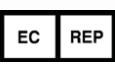


English

IB10 DPP3

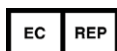
For the Quantitative Determination of
Dipeptidyl Peptidase 3 in EDTA Whole Blood and Plasma

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



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



022-00072 REV F

IB10 DPP3

For *In Vitro* Diagnostic Use

INTENDED USE

The IB10 DPP3 is a rapid point-of-care (POC) immunoassay for the *in vitro* quantitative determination of human dipeptidyl peptidase 3 (DPP3) in EDTA whole blood and plasma. DPP3 measurement in conjunction with clinical assessments and other laboratory findings is used as an aid in the prediction of short-term survival in patients with sepsis or septic shock. This Test is intended for use in conjunction with the Nexus IB10 Analyzer and provides quantitative results in 22 minutes.

The IB10 DPP3 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 POC sites where near patient testing is practiced.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

The IB10 DPP3 quantitatively measures the level of DPP3 circulating in the bloodstream.¹ DPP3 is a cytosolic enzyme which is released into the bloodstream upon cell death accruing in various acute care settings such as cardiogenic shock, acute myocardial infarction, sepsis, trauma and burns. Degradation of its substrates, including angiotensins and enkephalins, interrupts peptide hormone signaling pathways causing organ dysfunction.²⁻⁴ In cardiogenic shock patients, elevated circulating DPP3 is a myocardial depressant factor associated to organ dysfunction.⁵ Circulating DPP3 may early predict alteration of hemodynamics in cardiogenic shock patients and rapid normalization of circulating DPP3 levels on the first day indicate low rate of refractory shock and high survival.⁶

DIPEPIDYL PEPTIDASE III

Human dipeptidyl peptidase 3 (DPP3), also known as red cell angiotensinase, is a member of the M49 family of zinc-dependent metallopeptidases.⁷ DPP3 has a molecular mass of about 83 kDa and is ubiquitously expressed and highly conserved in prokaryotes and eukaryotes.⁸ DPP3 is detected in organ homogenates and several bodily fluids, such as blood plasma, retroplacental serum, seminal plasma, and cerebrospinal fluid.^{3,9-11} The enzyme cleaves various bioactive peptides, such as angiotensins, enkephalins, and endomorphins.⁸ The most prominent substrate of DPP3 is angiotensin II (Ang II), the main effector of the renin–angiotensin system (RAS), implicating extracellular DPP3 in the regulation of the RAS system.⁴ The RAS is activated in cardiovascular diseases, sepsis and septic shock and Ang II, in particular, has been shown to modulate many cardiovascular functions including the control of blood pressure and cardiac remodeling.¹²⁻¹⁵

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 in 22 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 DPP3 contains all required reagents to evaluate the level of DPP3 including dye-conjugated monoclonal anti-DPP3 antibody, biotin-conjugated monoclonal anti-DPP3 antibody and streptavidin immobilized at the detection area on the disc.

MATERIALS PROVIDED

Each box contains the following:

- IB10 DPP3 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 DPP3 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.
- **Check your Nexus IB10 Analyzer for the latest analyzer software before testing IB10 discs (Refer to the Nexus IB10 manual for specific instructions).**
- **Not updating the software can result in error message. Login or Register on the Nexus-DX website to access Customer Downloads (all 5 files are required for the software update).**
- 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 DPP3 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 DPP3 disc between 2 and 8 °C (35 and 46 °F) until the expiration date printed on the pouch is reached.
- The IB10 DPP3 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 DPP3 is to be run using EDTA whole blood or plasma samples.
- **It is recommended that EDTA whole blood is tested as soon as possible after blood draw or store it up to a maximum of 2 hours at room temperature (19 to 25 °C/66 to 77 °F) or 2-8°C (35-45 °F) until testing. If testing cannot be completed within 2 hours, the plasma should be separated and stored at -20 °C (- 4 °F) or lower until it can be tested.**
- Allow samples to equilibrate to room temperature (19 to 25 °C/66 to 77 °F) and mix gently 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 DPP3 Controls (please refer to section **Materials/Equipment Required But Not Provided**). Ensure that the DPP3 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 DPP3.

- 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.
- In 22 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 DPP3.
- 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 DPP3.

- 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**.
- In 22 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 DPP3 concentrations reported by the Nexus IB10 is 5 ng/mL to 150 ng/mL. Results below or above this range will be shown as "<5 ng/mL" or ">150 ng/mL", 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 DPP3, 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 DPP3 and contact the Distributor in your area for Technical Assistance.

INTERNAL CONTROL

The IB10 DPP3 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.

Hemolysis of whole blood from specimen collection, mishandling of blood, reaction to transfusion, certain disease conditions, or other variables may cause the destruction of red blood cells, releasing DPP3 into the sample and impacting test results. This could possibly generate false positive results.

As with any assay employing mouse antibodies, the possibility exists for interference by heterophilic antibodies in the sample.^{16,17} 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 DPP3 has been demonstrated to provide measurable results at DPP3 levels from 5 ng/mL to 150 ng/mL.

ANALYTICAL SENSITIVITY

The LoD (Limit of Detection) of the IB10 DPP3 is 5 ng/mL, determined according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Approved Guideline EP17-A2.¹⁸ The proportion of false positives (α) and false negatives (β) is less than 5% (limit of blank = 0.58 ng/mL). LoQ (Limit of Quantitation) is the lowest DPP3 concentration that can be reproducibly measured with a total coefficient of variation of at most 20%. It was determined to be 5 ng/mL.

INTERFERING SUBSTANCES

The following substances were tested for potential interference with DPP3 measurement in the IB10 DPP3 based on CLSI Approved Guideline EP7-A2 (Table 1).¹⁹ 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	800 µg/L
Cholesterol	400 mg/dL
Creatinine	2 mg/dL
Glucose	1000 mg/dL
Hemoglobin	0.5 g/dL
Heparin	3000 U/L
Rheumatoid factor (RF)	1500 IU/mL
Total Protein	6 g/dL
Triglycerides	3000 mg/dL
Urea	250 mg/dL

HOOK EFFECT

No high dose hook effect is observed for DPP3 concentrations up to 6000 ng/mL.

PRECISION

The precision of DPP3 measurement of the IB10 DPP3 was determined using samples where DPP3 was added to normal human plasma at two concentrations (Table 2). The within run and total precision was determined over a 20 day period consisting of 2 runs per day with 2 replicates per run, totaling to 80 replications for each concentration level. The within-run and total precision were calculated according to the CLSI Approved Guideline EP05-A3.²⁰

Table 2.

Sample	Test lot	Mean (ng/mL)	Within-Run Precision		Total Precision	
			Std. dev. (ng/mL)	CV (%)	Std. dev. (ng/mL)	CV (%)
1	A	44.82	2.96	6.6%	3.14	7.0%
	B	47.28	2.73	5.8%	2.85	6.0%
2	A	108.15	10.19	9.4%	10.91	10.1%
	B	110.28	9.31	8.4%	9.59	8.7%

WHOLE BLOOD Vs. PLASMA CORRELATION

A comparison study was performed using matching EDTA whole blood and EDTA plasma samples. When performing a Bland-Altman analysis comparing the whole blood concentrations versus the corresponding plasma concentrations from the same subject samples (N=58), a mean difference of 9.6% (95% C.I. = [6.3%-13.0%]), and a correlation coefficient of $r = 0.98$ were obtained.

REFERENCES

1. Rehfeld L, Funk E, Jha S, Macheroux P, Melander O, Bergmann A. Novel Methods for the Quantification of Dipeptidyl Peptidase 3 (DPP3) Concentration and Activity in Human Blood Samples. J Appl Lab Med. 2018. doi:10.1373/jalm.2018.027995.
2. Wattiaux R, Wattiaux-de Coninck S, Thirion J, Gasingirwa MC, Jadot M. Lysosomes and Fas-mediated liver cell death. Biochem J. 2007 Apr 1;403(1):89-95. PubMed PMID: 17129211; PubMed Central PMCID: PMC1828900.
3. Pang X, Shimizu A, Kurita S, Zankov DP, Takeuchi K, Yasuda-Yamahara M, et al. Novel therapeutic role for dipeptidyl peptidase III in the treatment of hypertension. Hypertension 2016;68:630–41.
4. Kumar P, Reithofer V, Reisinger M, Wallner S, Pavkov-Keller T, Macheroux P, Gruber K. Substrate complexes of human dipeptidyl peptidase III reveal the mechanism of enzyme inhibition. Sci Rep. 2016 Mar 30;6:23787. doi: 10.1038/srep23787. PubMed PMID: 27025154; PubMed Central PMCID: PMC4824452.
5. Deniau B, Rehfeld L, Santos K, Dienelt A, Azibani F, Sadoune M, Kounde PR, Samuel LS, Tolpannen H, Lassus J, Harjola VP, Vodovar N, Bergmann A, Hartmann O, Mebazaa A, Blet A. Circulating dipeptidyl peptidase-3 is a myocardial depressant factor: DPP3 inhibition rapidly and sustainably improves hemodynamics, European Journal of Heart Failure 2019, accepted.
6. Takagi K, Blet A, Levy B, Deniau B, Azibani F, Feliot E, Bergmann A, Santos K, Hartmann O, Gayat E, Mebazaa A, Kimmoun A. Circulating dipeptidyl-peptidase 3 and alteration in hemodynamics in cardiogenic shock: Results from the OptimaCC Trial, European Journal of Heart Failure 2019, accepted.
7. Information on EC 3.4.14.4 - dipeptidyl-peptidase III, BRENDA. (n.d.). <https://www.brenda->

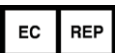
enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.4.14.4

8. Prajapati SC, Chauhan SS. Dipeptidyl peptidase III: a multifaceted oligopeptide N-end cutter. *FEBS J* 2011;278: 3256–76.
9. Shimamori Y, Watanabe Y, Fujimoto Y. Purification and characterization of dipeptidyl aminopeptidase III from human placenta. *Chem Pharm Bull* 1986;34:3333–40.
10. Vanha-Perttula T. Dipeptidyl peptidase III and alanyl aminopeptidase in the human seminal plasma: origin and biochemical properties. *Clin Chim Acta* 1988;177:179–95.
11. Aoyagi T, Wada T, Kojima F, Nagai M, Harada S, Takeuchi T, et al. Enzymatic changes in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer-type dementia. *J Clin Biochem Nutr* 1993;14:133–9.
12. Dostal DE, Hunt RA, Kule CE, Bhat GJ, Karoor V, McWhinney CD, et al. Molecular mechanisms of angiotensin II in modulating cardiac function: intracardiac effects and signal transduction pathways. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:2893–902.
13. Roks A, Buikema H, Pinto YM, van Gilst WH. The reninangiotensin system and vascular function: the role of angiotensin II, angiotensin- converting enzyme, and alternative conversion of angiotensin I. *Heart Vessels* 1997;Suppl 12:119–24.
14. Ferrario CM. Role of angiotensin II in cardiovascular disease—therapeutic implications of more than a century of research. *J Renin- Angiotensin-Aldosterone Syst* 2006;7:3–14.
15. Corrêa TD, Takala J, Jakob SM. Angiotensin II in septic shock. *Crit Care* 2015;19:98.
16. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45:942–6.
17. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay Interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15:108–15.
18. 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.
19. 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.
20. 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 DPP3

Für die quantitative Bestimmung von
Dipeptidylpeptidase 3 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 DPP3

Für die *In-vitro*-Diagnostik

VERWENDUNGSZWECK

Der IB10 DPP3 ist ein schneller patientennaher (Point-of-Care, POC) Immunoassay für die quantitative *In-vitro*-Bestimmung von humaner Dipeptidylpeptidase 3 (DPP3) in EDTA-Vollblut und Plasma. Die DPP3-Messung wird zusammen mit einer klinischen Beurteilung und anderen Laborbefunden als Hilfsmittel zur Vorhersage des kurzfristigen Überlebens bei Patienten mit Sepsis oder septischem Schock verwendet. Dieser Test ist für den Einsatz in Verbindung mit dem Nexus-IB10-Analysegerät vorgesehen und liefert quantitative Ergebnisse in nur 22 Minuten.

Der IB10 DPP3 ist nur für den professionellen Einsatz konzipiert und kann in Krankenhaus-Zentrallaboren und in anderen medizinischen Einrichtungen wie z. B. Notaufnahmen, Intensivstationen und sonstigen POC-Stellen, in denen patientennahe Tests durchgeführt werden, eingesetzt werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG DES TESTS

Der IB10 DPP3 misst quantitativ den im Blutkreislauf zirkulierenden Gehalt an DPP3.¹ DPP3 ist ein zytosolisches Enzym, das beim Zelltod, verursacht durch verschiedene, im Rahmen der Notfallversorgung auftretender Zustände, wie kardiogener Schock, akuter Myokardinfarkt, Sepsis, Trauma und Verbrennungen, in die Blutbahn abgegeben wird. Der Abbau der Substrate dieses Enzyms, einschließlich Angiotensine und Enkephaline, unterbricht deren Peptidhormon-Signalwege, was Organfehlfunktionen verursacht.²⁻⁴ Bei Patienten mit kardiogenem Schock stellt erhöhtes zirkulierendes DPP3 einen myokardial depressiven Faktor dar, der mit Organfunktionsstörungen verbunden ist.⁵ Zirkulierendes DPP3 kann bei Patienten mit kardiogenem Schock frühzeitig auf eine Veränderung der Hämodynamik hinweisen und eine schnelle Normalisierung der zirkulierenden DPP3-Spiegel am ersten Tag weisen auf eine niedrige Rate von refraktärem Schock und eine hohe Überlebensrate hin.⁶

DIPEPTIDYLPEPTIDASE 3

Die humane Dipeptidylpeptidase 3 (DPP3), auch bekannt als Erythrozyten-Angiotensinase, ist ein Mitglied der M49-Familie der zinkabhängigen Metallopeptidasen.⁷ DPP3 hat eine Molekülmasse von etwa 83 kDa, wird ubiquitär exprimiert und ist in Prokaryoten und Eukaryoten hochkonserviert.⁸ DPP3 kommt in Organhomogenaten und verschiedenen Körperflüssigkeiten wie Blutplasma, retroplazentarem Serum, Seminalplasma und Liquor vor.^{3,9-11} Das Enzym spaltet verschiedene bioaktive Peptide wie Angiotensine, Enkephaline und Endomorphine.⁸ Das bekannteste Substrat von DPP3 ist Angiotensin II (Ang II), der Haupteffektor des Renin-Angiotensin-Systems (RAS), wodurch extrazelluläres DPP3 mit der Regulation des RAS-Systems verknüpft ist.⁴ Das RAS wird bei Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Sepsis und septischem Schock aktiviert, und es wurde gezeigt, dass insbesondere Ang II viele Herz-Kreislauf-Funktionen einschließlich der Kontrolle des Blutdrucks und kardialen Remodellierung steuert.¹²⁻¹⁵

PRINZIP

Das immunochemische System des Nexus IB10 setzt auf ein chemisches Verfahren in Verbindung mit Mikrofluidik und einer Zentrifugalströmung, um in kürzester Zeit zellfreies Plasma aus Vollblut zu gewinnen, das dann durch einen Kanal zum Rehydrieren, Aufschließen und Vermischen mit gefriergetrocknetem Immunkonjugat geleitet wird. Die Probe wird innerhalb von 22 Minuten mithilfe aktiver Strömung und Kapillarwirkung vermessen, wobei das optische Signal der Analytkonzentration

proportional ist.

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 DPP3 enthält alle erforderlichen Reagenzien zur Bestimmung der DPP3 Konzentration, einschließlich farbstoffkonjugierter monoklonaler Anti-DPP3-Antikörper, biotinkonjugierter monoklonaler Anti-DPP3-Antikörper und Streptavidin, das im Detektionsbereich auf der Disk immobilisiert ist.

PACKUNGSGEHALT

Jede Packung enthält:

- IB10 DPP3-Disks, jeweils einzeln versiegelt in einem Folienbeutel mit Trockenmittel.
- Gebrauchsanweisung.

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN/AUSRÜSTUNG

1. Nexus-IB10-Analysegerät – Modell #BCA-IB10.
2. Handelsübliche DPP3-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.
- **Überprüfen Sie, ob auf Ihrem Nexus-IB10-Analysegerät die neueste Analysesoftware vorhanden ist, bevor Sie die Disks für den IB10 testen (genaue Anweisungen finden Sie im Benutzerhandbuch des Nexus IB10).**
- **Wenn Sie die Software nicht aktualisieren, kann dies zu einer Fehlermeldung führen. Loggen Sie sich auf der Nexus-DX-Website ein oder registrieren Sie sich, um auf die Kunden-Downloads zuzugreifen (alle 5 Dateien werden für das Software-Update benötigt).**
- 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 DPP3 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 DPP3-Disks bis zum Erreichen des auf dem Beutel aufgedruckten Verfallsdatums bei Temperaturen zwischen 2 und 8 °C (35 und 46 °F).
- Der IB10 DPP3 ist in seinem versiegelten Beutel bei Temperaturen zwischen 18 und 30 °C (64 und 86 °F) 30 Tage stabil, sofern das auf dem Beutel aufgedruckte Verfallsdatum nicht überschritten wird.

PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG

- Der IB10 DPP3 wird mit EDTA-Vollblut- oder Plasmaproben durchgeführt.
- **Es wird empfohlen, dass das EDTA-Vollblut so schnell wie möglich nach der Blutabnahme getestet oder höchstens 2 Stunden bis zum Test bei Raumtemperatur (19 bis 25 °C/66 bis 77 °F) oder 2–8 °C (35–46 °F) gelagert wird. Wenn der Test nicht innerhalb von 2 Stunden abgeschlossen werden kann, sollte das Plasma abgetrennt und bei -20 °C (-4 °F) oder niedriger gelagert werden, bis es getestet werden kann.**
- Die Proben vor dem Testen Raumtemperatur (19 bis 25 °C/66 bis 77 °F) erreichen lassen und vorsichtig mischen.

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 DPP3-Kontrollen (siehe Abschnitt **Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien/Ausrüstung**). Stellen Sie sicher, dass die DPP3-Kontrollen gemäß der entsprechenden Bedienungsanleitung 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 DPP3.

- 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.
- Nach 22 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 Gebrauchsanweisung der externen Kontrollen für den mit dem mit dem IB10 DPP3 gemessenen externen Kontrollspiegel angegeben wurde.
- 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 DPP3.

- 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.
- Nach 22 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 angegebenen DPP3-Konzentrationen liegt bei 5 ng/ml bis 150 ng/ml. Ergebnisse unterhalb oder oberhalb dieses Bereichs werden als „<5 ng/ml“ bzw. „>150 ng/ml“ angezeigt.

Qualitätskontrolle

EXTERNE KONTROLLEN

Zur guten Laborpraxis gehört die Verwendung externer Kontrollen, um eine ordnungsgemäße Testdurchführung sicherzustellen. Es wird empfohlen, vor der Verwendung einer neuen Charge oder Lieferung von IB10 DPP3 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 Qualitätskontrollprüfungen sollte nach den individuellen laborüblichen Qualitätskontrollverfahren festgelegt werden. Nach Bestätigung der erwarteten Ergebnisse sind die Testdisks für die Verwendung mit Patientenproben bereit. Kontrollen sollten auch immer dann eingesetzt werden, wenn die Gültigkeit der Testergebnisse fragwürdig ist. Wenn externe Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse liefern, verwenden Sie den IB10 DPP3 nicht und wenden Sie sich an den Vertriebspartner in Ihrer Nähe, um technische Unterstützung zu erhalten.

INTERNE KONTROLLE

Der IB10 DPP3 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 Kontrollergebnisse vom Erwartungswert abweichen oder die Kontrolle vom Analysegerät nicht erkannt wird, gilt das Testergebnis als „ungültig“ 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.

Durch Hämolyse von Vollblut bei der Probenahme, fehlerhafte Handhabung der Blutprobe, Reaktion auf Transfusionen, bestimmte Krankheitszustände oder andere Variablen, welche eine Zerstörung von roten Blutkörperchen verursachen, kann DPP3 in die Probe gelangen und die Testergebnisse beeinflussen. Dies könnte möglicherweise zu falsch-positiven Resultaten führen.

Wie bei jedem Assay mit Mausantikörpern besteht die Möglichkeit der Interferenz durch heterophile Antikörper in der Probe.^{16,17} Proben von Personen, die regelmäßig Tieren ausgesetzt waren oder mit tierischen Produkten 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 DPP3 liefert nachweislich messbare Ergebnisse bei DPP3-Werten von 5 ng/ml bis 150 ng/ml.

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Die LoD (Limit of Detection, Nachweisgrenze) des IB10 DPP3 beträgt 5 ng/ml, die nach der vom Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) genehmigten Richtlinie EP17-A2 bestimmt wurde.¹⁸ Der Anteil von falsch-positiven Ergebnissen (α) und falsch-negativen Ergebnissen (β) liegt unter 5 % (Blindwert = 0,58 ng/ml). Die LoQ (Bestimmungsgrenze, Limit of Quantitation) ist die niedrigste DPP3-Konzentration, die mit einem Gesamtvariationskoeffizienten von höchstens 20 % reproduzierbar gemessen werden kann. Es wurde ein Wert von 5 ng/ml ermittelt.

STÖRENDE SUBSTANZEN

Die folgenden Substanzen wurden auf mögliche Interferenzen mit der DPP3-Messung im IB10 DPP3 basierend auf der CLSI-zugelassenen Richtlinie EP7-A2 (Tabelle 1) getestet.¹⁹ Bei der maximal getesteten 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	800 µg/l
Cholesterin	400 mg/dl
Kreatinin	2 mg/dl

Potenzielle Störsubstanzen	Maximale Konzentration
Glukose	1000 mg/dl
Hämoglobin	0,5 g/dl
Heparin	3000 U/l
Rheumafaktor (RF)	1500 IU/ml
Gesamtprotein	6 g/dl
Triglyceride	3000 mg/dl
Harnstoff	250 mg/dl

HOOK-EFFEKT

Bei DPP3-Konzentrationen bis 6000 ng/ml ist kein High-Dose-Hook-Effekt zu beobachten.

PRÄZISION

Die Präzision der DPP3-Messung des IB10 DPP3 wurde mittels Proben bestimmt, bei denen DPP3 in zwei Konzentrationen in normales menschliches Plasma gegeben wurde (Tabelle 2). Die Präzision innerhalb eines Durchlaufs und die Gesamtpräzision wurden über einen Zeitraum von 20 Tagen ermittelt, mit 2 Durchläufen pro Tag, 2 Wiederholungen pro Durchlauf, was insgesamt 80 Wiederholungen für jede Konzentration ergibt. Die Präzision innerhalb eines Durchlaufs und die Gesamtpräzision wurden gemäß der CLSI-zugelassenen Richtlinie EP05-A3 berechnet.²⁰

Tabelle 2.

Probe	Test-charge	Mittelwert (ng/ml)	Präzision im Durchlauf		Gesamtpräzision	
			Std.-Abw. (ng/ml)	VK (%)	Std.-Abw. (ng/ml)	VK (%)
1	A	44,82	2,96	6,6 %	3,14	7,0 %
	B	47,28	2,73	5,8 %	2,85	6,0 %
2	A	108,15	10,19	9,4 %	10,91	10,1 %
	B	110,28	9,31	8,4 %	9,59	8,7 %

VERGLEICH VON VOLLBLUT GEGENÜBER PLASMA

Eine Vergleichsstudie wurde mit zueinander passenden EDTA-Vollblut- und EDTA-Plasmaproben durchgeführt. Bei einer Bland-Altman-Analyse, bei der Vollblutkonzentrationen und die entsprechenden Plasmakonzentrationen von den gleichen Probandenproben (N = 58) verglichen wurden, ergaben sich ein mittlerer Unterschied von 9,6 % (95 % KI = [6,3 %–13,0 %]) und ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,98$.

REFERENZEN

1. Rehfeld L, Funk E, Jha S, Macheroux P, Melander O, Bergmann A. Novel Methods for the Quantification of Dipeptidyl Peptidase 3 (DPP3) Concentration and Activity in Human Blood Samples. J Appl Lab Med. 2018. doi:10.1373/jalm.2018.027995.
2. Wattiaux R, Wattiaux-de Coninck S, Thirion J, Gasingirwa MC, Jadot M. Lysosomes and Fas-mediated liver cell death. Biochem J. 2007 Apr 1;403(1):89-95. PubMed PMID: 17129211; PubMed Central PMCID: PMC1828900.

3. Pang X, Shimizu A, Kurita S, Zankov DP, Takeuchi K, Yasuda-Yamahara M, et al. Novel therapeutic role for dipeptidyl peptidase III in the treatment of hypertension. *Hypertension* 2016;68:630–41.
4. Kumar P, Reithofer V, Reisinger M, Wallner S, Pavkov-Keller T, Macheroux P, Gruber K. Substrate complexes of human dipeptidyl peptidase III reveal the mechanism of enzyme inhibition. *Sci Rep*. 2016 Mar 30;6:23787. doi: 10.1038/srep23787. PubMed PMID: 27025154; PubMed Central PMCID: PMC4824452.
5. Deniau B, Rehfeld L, Santos K, Dienelt A, Azibani F, Sadoune M, Kounde PR, Samuel LS, Tolpannen H, Lassus J, Harjola VP, Vodovar N, Bergmann A, Hartmann O, Mebazaa A, Blet A. Circulating dipeptidyl peptidase-3 is a myocardial depressant factor: DPP3 inhibition rapidly and sustainably improves hemodynamics, *European Journal of Heart Failure* 2019, accepted.
6. Takagi K, Blet A, Levy B, Deniau B, Azibani F, Feliot E, Bergmann A, Santos K, Hartmann O, Gayat E, Mebazaa A, Kimmoun A. Circulating dipeptidyl-peptidase 3 and alteration in hemodynamics in cardiogenic shock: Results from the OptimaCC Trial, *European Journal of Heart Failure* 2019, accepted.
7. Information on EC 3.4.14.4 - dipeptidyl-peptidase III, BRENDA. (n.d.). <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.4.14.4>
8. Prajapati SC, Chauhan SS. Dipeptidyl peptidase III: a multifaceted oligopeptide N-end cutter. *FEBS J* 2011;278: 3256–76.
9. Shimamori Y, Watanabe Y, Fujimoto Y. Purification and characterization of dipeptidyl aminopeptidase III from human placenta. *Chem Pharm Bull* 1986;34:3333–40.
10. Vanha-Perttula T. Dipeptidyl peptidase III and alanyl aminopeptidase in the human seminal plasma: origin and biochemical properties. *Clin Chim Acta* 1988;177:179–95.
11. Aoyagi T, Wada T, Kojima F, Nagai M, Harada S, Takeuchi T, et al. Enzymatic changes in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer-type dementia. *J Clin Biochem Nutr* 1993;14:133–9.
12. Dostal DE, Hunt RA, Kule CE, Bhat GJ, Karoor V, McWhinney CD, et al. Molecular mechanisms of angiotensin II in modulating cardiac function: intracardiac effects and signal transduction pathways. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:2893–902.
13. Roks A, Buikema H, Pinto YM, van Gilst WH. The reninangiotensin system and vascular function: the role of angiotensin II, angiotensin- converting enzyme, and alternative conversion of angiotensin I. *Heart Vessels* 1997;Suppl 12:119–24.
14. Ferrario CM. Role of angiotensin II in cardiovascular disease—therapeutic implications of more than a century of research. *J Renin- Angiotensin-Aldosterone Syst* 2006;7:3–14.
15. Corrêa TD, Takala J, Jakob SM. Angiotensin II in septic shock. *Crit Care* 2015;19:98.
16. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45:942-6.
17. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay Interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15:108-15.
18. 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.
19. 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.
20. 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 DPP3

Pour la mesure quantitative de la
Dipeptidyl Peptidase 3 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 DPP3

Pour usage diagnostic *in vitro*

UTILISATION PREVUE

Le IB10 DPP3 est un dosage immunologique rapide hors laboratoire (POC) pour la mesure quantitative *in vitro* de la Dipeptidyl Peptidase 3 (DPP3) humaine dans du sang total ou du plasma traité à l'EDTA. La mesure de la DPP3, avec des évaluations cliniques et d'autres résultats de tests de laboratoire, est utilisée pour aider à prédire la survie à court terme des patients atteints de sepsis ou d'un choc septique. Ce test est conçu pour être utilisé avec l'analyseur Nexus IB10 et fournit des résultats quantitatifs en 22 minutes.

Le IB10 DPP3 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 d'autres centres POC où des tests sont réalisés au chevet des patients.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Le IB10 DPP3 permet la mesure quantitative du taux de DPP3 dans la circulation sanguine.¹ DPP3 est une enzyme cytosolique qui est libérée dans la circulation sanguine suite à la mort des cellules et augmente dans diverses situations de soins intensifs, par exemple en cas de choc cardiogénique, d'infarctus du myocarde aigu, de sepsis, de traumatisme ou de brûlures. La dégradation de ses substrats, y compris les angiotensines et les enképhalines, interrompt les voies de signalisation des hormones peptidiques et provoque un dysfonctionnement organique.²⁻⁴ Chez les patients souffrant d'un choc cardiogénique, l'élévation de la DPP3 circulante est un facteur de dépression myocardique associée à un dysfonctionnement organique.⁵ La DPP3 circulante peut prédire de manière précoce une modification de l'hémodynamique chez les patients souffrant de choc cardiogénique et une normalisation rapide des taux de DPP3 circulante au premier jour indique que le taux de choc réfractaire sera faible et la possibilité de survie élevée.⁶

LA DIPEPTIDYL PEPTIDASE III

La dipeptidyl peptidase 3 (DPP3), également connue sous le nom d'angiotensinase érythrocytaire, fait partie de la famille M49 des metallopeptidases zinc-dépendantes.⁷ La DPP3 a une masse moléculaire d'environ 83 kDa et est exprimée de manière universelle et hautement conservée chez les procaryotes et les eucaryotes.⁸ La DPP3 est détectée dans des homogénats d'organes et plusieurs liquides corporels, tels que le plasma sanguin, le sérum rétroplacentaire, le plasma séminal et le liquide cérébro-spinal.^{3,9-11} L'enzyme coupe divers peptides bioactifs, tels que les angiotensines, les enképhalines et les endomorphines.⁸ Le principal substrat de la DPP3 est l'angiotensine II (Ang II), principal effecteur du système rénine-angiotensine (SRA), impliquant ainsi la DPP3 extracellulaire dans la régulation du système SRA.⁴ Le SRA est activé dans les maladies cardiovasculaires, le sepsis et le choc septique, et il a été notamment montré que Ang II module de nombreuses fonctions cardiovasculaires y compris le contrôle de la pression artérielle et le remodelage cardiaque.¹²⁻¹⁵

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 22 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

L'IB10 DPP3 contient tous les réactifs nécessaires à l'évaluation de la concentration de DPP3, y compris un anticorps monoclonal anti-DPP3 conjugué à un chromogène, un anticorps monoclonal anti-DPP3 conjugué 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 :

- Disques d'IB10 DPP3, 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 DPP3 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.
- **Vérifier que votre analyseur Nexus IB10 contient la plus récente version du logiciel de l'analyseur avant de tester les disques IB10 (pour des consignes spécifiques, voir le manuel du Nexus IB10).**
- **Une version antérieure du logiciel pourrait entraîner des messages d'erreur. Ouvrir une session ou s'inscrire sur le site internet du Nexus DX pour accéder aux téléchargements du client (les 5 fichiers sont requis pour effectuer la mise à jour du logiciel).**
- 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

règlementations locales en matière de matériaux comportant des risques biologiques.

- Se laver soigneusement les mains après toute manipulation du produit.
- Le résultat obtenu grâce à l'IB10 DPP3 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 DPP3 entre 2 et 8 °C (35 et 46 °F) jusqu'à la date de péremption imprimée sur le sachet.
- Le test IB10 DPP3, 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 DPP3 doit utiliser des échantillons de sang total et de plasma humains traités à l'EDTA.
- **Il est recommandé d'analyser les échantillons de sang total traités à l'EDTA dès que possible après la prise de sang, ou de les conserver pendant 2 heures au maximum à température ambiante (19 à 25 °C/66 à 77 °F) ou entre 2 et 8 °C (35 et 46 °F) jusqu'à leur analyse. Si le test ne peut pas être effectué dans un délai de 2 heures, le plasma doit être séparé et conservé à -20 °C (-4 °F) ou à une température inférieure avant de pouvoir être testé.**
- 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 DPP3 disponibles dans le commerce (veuillez consulter le paragraphe **Matériel/équipement nécessaire non fourni**). S'assurer que les contrôles DPP3 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 DPP3.**
 - 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.
 - Au bout de 22 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 DPP3.

- 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 DPP3.

- 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).
- Au bout de 22 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 DPP3 rapportée par le Nexus IB10 est de 5 ng/ml à 150 ng/ml. Les résultats inférieurs ou supérieurs à cette plage sont respectivement indiqués comme suit : « < 5 ng/ml » ou « > 150 ng/ml » 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 DPP3, 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 DPP3 et contacter le distributeur local pour une assistance technique.

CONTROLE INTERNE

Le test IB10 DPP3 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. L'hémolyse du sang total prélevé, la mauvaise manipulation du spécimen de sang, une réaction à une transfusion, certaines maladies ou encore d'autres variables peuvent causer la destruction des globules rouges, ce qui va libérer la DPP3 dans l'échantillon et affecter le résultat. Cela pourrait générer des résultats faux positifs.

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.^{16,17} 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 DPP3 fournit des résultats mesurables pour des concentrations de DPP3 allant de 5 ng/ml à 150 ng/ml.

SENSIBILITE ANALYTIQUE

La limite de détection (LD) du test IB10 DPP3 est de 5 ng/ml, établie conformément à la directive approuvée EP17-A2 du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).¹⁸ La proportion de faux positifs (α) et faux négatifs (β) est inférieure à 5 % (limite échantillon blanc = 0,58 ng/ml). La LdQ (Limite de quantification) est la concentration de DPP3 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 5 ng/ml.

SUBSTANCES PROVOQUANT DES INTERFERENCES

Les substances suivantes ont été testées pour évaluer les interférences avec les mesures de DPP3 dans le test IB10 DPP3 conformément à la directive EP7-A2 du CLSI (tableau 1).¹⁹ 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	800 µg/l
Cholestérol	400 mg/dl
Créatinine	2 mg/dl
Glucose	1 000 mg/dl
Hémoglobine	0,5 g/dl
Héparine	3 000 U/l
Facteur rhumatoïde (FR)	1 500 UI/ml
Protéines totales	6 g/dl
Triglycérides	3 000 mg/dl
Urée	250 mg/dl

EFFET CROCHET

Aucun effet crochet à forte dose n'a été observé pour les concentrations de DPP3 allant jusqu'à 6 000 ng/ml.

PRECISION

La précision du test IB10 DPP3 a été déterminée à l'aide d'échantillons dans lesquels deux concentrations différentes de DPP3 ont été ajoutées à du plasma humain normal (tableau 2). La précision intra-série et la précision totale ont été calculées sur deux séries de tests par jour, en 2 exemplaires par série sur une période de 20 jours, pour un nombre total de 80 répétitions à chaque concentration. La précision intra-série et la précision totale ont été calculées conformément à la directive EP05-A3 approuvée du CLSI.²⁰

Tableau 2.

Échantillon	Lot de test	Moyenne (ng/ml)	Précision intra-série		Précision totale	
			Écart-type (ng/ml)	CV (%)	Écart-type (ng/ml)	CV (%)
1	A	44,82	2,96	6,6 %	3,14	7,0 %
	B	47,28	2,73	5,8 %	2,85	6,0 %
2	A	108,15	10,19	9,4 %	10,91	10,1 %
	B	110,28	9,31	8,4 %	9,59	8,7 %

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 Bland-Altman comparant les concentrations pour le sang total, par rapport aux concentrations correspondantes pour le plasma, sur les échantillons des mêmes sujets (N = 58) produit une différence moyenne de 9,6 % (IC à 95 % = [6,3-13,0 %]) et un coefficient de corrélation $r = 0,98$.

BIBLIOGRAPHIE

1. Rehfeld L, Funk E, Jha S, Macheroux P, Melander O, Bergmann A. Novel Methods for the Quantification of Dipeptidyl Peptidase 3 (DPP3) Concentration and Activity in Human Blood Samples. J Appl Lab Med. 2018. doi:10.1373/jalm.2018.027995
2. Wattiaux R, Wattiaux-de Coninck S, Thirion J, Gasingirwa MC, Jadot M. Lysosomes and Fas-mediated liver cell death. Biochem J. 2007 Apr 1;403(1):89-95. PubMed PMID: 17129211; PubMed Central PMCID: PMC1828900.
3. Pang X, Shimizu A, Kurita S, Zankov DP, Takeuchi K, Yasuda-Yamahara M, et al. Novel therapeutic role for dipeptidyl peptidase III in the treatment of hypertension. Hypertension 2016;68:630–41.
4. Kumar P, Reithofer V, Reisinger M, Wallner S, Pavkov-Keller T, Macheroux P, Gruber K. Substrate complexes of human dipeptidyl peptidase III reveal the mechanism of enzyme inhibition. Sci Rep. 2016 Mar 30;6:23787. doi: 10.1038/srep23787. PubMed PMID: 27025154; PubMed Central PMCID: PMC4824452.
5. Deniau B, Rehfeld L, Santos K, Dienelt A, Azibani F, Sadoune M, Kounde PR, Samuel LS, Tolpannen H, Lassus J, Harjola VP, Vodovar N, Bergmann A, Hartmann O, Mebazaa A, Blet A. Circulating dipeptidyl peptidase-3 is a myocardial depressant factor: DPP3 inhibition rapidly and sustainably

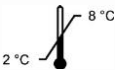
improves hemodynamics, *European Journal of Heart Failure* 2019, accepted.

6. Takagi K, Blet A, Levy B, Deniau B, Azibani F, Feliot E, Bergmann A, Santos K, Hartmann O, Gayat E, Mebazaa A, Kimmoun A. Circulating dipeptidyl-peptidase 3 and alteration in hemodynamics in cardiogenic shock: Results from the OptimaCC Trial, *European Journal of Heart Failure* 2019, accepted.
7. Information on EC 3.4.14.4 - dipeptidyl-peptidase III, BRENDA. (n.d.). <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.4.14.4>
8. Prajapati SC, Chauhan SS. Dipeptidyl peptidase III: a multifaceted oligopeptide N-end cutter. *FEBS J* 2011;278: 3256–76.
9. Shimamori Y, Watanabe Y, Fujimoto Y. Purification and characterization of dipeptidyl aminopeptidase III from human placenta. *Chem Pharm Bull* 1986;34:3333–40.
10. Vanha-Perttula T. Dipeptidyl peptidase III and alanyl aminopeptidase in the human seminal plasma: origin and biochemical properties. *Clin Chim Acta* 1988;177:179–95.
11. Aoyagi T, Wada T, Kojima F, Nagai M, Harada S, Takeuchi T, et al. Enzymatic changes in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer-type dementia. *J Clin Biochem Nutr* 1993;14:133–9.
12. Dostal DE, Hunt RA, Kule CE, Bhat GJ, Karoor V, McWhinney CD, et al. Molecular mechanisms of angiotensin II in modulating cardiac function: intracardiac effects and signal transduction pathways. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:2893–902.
13. Roks A, Buikema H, Pinto YM, van Gilst WH. The reninangiotensin system and vascular function: the role of angiotensin II, angiotensin- converting enzyme, and alternative conversion of angiotensin I. *Heart Vessels* 1997;Suppl 12:119–24.
14. Ferrario CM. Role of angiotensin II in cardiovascular disease—therapeutic implications of more than a century of research. *J Renin- Angiotensin-Aldosterone Syst* 2006;7:3–14.
15. Corrêa TD, Takala J, Jakob SM. Angiotensin II in septic shock. *Crit Care* 2015;19:98.
16. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45:942-6.
17. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay Interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15:108-15.
18. 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.
19. 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.
20. 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 DPP3

Per la determinazione quantitativa della
dipeptidil peptidasi 3 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 DPP3

Per uso diagnostico *in vitro*

USO PREVISTO

Il test IB10 DPP3 è un immunosaggio rapido per diagnostica decentrata (POC) che consente la determinazione quantitativa *in vitro* della dipeptidil peptidasi 3 (DPP3) umana in plasma e sangue intero EDTA. La misurazione della DPP3 in combinazione con valutazioni cliniche e altri risultati di laboratorio viene utilizzata come ausilio nella previsione della sopravvivenza a breve termine in pazienti con sepsi o shock settico. Questo test è destinato all'uso in combinazione con l'analizzatore Nexus IB10 e fornisce risultati quantitativi in 22 minuti.

Il test IB10 DPP3 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 POC nei quali si eseguono analisi di diagnostica decentrata.

RIEPILOGO E PRESENTAZIONE DEL TEST

Il test IB10 DPP3 esegue la misurazione quantitativa del livello di DPP3 che circola nel flusso sanguigno.¹ La DPP3 è un enzima citosolico rilasciato nel flusso sanguigno dopo la morte delle cellule che si accumulano in varie condizioni acute quali shock cardiogeno, infarto miocardico acuto, sepsi, traumi e ustioni. La degradazione dei suoi substrati, comprendenti angiotensine ed encefaline, interrompe i percorsi di segnalazione degli ormoni peptidici provocando disfunzioni organiche.²⁻⁴ Nei pazienti con shock cardiogeno, l'elevata quantità di DPP3 in circolo è un fattore sedativo del miocardio associato a disfunzione dell'organo.⁵ La presenza di DPP3 in circolo può prevedere in modo precoce l'alterazione dell'emodinamica nei pazienti con shock cardiogeno; la rapida normalizzazione dei livelli di DPP3 in circolo nel corso del primo giorno è indice di un basso tasso di shock refrattario e di un'elevata probabilità di sopravvivenza.⁶

DIPEPTIDIL PEPTIDASI III

La dipeptidil peptidasi umana 3 (DPP3), nota anche come angiotensinasi degli eritrociti, è un membro della famiglia M49 di metallopeptidasi dipendenti dallo zinco.⁷ La DPP3 ha una massa molecolare di circa 83 kDa ed è ubiquitariamente espressa e altamente conservata in procarioti ed eucarioti.⁸ La DPP3 viene rilevata negli omogenati di organi e in diversi fluidi corporei, quali plasma sanguigno, siero retroplacentare, plasma seminale e liquido cerebrospinale.^{3,9-11} L'enzima scinde vari peptidi bioattivi, quali angiotensine, encefaline ed endomorfine.⁸ Il substrato più prominente di DPP3 è l'angiotensina II (Ang II), l'effettore principale del sistema renina-angiotensina (RAS); ciò implica l'uso della DPP3 extracellulare nella regolazione del sistema RAS.⁴ Il sistema RAS si attiva nelle malattie cardiovascolari, nella sepsi e nello shock settico; Ang II in particolare ha dimostrato di modulare molte funzioni cardiovascolari, tra cui il controllo della pressione sanguigna e il rimodellamento cardiaco.¹²⁻¹⁵

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 test è pronto per essere misurato quantitativamente in 22 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 DPP3 contiene tutti i reagenti occorrenti per valutare il livello di DPP3, compresi l'anticorpo monoclonale anti-DPP3 coniugato a colorante, l'anticorpo monoclonale anti-DPP3 coniugato a biotina e la streptavidina legata all'area di rilevamento sul disco.

MATERIALI FORNITI

Ogni scatola contiene quanto segue:

- Dischi del test IB10 DPP3, ciascuno sigillato 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 DPP3 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.
- **Controllare se è disponibile la versione più recente del software dell'analizzatore Nexus IB10 prima di analizzare i dischi IB10 (consultare il manuale di Nexus IB10 per istruzioni specifiche).**
- **Il mancato aggiornamento del software può generare un messaggio di errore. Accedere o registrarsi al sito Web Nexus-DX per accedere ai download per il cliente (per l'aggiornamento del software sono necessari tutti e 5 i file).**
- 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 DPP3 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 DPP3 a temperature comprese tra 2 e 8 °C (35 e 46 °F) fino alla data di scadenza stampata sulla busta.
- Il test IB10 DPP3 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 DPP3 è destinato all'uso con campioni di plasma o sangue intero EDTA.
- **Si consiglia di analizzare il sangue intero EDTA subito dopo il prelievo di sangue o di conservarlo per un massimo di 2 ore a temperatura ambiente (19-25 °C/66-77 °F) o a 2-8 °C (35-46 °F) fino al momento del test. Se non è possibile completare il test entro 2 ore, occorre separare il plasma e conservarlo a -20 °C (- 4 °F) o temperature inferiori fino al momento del test.**
- Attendere che i campioni raggiungano la temperatura ambiente (19-25 °C/66-77 °F) e mescolare delicatamente 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 DPP3 disponibili in commercio (consultare la sezione **Materiali/apparecchiature necessari ma non forniti**). Accertarsi che i controlli DPP3 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 DPP3.

- 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 22 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 DPP3.
- 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 DPP3.

- 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 22 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 DPP3 riportate dall'analizzatore Nexus IB10 sono comprese nell'intervallo da 5 ng/ml a 150 ng/ml. Risultati inferiori o superiori a questo intervallo saranno indicati rispettivamente

come "<5 ng/ml" o ">150 ng/ml".

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 DPP3, 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 DPP3 e contattare il distributore di zona per assistenza tecnica.

CONTROLLO INTERNO

Il test IB10 DPP3 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.

L'emolisi del sangue intero dal prelievo del campione, l'errato trattamento del sangue, una reazione alla trasfusione, alcune condizioni patologiche o altri variabili potrebbero causare la distruzione degli eritrociti, rilasciando la DPP3 nel campione e influenzando i risultati del test. Questa situazione potrebbe generare risultati falsi positivi.

Come con qualsiasi saggio che faccia uso di anticorpi murini, esiste la possibilità di interferenza da parte di anticorpi eterofili nel campione.^{16,17} 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 destinazioni 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 DPP3 è in grado di fornire risultati misurabili con livelli di DPP3 compresi fra 5 ng/ml e 150 ng/ml.

SENSIBILITÀ ANALITICA

Il limite di rilevabilità (LoD) per il test IB10 DPP3 è di 5 ng/ml, determinato secondo le linee guida approvate EP17-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).¹⁸ La proporzione di falsi positivi (α) e di falsi negativi (β) è inferiore al 5% (limite del bianco = 0,58 ng/ml). Il limite di quantificazione (LoQ) è la concentrazione più bassa di DPP3 misurabile in modo riproducibile con un coefficiente di variazione totale massimo del 20%. Tale limite è risultato pari a 5 ng/ml.

SOSTANZE INTERFERENTI

Sono state analizzate le seguenti sostanze per verificare la potenziale interferenza con la misurazione della DPP3 nel test IB10 DPP3 in base alle linee guida approvate EP7-A2 del CLSI (Tabella 1).¹⁹ 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	800 µg/l
Colesterolo	400 mg/dl
Creatinina	2 mg/dl
Glucosio	1000 mg/dl
Emoglobina	0,5 g/dl
Eparina	3000 U/l
Fattore reumatoide (FR)	1500 IU/ml
Proteine totali	6 g/dl
Trigliceridi	3000 mg/dl
Urea	250 mg/dl

EFFETTO GANCIO

Non è stato osservato alcun effetto gancio a dose elevata per concentrazioni di DPP3 fino a 6000 ng/ml.

PRECISIONE

La precisione di misurazione della DPP3 del test IB10 DPP3 è stata determinata utilizzando campioni in cui normale plasma umano è stato addizionato con DPP3 a due concentrazioni (Tabella 2). La precisione intra-analisi e totale è stata determinata in un periodo di 20 giorni che consiste di 2 test al giorno con 2 replicati per test, per un totale di 80 replicati per ciascun livello di concentrazione. I coefficienti di precisione intra-analisi e totali sono stati calcolati secondo le linee guida approvate EP05-A3 del CLSI.²⁰

Tabella 2.

Campione	Lotto	Media	Precisione intra-analisi	Precisione totale
----------	-------	-------	--------------------------	-------------------

	di test	(ng/ml)	Dev. std. (ng/ml)	CV (%)	Dev. std. (ng/ml)	CV (%)
1	A	44,82	2,96	6,6%	3,14	7,0%
	B	47,28	2,73	5,8%	2,85	6,0%
2	A	108,15	10,19	9,4%	10,91	10,1%
	B	110,28	9,31	8,4%	9,59	8,7%

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 di Bland-Altman volta a confrontare le concentrazioni di sangue intero rispetto alle corrispondenti concentrazioni di plasma dei campioni dello stesso paziente (N=58), sono stati determinati una differenza media di 9,6% (95% I.C. = [6,3%-13,0%]) e un coefficiente di correlazione di $r = 0,98$.

BIBLIOGRAFIA

1. Rehfeld L, Funk E, Jha S, Macheroux P, Melander O, Bergmann A. Novel Methods for the Quantification of Dipeptidyl Peptidase 3 (DPP3) Concentration and Activity in Human Blood Samples. J Appl Lab Med. 2018. doi:10.1373/jalm.2018.027995.
2. Wattiaux R, Wattiaux-de Coninck S, Thirion J, Gasingirwa MC, Jadot M. Lysosomes and Fas-mediated liver cell death. Biochem J. 2007 Apr 1;403(1):89-95. PubMed PMID: 17129211; PubMed Central PMCID: PMC1828900.
3. Pang X, Shimizu A, Kurita S, Zankov DP, Takeuchi K, Yasuda-Yamahara M, et al. Novel therapeutic role for dipeptidyl peptidase III in the treatment of hypertension. Hypertension 2016;68:630–41.
4. Kumar P, Reithofer V, Reisinger M, Wallner S, Pavkov-Keller T, Macheroux P, Gruber K. Substrate complexes of human dipeptidyl peptidase III reveal the mechanism of enzyme inhibition. Sci Rep. 2016 Mar 30;6:23787. doi: 10.1038/srep23787. PubMed PMID: 27025154; PubMed Central PMCID: PMC4824452.
5. Deniau B, Rehfeld L, Santos K, Dienelt A, Azibani F, Sadoune M, Kounde PR, Samuel LS, Tolpannen H, Lassus J, Harjola VP, Vodovar N, Bergmann A, Hartmann O, Mebazaa A, Blet A. Circulating dipeptidyl peptidase-3 is a myocardial depressant factor: DPP3 inhibition rapidly and sustainably improves hemodynamics, European Journal of Heart Failure 2019, accepted.
6. Takagi K, Blet A, Levy B, Deniau B, Azibani F, Feliot E, Bergmann A, Santos K, Hartmann O, Gayat E, Mebazaa A, Kimmoun A. Circulating dipeptidyl-peptidase 3 and alteration in hemodynamics in cardiogenic shock: Results from the OptimaCC Trial, European Journal of Heart Failure 2019, accepted.
7. Information on EC 3.4.14.4 - dipeptidyl-peptidase III, BRENDA. (n.d.). <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.4.14.4>
8. Prajapati SC, Chauhan SS. Dipeptidyl peptidase III: a multifaceted oligopeptide N-end cutter. FEBS J 2011;278: 3256–76.
9. Shimamori Y, Watanabe Y, Fujimoto Y. Purification and characterization of dipeptidyl aminopeptidase III from human placenta. Chem Pharm Bull 1986;34:3333–40.
10. Vanha-Perttula T. Dipeptidyl peptidase III and alanyl aminopeptidase in the human seminal plasma: origin and biochemical properties. Clin Chim Acta 1988;177:179–95.
11. Aoyagi T, Wada T, Kojima F, Nagai M, Harada S, Takeuchi T, et al. Enzymatic changes in

- cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer-type dementia. *J Clin Biochem Nutr* 1993;14:133–9.
12. Dostal DE, Hunt RA, Kule CE, Bhat GJ, Karoor V, McWhinney CD, et al. Molecular mechanisms of angiotensin II in modulating cardiac function: intracardiac effects and signal transduction pathways. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:2893–902.
 13. Roks A, Buikema H, Pinto YM, van Gilst WH. The reninangiotensin system and vascular function: the role of angiotensin II, angiotensin- converting enzyme, and alternative conversion of angiotensin I. *Heart Vessels* 1997;Suppl 12:119–24.
 14. Ferrario CM. Role of angiotensin II in cardiovascular disease—therapeutic implications of more than a century of research. *J Renin- Angiotensin-Aldosterone Syst* 2006;7:3–14.
 15. Corrêa TD, Takala J, Jakob SM. Angiotensin II in septic shock. *Crit Care* 2015;19:98.
 16. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45:942-6.
 17. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay Interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15:108-15.
 18. 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.
 19. 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.
 20. 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 DPP3

Para a determinação quantitativa de
Dipeptidil Peptidase 3 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 DPP3

Para utilização em diagnóstico *in vitro*

USO PRETENDIDO

O IB10 DPP3 é um imunoensaio rápido de ponto de tratamento para a determinação quantitativa *in vitro* da dipeptidil peptidase 3 humana (DPP3) no sangue total e plasma com EDTA. A medição de DPP3 em conjunto com avaliações clínicas e outros resultados laboratoriais é utilizada como uma ajuda na previsão da sobrevivência a curto prazo em pacientes com sépsis ou choque séptico. Este teste destina-se a ser utilizado com o Analisador Nexus IB10 e fornece resultados quantitativos em 22 minutos.

O IB10 DPP3 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 pontos de tratamento onde são praticados testes próximos ao paciente.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

O IB10 DPP3 mede quantitativamente o nível de DPP3 que circula na corrente sanguínea.¹ O DPP3 é uma enzima citosólica que é libertada na corrente sanguínea após a morte das células em vários cenários de cuidados agudos, tais como choque cardiogénico, enfarte agudo do miocárdio, sépsis, traumatismo e queimaduras. A degradação dos seus substratos, incluindo angiotensinas e encefalinas, interrompe as vias de sinalização da hormona péptida causando disfunções orgânicas.²⁻⁴ Em pacientes com choque cardiogénico, a elevada circulação de DPP3 é um fator depressor miocárdico associado ao mau funcionamento dos órgãos.⁵ O DPP3 circulante pode prever alterações precoces da hemodinâmica em pacientes com choque cardiogénico e a rápida normalização dos níveis de DPP3 circulante no primeiro dia indica uma baixa taxa de choque refratário e uma elevada sobrevivência.⁶

DIPEPIDIL PEPTIDASE III

A dipeptidil peptidase 3 (DPP3) humana, também conhecida como angiotensinase eritrocitária, é um membro da família M49 de metalopeptidases dependentes de zinco.⁷ A DPP3 tem uma massa molecular de cerca de 83 kDa e é ubícuamente expressa e altamente conservada em procariotas e eucariotas.⁸ A DPP3 é detetada em homogenatos de órgãos e vários fluidos corporais, tais como plasma sanguíneo, soro retroplacentário, plasma seminal e líquido cefalorraquidiano.^{3,9-11} A enzima corta vários peptídeos bioativos, tais como angiotensinas, encefalinas e endomorfina.⁸ O substrato mais proeminente da DPP3 é a angiotensina II (Ang II), o principal efector do sistema renina-angiotensina (RAS), implicando a DPP3 extracelular na regulação do sistema RAS.⁴ O RAS é ativado em doenças cardiovasculares, sépsis e choque séptico e a Ang II, em particular, tem demonstrado modular muitas funções cardiovasculares, incluindo o controlo da pressão arterial e a remodelação cardíaca.¹²⁻¹⁵

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 em 22 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 DPP3 contém todos os reagentes necessários para a avaliação do nível de DPP3, incluindo o anticorpo monoclonal anti-DPP3 conjugado com corante, o anticorpo monoclonal anti-DPP3 conjugado com biotina e a estreptavidina imobilizada na área de deteção do disco.

MATERIAIS FORNECIDOS

Cada caixa contém o seguinte:

- Discos de IB10 DPP3, 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 DPP3 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.
- **No Analisador Nexus IB10, verifique se há uma nova atualização do software do analisador antes de utilizar os discos de teste de IB10 (consulte o manual do Nexus IB10 para obter instruções específicas).**
- **A não atualização do software pode resultar numa mensagem de erro. Inicie sessão ou registe-se no Website do Nexus-DX para aceder às transferências destinadas aos clientes (todos os 5 ficheiros são necessários para a atualização do software).**
- 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 DPP3 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 DPP3 entre 2 °C e 8 °C (35 °F e 46 °F) até à data de validade impressa na embalagem.
- O IB10 DPP3, 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 DPP3 deve ser executado com amostras de plasma e sangue total com EDTA.
- **Recomenda-se analisar o sangue total com EDTA assim que for possível após a colheita de sangue ou conservá-lo até um máximo de 2 horas à temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) ou a uma temperatura de 2-8 °C (35-46 °F) até à realização dos testes. Se não for possível realizar os testes num prazo de 2 horas, o plasma deve ser separado e conservado a -20 °C (-4 °F) ou menos até que possa ser analisado.**
- Deixe as amostras equilibrarem à temperatura ambiente (19 °C a 25 °C/66 °F a 77 °F) e misture-as suavemente 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 DPP3 disponíveis no mercado (consulte a secção **Materiais/equipamentos necessários, mas não fornecidos**). Verifique se os controlos de DPP3 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 DPP3.**
 - 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 Analisador 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 Analisador Nexus IB10** para saber como atualizar o material de controlo da qualidade [controles externos]).
- Selecione o material de controlo da qualidade a ser testado.
- Prima **OK** no ecrã do Analisador Nexus IB10.
- Num período de 22 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).
- 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 DPP3.
- 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 DPP3.

- 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 22 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 DPP3 reportado pelo Analisador Nexus IB10 é de 5 ng/mL a 150 ng/mL. Os resultados abaixo ou acima desse intervalo são apresentados como "< 5 ng/mL" ou "> 150 ng/mL", 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 DPP3, 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 DPP3 e entre em contacto com o distribuidor da sua região para obter assistência técnica.

CONTROLO INTERNO

Cada IB10 DPP3 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.

A hemólise do sangue total resultante da colheita da amostra, do manuseamento incorreto do sangue, da reação à transfusão, de certas condições de doença ou de outras variáveis pode causar a destruição dos glóbulos vermelhos, libertando DPP3 na amostra e afetando os resultados dos testes. Isto pode gerar falsos resultados positivos.

Como acontece com qualquer teste que utilize anticorpos de ratinhos, existe a possibilidade de interferência causada por anticorpos heterofílicos na amostra.^{16,17} 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 respectivo 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 DPP3 tem demonstrado ser capaz de fornecer resultados mensuráveis com níveis de DPP3 de 5 ng/mL a 150 ng/mL.

SENSIBILIDADE ANALÍTICA

O LoD (Limite de Detecção) do IB10 DPP3 é de 5 ng/mL, determinado de acordo com a Diretriz Aprovada pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP17-A2.¹⁸ A proporção de falsos positivos (α) e falsos negativos (β) é inferior a 5 % (limite de branco = 0,58 ng/mL). O LoQ (Limite de Quantificação) é a menor concentração de DPP3 que pode ser medida de forma reprodutível com um coeficiente de variação total de 20% no máximo. Foi determinado como sendo 5 ng/mL.

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

As seguintes substâncias foram testadas quanto à potencial interferência com a medição de DPP3 no IB10 DPP3 com base na Diretriz Aprovada pelo CLSI EP7-A2 (Tabela 1).¹⁹ 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	800 µg/L
Colesterol	400 mg/dL
Creatinina	2 mg/dL
Glicose	1 000 mg/dL
Hemoglobina	0,5 g/dL
Heparina	3 000 U/L
Fator reumatoide (FR)	1 500 IU/mL
Proteína Total	6 g/dL
Triglicerídeos	3 000 mg/dL
Ureia	250 mg/dL

EFEITO GANCHO

Nenhum efeito gancho de dose elevada foi observado para concentrações de DPP3 até 6 000 ng/mL.

PRECISÃO

A precisão da medição de DPP3 pelo IB10 DPP3 foi determinada utilizando amostras em que a DPP3 foi adicionada a plasma humano normal em duas concentrações (Tabela 2). As precisões intra-execução e total foram determinadas durante um período de 20 dias através de 2 execuções por dia com 2 réplicas por execução, totalizando 80 repetições para cada nível de concentração. As precisões intra-execução e total foram calculadas de acordo com a Diretriz Aprovada pelo CLSI EP05-A3.²⁰

Tabela 2.

Amostra	Lote de teste	Média (ng/mL)	Precisão intra-execução		Precisão total	
			Desvio padrão (ng/mL)	CV (%)	Desvio padrão (ng/mL)	CV (%)
1	A	44,82	2,96	6,6 %	3,14	7,0 %
	B	47,28	2,73	5,8 %	2,85	6,0 %
2	A	108,15	10,19	9,4 %	10,91	10,1 %
	B	110,28	9,31	8,4 %	9,59	8,7 %

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 Bland-Altman que compara as concentrações de sangue total com as concentrações de plasma correspondentes de amostras do mesmo indivíduo (N=58), obteve-se uma diferença média de 9,6 % (IC 95 % = [6,3 %-13,0 %]) e um coeficiente de correlação de $r = 0,98$.

REFERÊNCIAS

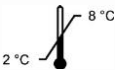
1. Rehfeld L, Funk E, Jha S, Macheroux P, Melander O, Bergmann A. Novel Methods for the Quantification of Dipeptidyl Peptidase 3 (DPP3) Concentration and Activity in Human Blood Samples. J Appl Lab Med. 2018. doi:10.1373/jalm.2018.027995.
2. Wattiaux R, Wattiaux-de Coninck S, Thirion J, Gasingirwa MC, Jadot M. Lysosomes and Fas-mediated liver cell death. Biochem J. 2007 Apr 1;403(1):89-95. PubMed PMID: 17129211; PubMed Central PMCID: PMC1828900.
3. Pang X, Shimizu A, Kurita S, Zankov DP, Takeuchi K, Yasuda-Yamahara M, et al. Novel therapeutic role for dipeptidyl peptidase III in the treatment of hypertension. Hypertension 2016;68:630–41.
4. Kumar P, Reithofer V, Reisinger M, Wallner S, Pavkov-Keller T, Macheroux P, Gruber K. Substrate complexes of human dipeptidyl peptidase III reveal the mechanism of enzyme inhibition. Sci Rep. 2016 Mar 30;6:23787. doi: 10.1038/srep23787. PubMed PMID: 27025154; PubMed Central PMCID: PMC4824452.
5. Deniau B, Rehfeld L, Santos K, Dienelt A, Azibani F, Sadoune M, Kounde PR, Samuel LS, Tolpannen H, Lassus J, Harjola VP, Vodovar N, Bergmann A, Hartmann O, Mebazaa A, Blet A. Circulating dipeptidyl peptidase-3 is a myocardial depressant factor: DPP3 inhibition rapidly and sustainably improves hemodynamics, European Journal of Heart Failure 2019, accepted.
6. Takagi K, Blet A, Levy B, Deniau B, Azibani F, Feliot E, Bergmann A, Santos K, Hartmann O, Gayat E, Mebazaa A, Kimmoun A. Circulating dipeptidyl-peptidase 3 and alteration in hemodynamics in cardiogenic shock: Results from the OptimaCC Trial, European Journal of Heart Failure 2019, accepted.
7. Information on EC 3.4.14.4 - dipeptidyl-peptidase III, BRENDA. (n.d.). <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.4.14.4>
8. Prajapati SC, Chauhan SS. Dipeptidyl peptidase III: a multifaceted oligopeptide N-end cutter. FEBS J 2011;278: 3256–76.
9. Shimamori Y, Watanabe Y, Fujimoto Y. Purification and characterization of dipeptidyl aminopeptidase III from human placenta. Chem Pharm Bull 1986;34:3333–40.
10. Vanha-Perttula T. Dipeptidyl peptidase III and alanyl aminopeptidase in the human seminal plasma: origin and biochemical properties. Clin Chim Acta 1988;177:179–95.

11. Aoyagi T, Wada T, Kojima F, Nagai M, Harada S, Takeuchi T, et al. Enzymatic changes in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer-type dementia. *J Clin Biochem Nutr* 1993;14:133–9.
12. Dostal DE, Hunt RA, Kule CE, Bhat GJ, Karoor V, McWhinney CD, et al. Molecular mechanisms of angiotensin II in modulating cardiac function: intracardiac effects and signal transduction pathways. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:2893–902.
13. Roks A, Buikema H, Pinto YM, van Gilst WH. The reninangiotensin system and vascular function: the role of angiotensin II, angiotensin- converting enzyme, and alternative conversion of angiotensin I. *Heart Vessels* 1997;Suppl 12:119–24.
14. Ferrario CM. Role of angiotensin II in cardiovascular disease—therapeutic implications of more than a century of research. *J Renin- Angiotensin-Aldosterone Syst* 2006;7:3–14.
15. Corrêa TD, Takala J, Jakob SM. Angiotensin II in septic shock. *Crit Care* 2015;19:98.
16. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45:942-6.
17. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay Interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15:108-15.
18. 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.
19. 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.
20. 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 DPP3

Para la determinación cuantitativa de
dipeptidil peptidasa 3 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

IB10 DPP3

Para uso de diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

El IB10 DPP3 es un inmunoensayo rápido realizado en el centro de atención médica (CAM) para la determinación cuantitativa *in vitro* de la dipeptidil peptidasa 3 (DPP3) humana en sangre total y plasma con EDTA. La medición de la DPP3, en combinación con las evaluaciones clínicas y otros hallazgos de laboratorio, se utiliza como ayuda en la predicción de la supervivencia a corto plazo en pacientes con sepsis o choque séptico. Esta prueba está destinada a su uso con el analizador Nexus IB10 y proporciona resultados cuantitativos en 22 minutos.

El IB10 DPP3 está diseñado 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 CAM donde se practiquen pruebas *in situ* al paciente.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El IB10 DPP3 mide de forma cuantitativa el nivel de DPP3 que circula en el torrente sanguíneo.¹ La DPP3 es una enzima citosólica que se libera en el torrente sanguíneo cuando se produce la muerte de las células en diversos entornos de cuidados agudos como el choque cardiogénico, el infarto agudo de miocardio, la sepsis, los traumatismos y las quemaduras. La degradación de sus sustratos, incluidas las angiotensinas y las encefalinas, interrumpe las vías de señalización de la hormona peptídica, lo que causa disfunción orgánica.²⁻⁴ En los pacientes con choque cardiogénico, un nivel elevado de DPP3 circulante es un factor depresivo miocárdico asociado a la disfunción de los órganos.⁵ La DPP3 circulante puede predecir precozmente la alteración de la hemodinámica en pacientes con choque cardiogénico, y la rápida normalización de los niveles de DPP3 circulante en el primer día indican una baja tasa de choque refractario y una alta supervivencia.⁶

DIPEPTIDIL PEPTIDASA 3

La dipeptidil peptidasa 3 (DPP3) humana, también conocida como angiotensinasa de glóbulos rojos, es miembro de la familia M49 de las metalopeptidasas dependientes del zinc.⁷ La DPP3 tiene una masa molecular de unos 83 kDa y se expresa de forma ubicua y se conserva en gran medida en procariotas y eucariotas.⁸ La DPP3 se detecta en los homogeneizados de órganos y en varios fluidos corporales, como el plasma sanguíneo, el suero retroplacentario, el plasma seminal y el líquido cefalorraquídeo.^{3,9-11} La enzima escinde varios péptidos bioactivos, como las angiotensinas, las encefalinas y las endomorfina.⁸ El sustrato más prominente de la DPP3 es la angiotensina II (Ang II), el principal efector del sistema renina-angiotensina (SRA), que implica a la DPP3 extracelular en la regulación del sistema SRA.⁴ El SRA se activa en las enfermedades cardiovasculares, la sepsis y el choque séptico, y la Ang II, en particular, ha demostrado que modula muchas funciones cardiovasculares, incluido el control de la presión sanguínea y la remodelación cardíaca.¹²⁻¹⁵

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 22 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

El IB10 DPP3 contiene todos los reactivos necesarios para evaluar el nivel de DPP3, lo que incluye un anticuerpo anti-DPP3 monoclonal conjugado con tinte, un anticuerpo anti-DPP3 monoclonal conjugado con biotina y estreptavidina inmovilizada en la zona de detección del disco.

MATERIALES INCLUIDOS

Cada caja contiene lo siguiente:

- Discos de IB10 DPP3, 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 DPP3 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.
- **Compruebe que su analizador Nexus IB10 tenga el software más reciente antes de probar los discos IB10 (consulte el manual de Nexus IB10 para obtener instrucciones específicas).**
- **No actualizar el software puede dar lugar a un mensaje de error. Inicie sesión o regístrese en el sitio web de Nexus-DX para acceder a las descargas del cliente (se necesitan los 5 archivos para la actualización del software).**
- 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 del IB10 DPP3 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 IB10 DPP3 a una temperatura entre 2 y 8 °C (35 y 46 °F) hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
- El IB10 DPP3 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

- El IB10 DPP3 debe realizarse utilizando muestras de sangre total o plasma con EDTA.
- **Se recomienda analizar la sangre total con EDTA lo antes posible tras la extracción de sangre o conservarla hasta un máximo de 2 horas a temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) o de 2 a 8 °C (35 a 46 °F) hasta el análisis. Si la prueba no se puede realizar en el plazo de 2 horas, debe separarse el plasma y conservarse a -20 °C (-4 °F) o menos hasta que se pueda analizar.**
- Espere a que las muestras alcancen la temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) y mézclelas suavemente 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 DPP3 disponibles en el mercado (consulte la sección

Materiales y equipos necesarios pero no incluidos). Asegúrese de que los controles de DPP3 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 el IB10 DPP3.

- 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 22 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 el IB10 DPP3.
- 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 el IB10 DPP3.

- 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 22 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 DPP3 notificado por Nexus IB10 es de 5 ng/ml a 150 ng/ml. Los resultados por debajo o por encima de este rango se mostrarán como "< 5 ng/ml" o "> 150 ng/ml" 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 IB10 DPP3, 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 el IB10 DPP3

y póngase en contacto con el distribuidor de su zona para obtener asistencia técnica.

CONTROL INTERNO

Cada IB10 DPP3 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.

La hemólisis de la sangre total de la recogida de muestras, la manipulación incorrecta de la sangre, la reacción a la transfusión, ciertas enfermedades u otras variables pueden causar la destrucción de los glóbulos rojos, liberando DPP3 en la muestra y afectando a los resultados de la prueba. Esto podría generar resultados falsos positivos.

Como ocurre en cualquier ensayo que emplee anticuerpos murinos, existe la posibilidad de interferencias causadas por anticuerpos heterófilos en la muestra.^{16,17} 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 el IB10 DPP3 proporciona resultados medibles en los niveles de DPP3 de 5 ng/ml a 150 ng/ml.

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El LoD (límite de detección) para el IB10 DPP3 es de 5 ng/ml, 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).¹⁸ La proporción de falsos positivos (α) y falsos negativos (β) es inferior al 5 % (límite de blanco = 0,58 ng/l). El límite de cuantificación (Limit of Quantitation, LoQ) es la concentración de DPP3 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 5 ng/ml.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Se analizaron las siguientes sustancias para determinar su posible interferencia en la medición de DPP3 en el IB10 DPP3 según las directrices EP7-A2 y EP37 aprobadas por el CLSI (Tabla 1).¹⁹ 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	800 µg/l
Colesterol	400 mg/dl
Creatinina	2 mg/dl
Glucosa	1000 mg/dl
Hemoglobina	0,5 g/dl
Heparina	3000 u/l
Factor reumatoide (FR)	1500 IU/ml
Proteína total	6 g/dl
Triglicéridos	3000 mg/dl
Urea	250 mg/dl

EFFECTO DE GANCHO

No se observó el efecto de gancho de dosis altas en concentraciones de DPP3 de hasta 6000 ng/ml.

PRECISIÓN

La precisión de la medición de DPP3 con la prueba IB10 DPP3 se determinó utilizando muestras en las que se añadió DPP3 a plasma humano normal en dos concentraciones (Tabla 2). La precisión dentro del ensayo y la precisión total se determinaron durante un periodo de 20 días que consistió en 2 análisis por día con 2 repeticiones por análisis, con un total de 80 repeticiones con cada nivel de concentración. Las precisiones dentro del ensayo y total se calcularon según la directriz EP05-A3 aprobada por el CLSI.²⁰

Tabla 2.

Muestra	Lote de la prueba	Media (ng/ml)	Precisión dentro del ensayo		Precisión total	
			Desv. est. (ng/ml)	CV (%)	Desv. est. (ng/ml)	CV (%)
1	A	44,82	2,96	6,6 %	3,14	7,0 %
	B	47,28	2,73	5,8 %	2,85	6,0 %
2	A	108,15	10,19	9,4 %	10,91	10,1 %
	B	110,28	9,31	8,4 %	9,59	8,7 %

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 Bland-Altman para comparar las concentraciones de sangre total frente a las concentraciones de plasma correspondientes de muestras del mismo sujeto (N = 58), se obtuvo una diferencia media de 9,6 % (I.C. del 95 % = [6,3 % - 13,0 %]), y un coeficiente de correlación de $r = 0,98$.

REFERENCIAS

1. Rehfeld L, Funk E, Jha S, Macheroux P, Melander O, Bergmann A. Novel Methods for the Quantification of Dipeptidyl Peptidase 3 (DPP3) Concentration and Activity in Human Blood Samples. *J Appl Lab Med*. 2018. doi:10.1373/jalm.2018.027995
2. Wattiaux R, Wattiaux-de Coninck S, Thirion J, Gasingirwa MC, Jadot M. Lysosomes and Fas-mediated liver cell death. *Biochem J*. 2007 Apr 1;403(1):89-95. PubMed PMID: 17129211; PubMed Central PMCID: PMC1828900.
3. Pang X, Shimizu A, Kurita S, Zankov DP, Takeuchi K, Yasuda-Yamahara M, et al. Novel therapeutic role for dipeptidyl peptidase III in the treatment of hypertension. *Hypertension* 2016;68:630–41.
4. Kumar P, Reithofer V, Reisinger M, Wallner S, Pavkov-Keller T, Macheroux P, Gruber K. Substrate complexes of human dipeptidyl peptidase III reveal the mechanism of enzyme inhibition. *Sci Rep*. 2016 Mar 30;6:23787. doi: 10.1038/srep23787. PubMed PMID: 27025154; PubMed Central PMCID: PMC4824452.
5. Deniau B, Rehfeld L, Santos K, Dienelt A, Azibani F, Sadoune M, Kounde PR, Samuel LS, Tolpannen H, Lassus J, Harjola VP, Vodovar N, Bergmann A, Hartmann O, Mebazaa A, Blet A. Circulating dipeptidyl peptidase-3 is a myocardial depressant factor: DPP3 inhibition rapidly and sustainably improves hemodynamics, *European Journal of Heart Failure* 2019, accepted.
6. Takagi K, Blet A, Levy B, Deniau B, Azibani F, Feliot E, Bergmann A, Santos K, Hartmann O, Gayat E, Mebazaa A, Kimmoun A. Circulating dipeptidyl-peptidase 3 and alteration in hemodynamics in cardiogenic shock: Results from the OptimaCC Trial, *European Journal of Heart Failure* 2019, accepted.
7. Information on EC 3.4.14.4 - dipeptidyl-peptidase III, BRENDA. (n.d.). <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.4.14.4>
8. Prajapati SC, Chauhan SS. Dipeptidyl peptidase III: a multifaceted oligopeptide N-end cutter. *FEBS J* 2011;278: 3256–76.
9. Shimamori Y, Watanabe Y, Fujimoto Y. Purification and characterization of dipeptidyl aminopeptidase III from human placenta. *Chem Pharm Bull* 1986;34:3333–40.
10. Vanha-Perttula T. Dipeptidyl peptidase III and alanyl aminopeptidase in the human seminal

plasma: origin and biochemical properties. Clin Chim Acta 1988;177:179–95.

11. Aoyagi T, Wada T, Kojima F, Nagai M, Harada S, Takeuchi T, et al. Enzymatic changes in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer-type dementia. J Clin Biochem Nutr 1993;14:133–9.
12. Dostal DE, Hunt RA, Kule CE, Bhat GJ, Karoor V, McWhinney CD, et al. Molecular mechanisms of angiotensin II in modulating cardiac function: intracardiac effects and signal transduction pathways. J Mol Cell Cardiol 1997;29:2893–902.
13. Roks A, Buikema H, Pinto YM, van Gilst WH. The reninangiotensin system and vascular function: the role of angiotensin II, angiotensin- converting enzyme, and alternative conversion of angiotensin I. Heart Vessels 1997;Suppl 12:119–24.
14. Ferrario CM. Role of angiotensin II in cardiovascular disease—therapeutic implications of more than a century of research. J Renin- Angiotensin-Aldosterone Syst 2006;7:3–14.
15. Corrêa TD, Takala J, Jakob SM. Angiotensin II in septic shock. Crit Care 2015;19:98.
16. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. Clin Chem 1999;45:942–6.
17. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay Interference. J Clin Immunoassay 1992;15:108–15.
18. 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.
19. 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.
20. 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 DPP3

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της
διπεπτιδυλικής πεπτιδάσης 3 σε ολικό αίμα και πλάσμα με EDTA

Επεξήγηση συμβόλων

	Σήμανση συμμόρφωσης CE
	Παρασκευαστής
	Αριθμός καταλόγου
	Ημερομηνία λήξης/Χρήση έως
	Αριθμός παρτίδας
	Ιατρική συσκευή για διαγνώσεις <i>in vitro</i>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Φυλάσσετε σε θερμοκρασία μεταξύ 2°C και 8°C.
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρώπη
	Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> δοκιμασίες
	Να μην επαναχρησιμοποιείται
	Αριθμός σειράς
	Τοποθέτηση με την ετικέτα του δίσκου προς τα επάνω

IB10 DPP3

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η δοκιμασία IB10 DPP3 είναι μια ταχεία ανοσολογική δοκιμασία σημείου φροντίδας (POC) για τον *in vitro* ποσοτικό προσδιορισμό της ανθρώπινης διπεπτιδυλικής πεπτιδάσης 3 (DPP3) σε ολικό αίμα και πλάσμα με EDTA. Η μέτρηση DPP3 σε συνδυασμό με κλινικές αξιολογήσεις και άλλα εργαστηριακά ευρήματα χρησιμοποιείται ως βοήθημα στην πρόβλεψη της βραχυπρόθεσμης επιβίωσης σε ασθενείς με σήψη ή σηπτικό σοκ. Η παρούσα δοκιμασία προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με τον αναλυτή Nexus IB10 και παρέχει ποσοτικά αποτελέσματα σε 22 λεπτά.

Η δοκιμασία IB10 DPP3 προορίζεται αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση και μπορεί να χρησιμοποιείται στα κεντρικά εργαστήρια των νοσοκομείων, καθώς επίσης και σε μονάδες εναλλακτικής φροντίδας, όπως είναι τα τμήματα επειγόντων περιστατικών, οι μονάδες εντατικής θεραπείας και άλλοι χώροι σημείου φροντίδας στους οποίους διενεργούνται δοκιμασίες πλησίον του ασθενούς.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

Η IB10 DPP3 μετρά ποσοτικά το επίπεδο της DPP3 που κυκλοφορεί στο αίμα.¹ Η DPP3 είναι ένα κυτοσολικό ένζυμο το οποίο απελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος μετά τον κυτταρικό θάνατο που προκύπτει σε διάφορα περιβάλλοντα οξείας φροντίδας όπως είναι η καρδιογενής καταπληξία, το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, η σήψη, το τραύμα και τα εγκαύματα. Η υποβάθμιση των υποστρωμάτων της, συμπεριλαμβανομένων των αγγειοτασίνων και των εγκεφαλινών, διακόπτει τις σηματοδοτικές οδούς πεπτιδικών ορμονών προκαλώντας δυσλειτουργία των οργάνων.²⁻⁴ Σε ασθενείς με καρδιογενή καταπληξία, τα αυξημένα επίπεδα της DPP3 στην κυκλοφορία του αίματος συνιστούν παράγοντα καταστολής του μυοκαρδίου που συνδέεται με τη δυσλειτουργία των οργάνων.⁵ Η DPP3 που κυκλοφορεί στο αίμα μπορεί να συνιστά πρώιμη πρόβλεψη μεταβολής της αιμοδυναμικής σε ασθενείς με καρδιογενή καταπληξία και η ταχεία κανονικοποίηση των επιπέδων της DPP3 στην κυκλοφορία του αίματος, την πρώτη ημέρα, υποδηλώνει χαμηλό ποσοστό ανθεκτικής καταπληξίας και υψηλή επιβίωση.⁶

ΔΙΠΕΠΤΙΔΥΛΙΚΗ ΠΕΠΤΙΔΑΣΗ III

Η ανθρώπινη διπεπτιδυλική πεπτιδάση 3 (DPP3), επίσης γνωστή αγγειοτασινάση των ερυθρών αιμοσφαιρίων, είναι ένα μέλος της οικογένειας M49 των εξαρτώμενων από ψευδάργυρο μεταλλοπεπτιδασών.⁷ Η DPP3 έχει μοριακή μάζα περίπου 83 kDa, εκφράζεται παντού και διατηρείται σε υψηλό βαθμό σε προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά.⁸ Η DPP3 ανιχνεύεται σε ομογενοποιημένα όργανων και αρκετά σωματικά υγρά, όπως πλάσμα αίματος, οπισθοπλακουντιακό ορό, σπερματικό πλάσμα και εγκεφαλονωτιαίο υγρό.^{3,9-11} Το ένζυμο διασπά διάφορα βιοενεργά πεπτίδια, όπως αγγειοτασίνες, εγκεφαλίνες, και ενδομορφίνες.⁸ Το πιο σημαντικό υπόστρωμα της DPP3 είναι η αγγειοτασίνη II (Ang II), ο κύριος τελεστής του συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης (RAS), που εμπλέκει την εξωκυτταρική DPP3 στη ρύθμιση του συστήματος RAS.⁴ Το RAS ενεργοποιείται στις καρδιαγγειακές παθήσεις, τη σηψαιμία και τη σηπτική καταπληξία και η Ang II, ειδικότερα, έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζει πολλές καρδιαγγειακές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένου του ελέγχου της αρτηριακής πίεσης και της καρδιακής αναδιαμόρφωσης.¹²⁻¹⁵

ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Το σύστημα ανοσοχημείας Nexus IB10 συνδυάζει τη χημεία με τη μικρορρευστονική και τη φυγοκεντρική ροή για την ταχεία προετοιμασία πλάσματος χωρίς κύτταρα από το ολικό αίμα που μπορεί στη συνέχεια να μετακινηθεί μέσω ενός καναλιού για να επανυδατωθεί, διαλυτοποιηθεί και αναμειχθεί με λυοφιλιωμένα ανοσοσυμπλέγματα. Χρησιμοποιώντας συνδυασμό ενεργού ροής και τριχοειδούς δράσης, το δείγμα δοκιμής μετρίεται ποσοτικά σε 22 λεπτά με στάθμη οπτικού σήματος ανάλογη προς τη συγκέντρωση του αναλύτη/των αναλυτών.

Μετά την προσθήκη του δείγματος ασθενούς, πραγματοποιείται ολόκληρη η δοκιμασία εντός του αναλυτή Nexus IB10, ο οποίος παρέχει τον έλεγχο της θερμοκρασίας του δίσκου, καθώς και της ακολουθίας των αντιδράσεων, της φυγοκεντρικής ροής, της ανάμειξης, του χρόνου επώασης, της τελικής μέτρησης σήματος, της ποσοτικοποίησης και της αναφοράς των αποτελεσμάτων. Ο δίσκος δοκιμής περιλαμβάνει έναν θετικό εσωτερικό μάρτυρα για να εξασφαλίζεται ότι η δοκιμασία έχει λειτουργήσει σωστά. Κάθε παρτίδα είναι βαθμονομημένη για να παρέχει ακριβή συγκέντρωση του αναλύτη. Η ειδική για την κάθε παρτίδα βαθμονόμηση, μαζί με πρόσθετες πληροφορίες όπως η ημερομηνία λήξης παρτίδας, περιέχονται σε μια ετικέτα κώδικα QR που είναι επικολλημένη σε κάθε δίσκο. Συνιστάται οι εξωτερικοί μάρτυρες να δοκιμάζονται σε κατάλληλα χρονικά διαστήματα για να επιβεβαιώνεται ότι η απόδοση του συστήματος και της παρτίδας δοκιμασίας είναι εντός των αποδεκτών ορίων.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Η δοκιμασία IB10 DPP3 περιέχει όλα τα απαιτούμενα αντιδραστήρια για την αξιολόγηση του επιπέδου DPP3 συμπεριλαμβανομένου του συζευγμένου με χρωστικές ουσίες μονοκλωνικού αντι-DPP3 αντισώματος, του συζευγμένου με βιοτίνη μονοκλωνικού αντι-DPP3 αντισώματος και της ακινητοποιημένης στρεπταβιδίνης στην περιοχή ανίχνευσης επί του δίσκου.

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Κάθε κουτί περιέχει τα ακόλουθα:

- Δίσκους IB10 DPP3, ο καθένας ατομικά σφραγισμένος σε μια θήκη αλουμινίου με αποξηραντικό.
- Οδηγίες χρήσης.

ΥΛΙΚΑ/ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

1. Αναλυτής Nexus IB10 - Μοντέλο #BCA-IB10.
2. Διαθέσιμοι στο εμπόριο μάρτυρες DPP3 για εξωτερικό έλεγχο ποιότητας (QC). **Επικοινωνήστε με το τοπικό εμπορικό αντιπρόσωπο** για τα συνιστώμενα υλικά εξωτερικού ελέγχου ποιότητας ή σχετική τεχνική βοήθεια.
3. Πιστόλι πιπέτας βαθμονομημένο, επαναχρησιμοποιήσιμο, σταθερού ή μεταβλητού όγκου με υψηλή ακρίβεια και ορθότητα, ικανό να παρέχει 500 μ L ολικού αίματος ή πλάσματος.
4. Ρύγχη πιπετών μίας χρήσης ικανά να δέχονται και να παρέχουν 500 μ L ολικού αίματος ή πλάσματος.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

- Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
- Ακολουθήστε προσεκτικά τις οδηγίες χρήσης.
- **Ελέγξτε τον αναλυτή Nexus IB10 για το πιο πρόσφατο λογισμικό αναλυτή πριν από τη δοκιμή των δίσκων IB10 (Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο Nexus IB10 για συγκεκριμένες**

οδηγίες).

- **Η μη ενημέρωση του λογισμικού μπορεί να οδηγήσει σε μήνυμα σφάλματος. Είσοδος ή Εγγραφή στον ιστότοπο Nexus-DX για πρόσβασης στις Λήψεις πελατών (απαιτούνται και τα 5 αρχεία για την ενημέρωση λογισμικού).**
- Φοράτε γάντια μίας χρήσης όταν χειρίζεστε δείγματα.
- Να χειρίζεστε τα δείγματα με προσοχή. Δείγματα και μεταχειρισμένοι δίσκοι δοκιμής θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικά μολυσματικά και πρέπει να απορρίπτονται ως βιολογικά επικίνδυνο υλικό σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς.
- Πλύνετε σχολαστικά τα χέρια μετά τον χειρισμό.
- Το αποτέλεσμα που προκύπτει από τη δοκιμασία IB10 DPP3 δεν παρέχει οριστική διάγνωση και πρέπει να ερμηνεύεται από ιατρό σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα άλλων εργαστηριακών εξετάσεων και σύμφωνα με τις τρέχουσες ιατρικές κατευθυντήριες γραμμές και τα κλινικά ευρήματα του ασθενούς.
- Φυλάξτε τον δίσκο δοκιμασίας στη σφραγισμένη θήκη μέχρι να είστε έτοιμοι να τον χρησιμοποιήσετε.
- Μη χρησιμοποιείτε τον δίσκο δοκιμασίας εάν η θήκη έχει ζημιά ή η σφράγιση της έχει σπάσει.
- Μη χρησιμοποιείτε τον δίσκο δοκιμασίας μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη θήκη.
- Πριν από τη χρήση, τοποθετήστε την κλειστή θήκη σε θερμοκρασία δωματίου (19 έως 25 °C/66 έως 77 °F) για τουλάχιστον 15 λεπτά.
- Πάντοτε, να δίνετε προσοχή στην καθαριότητα κατά το χειρισμό του δίσκου δοκιμασίας. Αποφύγετε οποιαδήποτε μόλυνση από δακτυλικά αποτυπώματα ή ξένες ουσίες. Μη μολύνετε το σημείο εισόδου του καναλιού δείγματος.
- Μη ρίχνετε ή καταστρέφετε τον δίσκο δοκιμασίας.
- Ο δίσκος δοκιμασίας πρέπει να τοποθετηθεί με την πλευρά της ετικέτας προς τα επάνω, στη θήκη δίσκου του αναλυτή Nexus IB10 αμέσως μετά την έγχυση του δείγματος μέσα στον δίσκο.
- Μην αναποδογυρίζετε τον δίσκο.
- Η παρούσα δοκιμασία είναι ποσοτική. Ως εκ τούτου, δεν πρέπει να γίνεται οπτική ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

- Αποθηκεύστε τον δίσκο IB10 DPP3 μεταξύ 2 και 8 °C (35 έως 46 °F) μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται πάνω στη θήκη.
- Η δοκιμασία IB10 DPP3 στη σφραγισμένη θήκη της είναι σταθερή στους 18 έως 30 °C (64 έως 86 °F) για 30 ημέρες, αρκεί να μην έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη θήκη.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΕΤΟΙΜΑΣΙΑ

- Η δοκιμασία IB10 DPP3 προορίζεται για χρήση με δείγματα ολικού αίματος ή πλάσματος με EDTA.
- **Συνιστάται εξέταση EDTA ολικού αίματος όσο το δυνατόν συντομότερα μετά την αιμοληψία ή αποθήκευσή του το πολύ 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (19 έως 25 °C / 66 έως 77 °F) ή 2-8 °C (35-46 °F) μέχρι τη δοκιμασία. Αν η δοκιμασία δεν είναι δυνατόν να ολοκληρωθεί εντός 2 ωρών, το πλάσμα θα πρέπει να διαχωρίζεται και να αποθηκεύεται σε θερμοκρασία -20 °C (- 4 °F) ή χαμηλότερη έως ότου να μπορεί να ελεγχθεί.**

- Αφήστε τα δείγματα να ισορροπήσουν σε θερμοκρασία δωματίου (19 έως 25 °C/66 έως 77 °F) και αναμείξτε ελαφρά πριν από τη δοκιμασία.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Αναλυτής Nexus IB10



Συμβουλευτείτε το εγχειρίδιο χρήσης του αναλυτή Nexus IB10

Για την εγκατάσταση του αναλυτή, την εκκίνηση και πλήρεις οδηγίες χρήσης ανατρέξτε στην ενότητα **Εγχειρίδιο χρήσης Nexus IB10**. Ο χειριστής πρέπει να ανατρέξει στο εγχειρίδιο χρήσης πριν από τη χρήση για να εξοικειωθεί με τις κατάλληλες διαδικασίες λειτουργίας και ελέγχου ποιότητας.

ΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΡΥΘΜΙΣΗΣ ΔΙΣΚΟΥ

Κάθε φορά που ενεργοποιείται ο αναλυτής Nexus IB10, διενεργείται αυτόματα αυτοέλεγχος. Ο κωδικός QR σε κάθε δίσκο δοκιμασίας περιέχει πληροφορίες για τη βαθμονόμηση του δίσκου που ο αναλυτής διαβάζει αυτόματα κατά την εκτέλεση μιας δοκιμασίας.

ΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΥΣ ΜΑΡΤΥΡΕΣ

Ο κατασκευαστής συνιστά τη χρήση των διαθέσιμων στο εμπόριο μαρτύρων DPP3 (ανατρέξτε στην ενότητα **Υλικά/εξοπλισμός που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται**). Βεβαιωθείτε ότι ο χειρισμός και η προετοιμασία των μαρτύρων DPP3 γίνεται σύμφωνα με τις αντίστοιχες οδηγίες χρήσης.

1. Βγάλτε μια κλειστή θήκη δοκιμασίας από το ψυγείο και τοποθετήστε τη σε θερμοκρασία δωματίου (19 έως 25 °C/66 έως 77 °F) για τουλάχιστον 15 λεπτά πριν από τη δοκιμασία.
2. Ανοίξτε τη θήκη και αφαιρέστε τον δίσκο δοκιμασίας.
3. Τοποθετήστε τον δίσκο δοκιμασίας πάνω σε μια επίπεδη επιφάνεια.
4. Στον αναλυτή Nexus IB10 πατήστε **New Analysis** (Νέα Ανάλυση).
5. Ο αναλυτής θα εκτελέσει ένα γενικό έλεγχο του συστήματος.
6. Πληκτρολογήστε το αναγνωριστικό εξωτερικού μάρτυρα (έως 20 χαρακτήρες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το αναγνωριστικό) ή εισαγάγετε το αναγνωριστικό εξωτερικού μάρτυρα χρησιμοποιώντας τον σαρωτή γραμμοκώδικα.
7. Αναμείξτε το φιαλίδιο εξωτερικού μάρτυρα ελέγχου ποιότητας αναστρέφοντας απαλά το φιαλίδιο αρκετές φορές πριν από τη δειγματοληψία.

8. Δοκιμασία δειγμάτων εξωτερικού μάρτυρα στην IB10 DPP3.

- Χρησιμοποιώντας μια πιπέτα ακριβείας (σταθερή ή ρυθμισμένη στα 500 μL) ανασύρατε αργά το καλά αναμεμιγμένο δείγμα εξωτερικού μάρτυρα ελέγχου ποιότητας μέσα στο ρύγχος της πιπέτας.
- Τοποθετώντας το κωνικό ρύγχος της πιπέτας σε γωνία 45°, τρυπήστε το **X** στην κόκκινη κουκκίδα για να αποκαλύψετε το σημείο εισόδου του καναλιού δείγματος.
- Αντλήστε σιγά σιγά το δείγμα εξωτερικού μάρτυρα μέσα στο στόμιο εφαρμόζοντας ελάχιστη αλλά συνεχόμενη δύναμη επί του εμβόλου της πιπέτας.
- Αντλήστε το δείγμα μέχρι το πρώτο στοπ της πιπέτας, με ρυθμό που να επιτρέπει το υγρό να γεμίσει πλήρως το κανάλι και να εξαλείψει οποιαδήποτε πίεση επιστροφής θα μπορούσε να οδηγήσει σε πιτσίλισμα του δείγματος ή εισαγωγή φουσαλίδων αέρα.
- Πατήστε **QC** (Έλεγχος ποιότητας) στην οθόνη του αναλυτή Nexus IB10.
- Όταν ανοίξει η θήκη του δίσκου, τοποθετήστε τον γεμάτο δίσκο δοκιμασίας στη θήκη και πατήστε **Run** (Εκτέλεση).

- Η θήκη του δίσκου θα κλείσει και θα εκτελεστεί ο έλεγχος εγκυρότητας του δίσκου.
- Εμφανίζεται μια οθόνη για την επιλογή υλικών ελέγχου ποιότητας (ανατρέξτε στην ενότητα **Quality Control Settings** (Ρυθμίσεις Ελέγχου Ποιότητας) του **Εγχειριδίου Χρήσης του Αναλυτή Nexus IB10** για τον τρόπο ενημέρωσης του υλικού ελέγχου ποιότητας [εξωτερικοί μάρτυρες]).
- Επιλέξτε το υλικό ελέγχου ποιότητας που πρόκειται να ελεγχθεί.
- Πατήστε **OK** στην οθόνη του αναλυτή Nexus IB10.
- Σε 22 λεπτά, ο αναλυτής Nexus IB10 θα εμφανίσει τα αποτελέσματα στην οθόνη.
- Τα αποτελέσματα θα εκτυπωθούν αυτόματα (αν έχετε προβεί σε αυτή την επιλογή κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης) διαφορετικά πατήστε **Print** (Εκτύπωση).
- Όταν ολοκληρωθεί η δοκιμασία, αναλύστε και συγκρίνετε το αποτέλεσμα με την αναμενόμενη τιμή που αναφέρθηκε στις οδηγίες χρήσης του εξωτερικού μάρτυρα για το επίπεδο εξωτερικού μάρτυρα όπως μετρήθηκε χρησιμοποιώντας την IB10 DPP3.
- Αφαιρέστε τον δίσκο δοκιμασίας και απορρίψτε τον στο κατάλληλο δοχείο.
- Αν το αποτέλεσμα εξωτερικού μάρτυρα είναι εκτός του αναμενόμενου εύρους, ανατρέξτε στην ενότητα Ελέγχου ποιότητας παρακάτω.

Σημείωση: Εάν η δοκιμαστική λειτουργία ακυρωθεί πριν εμφανιστεί το αποτέλεσμα της δοκιμασίας, ο δίσκος της δοκιμασίας δεν μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί και θα πρέπει να απορριφθεί καταλλήλως.

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΣΤΟΝ ΑΝΑΛΥΤΗ NEXUS IB10

1. Βγάλτε μια κλειστή θήκη δοκιμασίας από το ψυγείο και τοποθετήστε τη σε θερμοκρασία δωματίου (19 έως 25 °C/66 έως 77 °F) για τουλάχιστον 15 λεπτά.
2. Ανοίξτε τη θήκη και αφαιρέστε τον δίσκο δοκιμασίας.
3. Τοποθετήστε τον δίσκο δοκιμασίας πάνω σε μια επίπεδη επιφάνεια.
4. Στον αναλυτή Nexus IB10 πατήστε **New Analysis** (Νέα Ανάλυση).
5. Ο αναλυτής θα εκτελέσει ένα γενικό έλεγχο του συστήματος.
6. Πληκτρολογήστε το αναγνωριστικό ασθενούς (έως 20 χαρακτήρες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το αναγνωριστικό) ή εισαγάγετε το αναγνωριστικό ασθενούς χρησιμοποιώντας τον σαρωτή γραμμωκώδικα.
7. Αναμείξτε το δείγμα ασθενούς ολικού αίματος αναστρέφοντας απαλά τον σωλήνα αρκετές φορές πριν από τη δοκιμασία.

8. Δοκιμασία δειγμάτων ασθενών στην IB10 DPP3.

- Χρησιμοποιώντας μια πιπέτα ακριβείας (σταθερή ή ρυθμισμένη στα 500 μL) ανασύρατε αργά το καλά αναμεμιγμένο δείγμα ασθενούς μέσα στο ρύγχος της πιπέτας.
- Τοποθετώντας το κωνικό ρύγχος της πιπέτας σε γωνία 45°, τρυπήστε το **X** στην κόκκινη κουκκίδα για να αποκαλύψετε το σημείο εισόδου του καναλιού δείγματος.
- Αντλήστε σιγά σιγά το δείγμα ασθενούς μέσα στο στόμιο εφαρμόζοντας ελάχιστη αλλά συνεχόμενη δύναμη επί του εμβόλου της πιπέτας.
- Αντλήστε το δείγμα μέχρι το πρώτο στοπ της πιπέτας, με ρυθμό που να επιτρέπει το υγρό να γεμίσει πλήρως το κανάλι και να εξαλείψει οποιαδήποτε πίεση επιστροφής θα μπορούσε να οδηγήσει σε πιτσίλισμα του δείγματος ή εισαγωγή φουσαλίδων αέρα.
- Πατήστε **OK** στην οθόνη του αναλυτή Nexus IB10.
- Όταν ανοίξει η θήκη του δίσκου, τοποθετήστε τον γεμάτο δίσκο δοκιμασίας στη θήκη και πατήστε **Run** (Εκτέλεση).
- Σε 22 λεπτά, ο αναλυτής Nexus IB10 θα εμφανίσει τα αποτελέσματα στην οθόνη.

- Τα αποτελέσματα θα εκτυπωθούν αυτόματα (αν έχετε προβεί σε αυτή την επιλογή κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης) διαφορετικά πατήστε **Print** (Εκτύπωση).
- Αφαιρέστε τον δίσκο δοκιμασίας και απορρίψτε τον στο κατάλληλο δοχείο.
Σημείωση: Εάν η δοκιμαστική λειτουργία ακυρωθεί πριν εμφανιστεί το αποτέλεσμα της δοκιμασίας, ο δίσκος της δοκιμασίας δεν μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί και θα πρέπει να απορριφθεί καταλλήλως.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Το εύρος των συγκεντρώσεων DPP3 που αναφέρθηκε από τον Nexus IB10 είναι 5 ng/mL έως 150 ng/mL. Αποτελέσματα κάτω ή πάνω από αυτό το εύρος θα εμφανίζονται ως «<5 ng/mL» ή «> 150 ng/mL», αντίστοιχα.

Έλεγχος ποιότητας

ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΙ ΜΑΡΤΥΡΕΣ

Η ορθή εργαστηριακή πρακτική περιλαμβάνει τη χρήση των εξωτερικών μαρτύρων για να διασφαλιστεί η ορθή απόδοση της δοκιμασίας. Συνιστάται πριν από τη χρήση μιας νέας παρτίδας ή αποστολής IB10 DPP3, να επιβεβαιώνεται η απόδοση της παρτίδας πραγματοποιώντας δοκιμασία με εξωτερικούς μάρτυρες (βλέπε ενότητα **Υλικά/εξοπλισμός που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται**) για να εξασφαλιστεί ότι η δοκιμασία θα δώσει έγκυρα αποτελέσματα. Η συχνότητα των δοκιμών ελέγχου ποιότητας θα πρέπει να καθορίζεται σύμφωνα με τις διαδικασίες ελέγχου ποιότητας του εκάστοτε εργαστηρίου. Μετά την επιβεβαίωση των αναμενόμενων αποτελεσμάτων, οι δίσκοι δοκιμασίας είναι έτοιμοι για χρήση με δείγματα ασθενών. Οι μάρτυρες πρέπει επίσης να χρησιμοποιούνται κάθε φορά που η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων των δοκιμασιών είναι υπό αμφισβήτηση. Αν οι εξωτερικοί μάρτυρες δεν αποδίδουν τα αναμενόμενα, μη χρησιμοποιείτε την IB10 DPP3 και επικοινωνήστε με τον τοπικό εμπορικό αντιπρόσωπο για τεχνική βοήθεια.

ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ

Η IB10 DPP3 έχει κατασκευαστεί με ενσωματωμένο θετικό διαδικαστικό μάρτυρα. Ο αναλυτής Nexus IB10 προσδιορίζει αυτόματα την παρουσία αυτού του μάρτυρα, επιβεβαιώνοντας κατ' αυτόν τον τρόπο ότι η δοκιμαστική λειτουργία απέδωσε ένα έγκυρο αποτέλεσμα. Αν ο μάρτυρας δεν σχηματιστεί ή αν δεν αναγνωρίζεται από τον αναλυτή, το αποτέλεσμα της δοκιμασίας θεωρείται «άκυρο» και η δοκιμασία πρέπει να επαναλαμβάνεται.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Το αποτέλεσμα της δοκιμασίας θα πρέπει να αξιολογείται και να ερμηνεύεται σε συνδυασμό με το ιατρικό ιστορικό του ασθενούς, τα συμπτώματα και άλλα κλινικά δεδομένα.

Η αιμόλυση ολικού αίματος από τη συλλογή δειγμάτων, η κακή διαχείριση του αίματος, η αντίδραση κατά τη μετάγγιση, ορισμένες νοσηρές καταστάσεις ή άλλες μεταβλητές μπορούν να προκαλέσουν την καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων, αποδεσμεύοντας DPP3 στο δείγμα και επηρεάζοντας τα αποτελέσματα της δοκιμασίας. Το παραπάνω θα μπορούσε ενδεχομένως να οδηγήσει σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα.

Όπως και με οποιαδήποτε δοκιμασία όπου χρησιμοποιούνται αντισώματα ποντικού, υπάρχει η πιθανότητα παρεμβολής στο δείγμα από ετερόφιλα αντισώματα.^{16,17} Δείγματα από άτομα που έχουν εκτεθεί τακτικά σε ζώα ή που έχουν υποστεί επεξεργασία με ζωικά προϊόντα μπορεί να περιέχουν

αυτά τα αντισώματα.

Άλλες ουσίες ή/και παράγοντες που δεν αναφέρονται, π.χ. διαδικαστικό ή τεχνικό σφάλμα, ενδέχεται να παρεμποδίσουν τη δοκιμασία και να οδηγήσουν σε ανακριβή αποτελέσματα.

Η Nexus Dx, Inc. προσφέρει προϊόντα για την προβλεπόμενη χρήση τους. Ανατρέξτε στο πληροφοριακό υλικό του συγκεκριμένου προϊόντος για τις δηλώσεις προβλεπόμενης χρήσης για κάθε προϊόν. Οι αξιώσεις του προϊόντος υπόκεινται σε αλλαγές. Οι ρητές και σιωπηρές εγγυήσεις της Nexus Dx, Inc (συμπεριλαμβανομένων των σιωπηρών εγγυήσεων εμπορευσιμότητας και καταλληλότητας) εξαρτώνται από την πιστή τήρηση των δημοσιευμένων οδηγιών της Nexus Dx, Inc. σχετικά με τη χρήση των προϊόντων της Nexus Dx Inc. Η Nexus Dx, Inc. δεν φέρει ευθύνη σε καμία περίπτωση για οποιαδήποτε έμμεση ή αποθετική ζημία.

Για τεχνική βοήθεια, παρακαλούμε επικοινωνήστε με τον τοπικό εμπορικό αντιπρόσωπο.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

ΕΥΡΟΣ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

Η IB10 DPP3 έχει αποδειχθεί ότι παρέχει μετρήσιμα αποτελέσματα σε επίπεδα DPP3 από 5 ng/mL έως 150 ng/mL.

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

Το όριο ανίχνευσης (LoD) της IB10 DPP3 είναι 5 ng/mL, το οποίο προσδιορίζεται σύμφωνα με την εγκεκριμένη κατευθυντήρια γραμμή EP17-A2 του Ινστιτούτου Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων (CLSI).¹⁸ Το ποσοστό των ψευδοθετικών (α) και ψευδοαρνητικών (β) αποτελεσμάτων είναι μικρότερο από 5% (όριο τυφλού = 0,58 ng/mL). Το όριο ποσοτικοποίησης (LoQ) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση DPP3 που μπορεί να μετρηθεί αναπαραγωγίμα με συνολικό συντελεστή διακύμανσης το πολύ 20%. Προσδιορίστηκε ότι είναι 5 ng/mL.

ΟΥΣΙΕΣ ΠΑΡΕΜΒΟΛΗΣ

Οι ακόλουθες ουσίες δοκιμάστηκαν για πιθανή παρεμβολή στη μέτρηση της DPP3 στην IB10 DPP3 με βάση την εγκεκριμένη κατευθυντήρια γραμμή EP7-A2 του CLSI (Πίνακας 1).¹⁹ Καμία σημαντική παρεμβολή δεν παρατηρήθηκε στη μέγιστη συγκέντρωση για τις ουσίες που παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 1.

Πιθανές παρεμβαλλόμενες ουσίες	Μέγιστη συγκέντρωση
Χολερυθρίνη (συζευγμένη)	40 mg/dL
Χολερυθρίνη (ελεύθερη)	60 mg/dL
Βιοτίνη	800 µg/L
Χοληστερίνη	400 mg/dL
Κρεατινίνη	2 mg/dL
Γλυκόζη	1000 mg/dL
Αιμοσφαιρίνη	0,5 g/dL
Ηπαρίνη	3000 U/L
Ρευματοειδής παράγοντας (ΡΠ)	1500 IU/mL

Ολική πρωτεΐνη	6 g/dL
Τριγλυκερίδια	3000 mg/dL
Ουρία	250 mg/dL

ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΑΓΚΙΣΤΡΟΥ

Δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο αγκίστρου υψηλής δόσης για τις συγκεντρώσεις DPP3 έως 6000 ng/mL.

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια μέτρησης της DPP3 της δοκιμασίας IB10 DPP3 προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας δείγματα όπου σε φυσιολογικό ανθρώπινο πλάσμα προστέθηκε DPP3 σε δύο συγκεντρώσεις (Πίνακας 2). Οι μετρήσεις ακρίβειας εντός ενός κύκλου και ολικής ακρίβειας προσδιορίστηκαν για μια περίοδο 20 ημερών αποτελούμενη από 2 κύκλους ανά ημέρα με 2 επαναλήψεις ανά κύκλο, συνολικά σε 80 επαναλήψεις για κάθε επίπεδο συγκέντρωσης. Οι μετρήσεις ακρίβειας εντός ενός κύκλου και ολικής ακρίβειας υπολογίστηκαν σύμφωνα με την εγκεκριμένη κατευθυντήρια γραμμή EP05-A3 του CLSI.²⁰

Πίνακας 2.

Δείγμα	Παρτίδα δοκιμασίας	Μέσος όρος (ng/mL)	Ακρίβεια στο πλαίσιο ενός κύκλου		Ολική ακρίβεια	
			Τυπική απόκλιση (ng/mL)	Συντελεστής διακύμανσης (%)	Τυπική απόκλιση (ng/mL)	Συντελεστής διακύμανσης (%)
1	A	44,82	2,96	6,6 %	3,14	7,0 %
	B	47,28	2,73	5,8 %	2,85	6,0 %
2	A	108,15	10,19	9,4 %	10,91	10,1 %
	B	110,28	9,31	8,4 %	9,59	8,7 %

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΟΛΟΚΛΗΡΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΕΝΑΝΤΙ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

Διεξήχθη συγκριτική μελέτη χρησιμοποιώντας δείγματα ολικού αίματος με EDTA και πλάσματος με EDTA. Κατά την εκτέλεση μιας ανάλυσης Bland-Altman συγκρίνοντας το σύνολο συγκεντρώσεων στο αίμα σε σχέση με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις πλάσματος σε σχέση με δείγματα του ίδιου υποκειμένου (N=58), προέκυψε μία μέση διαφορά 9,6% (95% CI = [6,3% -13,0%]) και ένας συντελεστής συσχέτισης $r = 0,98$.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Rehfeld L, Funk E, Jha S, Macheroux P, Melander O, Bergmann A. Novel Methods for the Quantification of Dipeptidyl Peptidase 3 (DPP3) Concentration and Activity in Human Blood Samples. J Appl Lab Med. 2018. doi:10.1373/jalm.2018.027995
2. Wattiaux R, Wattiaux-de Coninck S, Thirion J, Gasingirwa MC, Jadot M. Lysosomes and Fas-mediated liver cell death. Biochem J. 2007 Apr 1;403(1):89-95. PubMed PMID: 17129211; PubMed Central PMCID: PMC1828900.
3. Pang X, Shimizu A, Kurita S, Zankov DP, Takeuchi K, Yasuda-Yamahara M, et al. Novel therapeutic role for dipeptidyl peptidase III in the treatment of hypertension. Hypertension 2016;68:630–41.
4. Kumar P, Reithofer V, Reisinger M, Wallner S, Pavkov-Keller T, Macheroux P, Gruber K. Substrate complexes of human dipeptidyl peptidase III reveal the mechanism of enzyme inhibition. Sci Rep.

2016 Mar 30;6:23787. doi: 10.1038/srep23787. PubMed PMID: 27025154; PubMed Central PMCID: PMC4824452.

5. Deniau B, Rehfeld L, Santos K, Dienelt A, Azibani F, Sadoune M, Kounde PR, Samuel LS, Tolpannen H, Lassus J, Harjola VP, Vodovar N, Bergmann A, Hartmann O, Mebazaa A, Blet A. Circulating dipeptidyl peptidase-3 is a myocardial depressant factor: DPP3 inhibition rapidly and sustainably improves hemodynamics, *European Journal of Heart Failure* 2019, accepted.
6. Takagi K, Blet A, Levy B, Deniau B, Azibani F, Feliot E, Bergmann A, Santos K, Hartmann O, Gayat E, Mebazaa A, Kimmoun A. Circulating dipeptidyl-peptidase 3 and alteration in hemodynamics in cardiogenic shock: Results from the OptimaCC Trial, *European Journal of Heart Failure* 2019, accepted.
7. Information on EC 3.4.14.4 - dipeptidyl-peptidase III, BRENDA. (n.d.). <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.4.14.4>
8. Prajapati SC, Chauhan SS. Dipeptidyl peptidase III: a multifaceted oligopeptide N-end cutter. *FEBS J* 2011;278: 3256-76.
9. Shimamori Y, Watanabe Y, Fujimoto Y. Purification and characterization of dipeptidyl aminopeptidase III from human placenta. *Chem Pharm Bull* 1986;34:3333-40.
10. Vanha-Perttula T. Dipeptidyl peptidase III and alanyl aminopeptidase in the human seminal plasma: origin and biochemical properties. *Clin Chim Acta* 1988;177:179-95.
11. Aoyagi T, Wada T, Kojima F, Nagai M, Harada S, Takeuchi T, et al. Enzymatic changes in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer-type dementia. *J Clin Biochem Nutr* 1993;14:133-9.
12. Dostal DE, Hunt RA, Kule CE, Bhat GJ, Karoor V, McWhinney CD, et al. Molecular mechanisms of angiotensin II in modulating cardiac function: intracardiac effects and signal transduction pathways. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:2893-902.
13. Roks A, Buikema H, Pinto YM, van Gilst WH. The reninangiotensin system and vascular function: the role of angiotensin II, angiotensin- converting enzyme, and alternative conversion of angiotensin I. *Heart Vessels* 1997;Suppl 12:119-24.
14. Ferrario CM. Role of angiotensin II in cardiovascular disease—therapeutic implications of more than a century of research. *J Renin- Angiotensin-Aldosterone Syst* 2006;7:3-14.
15. Corrêa TD, Takala J, Jakob SM. Angiotensin II in septic shock. *Crit Care* 2015;19:98.
16. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45:942-6.
17. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay Interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15:108-15.
18. 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.
19. 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.
20. 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.