

Elecsys® Phospho-Tau (181P) CSF

Immunassay zur quantitativen *In-vitro*-Bestimmung von phosphoryliertem Tau in humanem Liquor (CSF)

Indikation

Die Alzheimer-Krankheit (AK) ist eine fortschreitende neurodegenerative Erkrankung, die mit kognitiven Funktionsstörungen und Verhaltensstörungen einhergeht. Sie stellt die häufigste Form der Demenz dar und macht 50 – 60% der Fälle aus.¹

Die Akkumulation von β -Amyloid und Tau gilt als eines der frühesten Anzeichen der pathologischen Kaskade der Alzheimer-Krankheit und findet bereits Jahrzehnte vor dem Einsetzen der Symptome statt.^{2,3,4}

Bei Tau (Tubulin-assoziierte Einheit) handelt es sich um eine Familie von neuronalen Proteinen, die durch alternatives mRNA-Splicing eines einzelnen Gens entstehen. Die Funktionen des Tau-Proteins werden über seinen Phosphorylierungszustand reguliert; in erster Linie fördert das Tau die Mikrotubulusstabilität in der Zelle.⁵ Während der Neurodegeneration führt eine abnormale Phosphorylierung zur Bildung von intrazellulären neurofibrillären Tangles (NFTs) aus Tau-Protein nach Hyperphosphorylierung. Dadurch bilden sich Aggregate aus hyperphosphoryliertem Tau-Protein, sogenanntem Phospho-Tau (pTau).^{6,7}

Es gibt derzeit zwei Methoden zur Messung von Tau: die Messung von Biomarkern in Liquor (CSF) und die Tau-Positronen-Emissions-Tomografie (PET).

In der Vergangenheit konnte die Diagnose der Alzheimer Krankheit häufig erst nach dem Tod gestellt werden. Dies hat sich in den letzten Jahren zwar verbessert, jedoch werden viele Patienten nach wie vor erst dann diagnostiziert, wenn ihre Alzheimer-Krankheit ein fortgeschrittenes Stadium erreicht hat. In vielen Ländern gibt es noch keine klaren Empfehlungen für die Diagnose von Patienten mit leichter kognitiver Beeinträchtigung (MCI) und Alzheimer, und die Diagnose basiert hauptsächlich auf den klinischen Folgen der Krankheit, die sich durch erste Anzeichen und Symptome äußern.⁸

Die im Jahr 2018 von der NIA-AA (National Institute of Ageing – Alzheimer's Association) herausgegebenen Forschungsleitlinien stellen in Bezug auf die Definition und Diagnose der Alzheimer-Krankheit einen Paradigmenwechsel dar. Darin legte die NIA-AA fest, dass die mit der Alzheimer-Krankheit einhergehenden neuropathologischen Veränderungen, die Akkumulation von β -Amyloid Protein und Tau, die durch Biomarker nachgewiesen werden, eine klare Unterscheidung zu anderen demenziellen Erkrankungen zulässt.⁹

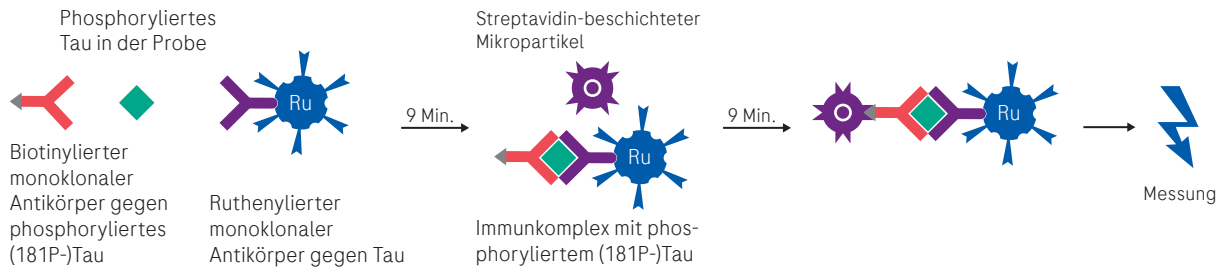
Verwendungszweck

Der Elecsys® Phospho-Tau (181P) CSF-Test ist ein Electrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA) zur quantitativen *In-vitro*-Bestimmung des phosphorylierten Tau-Proteins in humanem Liquor (CSF).¹⁰

1. Der Elecsys® Phospho-Tau (181P) CSF-Test wird allein oder in Kombination mit dem Elecsys® β -Amyloid (1–42) CSF II-Test zur Bestimmung des Quotienten bei erwachsenen Patienten mit leichter kognitiver Beeinträchtigung (MCI) verwendet, um Patienten zu identifizieren, mit einem geringeren versus höheren Risiko für einen kognitiven Verfall. Die Veränderung eines klinischen Scores ist über einen Zeitraum von 2 Jahren definiert.¹⁰

2. Der Elecsys® Phospho-Tau (181P) CSF-Test wird in Kombination mit dem Elecsys® β -Amyloid (1–42) CSF II-Test zur Bestimmung des Quotienten bei erwachsenen Patienten mit kognitiver Beeinträchtigung verwendet, die auf die Alzheimer-Krankheit und andere Ursachen kognitiver Beeinträchtigung untersucht werden sollen. Ein positives und negatives CSF-Ergebnis korrelieren mit einem positiven bzw. negativen Amyloid-PET-Befund.¹⁰

Testprinzip: zweistufiger Sandwich-Assay; Gesamtdauer des Tests: 18 Minuten



1. Inkubation (9 Minuten):

30 µl* oder 50 µl** Probe wird mit einem biotinylierten monoklonalen Antikörper, der für die Phosphorylierung am Threonin 18-spezifisch ist (11H5V1), und einem ruthenylierten monoklonalen Tau-spezifischen Antikörper (PC1C6) inkubiert und bilden einen Sandwich-Komplex.

2. Inkubation (9 Minuten):

Nach Zugabe von Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln wird der Komplex über Biotin-Streptavidin Wechselwirkung an die Festphase gebunden.

3. Messung:

Das Reaktionsgemisch wird in die Messzelle überführt, wo die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf die Oberfläche der Elektrode fixiert werden. Danach werden die ungebundenen Substanzen mit ProCell/ProCell M entfernt. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenzemission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen. Die Signalstärke verhält sich proportional zur Analytkonzentration in der Probe.

* Auf **cobas**® e 801 / **cobas**® e 402 Modul

** Auf **cobas**® e 411 Analyzer, **cobas**® e 601 / **cobas**® e 602 Modul

Elecsys® Phospho-Tau (181P) CSF-Test

	cobas ® e 601 / cobas ® e 602 Modul cobas ® e 411 Analyzer	cobas ® e 801 Modul cobas ® e 402 Modul
Testdauer	18 Minuten	
Testprinzip	Sandwich-Assay	
Kalibration	2-Punkt	
Rückführbarkeit	Diese Methode wurde anhand eines aufgereinigten Referenzmaterials, Tau(172-205)-[pThr181]-Amid, standardisiert, das mittels Aminosäureanalyse (AAA) absolut quantifiziert wurde.	
Probenmaterial	Liquor	
Probenvolumen	50 µl	30 µl
Haltbarkeit im Gerät	28 Tage	16 Wochen
Messbereich	8 – 120 pg/ml Definiert durch die Bestimmungsgrenze und das Maximum der Masterkurve. Werte unterhalb der Bestimmungsgrenze werden als < 8 pg/ml angegeben. Werte oberhalb des Messbereichs werden als > 120 pg/ml angegeben.	
Unterer Messbereich ^{a)}	LoB: 4 pg/ml; LoD: 8 pg/ml; LoQ: 8 pg/ml	
Zwischenpräzision	cobas ® e 601 / cobas ® e 602 Modul 1,6 – 2,5% (16,4 – 107 pg/ml) cobas ® e 411 Analyzer 1,5 – 3,2% (15,6 – 104 pg/ml)	cobas ® e 801 Modul 1,3 – 2,6% (15,5 – 111 pg/ml) cobas ® e 402 Modul 1,2 – 2,1% (26,9 – 106 pg/ml)

a) LoB = Erfassungsgrenze, LoD = Nachweisgrenze, LoQ = Bestimmungsgrenze (20% VK)

Klinische Leistung des Elecsys® Phospho-Tau (181P) CSF-Tests

Übereinstimmung mit visuellen Amyloid-PET-Befunden

Die Übereinstimmung der Testergebnisse der Liquor-Biomarker mit visuellen Amyloid-PET-Werten wurde mit Proben von 277 Patienten aus der BioFINDER Kohorte mit subjektiven kognitiven Defiziten (SCD) und leichten kognitiven Einschränkungen (MCI) untersucht.^{10,11}

Die Cut-off-Werte für Abeta42 und die pTau/Abeta42 und Tau/Abeta42 Quotienten wurden anhand der visuellen Amyloid-PET-Werte bestimmt. Da in der BioFINDER-Studie ein anderes präanalytisches Vorbereitungsverfahren zur Anwendung kam als bei Roche, wurde ein Korrekturfaktor verwendet, um die Cut-offs zu übertragen.^{10,11}

Tabelle 1: Übereinstimmung der CSF-Biomarker-Cut-off-Werte im Vergleich zum visuellen Amyloid-PET-Befund^{10,11}

	Cut-off (+)	Cut-off (-)	PPA, ^{a)} %	NPA, ^{b)} %	OPA, ^{c)} %
Elecsys® pTau/AB42	> 0,023	≤ 0,023	90,9 (83,9 – 95,6)	89,2 (83,5 – 93,5)	89,9 (85,7 – 93,2)

a) PPA: positive prozentuale Übereinstimmung, b) NPA: negative prozentuale Übereinstimmung, c) OPA: prozentuale Übereinstimmung, insgesamt
Hinweis: Die Werte in Klammern geben die 95%-Konfidenzintervalle an.

Erkennung von Patienten mit dem Risiko eines kognitiven Verfalls

Die Fähigkeit der Biomarker, Patienten mit einem geringeren bzw. einem höheren Risiko eines kognitiven Verfalls zu unterscheiden, wurde anhand von 619 Liquorproben aus der ADNI 1/GO/24 (Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative) Kohorte von Patienten mit früher (EMCI) und später leichter kognitiver Störung (LMCI) untersucht.^{10,11} Die Progression wurde als Änderung klinischer Scores CDR-SB (Clinical Dementia Rating – Sum of Boxes) oder MMS (Mini-Mental State Examination) innerhalb von 2 Jahren gemessen und mithilfe von linearen gemischten Modellen beurteilt.^{10,11}

Im Rahmen der Analyse wurden zwei Effekte beurteilt:

- Effekt 1: keine wesentlichen Änderungen in den klinischen Scores (CDR-SB, MMSE) bei Biomarker-negativen Patienten von Baseline bis 24 Monate.
- Effekt 2: Die Änderung der CDR-SB- und MMSE Scores zwischen den Biomarker-positiven und Biomarker-negativen Gruppen unterschied sich innerhalb eines 2-Jahres-Zeitraums auf der Grundlage der Quotienten um mehr als 1 bzw. -2,5 Einheiten.^{10,11}

Es wurden die gleichen Cut-off-Werte wie beim Vergleich mit dem visuellen Amyloid-PET-Befund angewendet.

Tabelle 2: Cut-off-Werte für einzelnen Biomarker und den Quotienten^{10,11}

	Cut-off (+)	Cut-off (-)
Elecsys® pTau	> 27 pg/ml	≤ 27 pg/ml
Elecsys® pTau/AB42	> 0,023	≤ 0,023

a) PPA: positive prozentuale Übereinstimmung, b) NPA: negative prozentuale Übereinstimmung, c) OPA: prozentuale Übereinstimmung, insgesamt
Hinweis: Die Werte in Klammern geben die 95%-Konfidenzintervalle an.

Tabelle 3: Schätzwerte der Biomarker-Effekte^{10,11}

Klinischer Score	Biomarker	Effekt (1) Schätzwert (95 % CI ^{a)})	Effekt (2) Schätzwert (95 % CI ^{a)})
CDR-SB ^{b)}	pTau	0,48 (0,34; 0,62)	1,00 (0,78; 1,21)
	pTau/Abeta42	0,17 (0,02; 0,32)	1,42 (1,21; 1,62)
MMSE ^{c)}	pTau	-0,43 (-0,69; -0,18)	-1,80 (-2,20; -1,40)
	pTau/Abeta42	-0,08 (-0,36; 0,20)	-2,17 (-2,56; -1,77)

a) Konfidenzintervall, b) CDR-SB: Clinical Dementia Rating – Sum of Boxes, c) MMSE: Mini-Mental State Examination

Präanalytisches Protokoll

Aufgrund der klebrigen Eigenschaften des Proteins β-Amyloid (1–42) wird die in einer CSF-Probe gemessene Abeta42-Konzentration durch die präanalytische Handhabung beeinflusst.¹²

Roche ist Mitglied des CSF Pre-analytics Consortium, das von der Alzheimer's Association geleitet wird. Es ist das Ziel des Konsortiums ein einfaches, leicht umsetzbares und auf

Daten und Konsens basierendes präanalytisches Protokoll für den klinischen Routineeinsatz zu entwickeln.¹²

Das präanalytische Protokoll (im Methodenblatt unter Abschnitt: Probenentnahme und -vorbereitung beschrieben), ist das Ergebnis des im Rahmen des CSF Pre-analytics Consortium erzielten Konsenses und deren Empfehlung.

Bestellinformationen

	Inhalt	Bestellnummer
Elecsys® Phospho-Tau (181P) CSF ^{a)}	60 Tests	08 846 693 190
Elecsys® Phospho-Tau (181P) CSF ^{b)}	100 Tests	08 846 715 190
Calset Phospho-Tau (181P)	4 × 1,0 ml	07 357 044 190
PreciControl Phospho-Tau (181P)	6 × 1,0 ml	07 357 052 190

a) Auf **cobas**® e 411 Analyzer, **cobas**® e 601 / **cobas**® e 602 Modul

b) Auf **cobas**® e 402 / **cobas**® e 801 Modul

Literatur

- World Health Organization (WHO). Dementia Fact Sheet. Verfügbar unter: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>. Letzter Zugriff: January 2021.
- Agamanolis, D. (2020). Alzheimer's Disease (in Neuropathology). Verfügbar unter: <https://neuropathology-web.org/chapter9/chapter9bAD.html>. Letzter Zugriff: Juni 2020.
- Jack, C.R., et al. (2010). Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. **Lancet Neurol.** **9**(1), 119-28.
- Bateman, R.H., et al. (2012). Clinical and Biomarker Changes in Dominantly Inherited Alzheimer's Disease. **NEJM.** **367**, 795-804.
- Stoothoff, W. et al. (2005). Tau phosphorylation: physiological and pathological consequences. **Biochimica et biophysica Acta**, **1739** (2-3): 280-297.
- Iqbal, K. et al. (2016) Tau and neurodegenerative disease: the story so far. **Nature Reviews Neurology.** **12**, 15-27.
- Wang, Y. et al. (2015). Tau in physiology and pathology. **Nature Reviews Neuroscience.** **17**, 22-35.
- NICE. (2018). 2018 Dementia: assessment, management and support for people living with dementia and their carers. In NICE guideline NG97. Verfügbar unter: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng97> Letzter Zugriff: Januar 2021.
- Jack, C.R. Jr. et al. (2018). NIA-AA Research Framework : Toward a biological definition of Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, **14**(4): 535-562.
- Elecsys® Method Sheet: ms_08846693190, ms_08846715190.
- Hansson, O., et al. (2018). CSF biomarkers of Alzheimer's disease concord with amyloid-β PET and predict clinical progression: A study of fully automated immunoassays in BioFINDER and ADNI cohorts. **Alzheimers Dement** **14**(11), 1470-1481.
- Hansson, O., et al (2020). Pre-analytical protocol for measuring Alzheimer's disease biomarkers in fresh CSF. **Alzheimers Dement.** **18**, 12(1).

Roche Diagnostics Deutschland GmbH
Sandhofer Straße 116
68305 Mannheim

COBAS, ELECSYS und PRECICONTROL
sind Marken von Roche.

© 2023 Roche Diagnostics. Alle Rechte vorbehalten.

www.roche.de