der gesamte Test im Nexus-IB10-Analysegerät durchgeführt, das die Temperatur der Disk sowie Reaktionssequenz, Zentrifugalströmung, Mischung, Inkubationszeit, abschließende Signalmessung, Quantifizierung und Meldung der Ergebnisse kontrolliert. Die Testdisk verfügt außerdem über eine interne Positivkontrolle, die sicherstellt, dass der Test vom Gerät ordnungsgemäß durchgeführt wurde. Jede Charge ist kalibriert, um eine genaue Analytkonzentration bereitzustellen. Jede Disk trägt ein Etikett mit QR-Code, der die chargenspezifische Kalibrierung und weitere Informationen wie das Verfallsdatum der Charge enthält. Es ist empfehlenswert, externe Qualitätskontrollen in bestimmten Abständen zu überprüfen, um sicherzustellen, dass das System und die Testcharge innerhalb der Toleranzwerte arbeiten.

### REAGENZIEN

Der IB10 sphingotest® penKid® enthält alle erforderlichen Reagenzien zur Bestimmung des Proenkephalin-Spiegels, einschließlich farbstoffkonjugierter monoklonaler Anti-Proenkephalin-Antikörper, biotinkonjugierter monoklonaler Anti-Proenkephalin-Antikörper und Streptavidin, das im Detektionsbereich auf der Disk immobilisiert ist.

## PACKUNGSIHALT

Jede Packung enthält:

- 10 IB10 sphingotest® penKid® Disks, jeweils einzeln versiegelt in einem Folienbeutel mit Trockenmittel.
- Gebrauchsanweisung.

## ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN/AUSRÜSTUNG

1. Nexus-IB10-Analysegerät – Modell #BCA-IB10.
2. Handelsübliche Proenkephalin-Kontrollen für externe Qualitätskontrollen (QK). **Wenden Sie sich an den Vertriebspartner in Ihrer Nähe**, um empfohlene externe QK-Materialien oder entsprechende technische Unterstützung zu erhalten.
3. Kalibrierte, wiederverwendbare Pipettierhilfen mit festem oder variablem Volumen, die äußerst präzise und genau 500 µl Vollblut oder Plasma abgeben können.
4. Einweg-Pipettenspitzen, die 500 µl Vollblut oder Plasma aufnehmen und abgeben können.

## VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

- Nur für die *In-vitro*-Diagnostik verwenden.
- Die Gebrauchsanleitung sorgfältig befolgen.
- Vor dem Testen von Kontrollen oder Patientenproben gewährleisten, dass die Software des Analysegeräts auf die neueste Version aktualisiert ist. (Spezifische Anweisungen sind im Handbuch des Nexus IB10 zu finden).
- Tragen Sie bei der Handhabung von Proben Einweghandschuhe.
- Proben vorsichtig handhaben. Proben und gebrauchte Testdisks sollten als potenziell infektiös behandelt und gemäß den örtlichen Vorschriften als biogefährliches Material entsorgt werden.
- Nach der Handhabung die Hände gründlich waschen.
- Das Ergebnis des IB10 sphingotest® penKid® stellt keine endgültige Diagnose dar und sollte von einem Arzt in Verbindung mit anderen Laboruntersuchungsergebnissen und nach den aktuellen medizinischen Richtlinien und klinischen Befunden der Patienten interpretiert werden.
- Bewahren Sie die Testdisk bis zum Gebrauch im versiegelten Beutel auf.
- Die Testdisk nicht verwenden, wenn der Beutel beschädigt oder das Siegel aufgebrochen ist.
- Die Testdisk nach Ablauf des auf dem Beutel aufgedruckten Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwenden.
- Vor der Verwendung den ungeöffneten Beutel mindestens 15 Minuten bei Raumtemperatur (19 bis 25 °C/66 bis 77 °F) lagern.
- Beim Umgang mit dem Testdisk immer auf Sauberkeit achten. Kontamination durch Fingerabdrücke oder Fremdkörper vermeiden. Den Probenkanaleingang nicht kontaminieren.
- Testdisk nicht fallen lassen oder beschädigen.
- Die Testdisk unmittelbar nach Injektion der Probe in die Disk mit der Etikettenseite nach oben in den Einschub des Nexus-IB10-Analysegeräts einlegen.
- Die Disk nicht umdrehen.
- Dies ist ein quantitativer Test; aus diesem Grund sollte keine visuelle Interpretation der Ergebnisse durchgeführt werden.

## LAGERUNG UND STABILITÄT

- Lagern Sie die IB10 sphingotest® penKid®-Disks bis zum Erreichen des auf dem Beutel aufgedruckten Verfallsdatums bei Temperaturen zwischen 2 und 8 °C (35 und 46 °F).
- Der IB10 sphingotest® penKid® ist in seinem versiegelten Beutel bei Temperaturen zwischen 18 und 30 °C (64 und 86 °F) 30 Tage lang stabil, sofern das auf dem Beutel aufgedruckte Verfallsdatum nicht überschritten wird.

## PROBENTNAHME UND VORBEREITUNG

- Der IB10 sphingotest® penKid® wird mit EDTA-Vollblut- oder Plasmaproben durchgeführt.
- Es wird empfohlen, die Proben so bald wie möglich nach der Entnahme zu testen.
- Plasmaproben sollten gefroren bei -20 °C (-4 °F) oder bei längerer Lagerung bei niedrigeren Temperaturen gelagert werden.
- Die Proben vor dem Testen Raumtemperatur (19 bis 25 °C/66 bis 77 °F) erreichen lassen.

## VERFAHREN

### Nexus-IB10-Analysegerät



#### Das Benutzerhandbuch des Nexus-IB10-Analysegeräts lesen.

Die Installation des Analysegeräts, die Inbetriebnahme und die vollständige Gebrauchsanweisung finden Sie im **Benutzerhandbuch des Nexus IB10**. Anwender müssen vor der Verwendung das Benutzerhandbuch lesen, um sich mit den ordnungsgemäßen Betriebs- und Qualitätskontrollverfahren vertraut zu machen.

### DURCHFÜHRUNG VON SYSTEMPRÜFUNG UND DISKKALIBRIERUNG

Bei jedem Einschalten des Nexus-IB10-Analysegeräts wird automatisch ein Selbsttest durchgeführt. Der QR-Code auf jeder Testdisk enthält Informationen zur Diskkalibrierung, die das Analysegerät bei der Durchführung eines Tests automatisch abliest.

### AUSFÜHREN DER QK MIT EXTERNEN KONTROLLEN

Der Hersteller empfiehlt die Verwendung von handelsüblichen Proenkephalin-Kontrollen (siehe Abschnitt **Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien/Ausrüstung**). Stellen Sie sicher, dass die Proenkephalin-Kontrollen gemäß der entsprechenden Gebrauchsanweisung (IFU) gehandhabt und vorbereitet werden.

1. Einen ungeöffneten Testbeutel aus dem Kühlgerät nehmen und für mindestens 15 Minuten bei Raumtemperatur (19 bis 25 °C/66 bis 77 °F) liegen lassen.
2. Den Beutel öffnen und die Testdisk entnehmen.
3. Die Testdisk auf eine ebene Oberfläche legen.
4. Drücken Sie auf dem Nexus-IB10-Analysegerät auf **New Analysis** (Neue Analyse).
5. Das Analysegerät führt eine allgemeine Systemprüfung durch.
6. Geben Sie die externe Kontroll-ID manuell ein (für die ID können bis zu 20 Zeichen verwendet werden) oder lesen Sie die externe Kontroll-ID mit dem Barcodescanner ein.
7. Mischen Sie das externe Qualitätskontrollgefäß, indem Sie es vor der Probenahme mehrmals vorsichtig umdrehen.
8. **Testen von externen Kontrollproben im IB10 sphingotest® penKid®**
  - Mit einer Präzisionspipette (fest oder auf 500 µl eingestellt) langsam die gut gemischte externe Qualitätskontrollprobe in die Pipettenspitze aufziehen.
  - Positionieren Sie die konische Pipettenspitze in einem Winkel von 45° und durchbohren Sie das **X** auf dem roten Punkt, um den Probenkanaleinlass freizulegen.
  - Die externe Kontrollprobe langsam in den Eingang pipettieren und dabei minimale, aber gleichmäßige Kraft auf den Pipettenkolben ausüben.
  - Geben Sie die Probe bis zum ersten Anschlag auf der Pipette mit einer Geschwindigkeit ab, die es der Flüssigkeit erlaubt, den Kanal vollständig zu füllen und gleichzeitig jeden Gegendruck eliminiert, der zu Verspritzen der Probe oder dem Eindringen von Luftblasen führen könnte.
  - Drücken Sie **QC** (QK) auf der Anzeige des Nexus-IB10-Analysegeräts.
  - Wenn sich die Schublade öffnet, die gefüllte Testdisk in den Einschub legen und auf **Run** (Ausführen) drücken.
  - Der Einschub wird geschlossen und es erfolgt eine Überprüfung der Gültigkeit der Disk.
  - Es erscheint ein Bildschirm zur Auswahl von **Materialien für die Qualitätskontrolle** (siehe Abschnitt Einstellungen für die Qualitätskontrolle im **Nexus-IB10-Analysegerät Benutzerhandbuch**, wie Material für die Qualitätskontrolle [externe Kontrollen] aktualisiert wird).
  - Das Qualitätskontrollmaterial auswählen, das getestet werden soll.
  - Auf der Anzeige des Nexus-IB10-Analysegeräts auf **OK** drücken.
  - Innerhalb von 20 Minuten zeigt das Nexus-IB10-Analysegerät die Ergebnisse auf dem Bildschirm an.
  - Ergebnisse werden automatisch ausgedruckt (wenn dies bei der Einrichtung so ausgewählt wurde) oder wenn Sie **Print** (Drucken) betätigen.
  - Wenn der Test abgeschlossen ist, analysieren und vergleichen Sie das Ergebnis mit dem erwarteten Ergebniswert, der in der Bedienungsanleitung für Externe Kontrollen als externer, mit dem IB10 sphingotest® penKid® gemessener Kontrollwert angegeben wird.

- Die Testdisk herausnehmen und in einem geeigneten Behälter entsorgen.
- Wenn das externe Kontrollergebnis außerhalb des erwarteten Bereichs liegt, lesen Sie bitte unten den Abschnitt Qualitätskontrolle.  
*Hinweis: Wird der Testlauf abgebrochen, bevor ein Testergebnis angezeigt wird, kann die Testdisk nicht wiederverwendet werden und sollte auf geeignete Weise entsorgt werden.*

## TESTEN VON PATIENTENPROBEN MIT DEM NEXUS-IB10-ANALYSEGERÄT

1. Einen ungeöffneten Testbeutel aus dem Kühlgerät nehmen und für mindestens 15 Minuten bei Raumtemperatur (19 bis 25 °C/66 bis 77 °F) liegen lassen.
2. Den Beutel öffnen und die Testdisk entnehmen.
3. Die Testdisk auf eine ebene Oberfläche legen.
4. Drücken Sie auf dem Nexus-IB10-Analysegerät auf **New Analysis** (Neue Analyse).
5. Das Analysegerät führt eine allgemeine Systemprüfung durch.
6. Geben Sie die Patienten-ID manuell ein (für die ID können bis zu 20 Zeichen verwendet werden) oder lesen Sie die Patienten-ID mit dem Barcodescanner ein.
7. Mischen Sie das Vollblut-Patienten-Probengefäß, indem Sie das Gefäß vor dem Test mehrmals vorsichtig umdrehen.

### 8. Testen von Patientenproben mit dem IB10 sphingotest® penKid®

- Mit einer Präzisionspipette (fest oder auf 500 µl eingestellt) die gut gemischte Patientenprobe langsam in die Pipettenspitze aufziehen.
- Positionieren Sie die konische Pipettenspitze in einem Winkel von 45° und durchbohren Sie das **X** auf dem roten Punkt, um den Probenkanaleinlass freizulegen.
- Die Patientenprobe langsam in den Eingang pipettieren und dabei minimale, aber gleichmäßige Kraft auf den Pipettenkolben ausüben.
- Geben Sie die Probe bis zum ersten Anschlag auf der Pipette mit einer Geschwindigkeit ab, die es der Flüssigkeit erlaubt, den Kanal vollständig zu füllen und gleichzeitig jeden Gegendruck eliminiert, der zu Verspritzen der Probe oder dem Eindringen von Luftblasen führen könnte.
- Auf der Anzeige des Nexus-IB10-Analysegeräts auf **OK** drücken.
- Wenn sich die Schublade öffnet, die gefüllte Testdisk in den Einschub legen und auf **Run** (Ausführen) drücken.
- Innerhalb von 20 Minuten zeigt das Nexus-IB10-Analysegerät die Ergebnisse auf dem Bildschirm an.
- Ergebnisse werden automatisch ausgedruckt (wenn dies bei der Einrichtung so ausgewählt wurde) oder wenn Sie **Print** (Drucken) betätigen.
- Die Testdisk herausnehmen und in einem geeigneten Behälter entsorgen.

*Hinweis: Wird der Testlauf abgebrochen, bevor ein Testergebnis angezeigt wird, kann die Testdisk nicht wiederverwendet werden und sollte auf geeignete Weise entsorgt werden.*

## INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Der Bereich der vom Nexus IB10 gemeldeten Proenkephalin-Konzentrationen liegt zwischen 50 pmol/l und 500 pmol/l. Ergebnisse unterhalb oder oberhalb dieses Bereichs werden als „<50 pmol/l“ bzw. „>500 pmol/l“ angezeigt.

## Qualitätskontrolle

### EXTERNE KONTROLLEN

Zur Guten Laborpraxis gehört die Verwendung von externen Kontrollen, um die korrekte Leistung der Tests zu gewährleisten. Es wird empfohlen, vor der Verwendung einer neuen Charge oder Lieferung von IB10 sphingotest® penKid® die Leistung der Charge durch Tests mit externen Kontrollen zu bestätigen (siehe Abschnitt **Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien/Ausrüstung**), um sicherzustellen, dass der Test das richtige Ergebnis liefert. Die Häufigkeit der Qualitätskontrolltests sollte gemäß den üblichen Qualitätskontrollverfahren des jeweiligen Labors bestimmt werden. Nach Bestätigung der erwarteten Ergebnisse können die Testdisks mit Patientenproben verwendet werden. Kontrollen sollten auch immer dann durchgeführt werden, wenn die Testergebnisse fragwürdig sind. Wenn externe Kontrollen nicht die erwartete Leistung erbringen, verwenden Sie den IB10 sphingotest® penKid® nicht und wenden Sie sich an den Vertriebspartner in Ihrer Nähe, um technische Unterstützung zu erhalten.

## INTERNE KONTROLLE

Der IB10 sphingotest® penKid® verfügt über eine integrierte positive Verfahrenskontrolle. Das Nexus-IB10-Analysegerät bestimmt automatisch das Vorhandensein dieser Kontrolle und bestätigt damit, dass der Testlauf ein gültiges Ergebnis geliefert hat. Wenn die Kontrolle kein Ergebnis liefert oder wenn sie vom Analysegerät nicht erkannt wird, wird das Testergebnis als „ungültig“ angesehen und der Test muss wiederholt werden.

## BESCHRÄNKUNGEN

Das Testergebnis sollte in Verbindung mit der Krankengeschichte des Patienten, den Symptomen und anderen klinischen Informationen ausgewertet und interpretiert werden.

Wie bei jedem Assay, der Maus-Antikörper verwendet, besteht die Möglichkeit einer Interferenz durch heterophile Antikörper in der Probe.<sup>19,20</sup> Proben von Personen, die regelmäßig mit Tieren in Berührung kommen oder mit Tierprodukten behandelt wurden, können diese Antikörper enthalten.

Andere nicht aufgeführte Substanzen und/oder Faktoren, z. B. technische oder verfahrensbedingte Fehler, können den Test stören und zu ungenauen Ergebnissen führen.

*Nexus Dx, Inc. bietet Produkte für den vorgesehenen Verwendungszweck an. Den in der zugehörigen Produktliteratur aufgeführten Verwendungszweck für jedes Produkt beachten. Änderungen der Produktversprechen vorbehalten. Die ausdrücklichen und stillschweigenden Garantien von Nexus Dx, Inc. (einschließlich der stillschweigenden Garantien der Marktgängigkeit und Eignung) sind abhängig von der Einhaltung bzw. Befolgung der von Nexus Dx, Inc. veröffentlichten Anweisungen in Bezug auf die Verwendung von Produkten von Nexus Dx, Inc. Unter keinen Umständen haftet Nexus Dx, Inc. für indirekte oder Folgeschäden.*

Zur technischen Unterstützung wenden Sie sich bitte an Ihren lokalen Händler.

## Leistungsmerkmale

### MESSBEREICH

Der IB10 sphingotest® penKid® liefert nachweislich messbare Ergebnisse bei Proenkephalin-Werten von 50 pmol/l bis 500 pmol/l.

### ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Die LoD (Limit of Detection, Nachweisgrenze) des IB10 sphingotest® penKid® beträgt 50,0 pmol/l, bestimmt nach der vom Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) genehmigten Richtlinie EP17-A2.<sup>21</sup> Der Anteil von falsch-positiven ( $\alpha$ ) und falsch-negativen ( $\beta$ ) Ergebnissen liegt unter 5 % (Limit of Blank, Leerwert-Obergrenze = 21,5 pmol/l).

Die LoQ (Limit of Quantitation, Bestimmungsgrenze), ist die niedrigste Proenkephalin-Konzentration, die reproduzierbar gemessen werden kann, mit einem Gesamtvariationskoeffizienten von höchstens 20 %. Sie liegt bei 50,0 pmol/l.

### STÖRENDE SUBSTANZEN

Die folgenden Substanzen wurden auf mögliche Interferenzen mit der Proenkephalin-Messung im IB10 sphingotest® penKid® basierend auf den CLSI-zugelassenen Richtlinien EP7-A2 und EP37 (Tabelle 1) getestet.<sup>22-23</sup> Bei der maximalen Konzentration für die in der folgenden Tabelle aufgeführten Stoffe wurden keine signifikanten Störungen beobachtet.

Tabelle 1.

Potenzielle Störsubstanzen	Maximale Konzentration
Bilirubin (konjugiert)	40 mg/dl
Bilirubin (frei)	60 mg/dl
Biotin	600 ng/ml
Cholesterin	400 mg/dl
Citrat	16,3 mmol/l
Kreatinin	15 mg/dl
Glucose	250 mg/dl
Hämoglobin	5 mg/ml
Unfraktioniertes Heparin	300 U/dl

Potenzielle Störsubstanzen	Maximale Konzentration
Fraktioniertes Heparin	3000 U/l
Humaner Anti-Maus-Antikörper (HAMA)	645 ng/ml
Rheumafaktor (RF)	1500 IU/ml
Gesamtprotein	3000 mg/dl
Triglyzeride	1500 mg/dl
Harnstoff	120 mg/dl

## HOOK-EFFEKT

Bei Proenkephalin-Konzentrationen bis 250.000 pmol/l ist kein High-Dose-Hook-Effekt zu beobachten.

## PRÄZISION

Die Präzision der Proenkephalin-Messung des IB10 sphingotest® penKid® wurde an Proben bestimmt, bei denen Proenkephalin in drei Konzentrationen in normales menschliches Plasma gegeben wurde (Tabelle 2). Die Messungen zur Bestimmung der Präzision innerhalb eines Durchlaufs und der Gesamtpräzision wurden in zwei Durchläufen pro Tag mit 4 Wiederholungen pro Durchlauf für jede Konzentration 20 Tage lang mit einer Gesamtwiederholungszahl von 160 für jede Konzentration durchgeführt. Die Präzision innerhalb eines Durchlaufs und die Gesamtpräzision wurden gemäß der genehmigten Richtlinie EP05-A3 des CLSI berechnet.<sup>24</sup>

Tabelle 2.

Probe	Test-charge	Mittelwert (pmol/l)	Präzision im Durchlauf		Gesamtpräzision	
			Std.-Abw. (pmol/l)	VK (%)	Std.-Abw. (pmol/l)	VK (%)
1	A	82,9	8,4	10,1 %	9,4	11,4 %
	B	80,1	8,0	10,0 %	8,5	10,6 %
2	A	203,0	19,0	9,4 %	20,7	10,2 %
	B	204,5	24,5	12,0 %	25,0	12,2 %

## VERGLEICH VON VOLLBLUT *gegenüber* PLASMA

Eine Vergleichsstudie wurde mit entsprechenden EDTA-Vollblut- und EDTA-Plasmaproben durchgeführt. Bei einer Passing-Bablok-Regressionsanalyse zum Vergleich zwischen Vollblutkonzentrationen und den entsprechenden Plasmakonzentrationen von den gleichen Probandenproben (N=30) ergab sich eine Steigung von 1,06 (95 % KI = [0,83–1,17]) sowie einen Achsen-Abschnitt von -9,3 pmol/l und einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,96$ .

## METHODENVERGLEICH

Eine Äquivalenzstudie wurde zwischen dem IB10 sphingotest® penKid® mit dem Nexus-IB10-Analysegerät und dem IB10 sphingotest® penKid® immunoluminometrischen (ILMA) Assay durchgeführt. Insgesamt 197 Proben mit Proenkephalin-Konzentrationen von 50,0 pmol/l bis 497,9 pmol/l wurden getestet. Die Passing-Bablok-Regressionsanalyse ergab:

**IB10 sphingotest® penKid® = 0,93 x (sphingotest® penKid® ILMA) – 0,3 pmol/l**  
**Korrelationskoeffizient, r = 0,92**

## REFERENZEN

- Ernst A, Köhrle J, Bergmann A. Proenkephalin A 119-159, a stable proenkephalin A precursor fragment identified in human circulation. *Peptides*. 2006;27: 1835-40.
- Donato LJ, Meeusen JW, Lieske JC, Bergmann D, Sparwasser A, Jaffe AS. Analytical performance of an immunoassay to measure proenkephalin. *Clin Biochem*. 2018;58: 72-77.
- Beunders, R, Struck J, Wu AH, Zarbock A, Di Somma S, Mehta RL, Koyner JL, Nadim MK, Maisel AS, Murray PT, Neath SX, Jaffe AS, Pickkers P. Proenkephalin (PENK) as a novel biomarker for kidney function. *J Appl Lab Med*. 2017; DOI: 10.1373/jalm.2017.023598 400-12.
- Matsue Y, Ter Maaten JM, Struck J, Metra M, O'Connor CM, Ponikowski P, Teerlink JR, Cotter G, Davison B, Cleland JG, Givertz MM, Bloomfield














- DM, Dittrich HC, van Veldhuisen DJ, van der Meer P, Damman K, Voors AA. Clinical correlates and prognostic value of proenkephalin in acute and chronic heart failure. *J Card Fail.* 2017;23: 231-39.
5. Kieneker LM, Hartmann O, Struck J, Bergmann A, Gansevoort RT, Joosten MM, van den Berg E, de Boer RA, Bakker SJL. Plasma proenkephalin and poor long-term outcome in renal transplant recipients. *Transplant Direct.* 2017;3: e190.
  6. Leijte G, Beunders R, van Groenendal R, Peters E, Kox M, Pickkers P. Proenkephalin, the new marker for kidney function on the Intensive care unit? *Intensive Care Med Exp.* 2017;5 (Suppl 2): 51-52.
  7. Beunders R, Meekes M, Struck J, Pickkers P. Proenkephalin, a novel biomarker for kidney function, is earlier in detecting acute kidney injury compared to creatinine. *Intensive Care Med Exp.* 2019;7 (Suppl 3): 000960.
  8. Marino R, Struck J, Hartmann O, Maisel AS, Rehfeldt M, Magrini L, Melander O, Bergmann A, Di Somma S. Diagnostic and short-term prognostic utility of plasma pro-enkephalin (pro-ENK) for acute kidney injury in patients admitted with sepsis in the emergency department. *J Nephrol.* 2015;28: 717-24.
  9. Hollinger A, Wittebole X, Francois B, Pickkers P, Antonelli M, Gayat E, Chousterman BG, Lascarrou JB, Dugernier T, Di Somma S, Struck J, Bergmann A, Beishuizen A, Constatin JM, Damoiseil C, Deye N, Gaudry S, Huberlant V, Marx G, Mercier E, Oueslati H, Hartmann O, Sonnevile R, Laterre PF, Mebazaa A, Legrand M. Proenkephalin A 119-159 (Penkid) is an early biomarker of septic acute kidney injury: The Kidney in Sepsis and Septic Shock (Kid-SSS) study. *Kidney Int Rep.* 2018;3: 1424-33.
  10. Gayat E, Cariou A, Deye N, Vieillard-Baron A, Jaber S, Damoiseil C, Lu Q, Monnet X, Rennuit I, Azoulay E, Leone M, Oueslati H, Guidet B, Friedman D, Tesniere A, Sonnevile R, Montravers P, Pili-Floury S, Lefrant JY, Duranteau J, Laterre PF, Brechot N, Chevreur K, Michel M, Cholley B, Legrand M, Launay JM, Vicaut E, Singer M, Resche-Rigon M, Mebazaa A. Determinants of long-term outcome in ICU survivors: results from the FROG-ICU study. *Crit Care.* 2018;22: 8.
  11. Ng LL, Sandhu JK, Narayan H, Quinn PA, Squire IB, Davies JE, Bergmann A, Maisel A, Jones DJ. Proenkephalin and prognosis after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63: 280-9.
  12. Shah KS, Taub P, Patel M, Rehfeldt M, Struck J, Clopton P, Mehta RL, Maisel AS. Proenkephalin predicts acute kidney injury in cardiac surgery patients. *Clin Nephrol.* 2015;83: 29-35.
  13. Ng LL, Squire IB, Jones DJL, Cao TH, Chan DCS, Sandhu JK, Quinn PA, Davies JE, Struck J, Hartmann O, Bergmann A, Mebazaa A, Gayat E, Arrigo M, Akiyama E, Sabti Z, Lohrmann J, Twerenbold R, Herrmann T, Schumacher C, Kozhuharov N, Mueller C, and Great Network. Proenkephalin, renal dysfunction, and prognosis in patients with acute heart failure: A GREAT Network study. *J Am Coll Cardiol.* 2017;69: 56-69.
  14. Breidhardt T, Jaeger C, Christ A, Klima T, Mosimann T, Twerenbold R, Boeddinghaus J, Nestelberger T, Badertscher P, Struck J, Bergmann A, Hartmann O, Kalbermatter S, Marenzi G, Mueller C. Proenkephalin for the early detection of acute kidney injury in hospitalized patients with chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest.* 2018: e12999.
  15. Emmens JE, Ter Maaten JM, Damman K, van Veldhuisen DJ, de Boer RA, Struck J, Bergmann A, Sama IE, Streng KW, Anker SD, Dickstein K, Lang CC, Metra M, Samani NJ, Ng LL, Voors AA. Proenkephalin, an opioid system surrogate, as a novel comprehensive renal marker in heart failure. *Circ Heart Fail.* 2019;12: e005544.
  16. Holaday, JW. Cardiovascular effects of endogenous opiate systems. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1983;23: 541-94.
  17. Sezen, SF, Kenigs VA, Kapusta DR. Renal excretory responses produced by the delta opioid agonist, BW373U86, in conscious rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;287: 238-45.
  18. Denning, GM, Ackermann LW, Barna TJ, Armstrong JG, Stoll LL, Weintraub NL, Dickson EW. Proenkephalin expression and enkephalin release are widely observed in non-neuronal tissues. *Peptides.* 2008;29: 83-92.
  19. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45: 942-6.
  20. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay Interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15: 108-15.
  21. Pierson-Perry J, Vaks JE, Durham AP, et al. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP17-A2, Volume 32 Number 8, 2012.
  22. McEnroe RJ, Burritt MF, Powers DM, et al. Interference testing in clinical chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2, Volume 25 Number 27, 2005.
  23. McEnroe RJ, Dimeski G, Miller WG, et al. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI Document EP37, First Edition, 2018.
  24. McEnroe RJ, Magari R, Durham PA, et al. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI Document EP05-A3, Volume 34 Number 13, 2014.



## IB10 sphingotest® penKid®

Pour la mesure quantitative de la proenképhaline dans du sang total ou du plasma traité à l'EDTA

### Explication des symboles

	Marque de conformité CE
	Fabricant
	Référence catalogue
	Date de péremption/d'expiration
	Numéro de lot
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Consulter le mode d'emploi
	Conserver entre 2 °C et 8 °C
	Représentant européen agréé
	Contenu suffisant pour <n> tests
	Ne pas réutiliser
	Numéro de série
	Insérer le disque avec l'étiquette orientée vers le haut

# IB10 sphingotest® penKid®

## Pour usage diagnostic *in vitro*

### UTILISATION PREVUE

Le IB10 sphingotest® penKid® est un dosage immunologique rapide hors laboratoire (POC) pour la mesure quantitative *in vitro* de la Proenképhaline A 119-159 dans du sang total ou du plasma humain traité à l'EDTA. Ce test est conçu pour être utilisé avec l'analyseur Nexus IB10 et fournit des résultats quantitatifs en moins de 20 minutes.

Le IB10 sphingotest® penKid® est destiné à un usage professionnel uniquement et peut être utilisé dans les laboratoires centraux hospitaliers ainsi que dans d'autres établissements de santé tels que les services d'urgence, les unités de soins intensifs et autres centres où des tests sont réalisés.

### RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Le IB10 sphingotest® penKid® mesure quantitativement le taux de Proenképhaline A 119-159 (Proenképhaline) dans la circulation sanguine. La proenképhaline est un fragment stable de la région interne de la Proenképhaline A et a été établie comme marqueur sanguin de substitution pour les peptides d'enképhaline instables dérivés du même précurseur.<sup>1,2</sup> La concentration sanguine de Proenképhaline est un marqueur de substitution fiable du vrai taux de filtration glomérulaire (TFG) et est extrêmement dynamique, reflétant les aggravations et les améliorations de fonction rénale jusqu'à 2 jours plus tôt que les normes de soins.<sup>2-7</sup> Contrairement à la plupart des marqueurs rénaux, la proenképhaline n'est pas affectée par l'inflammation ou d'autres comorbidités, ce qui la rend particulièrement bien adaptée au suivi du statut rénal en temps opportun dans les maladies aiguës sévères.<sup>3,8-10</sup> Elle s'est révélée applicable à différents types de populations tels que des patients gravement malades, atteints de sepsis, d'insuffisance cardiaque, d'infarctus du myocarde aigu, de maladie rénale chronique ou ayant subi une chirurgie cardiaque ou une transplantation rénale.<sup>5,8-15</sup>

La mesure du taux de proenképhaline avec le test IB10 sphingotest® penKid® peut donc permettre aux médecins de prédire et d'évaluer une aggravation de la fonction rénale en temps réel, et améliorer ainsi la stratification du risque et la prise en charge des patients en soins intensifs. Les cliniciens doivent utiliser les résultats du test IB10 sphingotest® penKid® en tenant compte des autres données d'analyse et des signes cliniques afin d'interpréter les valeurs concrètes du patient dans le contexte de son état clinique.

### LA PROENKÉPHALINE

Les enképhalines sont des pentapeptides hormonaux de courte durée de vie dérivés par clivage protéolytique de la proenképhaline A et co-libérés avec des fragments pro-hormonaux stables, dont la proenképhaline A 119-159 de 4,5 kDa (également dénommée proenképhaline, pro-ENK et PENK).<sup>1</sup> Les enképhalines matures sont des ligands endogènes des récepteurs opioïdes, et sont impliqués dans divers processus physiologiques tels que la signalisation de la douleur, la réponse au stress, l'inflammation et la régulation cardiovasculaire avec des effets natriurétiques et diurétiques au niveau des reins.<sup>3,16,17</sup> Les enképhalines et leurs récepteurs sont exprimés dans le système nerveux central et les organes périphériques, et sont très abondants dans les reins si bien qu'il est extrêmement probable qu'elles aient des effets de stimulation directe sur les reins.<sup>3,18</sup> La proenképhaline n'interagit pas avec les protéines plasmatiques et est librement filtrée par les glomérules ; leur taux sanguin s'est donc révélé être un biomarqueur fonctionnel du TFG.<sup>3</sup>

### PRINCIPE

Le système d'immunochimie Nexus IB10 combine la chimie à la microfluidique et au flux centrifuge pour la préparation rapide d'un plasma acellulaire à partir de sang total qui peut alors être envoyé à travers un canal pour être réhydraté, solubilisé et mélangé à des immunoconjugués lyophilisés. En utilisant une combinaison de flux actif et d'action capillaire, l'échantillon de test est mesuré quantitativement en moins de 20 minutes avec une intensité du signal optique proportionnelle à la concentration du ou des analytes.

Une fois l'échantillon du patient ajouté, le test est intégralement réalisé dans l'analyseur Nexus IB10 qui gère le contrôle de la température du disque, la séquence de réaction, le flux centrifuge, le mélange, le temps d'incubation, la mesure du signal final, la quantification et le compte-rendu des résultats. Le disque de test comprend un contrôle interne positif pour vérifier que le test a correctement fonctionné. Chaque lot est étalonné de manière à fournir une concentration d'analyte exacte. Un étalonnage spécifique à chaque lot ainsi que des informations supplémentaires tels que la date de péremption du lot sont fournis sur une étiquette à code QR collée sur chaque disque. Il est recommandé de tester les contrôles externes à intervalles adéquats afin de confirmer que la performance du système et du lot de test est bien dans les limites acceptables.

### REACTIFS

Le test IB10 sphingotest® penKid® contient tous les réactifs nécessaires à l'évaluation de la concentration de proenképhaline, y compris un anticorps monoclonal anti-proenképhaline conjugué à un chromogène, des anticorps monoclonaux anti-proenképhaline conjugués à de la biotine et de la streptavidine immobilisée au niveau de la zone de détection sur le disque.

## MATERIEL FOURNI

Chaque boîte contient les éléments suivants :

- 10 disques de test IB10 sphingotest® penKid®, chacun emballé individuellement dans un sachet en aluminium hermétique contenant un déshydratant.
- Mode d'emploi.

## MATÉRIEL/ÉQUIPEMENT NÉCESSAIRE NON FOURNI

1. Analyseur Nexus IB10 – Modèle n° BCA-IB10.
2. Contrôles proenképhaline pour le contrôle de qualité (CQ) externe disponibles dans le commerce. **Veillez contacter le distributeur de votre région** pour les articles de CQ externe recommandés ou pour une assistance technique à ce sujet.
3. Auxiliaire de pipetage étalonné réutilisable à volume fixe ou variable de haute précision, capable de distribuer 500 µl de sang total ou de plasma.
4. Pointes de pipette jetables capables de contenir et de distribuer 500 µl de sang total ou de plasma.

## PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

- Pour diagnostic *in vitro* uniquement.
- Respecter le mode d'emploi.
- Avant d'analyser les contrôles ou les échantillons de patients, vérifier que la version du logiciel de l'analyseur est la version la plus récente. (Pour des consignes spécifiques, voir le manuel du Nexus IB10).
- Porter des gants jetables lors de la manipulation des échantillons.
- Manipuler les échantillons avec soin. Les échantillons et les disques de test usagés doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être mis au rebut conformément aux réglementations locales en matière de matériaux comportant des risques biologiques.
- Se laver soigneusement les mains après toute manipulation du produit.
- Le résultat obtenu grâce au test IB10 sphingotest® penKid® ne constitue pas un diagnostic définitif et doit être interprété par un médecin conjointement avec d'autres résultats de tests de laboratoire, conformément aux recommandations médicales en vigueur ainsi qu'aux observations cliniques faites sur le patient.
- Conserver le disque de test dans son sachet hermétique jusqu'à son utilisation.
- Ne pas utiliser le disque de test si le sachet est endommagé ou s'il n'est plus hermétique.
- Ne pas utiliser le disque de test au-delà de la date de péremption imprimée sur le sachet.
- Avant l'utilisation, placer le sachet encore fermé à température ambiante (entre 19 et 25 °C [66 et 77 °F]) pendant au moins 15 minutes.
- Toujours veiller à manipuler le disque du test proprement. Évitez toute contamination par les empreintes digitales ou des substances étrangères. Ne pas contaminer le conduit d'entrée de l'échantillon.
- Ne pas faire tomber ou endommager le disque de test.
- Le disque de test doit être inséré, avec l'étiquette orientée vers le haut, dans le plateau de l'analyseur Nexus IB10, immédiatement après avoir injecté l'échantillon dans le disque.
- Ne pas retourner le disque.
- Il s'agit d'un test quantitatif, par conséquent les résultats ne doivent pas être interprétés visuellement.

## CONSERVATION ET STABILITÉ

- Conserver le disque du test IB10 sphingotest® penKid® entre 2 et 8 °C (35 et 46 °F) jusqu'à la date de péremption imprimée sur le sachet.
- Le test IB10 sphingotest® penKid®, conditionné dans son sachet hermétique, est stable entre 18 et 30 °C (64 et 86 °F) pendant 30 jours, à condition que la date de péremption imprimée sur le sachet ne soit pas dépassée.

## PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

- Le test IB10 sphingotest® penKid® doit utiliser des échantillons de sang total et de plasma humains traités à l'EDTA.
- Il est recommandé de tester les échantillons dès que possible après leur prélèvement.
- Les échantillons de plasma doivent être conservés congelés à -20 °C (-4 °F) ou à une température plus basse lorsqu'une conservation prolongée est nécessaire.
- Avant d'être testés, les échantillons doivent être ramenés à température ambiante (entre 19 et 25 °C [66 et 77 °F]).

## PROCEDURE

### Analyseur Nexus IB10



#### Consulter le mode d'emploi de l'analyseur Nexus IB10

Pour l'installation, le démarrage et toutes les instructions d'emploi de l'analyseur, consulter le **mode d'emploi de Nexus IB10**. L'opérateur doit consulter le mode d'emploi avant l'utilisation afin de se familiariser avec le fonctionnement et les procédures de contrôle de qualité.

### VERIFICATION DU SYSTEME ET ETALONNAGE DU DISQUE

Chaque fois que l'analyseur Nexus IB10 est allumé, une auto-vérification est automatiquement lancée. Le code QR apposé sur chaque disque contient des informations sur l'étalonnage du disque qui sont automatiquement lues par l'analyseur lorsqu'il réalise un test.

### EXECUTION DU CQ AVEC CONTROLES EXTERNES

Le fabricant recommande l'utilisation de contrôles proenképhaline disponibles dans le commerce (veuillez consulter le paragraphe **Matériel/équipement nécessaire non fourni**). S'assurer que les contrôles proenképhaline sont manipulés et préparés conformément au mode d'emploi correspondant.

1. Retirer un sachet de test, toujours fermé, du réfrigérateur et le laisser à température ambiante (entre 19 et 25 °C [66 et 77 °F]) pendant au moins 15 minutes avant le test.
2. Ouvrir le sachet et retirer le disque de test.
3. Poser le disque sur une surface plane.
4. Appuyer sur le bouton **New Analysis** (Nouvelle analyse) sur l'analyseur Nexus IB10.
5. L'analyseur réalise alors une vérification générale du système.
6. Saisir manuellement l'identifiant du contrôle externe (l'identifiant peut contenir jusqu'à 20 caractères) ou scanner l'identifiant du contrôle externe en utilisant le lecteur de codes-barres.
7. Mélanger le flacon du contrôle de qualité externe en le retournant plusieurs fois délicatement avant l'échantillonnage.
8. **Test des échantillons de contrôle externes avec le test IB10 sphingotest® penKid®**
  - En utilisant une pipette de précision (à volume fixe ou réglé sur 500 µl), aspirer délicatement dans la pointe de la pipette l'échantillon de contrôle de qualité externe bien mélangé.
  - En positionnant la pointe conique de la pipette à un angle de 45°, percer le **X** situé sur le point rouge pour ouvrir le canal d'entrée de l'échantillon.
  - Injecter lentement l'échantillon de contrôle externe dans le canal d'entrée en exerçant une pression minimale mais continue sur le piston de la pipette.
  - Injecter l'échantillon jusqu'au premier arrêt de la pipette, à une vitesse qui permette au fluide de remplir complètement le canal et d'éliminer tout risque de contre-pression pouvant entraîner le rejet de l'échantillon ou l'introduction de bulles d'air.
  - Appuyer sur le bouton **QC** (CQ) sur l'écran de l'analyseur Nexus IB10.
  - Lorsque le plateau s'ouvre, y insérer le disque de test contenant l'échantillon puis appuyer sur **Run** (Exécuter).
  - Le plateau se fermera et effectuera une vérification de la validité du disque.
  - Un écran apparaît pour sélectionner les produits de contrôle de la qualité (se référer à la section **Quality Control Settings** (Paramètres du contrôle de qualité) du **mode d'emploi de l'analyseur Nexus IB10**, qui indique comment mettre à jour les produits de contrôle de la qualité [contrôles externes]).
  - Sélectionner le produit de contrôle de la qualité à tester.
  - Appuyer sur le bouton **OK** sur l'écran de l'analyseur Nexus IB10.
  - En moins de vingt (20) minutes, les résultats s'affichent sur l'écran de l'analyseur Nexus IB10.
  - Les résultats s'impriment automatiquement (si cette fonction a été sélectionnée lors du paramétrage), autrement appuyer sur **Print** (Imprimer).
  - Lorsque le test est terminé, analyser et comparer le résultat avec la valeur attendue indiquée dans le mode d'emploi du contrôle externe pour la concentration du contrôle externe telle que mesurée par le test IB10 sphingotest® penKid®.
  - Retirer le disque de test et le jeter dans le conteneur approprié.

- Si le résultat du contrôle externe est en dehors de la plage attendue, consulter le paragraphe Contrôle de qualité ci-dessous.

*Remarque : Si le test est annulé avant qu'un résultat de test ne s'affiche, ne pas réutiliser le disque de test et le mettre au rebut de façon appropriée.*

## TEST DES ECHANTILLONS DE PATIENTS SUR L'ANALYSEUR NEXUS IB10

1. Retirer un sachet de test, encore fermé, du réfrigérateur et le laisser à température ambiante (entre 19 et 25 °C [66 et 77 °F]) pendant au moins 15 minutes.
2. Ouvrir le sachet et retirer le disque de test.
3. Poser le disque sur une surface plane.
4. Appuyer sur le bouton **New Analysis** (Nouvelle analyse) sur l'analyseur Nexus IB10.
5. L'analyseur réalise alors une vérification générale du système.
6. Saisir manuellement l'identifiant du patient (l'identifiant peut contenir jusqu'à 20 caractères) ou scanner l'identifiant du patient en utilisant le lecteur de codes-barres.
7. Avant le test, mélanger le tube d'échantillon de sang total du patient, en le retournant délicatement plusieurs fois.

### 8. Test des échantillons de patients avec le test IB10 sphingotest® penKid®

- En utilisant une pipette de précision (à volume fixe ou réglé sur 500 µl), aspirer délicatement l'échantillon bien mélangé du patient dans la pointe de la pipette.
- En positionnant la pointe conique de la pipette à un angle de 45°, percer le **X** situé sur le point rouge pour ouvrir le canal d'entrée de l'échantillon.
- Injecter lentement l'échantillon du patient dans le canal d'entrée en exerçant une pression minimale mais continue sur le piston de la pipette.
- Injecter l'échantillon jusqu'au premier arrêt de la pipette, à une vitesse qui permette au fluide de remplir complètement le canal et d'éliminer tout risque de contre-pression pouvant entraîner le rejet de l'échantillon ou l'introduction de bulles d'air.
- Appuyer sur le bouton **OK** sur l'écran de l'analyseur Nexus IB10.
- Lorsque le plateau s'ouvre, y insérer le disque de test contenant l'échantillon puis appuyer sur **Run** (Exécuter).
- En moins de vingt (20) minutes, les résultats s'affichent sur l'écran de l'analyseur Nexus IB10.
- Les résultats s'impriment automatiquement (si cette fonction a été sélectionnée lors du paramétrage), autrement appuyer sur **Print** (Imprimer).
- Retirer le disque de test et le jeter dans le conteneur approprié.

*Remarque : Si le test est annulé avant qu'un résultat de test ne s'affiche, ne pas réutiliser le disque de test et le mettre au rebut de façon appropriée.*

## INTERPRETATION DES RESULTATS

La plage de concentrations de proenképhaline rapportée par le Nexus IB10 est de 50 pmol/l à 500 pmol/l. Les résultats inférieurs ou supérieurs à cette plage sont respectivement indiqués comme suit : « < 50 pmol/l » ou « > 500 pmol/l » respectivement.

## Contrôle de qualité

### CONTROLES EXTERNES

Les bonnes pratiques de laboratoire intègrent l'utilisation de contrôles externes afin de garantir l'efficacité du test. Avant l'utilisation d'un nouveau lot ou d'un nouvel envoi de tests IB10 sphingotest® penKid®, il est recommandé de vérifier la performance du lot en le testant à l'aide de contrôles externes (voir le paragraphe **Matériel/équipement nécessaire non fourni**) afin de s'assurer que le test fournira des résultats exacts.

La fréquence des tests de contrôle de qualité doit être déterminée en fonction des procédures de contrôle de qualité standard propres au laboratoire. Après vérification des résultats attendus, les disques de test sont prêts à être utilisés avec des échantillons de patients. Les contrôles doivent également être utilisés chaque fois que la validité des résultats de test est incertaine. Si les contrôles externes ne donnent pas les résultats attendus, ne pas utiliser le test IB10 sphingotest® penKid® et contacter le distributeur local pour une assistance technique.

### CONTROLE INTERNE

Le test IB10 sphingotest® penKid® est doté d'un contrôle de la procédure positif intégré. L'analyseur Nexus IB10 détecte automatiquement la présence de ce contrôle, confirmant ainsi que le test exécuté a fourni un résultat valide. Si le contrôle ne se fait pas ou s'il n'est pas reconnu par l'analyseur, le résultat du test est alors considéré comme « non valide » et le test doit être répété.

## LIMITES

Le résultat du test doit être évalué et interprété conjointement avec les antécédents médicaux, symptômes et autres données cliniques du patient. Comme c'est le cas pour tout dosage employant des anticorps de souris, il existe une possibilité d'interférence provoquée par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon.<sup>19,20</sup> Les échantillons provenant d'individus qui ont été régulièrement en présence d'animaux ou qui ont été traités avec des produits d'origine animale peuvent contenir ces anticorps.

D'autres substances et/ou facteurs ne faisant pas partie de la liste, comme par exemple des erreurs techniques ou procédurales, peuvent interférer avec le test et fausser les résultats.

*Nexus Dx, Inc. fournit des produits dans le cadre de leur utilisation prévue. Consulter la littérature spécifique au produit pour une description de l'utilisation prévue relative au produit. La responsabilité liée au produit est soumise à modifications. Les garanties expresses et tacites de Nexus Dx, Inc. (y compris les garanties tacites de qualité marchande et d'adéquation) sont soumises à la condition d'acceptation ou de respect des instructions publiées par Nexus Dx, Inc. concernant l'utilisation des produits de Nexus Dx, Inc. Nexus Dx, Inc. ne pourra en aucune circonstance être tenue responsable de tout dommage direct ou indirect.*

Pour obtenir une assistance technique, veuillez contacter votre distributeur local.

## Caractéristiques de performance

### PLAGE DE MESURE

Il a été démontré que le test IB10 sphingotest® penKid® fournit des résultats mesurables pour des concentrations de proenképhaline allant de 50 pmol/l à 500 pmol/l.

### SENSIBILITE ANALYTIQUE

La limite de détection (LD) du test IB10 sphingotest® penKid® est de 50,0 pmol/l, établie conformément à la directive approuvée EP17-A2 du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).<sup>21</sup> La proportion de faux positifs ( $\alpha$ ) et faux négatifs ( $\beta$ ) est inférieure à 5 % (limite échantillon blanc = 21,5 pmol/l).

La LdQ (Limite de quantification) est la concentration de proenképhaline la plus faible qui puisse être mesurée de manière reproductible avec un coefficient de variation total maximum de 20 %. Cette limite a été évaluée à 50,0 pmol/l.

### Substances provoquant des interférences

Les substances suivantes ont été testées pour évaluer les interférences avec les mesures de proenképhaline dans le test IB10 sphingotest® penKid® conformément aux directives EP7-A2 et EP37 du CLSI (tableau 1).<sup>22-23</sup> Aucune interférence significative n'a été observée à la concentration maximum pour les substances répertoriées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1.

Produits risquant de provoquer des interférences	Concentration maximale
Bilirubine (conjuguée)	40 mg/dl
Bilirubine (libre)	60 mg/dl
Biotine	600 mg/ml
Cholestérol	400 mg/dl
Citrate	16,3 mmol/l
Créatinine	15 mg/dl
Glucose	250 mg/dl
Hémoglobine	5 g/dl
Héparine non fractionnée	300 U/dl
Héparine fractionnée	3 000 U/l
Anticorps humain anti-souris (HAMA)	645 ng/ml
Facteur rhumatoïde (FR)	1 500 UI/ml

Produits risquant de provoquer des interférences	Concentration maximale
Protéines totales	3 000 mg/dl
Triglycérides	1 500 mg/dl
Urée	120 mg/dl

## EFFET CROCHET

Aucun effet crochet à forte dose n'a été observé pour les concentrations de proenképhaline allant jusqu'à 250 000 pmol/l.

## PRECISION

La précision des mesures de proenképhaline avec le test IB10 sphingotest® penKid® a été déterminée à l'aide d'échantillons dans lesquels trois concentrations différentes de proenképhaline ont été ajoutées à du plasma humain normal (tableau 2). La précision intra-série et la précision totale ont été mesurées sur deux séries de tests par jour, en 4 exemplaires par série et pour chaque concentration sur une période de 20 jours, pour un nombre total de 160 répétitions à chaque concentration. La précision intra-série et la précision totale ont été calculées conformément à la directive EP05-A3 approuvée du CLSI.<sup>24</sup>

Tableau 2.

Échantillon	Lot de test	Moyenne (pmol/l)	Précision intra-série		Précision totale	
			Écart-type (pmol/l)	CV (%)	Écart-type (pmol/l)	CV (%)
1	A	82,9	8,4	10,1 %	9,4	11,4 %
	B	80,1	8,0	10,0 %	8,5	10,6 %
2	A	203,0	19,0	9,4 %	20,7	10,2 %
	B	204,5	24,5	12,0 %	25,0	12,2 %

## COMPARAISON SANG TOTAL - PLASMA

Une étude comparative a été menée avec des échantillons appariés de sang total traité à l'EDTA et de plasma traité à l'EDTA. Une analyse de régression de Passing-Bablok comparant les concentrations pour le sang total par rapport aux concentrations correspondantes pour le plasma sur les échantillons de mêmes sujets (N = 30) donne une pente de 1,06 (IC à 95 % = [0,83 à 1,17]), une ordonnée à l'origine de -9,3 pmol/l et un coefficient de corrélation  $r = 0,96$ .

## COMPARAISON DES METHODES

Une étude d'équivalence a été réalisée comparant le test IB10 sphingotest® penKid® avec l'analyseur Nexus IB10 et le test immunoluminométrique (ILMA) sphingotest® penKid®. Un total de 197 échantillons ont été testés dans une plage de concentration de proenképhaline allant de 50,0 pmol/l à 497,9 pmol/l. La régression de Passing-Bablok a donné les résultats suivants :

**IB10 sphingotest® penKid® = 0,93 x (sphingotest® penKid® ILMA) – 0,3 pmol/l**

**Coefficient de corrélation,  $r = 0,92$**

## BIBLIOGRAPHIE

- Ernst A, Köhrlé J, Bergmann A. Proenkephalin A 119-159, a stable proenkephalin A precursor fragment identified in human circulation. *Peptides*. 2006;27: 1835-40.
- Donato LJ, Meeusen JW, Lieske JC, Bergmann D, Sparwasser A, Jaffe AS. Analytical performance of an immunoassay to measure proenkephalin. *Clin Biochem*. 2018;58: 72-77.
- Beunders, R, Struck J, Wu AH, Zarbock A, Di Somma S, Mehta RL, Koyner JL, Nadim MK, Maisel AS, Murray PT, Neath SX, Jaffe AS, Pickkers P. Proenkephalin (PENK) as a novel biomarker for kidney function. *J Appl Lab Med*. 2017; DOI: 10.1373/jalm.2017.023598 400-12.
- Matsue Y, Ter Maaten JM, Struck J, Metra M, O'Connor CM, Ponikowski P, Teerlink JR, Cotter G, Davison B, Cleland JG, Givertz MM, Bloomfield DM, Dittrich HC, van Veldhuisen DJ, van der Meer P, Damman K, Voors AA. Clinical correlates and prognostic value of proenkephalin in acute and chronic heart failure. *J Card Fail*. 2017;23: 231-39.
- Kieneker LM, Hartmann O, Struck J, Bergmann A, Gansevoort RT, Joosten MM, van den Berg E, de Boer RA, Bakker SJL. Plasma

proenkephalin and poor long-term outcome in renal transplant recipients. *Transplant Direct*. 2017;3: e190.














6. Leitte G, Beunders R, van Groenendal R, Peters E, Kox M, Pickkers P. Proenkephalin, the new marker for kidney function on the Intensive care unit? *Intensive Care Med Exp*. 2017;5 (Suppl 2): 51-52.
7. Beunders R, Meekes M, Struck J, Pickkers P. Proenkephalin, a novel biomarker for kidney function, is earlier in detecting acute kidney injury compared to creatinine. *Intensive Care Med Exp*. 2019;7 (Suppl 3): 000960.
8. Marino R, Struck J, Hartmann O, Maisel AS, Rehfeldt M, Magrini L, Melander O, Bergmann A, Di Somma S. Diagnostic and short-term prognostic utility of plasma pro-enkephalin (pro-ENK) for acute kidney injury in patients admitted with sepsis in the emergency department. *J Nephrol*. 2015;28: 717-24.
9. Hollinger A, Wittebole X, Francois B, Pickkers P, Antonelli M, Gayat E, Chousterman BG, Lascarrou JB, Dugernier T, Di Somma S, Struck J, Bergmann A, Beishuizen A, Constatin JM, Damoiseil C, Deye N, Gaudry S, Huberlant V, Marx G, Mercier E, Oueslati H, Hartmann O, Sonnevile R, Laterre PF, Mebazaa A, Legrand M. Proenkephalin A 119-159 (Penkid) is an early biomarker of septic acute kidney injury: The Kidney in Sepsis and Septic Shock (Kid-SSS) study. *Kidney Int Rep*. 2018;3: 1424-33.
10. Gayat E, Cariou A, Deye N, Vieillard-Baron A, Jaber S, Damoiseil C, Lu Q, Monnet X, Rennuit I, Azoulay E, Leone M, Oueslati H, Guidet B, Friedman D, Tesniere A, Sonnevile R, Montravers P, Pili-Floury S, Lefrant JY, Duranteau J, Laterre PF, Brechot N, Chevreur K, Michel M, Chollet B, Legrand M, Launay JM, Vicaut E, Singer M, Resche-Rigon M, Mebazaa A. Determinants of long-term outcome in ICU survivors: results from the FROG-ICU study. *Crit Care*. 2018;22: 8.
11. Ng LL, Sandhu JK, Narayan H, Quinn PA, Squire IB, Davies JE, Bergmann A, Maisel A, Jones DJ. Proenkephalin and prognosis after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63: 280-9.
12. Shah KS, Taub P, Patel M, Rehfeldt M, Struck J, Clopton P, Mehta RL, Maisel AS. Proenkephalin predicts acute kidney injury in cardiac surgery patients. *Clin Nephrol*. 2015;83: 29-35.
13. Ng LL, Squire IB, Jones DJL, Cao TH, Chan DCS, Sandhu JK, Quinn PA, Davies JE, Struck J, Hartmann O, Bergmann A, Mebazaa A, Gayat E, Arrigo M, Akiyama E, Sabti Z, Lohrmann J, Twerenbold R, Herrmann T, Schumacher C, Kozhuharov N, Mueller C, and Great Network. Proenkephalin, renal dysfunction, and prognosis in patients with acute heart failure: A GREAT Network study. *J Am Coll Cardiol*. 2017;69: 56-69.
14. Breidhardt T, Jaeger C, Christ A, Klima T, Mosimann T, Twerenbold R, Boeddinghaus J, Nestelberger T, Badertscher P, Struck J, Bergmann A, Hartmann O, Kalbermatter S, Marenzi G, Mueller C. Proenkephalin for the early detection of acute kidney injury in hospitalized patients with chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest*. 2018: e12999.
15. Emmens JE, Ter Maaten JM, Damman K, van Veldhuisen DJ, de Boer RA, Struck J, Bergmann A, Sama IE, Streng KW, Anker SD, Dickstein K, Lang CC, Metra M, Samani NJ, Ng LL, Voors AA. Proenkephalin, an opioid system surrogate, as a novel comprehensive renal marker in heart failure. *Circ Heart Fail*. 2019;12: e005544.
16. Holaday, JW. Cardiovascular effects of endogenous opiate systems. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1983;23: 541-94.
17. Sezen, SF, Kenigs VA, Kapusta DR. Renal excretory responses produced by the delta opioid agonist, BW373U86, in conscious rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998;287: 238-45.
18. Denning, GM, Ackermann LW, Barna TJ, Armstrong JG, Stoll LL, Weintraub NL, Dickson EW. Proenkephalin expression and enkephalin release are widely observed in non-neuronal tissues. *Peptides*. 2008;29: 83-92.
19. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45: 942-6.
20. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay Interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15: 108-15.
21. Pierson-Perry J, Vaks JE, Durham AP, et al. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP17-A2, Volume 32 Number 8, 2012.
22. McEnroe RJ, Burritt MF, Powers DM, et al. Interference testing in clinical chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2, Volume 25 Number 27, 2005.
23. McEnroe RJ, Dimeski G, Miller WG, et al. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI Document EP37, First Edition, 2018.
24. McEnroe RJ, Magari R, Durham PA, et al. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI Document EP05-A3, Volume 34 Number 13, 2014.



# IB10 sphingotest<sup>®</sup> penKid<sup>®</sup>

Per la determinazione quantitativa della proencefalina in plasma e sangue intero EDTA

## Legenda dei simboli

	Marchio di conformità CE
	Produttore
	Numero di catalogo
	Data di scadenza/Utilizzare entro
	Numero di lotto
	Presidio medico per uso diagnostico <i>in vitro</i>
	Fare riferimento alle Istruzioni per l'uso
	Conservare tra 2 °C e 8 °C
	Rappresentante autorizzato per l'Europa
	Contiene materiale sufficiente per <n> test
	Non riutilizzare
	Numero di serie
	Inserire il disco con l'etichetta rivolta verso l'alto

# IB10 sphingotest® penKid®

## Per uso diagnostico *in vitro*

### USO PREVISTO

Il test IB10 sphingotest® penKid® è un immunosaggio rapido per diagnostica decentrata (POC) che consente la determinazione quantitativa *in vitro* della proencefalina A 119-159 in plasma e sangue intero EDTA umani. Questo test è destinato all'uso in combinazione con l'analizzatore Nexus IB10 e fornisce risultati quantitativi in 20 minuti.

Il test IB10 sphingotest® penKid® è destinato esclusivamente all'uso professionale e può essere utilizzato in laboratori centrali ospedalieri e in altre strutture sanitarie quali reparti di pronto soccorso, unità di terapia intensiva e altri centri nei quali si eseguono analisi di diagnostica decentrata.

### RIEPILOGO E PRESENTAZIONE DEL TEST

Il test IB10 sphingotest® penKid® esegue la misurazione quantitativa del livello di proencefalina A 119-159 (proencefalina) che circola nel flusso ematico. La proencefalina è un frammento stabile della regione media della proencefalina A e costituisce un marcatore ematico surrogato per i peptidi instabili dell'encefalina derivati dallo stesso precursore.<sup>1,2</sup> La concentrazione ematica della proencefalina è un marcatore surrogato affidabile per la velocità di filtrazione glomerulare (GFR, Glomerular Filtration Rate) reale ed è altamente dinamica: riflette il peggioramento e il miglioramento della funzione renale fino a 2 giorni prima dello standard di cura.<sup>2-7</sup> A differenza di molti altri marcatori renali, la proencefalina non è interessata dall'infiammazione e da altre patologie concomitanti, pertanto è adatta per il monitoraggio puntuale dello stato renale effettivo nei pazienti con diverse malattie acute.<sup>3,8-10</sup> Si è dimostrata utilizzabile in una serie di popolazioni comprendenti pazienti in condizioni critiche, sepsi, insufficienza cardiaca, chirurgia cardiaca, infarto miocardico acuto, trapianto renale e pazienti con malattia renale cronica.<sup>5,8-15</sup>

La misurazione dei livelli di proencefalina mediante il test IB10 sphingotest® penKid® può quindi consentire ai medici di prevedere e valutare il peggioramento della funzione renale in tempo reale e di migliorare la stratificazione del rischio e la gestione del paziente in condizioni di acuzie. I medici devono utilizzare i risultati del test IB10 sphingotest® penKid® unitamente ad altri risultati di laboratorio e manifestazioni cliniche del paziente e interpretare i valori effettivi di quest'ultimo nel contesto della sua situazione clinica.

### PROENCEFALINA

Le encefaline sono ormoni pentapeptidi di breve durata, scissi proteoliticamente dalla proencefalina A e co-rilasciati insieme a frammenti di pro-ormoni stabili, uno dei quali è 4,5 kDa proencefalina A 119-159 (descritta anche come proencefalina, pro-ENK e PENK).<sup>1</sup> Le encefaline mature sono ligandi endogeni dei recettori per gli oppioidi e sono coinvolte in vari processi fisiologici quali la segnalazione del dolore, la risposta alle sollecitazioni, l'infiammazione la regolazione cardiovascolare con effetti natriuretici e diuretici nei reni.<sup>3,16,17</sup> Le encefaline e i loro recettori sono espressi nel sistema nervoso centrale e negli organi periferici e risultano particolarmente abbondanti nei reni, dove con grande probabilità esercitano effetti stimolatori diretti sui reni.<sup>3,18</sup> La proencefalina non interagisce con le proteine del plasma ed è liberamente filtrata attraverso il glomerulo; pertanto, i livelli ematici dimostrano che la proencefalina è un biomarcatore funzionale di GFR.<sup>3</sup>

### PRINCIPIO

Il sistema di immunochimica Nexus IB10 combina la chimica con la microfluidica e il flusso centrifugo per preparare rapidamente un plasma non contenente cellule, ottenuto da sangue intero, che possa successivamente essere fatto passare attraverso un canale per la reidratazione, la solubilizzazione e la miscelazione con immunoconiugati liofilizzati. Mediante una combinazione di flusso attivo e azione capillare, il campione di test viene misurato quantitativamente in 20 minuti con un livello di segnale ottico proporzionale alla concentrazione di analiti.

Dopo l'aggiunta del campione del paziente, l'intero test viene eseguito all'interno dell'analizzatore Nexus IB10, che controlla la temperatura del disco, nonché la sequenza di reazione, il flusso centrifugo, la miscelazione, il tempo di incubazione, la misurazione del segnale finale, la quantificazione e la refertazione dei risultati. Il disco del test comprende un controllo interno positivo atto a garantire che il test stesso funzioni correttamente. Ogni lotto è calibrato per fornire un'accurata concentrazione di analiti. La calibrazione specifica per il lotto, insieme a informazioni aggiuntive quali la data di scadenza del lotto, è contenuta su un'etichetta con codice QR applicata su ogni disco. Si consiglia di testare i controlli esterni a intervalli adeguati per verificare che il sistema e il lotto di test operino entro limiti accettabili.

### REAGENTI

Il test IB10 sphingotest® penKid® contiene tutti i reagenti occorrenti per valutare il livello di proencefalina, compresi l'anticorpo monoclonale anti-proencefalina coniugato a colorante, l'anticorpo monoclonale anti-proencefalina coniugato a biotina e la streptavidina legata all'area di rilevamento sul disco.

## MATERIALI FORNITI

Ogni scatola contiene quanto segue:

- 10 dischi del test IB10 sphingotest® penKid®, ciascuno confezionato singolarmente in una busta di alluminio con sostanza igroscopica.
- Istruzioni per l'uso.

## MATERIALI/APPARECCHIATURE NECESSARI MA NON FORNITI

1. Analizzatore Nexus IB10 - Modello n. BCA-IB10.
2. Controlli per proencefalina disponibili in commercio per controllo di qualità esterno. **Contattare il distributore di zona** per i materiali consigliati per il controllo di qualità esterno o per assistenza tecnica in merito a tale controllo.
3. Pistola di dosaggio riutilizzabile calibrata a volume fisso o variabile, a precisione e accuratezza elevate, in grado di erogare 500 µl di sangue intero o plasma.
4. Puntali per pipette monouso in grado di accettare ed erogare 500 µl di sangue intero o plasma.

## PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Seguire scrupolosamente le Istruzioni per l'uso.
- Prima di analizzare i controlli o i campioni dei pazienti, assicurarsi che il software dell'analizzatore sia aggiornato alla versione più recente (consultare il manuale di Nexus IB10 per istruzioni specifiche).
- Nel maneggiare i campioni, indossare guanti monouso.
- Maneggiare i campioni con cura. I campioni e i dischi di test usati devono essere trattati come materiali potenzialmente infetti e devono essere eliminati come materiali a rischio biologico in conformità alle disposizioni locali vigenti.
- Lavarsi bene le mani dopo la manipolazione.
- Il risultato ottenuto con il test IB10 sphingotest® penKid® non fornisce una diagnosi definitiva e deve essere interpretato da un medico nell'ambito di un quadro clinico che preveda altri test di laboratorio, conformemente ai protocolli medici in vigore così come ai risultati clinici del paziente.
- Conservare il disco del test nella busta sigillata fino al momento dell'uso.
- Non utilizzare il disco del test se la busta è danneggiata o se il sigillo è compromesso.
- Non utilizzare il disco del test oltre la data di scadenza stampata sulla busta.
- Prima dell'uso, tenere la busta chiusa a temperatura ambiente (19-25 °C/66-77 °F) per almeno 15 minuti.
- Nel maneggiare il disco del test, porre la massima attenzione alla pulizia. Evitare ogni contaminazione da impronte digitali o sostanze estranee. Non contaminare l'ingresso del canale del campione.
- Non lasciar cadere o danneggiare il disco del test.
- Il disco del test deve essere inserito nel vassoio dell'analizzatore Nexus IB10 con l'etichetta rivolta verso l'alto immediatamente dopo l'iniezione del campione nel disco.
- Non capovolgere il disco.
- Questo è un test quantitativo; non tentare pertanto un'interpretazione visiva dei risultati.

## CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il test IB10 sphingotest® penKid® a temperature comprese tra 2 e 8 °C (35 e 46 °F) fino alla data di scadenza stampata sulla busta.
- Il test IB10 sphingotest® penKid® nella busta sigillata è stabile a temperature comprese tra 18 e 30 °C (64 e 86 °F) per 30 giorni, purché non sia stata superata la data di scadenza stampata sulla busta.

## RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

- Il test IB10 sphingotest® penKid® è destinato all'uso con campioni di plasma o sangue intero EDTA.
- Si raccomanda di analizzare i campioni appena possibile dopo il prelievo.
- I campioni di plasma devono essere conservati congelati a -20 °C (-4 °F) o a temperature inferiori se è necessaria una conservazione prolungata.
- Attendere che i campioni raggiungano la temperatura ambiente (19-25 °C/66-77 °F) prima dell'analisi.

## PROCEDURA

### Analizzatore Nexus IB10



#### Consultare il manuale d'uso dell'analizzatore Nexus IB10

Per l'installazione, l'avvio e l'utilizzo dell'analizzatore, consultare il **manuale d'uso dell'analizzatore Nexus IB10**. L'operatore deve consultare il manuale d'uso prima di utilizzare lo strumento per acquisire dimestichezza con il corretto funzionamento e le procedure di controllo della qualità.

### CONTROLLO DEL SISTEMA E CALIBRAZIONE DEL DISCO

Ogni volta che si accende l'analizzatore Nexus IB10, il sistema esegue automaticamente un'autodiagnosi. Il codice QR presente su ogni disco del test contiene informazioni per la calibrazione del disco stesso che l'analizzatore legge automaticamente quando esegue il test.

### ESECUZIONE DEL CONTROLLO DI QUALITÀ CON CONTROLLI ESTERNI

Il produttore raccomanda di usare i controlli per proencefalina disponibili in commercio (consultare la sezione **Materiali/apparecchiature necessari ma non forniti**). Accertarsi che i controlli per proencefalina siano manipolati e preparati secondo le corrispondenti Istruzioni per l'uso.

1. Togliere dal frigorifero una busta del test chiusa e tenerla a temperatura ambiente (19-25 °C/66-77 °F) per almeno 15 minuti prima dell'analisi.
2. Aprire la busta ed estrarre il disco del test.
3. Collocare il disco del test su una superficie piana.
4. Sull'analizzatore Nexus IB10, premere **New Analysis** (Nuova analisi).
5. L'analizzatore esegue un controllo generale del sistema.
6. Immettere manualmente l'ID del controllo esterno (l'ID può contenere al massimo 20 caratteri) o immettere l'ID del controllo esterno leggendo il codice a barre con un apposito lettore.
7. Miscelare la fiala del controllo di qualità esterno capovolgendola delicatamente diverse volte prima del campionamento.
8. **Analisi di campioni di controllo esterni con il test IB10 sphingotest® penKid®**
  - Con una pipetta di precisione (fissa o regolata a 500 µl) aspirare lentamente il campione di controllo di qualità esterno ben miscelato nel puntale della pipetta.
  - Con la punta affusolata della pipetta posta a un'angolazione di 45°, forare in corrispondenza della **X** sul punto rosso per esporre l'ingresso del canale del campione.
  - Depositare lentamente il campione del controllo esterno nell'ingresso applicando una forza minima ma costante sul pistoncino della pipetta.
  - Spingere il campione fino al primo arresto sulla pipetta, a una velocità che consenta al fluido di riempire completamente il canale ed elimini una eventuale contropressione che potrebbe causare la fuoriuscita di campione o la formazione di bolle d'aria.
  - Premere **QC** (Controllo di qualità) sul display dell'analizzatore Nexus IB10.
  - Quando il vassoio si apre, inserirvi il disco di test con il campione e premere **Run** (Esegui).
  - Il vassoio si chiude, quindi il sistema controlla la validità del disco.
  - Appare una schermata per la selezione dei materiali di controllo della qualità (consultare la sezione **Impostazioni di controllo della qualità** del **Manuale d'uso dell'analizzatore Nexus IB10** per la procedura di aggiornamento del materiale di controllo di qualità [controlli esterni]).
  - Selezionare il materiale da analizzare ai fini del controllo della qualità.
  - Premere **OK** sul display dell'analizzatore Nexus IB10.
  - Dopo 20 minuti, l'analizzatore Nexus IB10 visualizzerà i risultati sullo schermo.
  - I risultati vengono stampati automaticamente se tale opzione è stata selezionata durante l'impostazione; in caso contrario premere **Print** (Stampa).
  - Al termine del test, analizzare e confrontare il risultato con il valore atteso riportato nelle Istruzioni per l'uso del controllo esterno per il livello del controllo esterno misurato usando il test IB10 sphingotest® penKid®.
  - Rimuovere il disco del test e gettarlo nell'apposito contenitore.

- Se il risultato del controllo esterno non rientra nell'intervallo atteso, consultare la sezione Controllo della qualità di seguito.

*Nota: se l'esecuzione del test viene annullata prima della visualizzazione del risultato, il disco del test non può essere riutilizzato e deve essere smaltito nel modo opportuno.*

## ANALISI DI CAMPIONI DI PAZIENTI SULL'ANALIZZATORE NEXUS IB10

1. Togliere dal frigorifero una busta di test chiusa e tenerla a temperatura ambiente (19-25 °C/66-77 °F) per almeno 15 minuti.
2. Aprire la busta ed estrarre il disco del test.
3. Collocare il disco del test su una superficie piana.
4. Sull'analizzatore Nexus IB10, premere **New Analysis** (Nuova analisi).
5. L'analizzatore esegue un controllo generale del sistema.
6. Immettere manualmente l'ID paziente (l'ID può contenere al massimo 20 caratteri) o immettere l'ID paziente leggendo il codice a barre con un apposito lettore.
7. Prima dell'analisi, miscelare la provetta con il campione di sangue intero del paziente capovolgendola delicatamente più volte.

### 8. Analisi dei campioni del paziente con il test IB10 sphingotest® penKid®

- Con una pipetta di precisione (fissa o regolata a 500 µl), aspirare lentamente il campione del paziente ben miscelato nel puntale della pipetta.
- Con la punta affusolata della pipetta posta a un'angolazione di 45°, forare in corrispondenza della **X** sul punto rosso per esporre l'ingresso del canale del campione.
- Depositare lentamente il campione del paziente nell'ingresso applicando una forza minima ma costante sul pistoncino della pipetta.
- Spingere il campione fino al primo arresto sulla pipetta, a una velocità che consenta al fluido di riempire completamente il canale ed elimini una eventuale contropressione che potrebbe causare la fuoriuscita di campione o la formazione di bolle d'aria.
- Premere **OK** sul display dell'analizzatore Nexus IB10.
- Quando il vassoio si apre, inserirvi il disco di test con il campione e premere **Run** (Esegui).
- Dopo 20 minuti, l'analizzatore Nexus IB10 visualizzerà i risultati sullo schermo.
- I risultati vengono stampati automaticamente se tale opzione è stata selezionata durante l'impostazione; in caso contrario premere **Print** (Stampa).
- Rimuovere il disco del test e gettarlo nell'apposito contenitore.

*Nota: se l'esecuzione del test viene annullata prima della visualizzazione del risultato, il disco del test non può essere riutilizzato e deve essere smaltito nel modo opportuno.*

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Le concentrazioni di proencefalina riportate dall'analizzatore Nexus IB10 sono comprese nell'intervallo da 50 pmol/l a 500 pmol/l. Risultati inferiori o superiori a questo intervallo saranno indicati rispettivamente come "<50 pmol/l" o ">500 pmol/l".

## Controllo della qualità

### CONTROLLI ESTERNI

La buona pratica di laboratorio prevede l'uso di controlli esterni atti a garantire il corretto funzionamento del disco di test. Prima di usare un nuovo lotto o spedizione di test IB10 sphingotest® penKid®, si consiglia di confermare il funzionamento del lotto effettuando l'analisi con controlli esterni (consultare la sezione **Materiali/apparecchiature necessari ma non forniti**) per assicurarsi che il test produrrà il risultato corretto. La frequenza dei test di controllo della qualità deve essere determinata in base alle procedure di controllo della qualità standard in vigore nei singoli laboratori. Alla conferma dei risultati attesi, i dischi di test sono pronti per l'uso con i campioni del paziente. I controlli devono essere usati, inoltre, ogni qualvolta si abbiano dubbi sulla validità dei risultati del test. Se i controlli esterni non funzionano come previsto, non usare il test IB10 sphingotest® penKid® e contattare il distributore di zona per assistenza tecnica.

### CONTROLLO INTERNO

Il test IB10 sphingotest® penKid® comprende un controllo procedurale positivo integrato. L'analizzatore Nexus IB10 determina automaticamente la presenza di questo controllo confermando in tal modo che l'analisi ha prodotto un risultato valido. Se il controllo non si forma o non è riconosciuto dall'analizzatore, il risultato del test viene considerato "non valido" e il test deve essere ripetuto.

## LIMITAZIONI

Il risultato del test deve essere valutato e interpretato nell'ambito di un quadro clinico più ampio che consideri l'anamnesi del paziente, gli specifici sintomi e altre informazioni cliniche.

Come con qualsiasi saggio che faccia uso di anticorpi murini, esiste la possibilità di interferenza da parte di anticorpi eterofili nel campione.<sup>19,20</sup> I campioni di individui che sono stati regolarmente a contatto con animali o che sono stati trattati con prodotti di origine animale possono contenere questi anticorpi.

Altre sostanze e/o fattori non compresi nell'elenco, ossia errori tecnici o procedurali, possono interferire con il test e produrre risultati inaccurati.

*Nexus Dx, Inc. offre prodotti idonei per l'uso previsto. Consultare la letteratura specifica, relativa al prodotto, contenente le dichiarazioni sulla destinazione d'uso di ciascun prodotto. Le dichiarazioni sul prodotto sono soggette a modifiche. Le garanzie espresse e tacite di Nexus Dx, Inc. (comprese le garanzie tacite di commerciabilità e idoneità) sono soggette al rispetto, o all'osservanza, delle istruzioni pubblicate da Nexus Dx, Inc. in relazione all'uso dei suoi prodotti. In nessun caso Nexus Dx, Inc. si riterrà responsabile per danni indiretti o consequenziali.*

Per assistenza tecnica si prega di contattare il proprio distributore di zona.

## Caratteristiche prestazionali

### INTERVALLO DI MISURAZIONE

È stato dimostrato che il test IB10 sphingotest<sup>®</sup> penKid<sup>®</sup> è in grado di fornire risultati misurabili con livelli di proencefalina compresi fra 50 pmol/l e 500 pmol/l.

### SENSIBILITÀ ANALITICA

Il limite di rilevabilità (LoD) per il test IB10 sphingotest<sup>®</sup> penKid<sup>®</sup> è di 50,0 pmol/l, determinato secondo le linee guida approvate EP17-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).<sup>21</sup> La proporzione di falsi positivi ( $\alpha$ ) e di falsi negativi ( $\beta$ ) è inferiore al 5% (limite del bianco = 21,5 pmol/l).

Il limite di quantificazione (LoQ) è la concentrazione più bassa di proencefalina misurabile in modo riproducibile con un coefficiente di variazione totale massimo del 20%. Tale limite è risultato pari a 50,0 pmol/l.

### SOSTANZE INTERFERENTI

Sono state analizzate le seguenti sostanze per verificare la potenziale interferenza con la misurazione della proencefalina nel test IB10 sphingotest<sup>®</sup> penKid<sup>®</sup> in base alle linee guida approvate EP7-A2 ed EP37 del CLSI (Tabella 1).<sup>22-23</sup> Non sono state osservate interferenze significative alla concentrazione massima delle sostanze riportate nella tabella sottostante.

Tabella 1.

Potenziali interferenti	Concentrazione massima
Bilirubina (coniugata)	40 mg/dl
Bilirubina (libera)	60 mg/dl
Biotina	600 mg/ml
Colesterolo	400 mg/dl
Citrato	16,3 mmol/l
Creatinina	15 mg/dl
Glucosio	250 mg/dl
Emoglobina	5 mg/dl
Eparina non frazionata	300 U/dl
Eparina frazionata	3000 U/l
Anticorpo anti-topo umano (HAMA)	645 ng/ml
Fattore reumatoide (FR)	1500 IU/ml
Proteine totali	3000 mg/dl

Potenziali interferenti	Concentrazione massima
Trigliceridi	1500 mg/dl
Urea	120 mg/dl

## EFFETTO GANCIO

Non è stato osservato alcun effetto gancio a dose elevata per concentrazioni di proencefalina fino a 250.000 pmol/l.

## PRECISIONE

La precisione di misurazione della proencefalina del test IB10 sphingotest® penKid® è stata determinata utilizzando campioni in cui normale plasma umano è stato addizionato con proencefalina a tre concentrazioni (Tabella 2). Le misurazioni di precisione intra-analisi e totale sono state effettuate in due cicli di test al giorno, in repliche di 4 per ciclo a ogni livello di concentrazione per un periodo di 20 giorni e per un numero totale di ripetizioni pari a 160 a ciascun livello di concentrazione. I coefficienti di precisione intra-analisi e totali sono stati calcolati secondo le linee guida approvate EP05-A3 del CLSI.<sup>24</sup>

Tabella 2.

Campione	Lotto di test	Media (pmol/l)	Precisione intra-analisi		Precisione totale	
			Dev. std. (pmol/l)	CV (%)	Dev. std. (pmol/l)	CV (%)
1	A	82,9	8,4	10,1%	9,4	11,4%
	B	80,1	8,0	10,0%	8,5	10,6%
2	A	203,0	19,0	9,4%	20,7	10,2%
	B	204,5	24,5	12,0%	25,0	12,2%

## CORRELAZIONE TRA SANGUE INTERO e PLASMA

È stato condotto uno studio di confronto con campioni corrispondenti di sangue intero EDTA e plasma EDTA. Durante l'esecuzione di un'analisi della regressione Passing-Bablok volta a confrontare le concentrazioni di sangue intero rispetto alle corrispondenti concentrazioni di plasma dei campioni dello stesso paziente (N=30), sono stati determinati una pendenza di 1,06 (95% I.C. = [0,83-1,17]), un'intercetta di -9,3 pmol/l e un coefficiente di correlazione di  $r = 0,96$ .

## CONFRONTO TRA METODI

È stato condotto uno studio di equivalenza tra il test IB10 sphingotest® penKid® eseguito con analizzatore Nexus IB10 e il saggio immunoluminometrico (ILMA) sphingotest® penKid®. Sono stati analizzati 197 campioni totali entro un intervallo di concentrazione della proencefalina da 50,0 pmol/l a 497,9 pmol/l. L'analisi di regressione Passing-Bablok ha registrato i seguenti risultati:

**IB10 sphingotest® penKid® = 0,93 x (sphingotest® penKid® ILMA) - 0,3 pmol/l**

**Coefficiente di correlazione,  $r = 0,92$**

## BIBLIOGRAFIA

- Ernst A, Köhrle J, Bergmann A. Proenkephalin A 119-159, a stable proenkephalin A precursor fragment identified in human circulation. *Peptides*. 2006;27: 1835-40.
- Donato LJ, Meeusen JW, Lieske JC, Bergmann D, Sparwasser A, Jaffe AS. Analytical performance of an immunoassay to measure proenkephalin. *Clin Biochem*. 2018;58: 72-77.
- Beunders, R, Struck J, Wu AH, Zarbock A, Di Somma S, Mehta RL, Koyner JL, Nadim MK, Maisel AS, Murray PT, Neath SX, Jaffe AS, Pickkers P. Proenkephalin (PENK) as a novel biomarker for kidney function. *J Appl Lab Med*. 2017; DOI: 10.1373/jalm.2017.023598 400-12.
- Matsue Y, Ter Maaten JM, Struck J, Metra M, O'Connor CM, Ponikowski P, Teerlink JR, Cotter G, Davison B, Cleland JG, Givertz MM, Bloomfield DM, Dittrich HC, van Veldhuisen DJ, van der Meer P, Damman K, Voors AA. Clinical correlates and prognostic value of proenkephalin in acute and chronic heart failure. *J Card Fail*. 2017;23: 231-39.
- Kieneker LM, Hartmann O, Struck J, Bergmann A, Gansevoort RT, Joosten MM, van den Berg E, de Boer RA, Bakker SJL. Plasma proenkephalin and poor long-term outcome in renal transplant recipients. *Transplant Direct*. 2017;3: e190.
- Leitje G, Beunders R, van Groenendal R, Peters E, Kox M, Pickkers P. Proenkephalin, the new marker for kidney function on the Intensive care

unit? *Intensive Care Med Exp.* 2017;5 (Suppl 2): 51-52.














7. Beunders R, Meekes M, Struck J, Pickkers P. Proenkephalin, a novel biomarker for kidney function, is earlier in detecting acute kidney injury compared to creatinine. *Intensive Care Med Exp.* 2019;7 (Suppl 3): 000960.
8. Marino R, Struck J, Hartmann O, Maisel AS, Rehfeldt M, Magrini L, Melander O, Bergmann A, Di Somma S. Diagnostic and short-term prognostic utility of plasma pro-enkephalin (pro-ENK) for acute kidney injury in patients admitted with sepsis in the emergency department. *J Nephrol.* 2015;28: 717-24.
9. Hollinger A, Wittebole X, Francois B, Pickkers P, Antonelli M, Gayat E, Chousterman BG, Lascarrou JB, Dugernier T, Di Somma S, Struck J, Bergmann A, Beishuizen A, Constatin JM, Damoisel C, Deye N, Gaudry S, Huberlant V, Marx G, Mercier E, Oueslati H, Hartmann O, Sonnevile R, Laterre PF, Mebazaa A, Legrand M. Proenkephalin A 119-159 (Penkid) is an early biomarker of septic acute kidney injury: The Kidney in Sepsis and Septic Shock (Kid-SSS) study. *Kidney Int Rep.* 2018;3: 1424-33.
10. Gayat E, Cariou A, Deye N, Vieillard-Baron A, Jaber S, Damoisel C, Lu Q, Monnet X, Rennuit I, Azoulay E, Leone M, Oueslati H, Guidet B, Friedman D, Tesniere A, Sonnevile R, Montravers P, Pili-Floury S, Lefrant JY, Duranteau J, Laterre PF, Brechot N, Chevrel K, Michel M, Cholley B, Legrand M, Launay JM, Vicaut E, Singer M, Resche-Rigon M, Mebazaa A. Determinants of long-term outcome in ICU survivors: results from the FROG-ICU study. *Crit Care.* 2018;22: 8.
11. Ng LL, Sandhu JK, Narayan H, Quinn PA, Squire IB, Davies JE, Bergmann A, Maisel A, Jones DJ. Proenkephalin and prognosis after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63: 280-9.
12. Shah KS, Taub P, Patel M, Rehfeldt M, Struck J, Clopton P, Mehta RL, Maisel AS. Proenkephalin predicts acute kidney injury in cardiac surgery patients. *Clin Nephrol.* 2015;83: 29-35.
13. Ng LL, Squire IB, Jones DJL, Cao TH, Chan DCS, Sandhu JK, Quinn PA, Davies JE, Struck J, Hartmann O, Bergmann A, Mebazaa A, Gayat E, Arrigo M, Akiyama E, Sabti Z, Lohrmann J, Twerenbold R, Herrmann T, Schumacher C, Kozhuharov N, Mueller C, and Great Network. Proenkephalin, renal dysfunction, and prognosis in patients with acute heart failure: A GREAT Network study. *J Am Coll Cardiol.* 2017;69: 56-69.
14. Breidthardt T, Jaeger C, Christ A, Klima T, Mosimann T, Twerenbold R, Boeddinghaus J, Nestelberger T, Badertscher P, Struck J, Bergmann A, Hartmann O, Kalbermatter S, Marenzi G, Mueller C. Proenkephalin for the early detection of acute kidney injury in hospitalized patients with chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest.* 2018: e12999.
15. Emmens JE, Ter Maaten JM, Damman K, van Veldhuisen DJ, de Boer RA, Struck J, Bergmann A, Sama IE, Streng KW, Anker SD, Dickstein K, Lang CC, Metra M, Samani NJ, Ng LL, Voors AA. Proenkephalin, an opioid system surrogate, as a novel comprehensive renal marker in heart failure. *Circ Heart Fail.* 2019;12: e005544.
16. Holaday, JW. Cardiovascular effects of endogenous opiate systems. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1983;23: 541-94.
17. Sezen, SF, Kenigs VA, Kapusta DR. Renal excretory responses produced by the delta opioid agonist, BW373U86, in conscious rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;287: 238-45.
18. Denning, GM, Ackermann LW, Barna TJ, Armstrong JG, Stoll LL, Weintraub NL, Dickson EW. Proenkephalin expression and enkephalin release are widely observed in non-neuronal tissues. *Peptides.* 2008;29: 83-92.
19. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45: 942-6.
20. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay Interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15: 108-15.
21. Pierson-Perry J, Vaks JE, Durham AP, et al. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP17-A2, Volume 32 Number 8, 2012.
22. McEnroe RJ, Burritt MF, Powers DM, et al. Interference testing in clinical chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2, Volume 25 Number 27, 2005.
23. McEnroe RJ, Dimeski G, Miller WG, et al. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI Document EP37, First Edition, 2018.
24. McEnroe RJ, Magari R, Durham PA, et al. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI Document EP05-A3, Volume 34 Number 13, 2014.



# IB10 sphingotest® penKid®

Para a determinação quantitativa de  
Proencefalina em Sangue Total e Plasma com EDTA

## Explicação dos símbolos

	CE Marca de conformidade
	Fabricante
	Número do catálogo
	Data/prazo de validade
	Número do lote
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Consultar Instruções de Utilização
	Armazenar entre 2 °C e 8 °C
	Representante autorizado na Europa
	Contém suficiente para <n> testes
	Não reutilizar
	Número de série
	Inserir disco com a etiqueta voltada para cima

# IB10 sphingotest® penKid®

## Para utilização em diagnóstico *in vitro*

### USO PRETENDIDO

O IB10 sphingotest® penKid® é um imunoensaio rápido de ponto de tratamento para a determinação quantitativa *in vitro* de Proencefalina A 119-159 no sangue total e plasma humanos com EDTA. Este teste destina-se a ser utilizado com o Analisador Nexus IB10 e fornece resultados quantitativos em 20 minutos.

O IB10 sphingotest® penKid® foi concebido apenas para uso profissional e pode ser utilizado em laboratórios centrais hospitalares e em ambientes de cuidados alternativos, como serviços de emergência, unidades de terapia intensiva e outros locais onde são praticados testes próximos ao paciente.

### RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

O IB10 sphingotest® penKid® determina quantitativamente o nível de Proencefalina A 119-159 (Proencefalina) que circula na corrente sanguínea. A Proencefalina é um fragmento médio-regional estável da Proencefalina A e foi estabelecida como um marcador de sangue substituto dos péptidos instáveis de Encefalina que são derivados do mesmo precursor.<sup>1,2</sup> A concentração sanguínea da Proencefalina é um marcador substituto fiável para a verdadeira taxa de filtração glomerular (TFG), sendo altamente dinâmico e refletindo o agravamento e melhoria da função renal até 2 dias mais cedo do que o tratamento padrão.<sup>2-7</sup> Ao contrário da maioria dos outros marcadores renais, a Proencefalina não é afetada por inflamações e outras comorbilidades, o que a torna adequada para o controlo atempado do estado real dos rins em várias doenças graves.<sup>3,8-10</sup> Provou ser aplicável numa série de populações, incluindo doentes críticos, sépsis, insuficiência cardíaca, cirurgia cardíaca, enfarte agudo do miocárdio, transplante renal e doentes com doença renal crónica.<sup>5,8-15</sup>

A medição dos níveis de Proencefalina pelo IB10 sphingotest® penKid® pode assim permitir aos médicos prever e avaliar o agravamento da função renal em tempo real e melhorar a estratificação dos riscos e o tratamento dos pacientes em ambientes de cuidados agudos. Os profissionais clínicos devem utilizar os resultados do IB10 sphingotest® penKid® em conjunto com outros resultados laboratoriais e sinais clínicos do paciente, e interpretar os valores concretos do paciente no contexto da situação clínica do paciente.

### PROENCEFALINA

As encefalinas são hormonas pentapéptidas de curta duração que são seccionadas proteoliticamente da Pré-proencefalina A e libertadas em conjunto com fragmentos estáveis de pró-hormona, um dos quais é a 4,5 kDa Proencefalina A 119-159 (também descrita como Proencefalina, pro-ENK e PENK).<sup>1</sup> As encefalinas maduras são ligandos endógenos de recetores opioides e estão envolvidas em vários processos fisiológicos, tais como a sinalização da dor, a resposta ao stress, a inflamação e a regulação cardiovascular com efeitos natriuréticos e diuréticos nos rins.<sup>3,16,17</sup>

As encefalinas e os seus recetores são expressos no sistema nervoso central e nos órgãos periféricos e são altamente abundantes nos rins, o que faz com que efeitos estimuladores diretos nos rins sejam muito prováveis.<sup>3,18</sup> A Proencefalina não interage com as proteínas plasmáticas e é filtrada livremente através do glomérulo, pelo que os níveis sanguíneos demonstraram ser um biomarcador funcional da TFG.<sup>3</sup>

### PRINCÍPIO

O sistema de imunoquímica Nexus IB10 combina química com microfluidos e fluxo centrífugo para preparar rapidamente um plasma isento de células a partir do sangue total que pode ser movido por meio de um canal para reidratação, solubilização e combinação com imunoconjugados liofilizados. Usando uma combinação de fluxo ativo e ação capilar, a amostra de teste é medida quantitativamente no espaço de 20 minutos com um nível de sinal óptico proporcional à concentração do(s) analito(s).

Após a adição da amostra do paciente, todo o teste é realizado no Analisador Nexus IB10, que proporciona controlo da temperatura do disco, bem como a sequência de reações, o fluxo centrífugo, a mistura, o tempo de incubação, a medição de sinal final, a quantificação e o relatório dos resultados. O disco de teste inclui um controlo interno positivo para garantir que o teste funcione corretamente. Cada lote é calibrado para fornecer a concentração de analito precisa. A calibração específica do lote, juntamente com informações adicionais, como a data de validade do lote, estão contidas numa etiqueta de código QR afixada em cada disco. Recomenda-se que os controlos externos sejam testados em intervalos de tempo apropriados para confirmar que o sistema e o lote de teste estão a funcionar dentro de limites aceitáveis.

### REAGENTES

O IB10 sphingotest® penKid® contém todos os reagentes necessários para a avaliação do nível de Proencefalina, incluindo o anticorpo monoclonal anti-Proencefalina conjugado com corante, o anticorpo monoclonal anti-Proencefalina conjugado com biotina e a estreptavidina imobilizada na área de deteção do disco.

## MATERIAIS FORNECIDOS

Cada caixa contém o seguinte:

- 10 discos de IB10 sphingotest® penKid®, cada um selado individualmente numa embalagem de alumínio com um dessecante.
- Instruções de Utilização (IU).

## MATERIAIS/EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

1. Analisador Nexus IB10 - Modelo #BCA-IB10.
2. Controlos de Proencefalina disponíveis no mercado para Controlo de Qualidade (CQ) externo. **Contacte o Distribuidor na sua área** para obter materiais recomendados de CQ externo ou assistência técnica relacionada.
3. Pipetador calibrado reutilizável de volume fixo ou variável de alta precisão, capaz de distribuir 500 µL de sangue total ou plasma.
4. Pontas de pipeta descartáveis capazes de aceitar e distribuir 500 µL de sangue total ou plasma.

## PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

- Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Siga atentamente as Instruções de Utilização.
- Antes de testar os controlos ou amostras de pacientes, verifique se o software do Analisador está atualizado com a versão mais recente. (Consulte instruções específicas no manual do Nexus IB10.)
- Use luvas descartáveis ao manusear amostras.
- Manuseie as amostras com cuidado. As amostras e discos de teste usados devem ser tratados como potencialmente infecciosos e devem ser descartados como material de risco biológico, de acordo com os regulamentos locais.
- Lave bem as mãos após o manuseamento.
- O resultado obtido com o IB10 sphingotest® penKid® não fornece um diagnóstico definitivo e deve ser interpretado por um médico em conjunto com outros resultados de testes laboratoriais e de acordo com as diretrizes médicas atuais e achados clínicos dos pacientes.
- Mantenha o disco de teste na embalagem selada até ao momento de ser utilizado.
- Não utilize o disco de teste se a embalagem estiver danificada ou o selo rompido.
- Não utilize o disco de teste após a data de validade impressa na embalagem.
- Antes da utilização, coloque a embalagem fechada à temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) durante pelo menos 15 minutos.
- Tenha sempre atenção ao estado de limpeza ao manusear o disco de teste. Evite qualquer contaminação por impressões digitais ou substâncias estranhas. Não contamine a entrada do canal de amostra.
- Não deixe cair nem danifique o disco de teste.
- O disco de teste deve ser inserido com a etiqueta voltada para cima na bandeja do Analisador Nexus IB10, imediatamente após a injeção da amostra no disco.
- Não inverta a posição do disco.
- Este é um teste quantitativo; portanto, nenhuma interpretação visual dos resultados deve ser feita.

## CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

- Conserve o disco de IB10 sphingotest® penKid® entre 2 °C e 8 °C (35 °F e 46 °F) até a data de validade impressa na embalagem.
- O IB10 sphingotest® penKid®, na sua embalagem selada, permanece estável entre 18 °C e 30 °C (64 °F e 86 °F) durante 30 dias, desde que a data de validade impressa na embalagem não seja ultrapassada.

## COLHEITA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

- O IB10 sphingotest® penKid® deve ser executado com amostras de plasma e sangue total com EDTA.
- Recomenda-se que as amostras sejam testadas o mais cedo possível após a colheita.
- As amostras de plasma devem ser mantidas congeladas a -20 °C (-4 °F) ou a uma temperatura mais baixa, se for necessário um período de conservação mais longo.
- Deixe as amostras equilibrarem à temperatura ambiente (19 °C a 25 °C/66 °F a 77 °F) antes do teste.

## PROCEDIMENTO

### Analizador Nexus IB10

#### Consulte o Manual do Utilizador do Analizador Nexus IB10

Para saber mais sobre a instalação, inicialização e obter instruções de utilização completas do Analizador, consulte o **Manual do Utilizador do Nexus IB10**. O operador tem de consultar o Manual do Utilizador antes de utilizar o aparelho para se familiarizar com o funcionamento adequado e os procedimentos de controlo da qualidade.

#### COMO EFETUAR A VERIFICAÇÃO DO SISTEMA E A CALIBRAÇÃO DO DISCO

Sempre que ligar o Analizador Nexus IB10, o sistema realiza uma verificação automática. O código QR em cada disco de teste contém informações para a calibração do disco, as quais o Analizador lê automaticamente ao executar um teste.

#### EXECUÇÃO DO CQ COM CONTROLOS EXTERNOS

O fabricante recomenda o uso de Controlos de Proencefalina disponíveis no mercado (consulte a secção **Materiais/equipamentos necessários, mas não fornecidos**). Verifique se os controlos de Proencefalina são manuseados e preparados de acordo com as respetivas Instruções de Utilização (IU).

1. Remova uma embalagem de teste fechada do frigorífico e coloque-a à temperatura ambiente (19 °C a 25 °C/66 °F a 77 °F) durante pelo menos 15 minutos antes do teste.
2. Abra a embalagem e remova o disco de teste.
3. Coloque o disco de teste numa superfície nivelada.
4. No Analizador Nexus IB10, prima **New Analysis** (Nova análise).
5. O Analizador faz uma verificação geral do sistema.
6. Introduza o ID do controlo externo manualmente (é possível utilizar até 20 caracteres para o ID) ou introduza o ID do controlo externo usando o leitor de códigos de barras.
7. Antes de proceder à recolha da amostra, agite o frasco do controlo de qualidade externo, invertendo-o suavemente várias vezes.
8. **Analisar amostras de controlo externo no IB10 sphingotest® penKid®**
  - Utilizando uma pipeta de precisão (fixa ou ajustada para 500 µL), extraia lentamente a amostra bem misturada do controlo de qualidade externo para dentro da ponta da pipeta.
  - Posicionando a ponta afunilada da pipeta num ângulo de 45°, perfure o **X** no ponto vermelho para expor a entrada do canal de amostra.
  - Empurre lentamente a amostra do controlo externo para a entrada aplicando força mínima, mas contínua, no êmbolo da pipeta.
  - Empurre a amostra até ao primeiro ponto de paragem da pipeta, num ritmo que permita que o fluido preencha totalmente o canal e que elimine qualquer pressão de retorno que possa resultar em salpicos da amostra ou na introdução de bolhas de ar.
  - Prima **QC** no ecrã do Analizador Nexus IB10.
  - Quando a bandeja se abrir, insira o disco de teste preenchido na bandeja e prima **Run** (Executar).
  - A bandeja fecha-se e executa uma verificação da validade do disco.
  - Aparece um ecrã para a seleção de materiais de controlo da qualidade (consulte a secção **Definições do controlo da qualidade do Manual do Utilizador do Analizador Nexus IB10** para saber como atualizar o material de controlo da qualidade [controlos externos]).
  - Selecione o material de controlo da qualidade a ser testado.
  - Prima **OK** no ecrã do Analizador Nexus IB10.
  - Num período de 20 minutos, o Analizador Nexus IB10 apresenta os resultados no ecrã.
  - Os resultados são impressos automaticamente (caso essa opção seja selecionada durante a Configuração) ou prima **Print** (Imprimir).
  - Quando o teste tiver terminado, analise e compare o resultado com o Valor Esperado indicado nas instruções de utilização do controlo externo para saber o nível de controlo externo em causa, conforme medido usando o IB10 sphingotest® penKid®.
  - Retire o disco de teste e descarte-o no recipiente apropriado.
  - Se o resultado do controlo externo estiver fora do intervalo esperado, consulte a secção “Controlo da qualidade” abaixo.

*Observação: Se a execução do teste for cancelada antes da apresentação de um resultado, o disco de teste não poderá ser reutilizado e deverá ser descartado de forma adequada.*

## ANALISAR AMOSTRAS DE PACIENTES NO ANALISADOR NEXUS IB10

1. Remova uma embalagem de teste fechada do frigorífico e coloque-a à temperatura ambiente (19 °C a 25 °C/66 °F a 77 °F) durante pelo menos 15 minutos.
2. Abra a embalagem e remova o disco de teste.
3. Coloque o disco de teste numa superfície nivelada.
4. No Analisador Nexus IB10, prima **New Analysis** (Nova análise).
5. O Analisador faz uma verificação geral do sistema.
6. Introduza o ID do paciente manualmente (é possível utilizar até 20 caracteres para o ID) ou introduza o ID do paciente usando o leitor de códigos de barras.
7. Antes de proceder ao teste, agite o tubo de amostra de sangue total do paciente, invertendo-o suavemente várias vezes.

### 8. Analisar amostras de pacientes no IB10 sphingotest® penKid®

- Utilizando uma pipeta de precisão (fixa ou ajustada para 500 µL), extraia lentamente a amostra bem misturada do paciente para dentro da ponta da pipeta.
- Posicionando a ponta afunilada da pipeta num ângulo de 45°, perfure o **X** no ponto vermelho para expor a entrada do canal de amostra.
- Empurre lentamente a amostra do paciente para a entrada aplicando força mínima, mas contínua, no êmbolo da pipeta.
- Empurre a amostra até ao primeiro ponto de paragem da pipeta, num ritmo que permita que o fluido preencha totalmente o canal e que elimine qualquer pressão de retorno que possa resultar em salpicos da amostra ou na introdução de bolhas de ar.
- Prima **OK** no ecrã do Analisador Nexus IB10.
- Quando a bandeja se abrir, insira o disco de teste preenchido na bandeja e prima **Run** (Executar).
- Num período de 20 minutos, o Analisador Nexus IB10 apresenta os resultados no ecrã.
- Os resultados são impressos automaticamente (caso essa opção seja selecionada durante a Configuração) ou prima **Print** (Imprimir).
- Retire o disco de teste e descarte-o no recipiente apropriado.

*Observação: Se a execução do teste for cancelada antes da apresentação de um resultado, o disco de teste não poderá ser reutilizado e deverá ser descartado de forma adequada.*

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O intervalo de concentrações de Proencefalina reportadas pelo Analisador Nexus IB10 é de 50 pmol/L a 500 pmol/L. Os resultados abaixo ou acima desse intervalo são apresentados como “<50 pmol/L” ou “>500 pmol/L”, respetivamente.

## Controlo da qualidade

### CONTROLOS EXTERNOS

As boas práticas laboratoriais incluem o uso de controlos externos para garantir o correto desempenho dos testes. Recomenda-se que, antes de se usar um novo lote do IB10 sphingotest® penKid®, o desempenho do lote seja confirmado por meio de testes com controlos externos (consulte a secção **Materiais/equipamentos necessários, mas não fornecidos**) para garantir que o teste forneça o resultado correto. A frequência dos testes de controlo da qualidade deve ser determinada de acordo com os procedimentos padrão de controlo da qualidade de cada laboratório. Após a confirmação dos resultados esperados, os discos de teste estarão prontos para uso com amostras de pacientes. Os controlos também devem ser usados sempre que a validade dos resultados do teste for questionável. Se os controlos externos não funcionarem conforme esperado, não utilize o IB10 sphingotest® penKid® e entre em contacto com o distribuidor da sua região para obter assistência técnica.

### CONTROLO INTERNO

Cada IB10 sphingotest® penKid® tem um controlo de procedimento positivo integrado. O Analisador Nexus IB10 determina automaticamente a presença desse controlo, confirmando, dessa forma, que a execução do teste forneceu um resultado válido. Se o controlo não for constatado ou não for reconhecido pelo Analisador, o resultado do teste será considerado “inválido” e o teste deverá ser repetido.

## LIMITAÇÕES

O resultado do teste deve ser avaliado e interpretado em conjunto com o histórico médico, os sintomas e outras informações clínicas do paciente. Como acontece com qualquer teste que utilize anticorpos de ratinhos, existe a possibilidade de interferência causada por anticorpos heterofílicos na amostra.<sup>19,20</sup> As amostras de indivíduos que tenham sido regularmente expostos a animais ou que tenham sido tratados com produtos de origem animal podem conter esses anticorpos.

Outras substâncias e/ou fatores não listados, por exemplo, erro técnico ou de procedimento, podem interferir no teste e gerar resultados imprecisos.

*A Nexus Dx, Inc. oferece produtos para o respetivo uso pretendido. Consulte a literatura específica do produto para saber as indicações de uso pretendido de cada produto. As descrições do produto estão sujeitas a alterações. As garantias expressas ou implícitas da Nexus Dx, Inc. (incluindo as garantias implícitas de comercialização e adequação) estão condicionadas à adesão ou à observância das instruções publicadas da Nexus Dx, Inc. em relação ao uso dos produtos da Nexus Dx, Inc. Em circunstância alguma a Nexus Dx, Inc. será responsável por quaisquer danos diretos ou indiretos.*

Se necessitar de assistência técnica, contacte o seu distribuidor local.

## Características de desempenho

### INTERVALO DE MEDIÇÃO

O IB10 sphingotest<sup>®</sup> penKid<sup>®</sup> tem demonstrado ser capaz de fornecer resultados mensuráveis com níveis de Proencefalina de 50 pmol/L a 500 pmol/L.

### SENSIBILIDADE ANALÍTICA

O LoD (Limite de Detecção) do IB10 sphingotest<sup>®</sup> penKid<sup>®</sup> é de 50,0 pmol/L, determinado de acordo com a Diretriz Aprovada pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP17-A2.<sup>21</sup> A proporção de falsos positivos ( $\alpha$ ) e falsos negativos ( $\beta$ ) é inferior a 5 % (limite de branco = 21,5 pmol/L).

O LoQ (Limite de Quantificação) é a menor concentração de Proencefalina que pode ser medida de forma reprodutível com um coeficiente de variação total de 20% no máximo. Foi determinado como sendo 50,0 pmol/L.

### SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

As seguintes substâncias foram testadas quanto à potencial interferência com a medição da Proencefalina no IB10 sphingotest<sup>®</sup> penKid<sup>®</sup> com base nas Diretrizes Aprovadas pelo CLSI EP7-A2 e EP37 (Tabela 1).<sup>22-23</sup> Não foi observada qualquer interferência significativa na concentração máxima para as substâncias listadas na tabela abaixo.

Tabela 1.

Potenciais interferentes	Concentração máxima
Bilirrubina (Conjugada)	40 mg/dL
Bilirrubina (Livre)	60 mg/dL
Biotina	600 mg/mL
Colesterol	400 mg/dL
Citrato	16,3 mmol/L
Creatinina	15 mg/dL
Glicose	250 mg/dL
Hemoglobina	5 mg/dL
Heparina não fracionada	300 U/dL
Heparina fracionada	3 000 U/L
Anticorpo anti-ratinho humano (HAMA)	645 ng/mL
Fator reumatoide (FR)	1 500 IU/mL
Proteína Total	3 000 mg/dL
Triglicédeos	1 500 mg/dL
Ureia	120 mg/dL

## EFEITO GANCHO

Nenhum efeito gancho de dose elevada foi observado para concentrações de Proencefalina até 250 000 pmol/L.

## PRECISÃO

A precisão da medição de Proencefalina pelo IB10 sphingotest® penKid® foi determinada utilizando amostras em que a Proencefalina foi adicionada a plasma humano normal em três concentrações (Tabela 2). As precisões intra-execução e total foram determinadas através de duas execuções por dia, em réplicas de 4 por execução a cada nível de concentração durante um período de 20 dias para um número total de repetições de 160 a cada nível de concentração. As precisões intra-execução e total foram calculadas de acordo com a Diretriz Aprovada pelo CLSI EP05-A3.<sup>24</sup>

Tabela 2.

Amostra	Lote de teste	Média (pmol/l)	Precisão intra-execução		Precisão total	
			Desvio padrão (pmol/L)	CV (%)	Desvio padrão (pmol/L)	CV (%)
1	A	82,9	8,4	10,1%	9,4	11,4%
	B	80,1	8,0	10,0%	8,5	10,6%
2	A	203,0	19,0	9,4%	20,7	10,2%
	B	204,5	24,5	12,0%	25,0	12,2%

## CORRELAÇÃO SANGUE TOTAL Vs. PLASMA

Um estudo comparativo foi realizado utilizando amostras correspondentes de plasma com EDTA e de sangue total com EDTA. Ao realizar uma análise de regressão de Passing-Bablok que compara as concentrações de sangue total com as concentrações de plasma correspondentes de amostras do mesmo indivíduo (N=30), obteve-se um declive de 1,06 (IC 95 % = [0,83-1,17]), uma ordenada na origem de -9,3 pmol/L e um coeficiente de correlação de  $r = 0,96$ .

## COMPARAÇÃO DE MÉTODOS

Um estudo de equivalência foi realizado entre o IB10 sphingotest® penKid® usando o Analisador Nexus IB10 e o ensaio imunoluminométrico (ILMA) sphingotest® penKid®. Um total de 197 amostras foram analisadas dentro de um intervalo de concentrações de Proencefalina de 50,0 pmol/L a 497,9 pmol/L. A regressão de Passing-Bablok foi:

**IB10 sphingotest® penKid® = 0,93 x (sphingotest® penKid® ILMA) – 0,3 pmol/L**

**Coefficiente de correlação,  $r = 0,92$**

## REFERÊNCIAS

- Ernst A, Köhrlé J, Bergmann A. Proenkephalin A 119-159, a stable proenkephalin A precursor fragment identified in human circulation. *Peptides*. 2006;27: 1835-40.
- Donato LJ, Meeusen JW, Lieske JC, Bergmann D, Sparwasser A, Jaffe AS. Analytical performance of an immunoassay to measure proenkephalin. *Clin Biochem*. 2018;58: 72-77.
- Beunders R, Struck J, Wu AH, Zarbock A, Di Somma S, Mehta RL, Koyner JL, Nadim MK, Maisel AS, Murray PT, Neath SX, Jaffe AS, Pickkers P. Proenkephalin (PENK) as a novel biomarker for kidney function. *J Appl Lab Med*. 2017; DOI: 10.1373/jalm.2017.023598 400-12.
- Matsue Y, Ter Maaten JM, Struck J, Metra M, O'Connor CM, Ponikowski P, Teerlink JR, Cotter G, Davison B, Cleland JG, Givertz MM, Bloomfield DM, Ditttrich HC, van Veldhuisen DJ, van der Meer P, Damman K, Voors AA. Clinical correlates and prognostic value of proenkephalin in acute and chronic heart failure. *J Card Fail*. 2017;23: 231-39.
- Kieneker LM, Hartmann O, Struck J, Bergmann A, Gansevoort RT, Joosten MM, van den Berg E, de Boer RA, Bakker SJL. Plasma proenkephalin and poor long-term outcome in renal transplant recipients. *Transplant Direct*. 2017;3: e190.
- Leitje G, Beunders R, van Groenendal R, Peters E, Kox M, Pickkers P. Proenkephalin, the new marker for kidney function on the Intensive care unit? *Intensive Care Med Exp*. 2017;5 (Suppl 2): 51-52.
- Beunders R, Meekes M, Struck J, Pickkers P. Proenkephalin, a novel biomarker for kidney function, is earlier in detecting acute kidney injury compared to creatinine. *Intensive Care Med Exp*. 2019;7 (Suppl 3): 000960.
- Marino R, Struck J, Hartmann O, Maisel AS, Rehfeldt M, Magrini L, Melander O, Bergmann A, Di Somma S. Diagnostic and short-term prognostic utility of plasma pro-enkephalin (pro-ENK) for acute kidney injury in patients admitted with sepsis in the emergency

department. *J Nephrol.* 2015;28: 717-24.














9. Hollinger A, Wittebole X, Francois B, Pickkers P, Antonelli M, Gayat E, Chousterman BG, Lascarrou JB, Dugernier T, Di Somma S, Struck J, Bergmann A, Beishuizen A, Constatin JM, Damoiseil C, Deye N, Gaudry S, Huberlant V, Marx G, Mercier E, Oueslati H, Hartmann O, Sonnevile R, Laterre PF, Mebazaa A, Legrand M. Proenkephalin A 119-159 (Penkid) is an early biomarker of septic acute kidney injury: The Kidney in Sepsis and Septic Shock (Kid-SSS) study. *Kidney Int Rep.* 2018;3: 1424-33.
10. Gayat E, Cariou A, Deye N, Vieillard-Baron A, Jaber S, Damoiseil C, Lu Q, Monnet X, Rennuit I, Azoulay E, Leone M, Oueslati H, Guidet B, Friedman D, Tesniere A, Sonnevile R, Montravers P, Pili-Floury S, Lefrant JY, Duranteau J, Laterre PF, Brechot N, Chevreul K, Michel M, Cholley B, Legrand M, Launay JM, Vicaut E, Singer M, Resche-Rigon M, Mebazaa A. Determinants of long-term outcome in ICU survivors: results from the FROG-ICU study. *Crit Care.* 2018;22: 8.
11. Ng LL, Sandhu JK, Narayan H, Quinn PA, Squire IB, Davies JE, Bergmann A, Maisel A, Jones DJ. Proenkephalin and prognosis after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63: 280-9.
12. Shah KS, Taub P, Patel M, Rehfeldt M, Struck J, Clopton P, Mehta RL, Maisel AS. Proenkephalin predicts acute kidney injury in cardiac surgery patients. *Clin Nephrol.* 2015;83: 29-35.
13. Ng LL, Squire IB, Jones DJL, Cao TH, Chan DCS, Sandhu JK, Quinn PA, Davies JE, Struck J, Hartmann O, Bergmann A, Mebazaa A, Gayat E, Arrigo M, Akiyama E, Sabti Z, Lohrmann J, Twerenbold R, Herrmann T, Schumacher C, Kozhuharov N, Mueller C, and Great Network. Proenkephalin, renal dysfunction, and prognosis in patients with acute heart failure: A GREAT Network study. *J Am Coll Cardiol.* 2017;69: 56-69.
14. Breidthardt T, Jaeger C, Christ A, Klima T, Mosimann T, Twerenbold R, Boeddinghaus J, Nestelberger T, Badertscher P, Struck J, Bergmann A, Hartmann O, Kalbermatter S, Marenzi G, Mueller C. Proenkephalin for the early detection of acute kidney injury in hospitalized patients with chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest.* 2018: e12999.
15. Emmens JE, Ter Maaten JM, Damman K, van Veldhuisen DJ, de Boer RA, Struck J, Bergmann A, Sama IE, Streng KW, Anker SD, Dickstein K, Lang CC, Metra M, Samani NJ, Ng LL, Voors AA. Proenkephalin, an opioid system surrogate, as a novel comprehensive renal marker in heart failure. *Circ Heart Fail.* 2019;12: e005544.
16. Holaday, JW. Cardiovascular effects of endogenous opiate systems. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1983;23: 541-94.
17. Sezen, SF, Kenigs VA, Kapusta DR. Renal excretory responses produced by the delta opioid agonist, BW373U86, in conscious rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;287: 238-45.
18. Denning, GM, Ackermann LW, Barna TJ, Armstrong JG, Stoll LL, Weintraub NL, Dickson EW. Proenkephalin expression and enkephalin release are widely observed in non-neuronal tissues. *Peptides.* 2008;29: 83-92.
19. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45: 942-6.
20. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay Interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15: 108-15.
21. Pierson-Perry J, Vaks JE, Durham AP, et al. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP17-A2, Volume 32 Number 8, 2012.
22. McEnroe RJ, Burritt MF, Powers DM, et al. Interference testing in clinical chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2, Volume 25 Number 27, 2005.
23. McEnroe RJ, Dimeski G, Miller WG, et al. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI Document EP37, First Edition, 2018.
24. McEnroe RJ, Magari R, Durham PA, et al. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI Document EP05-A3, Volume 34 Number 13, 2014.



## penKid® IB10 sphingotest®

Para la determinación cuantitativa de proencefalina en sangre total y plasma con EDTA

### Explicación de los símbolos

	Marcado CE de conformidad
	Fabricante
	Número de catálogo
	Fecha de caducidad/Usar hasta
	Número de lote
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Consultar las instrucciones de uso
	Conservar entre 2 °C y 8 °C
	Representante europeo autorizado
	Contenido suficiente para <n> pruebas
	No volver a usar
	Número de serie
	Insertar el disco con la etiqueta hacia arriba

# penKid® IB10 sphingotest®

## Para uso de diagnóstico *in vitro*

### USO PREVISTO

La prueba de penKid® IB10 sphingotest® es un inmunoensayo rápido realizado en el centro de atención médica (CAM) para la determinación cuantitativa *in vitro* de la proencefalina A 119-159 en sangre total y plasma con EDTA. Esta prueba está destinada a su uso con el analizador Nexus IB10 y proporciona resultados cuantitativos en 20 minutos.

La prueba de penKid® IB10 sphingotest® está diseñada exclusivamente para uso profesional y solo debe utilizarse en los laboratorios centrales de los hospitales y en los entornos de atención alternativos, tales como servicios de urgencias, unidades de cuidados intensivos y otros centros donde se practiquen pruebas *in situ* al paciente.

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La prueba de penKid® IB10 sphingotest® mide de forma cuantitativa el nivel de proencefalina A 119-159 (proencefalina) que circula en el torrente sanguíneo. La proencefalina es un fragmento estable de la región media de la proencefalina A y se ha establecido como un marcador sanguíneo sustituto de los péptidos inestables de la encefalina que se derivan del mismo precursor.<sup>1,2</sup> La concentración en sangre de proencefalina es un marcador sustitutivo fiable de la verdadera tasa de filtración glomerular (TFG) y es muy dinámica, ya que refleja el empeoramiento y la mejora de la función renal hasta 2 días antes que el tratamiento de referencia.<sup>2-7</sup> A diferencia de la mayoría de los demás marcadores renales, la proencefalina no se ve afectada por la inflamación y otras comorbilidades, lo que la hace adecuada para la supervisión oportuna del estado real de los riñones en varias enfermedades agudas.<sup>3,8-10</sup> Ha demostrado ser aplicable en una serie de poblaciones, entre ellas, pacientes en estado crítico, sepsis, insuficiencia cardíaca, cirugía cardíaca, infarto agudo de miocardio, trasplante renal y pacientes con enfermedades renales crónicas.<sup>5,8-15</sup>

Por consiguiente, la medición de los niveles de proencefalina mediante la prueba de penKid® IB10 sphingotest® puede ayudar a los médicos a predecir y evaluar el empeoramiento de la función renal en tiempo real y a mejorar la estratificación de los riesgos y el tratamiento de los pacientes en los entornos de cuidados agudos. Los médicos deben usar los resultados del ensayo de penKid® IB10 sphingotest® junto con otros datos de laboratorio y signos clínicos, e interpretar los valores concretos del paciente en el contexto de su situación clínica.

### PROENCEFALINA

Las encefalinas son hormonas pentapéptidas de corta duración que se escinden proteolíticamente de la preproencefalina A y se co-liberan junto con fragmentos estables de prohormona, uno de los cuales es la proencefalina A 119-159 de 4,5 kDa (también descrita como proencefalina, pro-ENK y PENK).<sup>1</sup> Las encefalinas maduras son ligandos endógenos de los receptores de opioides y participan en diversos procesos fisiológicos como la señalización del dolor, la respuesta al estrés, la inflamación y la regulación cardiovascular con efectos natriuréticos y diuréticos en los riñones.<sup>3,16,17</sup> Las encefalinas y sus receptores se expresan en el sistema nervioso central y los órganos periféricos, y son muy abundantes en los riñones, por lo que es muy probable que tengan efectos estimulantes directos en ellos.<sup>3,18</sup> La proencefalina no interactúa con las proteínas plasmáticas y se filtra libremente a través del glomérulo, por lo que se ha demostrado que los niveles en sangre son un biomarcador funcional de la TFG.<sup>3</sup>

### PRINCIPIO

El sistema de inmunoquímica de Nexus IB10 combina la química con la microfluídica y el flujo centrífugo para preparar rápidamente un plasma sin células a partir de sangre total, el cual se puede pasar a continuación a través de un canal para rehidratarlo, solubilizarlo y mezclarlo con inmunoconjugados liofilizados. Utilizando una combinación de flujo activo y acción capilar, la muestra de la prueba se mide cuantitativamente en el plazo de 20 minutos con un nivel de señal óptica proporcional a la concentración de analitos.

Tras la adición de la muestra del paciente, toda la prueba se realiza en el analizador Nexus IB10, el cual controla la temperatura del disco, así como la secuencia de reacción, el flujo centrífugo, la mezcla, el tiempo de incubación, la medición de la señal final, la cuantificación y la presentación de resultados. El disco de prueba incluye un control interno positivo para garantizar el correcto funcionamiento de la prueba. Cada lote está calibrado para proporcionar la concentración de analitos exacta. Una etiqueta con código QR fijada en cada disco contiene información de calibración específica de cada lote junto con otra información, como la fecha de caducidad del lote. Se recomienda probar controles externos a intervalos de tiempo adecuados para confirmar que el rendimiento del sistema y del lote de prueba se encuentran dentro de los límites aceptables.

### REACTIVOS

La prueba de penKid® IB10 sphingotest® contiene todos los reactivos necesarios para evaluar el nivel de proencefalina, lo que incluye un anticuerpo anti-proencefalina monoclonal conjugado con tinte, anticuerpos anti-proencefalina monoclonales conjugados con biotina y estreptavidina inmovilizada en la zona de detección del disco.

## MATERIALES INCLUIDOS

Cada caja contiene lo siguiente:

- 10 discos de prueba de penKid® IB10 sphingotest®, cada uno de ellos sellado individualmente en una bolsa de aluminio con desecante.
- Instrucciones de uso (IDU).

## MATERIALES Y EQUIPOS NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

1. Analizador Nexus IB10, modelo n.º BCA-IB10.
2. Controles de proencefalina disponibles en el mercado para el control de calidad (CC) externo. **Póngase en contacto con el distribuidor de su zona** para recibir materiales de CC externo recomendados o asistencia técnica relacionada.
3. Pistola de pipeta calibrada reutilizable de volumen fijo o variable, de alta precisión y exactitud, capaz de suministrar 500 µl de sangre total o plasma.
4. Puntas de pipeta desechables capaces de admitir y suministrar 500 µl de sangre total o plasma.

## PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- Exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*.
- Siga atentamente las instrucciones de uso.
- Antes de analizar controles o muestras de pacientes, asegúrese de que el software del analizador está actualizado con la última versión. (Consulte el manual del analizador Nexus IB10 para obtener instrucciones específicas).
- Lleve guantes desechables cuando manipule las muestras.
- Manipule las muestras con cuidado. Las muestras y los discos de prueba usados deben tratarse como potencialmente infecciosos y deben desecharse como material biológico peligroso siguiendo las normativas locales.
- Lávese bien las manos después de la manipulación.
- El resultado obtenido de la prueba de penKid® IB10 sphingotest® no proporciona un diagnóstico definitivo y debe ser interpretado por un médico junto con otros resultados de pruebas de laboratorio, de acuerdo con las recomendaciones médicas actuales y los datos clínicos del paciente.
- Conserve el disco de prueba en la bolsa sellada hasta que esté listo para usarlo.
- No utilice el disco de prueba si la bolsa está dañada o el sello está roto.
- No utilice el disco de prueba después de la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
- Antes de usarlo, ponga la bolsa sin abrir a temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) durante al menos 15 minutos.
- Preste siempre atención a la limpieza cuando manipule el disco de prueba. Evite la contaminación de huellas digitales o sustancias extrañas. No contamine la entrada del canal para muestras.
- No deje caer ni dañe el disco de prueba.
- El disco de prueba debe introducirse con la etiqueta hacia arriba en la bandeja del analizador Nexus IB10 inmediatamente después de inyectar la muestra en el disco.
- No le dé la vuelta al disco.
- Esta es una prueba cuantitativa; por lo tanto, no debe realizarse ninguna interpretación visual de los resultados.

## ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Conserve el disco de la prueba de penKid® IB10 sphingotest® a una temperatura entre 2 y 8 °C (35 y 46 °F) hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
- La prueba de penKid® IB10 sphingotest® en su bolsa sellada es estable a una temperatura entre 18 y 30 °C (64 y 86 °F) durante 30 días, siempre y cuando no se supere la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

## RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

- La prueba de penKid® IB10 sphingotest® debe realizarse utilizando muestras de sangre total o plasma con EDTA.
- Se recomienda analizar las muestras lo antes posible tras su recogida.
- Las muestras de plasma deben mantenerse congeladas a una temperatura de -20 °C (-4 °F) o inferior, si se requiere un almacenamiento más prolongado.
- Espere a que las muestras alcancen la temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) antes de realizar la prueba.

## PROCEDIMIENTO

### Analizador Nexus IB10



#### Consulte el Manual del usuario del analizador Nexus IB10

Para obtener instrucciones completas sobre la instalación, puesta en marcha y uso del analizador, consulte el **Manual del usuario de Nexus IB10**. El operador debe consultar el manual del usuario antes de su uso para familiarizarse con el funcionamiento y los procedimientos de control de calidad adecuados.

### REALIZACIÓN DE LA COMPROBACIÓN DEL SISTEMA Y LA CALIBRACIÓN DEL DISCO

Cada vez que se enciende el analizador Nexus IB10, se realiza automáticamente un autochequeo. El código QR de cada disco de prueba contiene información para la calibración del disco que el analizador lee automáticamente cuando se ejecuta una prueba.

### EJECUCIÓN DEL CONTROL DE CALIDAD CON CONTROLES EXTERNOS

El fabricante recomienda el uso de controles de proencefalina disponibles en el mercado (consulte la sección **Materiales y equipos necesarios pero no incluidos**). Asegúrese de que los controles de proencefalina se manipulen y preparen de acuerdo con las instrucciones de uso (IDU) correspondientes.

1. Saque una bolsa de prueba cerrada del refrigerador y póngala a temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) durante al menos 15 minutos antes de realizar la prueba.
2. Abra la bolsa y saque el disco de prueba.
3. Coloque el disco de prueba sobre una superficie plana.
4. Pulse **New Analysis** (Nuevo análisis) en el analizador Nexus IB10.
5. El analizador llevará a cabo una comprobación general del sistema.
6. Introduzca el ID del control externo de forma manual (se pueden utilizar hasta 20 caracteres para el ID) o mediante el escáner de códigos de barras.
7. Mezcle el vial de control de calidad externo dándole la vuelta varias veces antes de analizar la muestra.
8. **Análisis de muestras de control externo con la prueba de penKid® IB10 sphingotest®**
  - Usando una pipeta de precisión (fija o ajustada en 500 µl), cargue lentamente una muestra bien mezclada de control de calidad externo en una punta de pipeta.
  - Colocando la punta cónica de la pipeta en un ángulo de 45°, perfora la **X** en el punto rojo para exponer la entrada del canal de muestras.
  - Exprima lentamente la muestra de control externo en la entrada aplicando una fuerza mínima, pero continua, en el émbolo de la pipeta.
  - Exprima la muestra hasta la primera parada de la pipeta, a una velocidad que permita que el fluido llene completamente el canal y elimine cualquier contrapresión que pueda producir salpicaduras de la muestra o introducir burbujas de aire.
  - En la pantalla del analizador Nexus IB10, pulse **QC** (CC).
  - Cuando se abra la bandeja, inserte el disco de prueba cargado en la bandeja y pulse **Run** (Ejecutar).
  - La bandeja se cerrará y realizará una comprobación de la validez del disco.
  - Aparece una pantalla para seleccionar los materiales de control de calidad (consulte la sección **Configuración del control de calidad del Manual del usuario del analizador Nexus IB10** para obtener información sobre cómo actualizar el material de control de calidad [controles externos]).
  - Seleccione el material de control de calidad que se va a probar.
  - En la pantalla del analizador Nexus IB10, pulse **OK** (Aceptar).
  - En el plazo de 20 minutos, el analizador Nexus IB10 mostrará los resultados en la pantalla.
  - Los resultados se imprimirán automáticamente (si se ha seleccionado esta opción durante la configuración) o al pulsar **Print** (Imprimir).
  - Cuando se complete la prueba, analice y compare el resultado con el valor esperado indicado en las instrucciones de uso del control externo correspondiente al nivel de control externo medido utilizando la prueba de penKid® IB10 sphingotest®.
  - Extraiga el disco de prueba y deséchelo en un recipiente adecuado.

- Si el resultado del control externo está fuera del rango esperado, consulte la sección Control de calidad más adelante.

*Atención: Si la prueba se cancela antes de que aparezca un resultado, el disco de prueba no podrá reutilizarse y deberá desecharse de forma adecuada.*

## ANÁLISIS DE MUESTRAS DE PACIENTES EN EL ANALIZADOR NEXUS IB10

1. Saque una bolsa de prueba cerrada del refrigerador y póngala a temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) durante al menos 15 minutos.
2. Abra la bolsa y saque el disco de prueba.
3. Coloque el disco de prueba sobre una superficie plana.
4. Pulse **New Analysis** (Nuevo análisis) en el analizador Nexus IB10.
5. El analizador llevará a cabo una comprobación general del sistema.
6. Introduzca el ID del paciente de forma manual (se pueden utilizar hasta 20 caracteres para el ID) o mediante el escáner de códigos de barras.
7. Mezcle el tubo con la muestra de sangre total del paciente invirtiéndolo suavemente varias veces antes de realizar el análisis.
8. **Análisis de muestras de pacientes con la prueba de penKid® IB10 sphingotest®**
  - Usando una pipeta de precisión (fija o ajustada en 500 µl) cargue lentamente una muestra bien mezclada del paciente en una punta de pipeta.
  - Colocando la punta cónica de la pipeta en un ángulo de 45°, perfora la **X** en el punto rojo para exponer la entrada del canal de muestras.
  - Exprima lentamente la muestra del paciente en la entrada aplicando una fuerza mínima, pero continua, en el émbolo de la pipeta.
  - Exprima la muestra hasta la primera parada de la pipeta, a una velocidad que permita que el fluido llene completamente el canal y elimine cualquier contrapresión que pueda producir salpicaduras de la muestra o introducir burbujas de aire.
  - En la pantalla del analizador Nexus IB10, pulse **OK** (Aceptar).
  - Cuando se abra la bandeja, inserte el disco de prueba cargado en la bandeja y pulse **Run** (Ejecutar).
  - En el plazo de 20 minutos, el analizador Nexus IB10 mostrará los resultados en la pantalla.
  - Los resultados se imprimirán automáticamente (si se ha seleccionado esta opción durante la configuración) o al pulsar **Print** (Imprimir).
  - Extraiga el disco de prueba y deséchelo en un recipiente adecuado.

*Atención: Si la prueba se cancela antes de que aparezca un resultado, el disco de prueba no podrá reutilizarse y deberá desecharse de forma adecuada.*

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El rango de concentraciones de proencefalina notificado por Nexus IB10 es de 50 pmol/ml a 500 pmol/ml. Los resultados por debajo o por encima de este rango se mostrarán como “< 50 pmol/l” o “> 500 pmol/l” respectivamente.

## Control de calidad

### CONTROLES EXTERNOS

Los principios de buenas prácticas de laboratorio incluyen el uso de controles externos para garantizar el rendimiento adecuado de la prueba. Antes de utilizar un nuevo lote o envío de pruebas de penKid® IB10 sphingotest®, se recomienda confirmar su rendimiento realizando pruebas con controles externos (consulte la sección **Materiales y equipos necesarios pero no incluidos**) para asegurarse de que la prueba producirá el resultado correcto. La frecuencia de las pruebas de control de calidad debe determinarse según los procedimientos estándar de control de calidad de cada laboratorio. Tras la confirmación de los resultados esperados, los discos de prueba están listos para su uso con muestras de pacientes. Los controles también deberían usarse en cualquier momento en que la validez de los resultados de la prueba sea cuestionable. Si los controles externos no funcionan como se espera, no utilice la prueba de penKid® IB10 sphingotest® y póngase en contacto con el distribuidor de su zona para obtener asistencia técnica.

### CONTROL INTERNO

Cada prueba de penKid® IB10 sphingotest® cuenta con un control de procedimiento positivo integrado. El analizador Nexus IB10 determina automáticamente la presencia de este control, confirmando así que la prueba ha producido un resultado válido. Si el control no se forma o no es reconocido por el analizador, el resultado de la prueba se considera “no válido” y la prueba debe repetirse.

### LIMITACIONES

El resultado de la prueba debe evaluarse e interpretarse junto con el historial médico del paciente, los síntomas y demás información clínica.

Como ocurre en cualquier ensayo que emplee anticuerpos murinos, existe la posibilidad de interferencias causadas por anticuerpos heterófilos en la muestra.<sup>19,20</sup> Las muestras de personas que han estado expuestas con regularidad a animales o que se han tratado con productos de origen animal pueden contener estos anticuerpos.

Otras sustancias o factores no indicados, como por ejemplo un error técnico o de procedimiento, pueden interferir en la prueba y generar resultados imprecisos.

*Nexus Dx, Inc. ofrece productos para un uso previsto. Consulte la documentación específica del producto para conocer las declaraciones de uso previsto de cada producto. Las especificaciones del producto pueden cambiar. Las garantías implícitas y expresas de Nexus Dx, Inc. (incluidas las garantías implícitas de comerciabilidad e idoneidad) dependen del respeto o cumplimiento de las indicaciones publicadas por Nexus Dx, Inc. con respecto al uso de los productos de Nexus Dx, Inc. Bajo ningún concepto Nexus Dx, Inc. será responsable de daños indirectos o consecuentes.*

Para recibir asistencia técnica, póngase en contacto con el distribuidor local.

## Características de rendimiento

### RANGO DE MEDICIÓN

Se ha demostrado que la prueba de penKid® IB10 sphingotest® proporciona resultados medibles en los niveles de proencefalina de 50 pmol/l a 500 pmol/l.

### SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El LoD (límite de detección) para la prueba de penKid® IB10 sphingotest® es de 50,0 pmol/l, y se determinó de acuerdo con la directriz EP17-A2 aprobada por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI).<sup>21</sup> La proporción de falsos positivos ( $\alpha$ ) y falsos negativos ( $\beta$ ) es inferior al 5 % (límite de blanco = 21,5 pmol/l).

El límite de cuantificación (Limit of Quantitation, LoQ) es la concentración de proencefalina más baja que se puede medir de forma reproducible con un coeficiente de variación total de un máximo del 20 %. Se determinó que este límite es de 50,0 pmol/l.

### Sustancias interferentes

Se analizaron las siguientes sustancias para determinar su posible interferencia en la medición de proencefalina en la prueba de penKid® IB10 sphingotest® según las directrices EP7-A2 y EP37 aprobadas por el CLSI (Tabla 1).<sup>22-23</sup> No se observó una interferencia significativa a la concentración máxima de las sustancias que se indican en la siguiente tabla.

Tabla 1.

Posibles sustancias interferentes	Concentración máxima
Bilirrubina (conjugada)	40 mg/dl
Bilirrubina (libre)	60 mg/dl
Biotina	600 mg/ml
Colesterol	400 mg/dl
Citrato	16,3 mmol/l
Creatinina	15 mg/dl
Glucosa	250 mg/dl
Hemoglobina	5 g/dl
Heparina no fraccionada	300 u/dl
Heparina fraccionada	3000 u/l
Anticuerpo antimurino humano (Human anti-mouse antibody, HAMA)	645 ng/ml
Factor reumatoide (FR)	1500 IU/ml
Proteína total	3000 mg/dl
Triglicéridos	1500 mg/dl
Urea	120 mg/dl

### EFFECTO DE GANCHO

No se observó el efecto de gancho de dosis altas en concentraciones de proencefalina de hasta 250 000 pmol/l.

## PRECISIÓN

La precisión de la medición de proencefalina con la prueba de penKid® IB10 sphingotest® se determinó utilizando muestras en las que se añadió penKid® a plasma humano normal en tres concentraciones (Tabla 2). Las precisiones dentro del ensayo y total se analizaron dos veces al día, en 4 repeticiones por análisis con cada nivel de concentración durante un período de 20 días, para obtener un número total de 160 repeticiones con cada nivel de concentración. Las precisiones dentro del ensayo y total se calcularon según la directriz EP05-A3 aprobada por el CLSI.<sup>24</sup>

Tabla 2.

Muestra	Lote de la prueba	Media (pmol/l)	Precisión dentro del ensayo		Precisión total	
			Desv. est. (pmol/l)	CV (%)	Desv. est. (pmol/l)	CV (%)
1	A	82,9	8,4	10,1 %	9,4	11,4 %
	B	80,1	8,0	10,0 %	8,5	10,6 %
2	A	203,0	19,0	9,4 %	20,7	10,2 %
	B	204,5	24,5	12,0 %	25,0	12,2 %

## CORRELACIÓN DE SANGRE TOTAL y PLASMA

Se realizó un estudio comparativo utilizando pares de muestras de sangre total con EDTA y plasma con EDTA. Al realizar un análisis de regresión de Passing-Bablok para comparar las concentraciones de sangre total frente a las concentraciones de plasma correspondientes de muestras del mismo sujeto (N = 30), se obtuvo una pendiente de 1,06 (I.C. 95 % = [0,83 - 1,17]), una intersección de -9,3 pmol/l y un coeficiente de correlación de  $r = 0,96$ .

## COMPARACIÓN DE MÉTODOS

Se realizó un estudio de equivalencia entre la prueba de penKid® IB10 sphingotest® utilizando el analizador Nexus IB10 y el ensayo inmunoluminométrico (ILMA) penKid® sphingotest®. Se analizaron un total de 197 muestras dentro del rango de concentración de proencefalina de 50,0 pmol/l a 497,9 pmol/l. La regresión de Passing-Bablok fue:

$$\text{penKid® IB10 sphingotest®} = 0,93 \times (\text{ILMA penKid® sphingotest®}) - 0,3 \text{ pmol/l}$$

**Coefficiente de correlación,  $r = 0,92$**

## REFERENCIAS

1. Ernst A, Köhrle J, Bergmann A. Proenkephalin A 119-159, a stable proenkephalin A precursor fragment identified in human circulation. *Peptides*. 2006;27: 1835-40.
2. Donato LJ, Meeusen JW, Lieske JC, Bergmann D, Sparwasser A, Jaffe AS. Analytical performance of an immunoassay to measure proenkephalin. *Clin Biochem*. 2018;58: 72-77.
3. Beunders R, Struck J, Wu AH, Zarbock A, Di Somma S, Mehta RL, Koyner JL, Nadim MK, Maisel AS, Murray PT, Neath SX, Jaffe AS, Pickkers P. Proenkephalin (PENK) as a novel biomarker for kidney function. *J Appl Lab Med*. 2017; DOI: 10.1373/jalm.2017.023598 400-12.
4. Matsue Y, Ter Maaten JM, Struck J, Metra M, O'Connor CM, Ponikowski P, Teerlink JR, Cotter G, Davison B, Cleland JG, Givertz MM, Bloomfield DM, Dittrich HC, van Veldhuisen DJ, van der Meer P, Damman K, Voors AA. Clinical correlates and prognostic value of proenkephalin in acute and chronic heart failure. *J Card Fail*. 2017;23: 231-39.
5. Kieneker LM, Hartmann O, Struck J, Bergmann A, Gansevoort RT, Joosten MM, van den Berg E, de Boer RA, Bakker SJL. Plasma proenkephalin and poor long-term outcome in renal transplant recipients. *Transplant Direct*. 2017;3: e190.
6. Leitje G, Beunders R, van Groenendal R, Peters E, Kox M, Pickkers P. Proenkephalin, the new marker for kidney function on the Intensive care unit? *Intensive Care Med Exp*. 2017;5 (Suppl 2): 51-52.
7. Beunders R, Meekes M, Struck J, Pickkers P. Proenkephalin, a novel biomarker for kidney function, is earlier in detecting acute kidney injury compared to creatinine. *Intensive Care Med Exp*. 2019;7 (Suppl 3): 000960.
8. Marino R, Struck J, Hartmann O, Maisel AS, Rehfeldt M, Magrini L, Melander O, Bergmann A, Di Somma S. Diagnostic and short-term prognostic utility of plasma pro-enkephalin (pro-ENK) for acute kidney injury in patients admitted with sepsis in the emergency department. *J Nephrol*. 2015;28: 717-24.
9. Hollinger A, Wittebole X, Francois B, Pickkers P, Antonelli M, Gayat E, Chousterman BG, Lascarrou JB, Dugernier T, Di Somma S, Struck J,

- Bergmann A, Beishuizen A, Constatin JM, Damoiseil C, Deye N, Gaudry S, Huberlant V, Marx G, Mercier E, Oueslati H, Hartmann O, Sonnevile R, Laterre PF, Mebazaa A, Legrand M. Proenkephalin A 119-159 (Penkid) is an early biomarker of septic acute kidney injury: The Kidney in Sepsis and Septic Shock (Kid-SSS) study. *Kidney Int Rep.* 2018;3: 1424-33.
10. Gayat E, Cariou A, Deye N, Vieillard-Baron A, Jaber S, Damoiseil C, Lu Q, Monnet X, Rennuit I, Azoulay E, Leone M, Oueslati H, Guidet B, Friedman D, Tesniere A, Sonnevile R, Montravers P, Pili-Floury S, Lefrant JY, Duranteau J, Laterre PF, Brechot N, Chevreul K, Michel M, Cholley B, Legrand M, Launay JM, Vicaut E, Singer M, Resche-Rigon M, Mebazaa A. Determinants of long-term outcome in ICU survivors: results from the FROG-ICU study. *Crit Care.* 2018;22: 8.
  11. Ng LL, Sandhu JK, Narayan H, Quinn PA, Squire IB, Davies JE, Bergmann A, Maisel A, Jones DJ. Proenkephalin and prognosis after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63: 280-9.
  12. Shah KS, Taub P, Patel M, Rehfeldt M, Struck J, Clopton P, Mehta RL, Maisel AS. Proenkephalin predicts acute kidney injury in cardiac surgery patients. *Clin Nephrol.* 2015;83: 29-35.
  13. Ng LL, Squire IB, Jones DJL, Cao TH, Chan DCS, Sandhu JK, Quinn PA, Davies JE, Struck J, Hartmann O, Bergmann A, Mebazaa A, Gayat E, Arrigo M, Akiyama E, Sabti Z, Lohrmann J, Twerenbold R, Herrmann T, Schumacher C, Kozhuharov N, Mueller C, and Great Network. Proenkephalin, renal dysfunction, and prognosis in patients with acute heart failure: A GREAT Network study. *J Am Coll Cardiol.* 2017;69: 56-69.
  14. Breidthardt T, Jaeger C, Christ A, Klima T, Mosimann T, Twerenbold R, Boeddinghaus J, Nestelberger T, Badertscher P, Struck J, Bergmann A, Hartmann O, Kalbermatter S, Marenzi G, Mueller C. Proenkephalin for the early detection of acute kidney injury in hospitalized patients with chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest.* 2018: e12999.
  15. Emmens JE, Ter Maaten JM, Damman K, van Veldhuisen DJ, de Boer RA, Struck J, Bergmann A, Sama IE, Streng KW, Anker SD, Dickstein K, Lang CC, Metra M, Samani NJ, Ng LL, Voors AA. Proenkephalin, an opioid system surrogate, as a novel comprehensive renal marker in heart failure. *Circ Heart Fail.* 2019;12: e005544.
  16. Holaday, JW. Cardiovascular effects of endogenous opiate systems. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1983;23: 541-94.
  17. Sezen, SF, Kenigs VA, Kapusta DR. Renal excretory responses produced by the delta opioid agonist, BW373U86, in conscious rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;287: 238-45.
  18. Denning, GM, Ackermann LW, Barna TJ, Armstrong JG, Stoll LL, Weintraub NL, Dickson EW. Proenkephalin expression and enkephalin release are widely observed in non-neuronal tissues. *Peptides.* 2008;29: 83-92.
  19. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45: 942-6.
  20. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay Interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15: 108-15.
  21. Pierson-Perry J, Vaks JE, Durham AP, et al. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP17-A2, Volume 32 Number 8, 2012.
  22. McEnroe RJ, Burritt MF, Powers DM, et al. Interference testing in clinical chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2, Volume 25 Number 27, 2005.
  23. McEnroe RJ, Dimeski G, Miller WG, et al. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI Document EP37, First Edition, 2018.
  24. McEnroe RJ, Magari R, Durham PA, et al. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI Document EP05-A3, Volume 34 Number 13, 2014.