

NT-proBNP-CHECK-1

Rýchly kvantitatívny test na stanovenie aminoterminálneho fragmentu mozgového natriuretického peptidu (NT-proBNP)

vo vzorkách plnej krvi, séra alebo heparinizovanej plazmy. **LEN NA POUŽITIE S EASY READER+®** Ref. 180091-3L (20 testov) / Ref. 180091-3L-10T (10 testov)

I. ÚČEL POUŽITIA

NT-proBNP-CHECK-1 je rýchly skrínigový test na detekciu ľudského NT-proBNP vo vzorkách plnej krvi, séra alebo heparinizovaného plazmatického séra, ktorý zdravotnícki pracovníci používajú ako nástroj pri posudzovaní srdcových porúch, ako je kongestívne srdcové zlyhanie. Samotné meranie koncentrácie NT-proBNP nestačí na diagnostikovanie srdcového zlyhania alebo iných srdcových dysfunkcií. Na potvrdenie diagnózy sú vo všeobecnosti potrebné ďalšie klinické vyšetrenia, ako je echografia alebo echokardiogram.

II. PRINCÍP

Nátriuretické peptidy sú hormóny s diuretickými a vazodilatačnými účinkami, vylučované prevažne v ľavej komore ako mechanizmus kompenzácie tlakového preťaženia (1). BNP, ako aj NT-proBNP, ktoré nie sú prítomné v normálnom myokarde, sú produktmi proteolytického spracovania molekuly pro-BNP, ktorej koncentrácia sa zvyšuje s kardiovaskulárnymi príhodami, ako je srdcové zlyhanie (HF), akútne koronárne syndrómy alebo kardiomyopatia (2). BNP a NT-proBNP si preto získali široké uznanie ako dôležité nástroje na diagnostiku a stratifikáciu rizika v prostredí akútnej starostlivosti (3,4,5). Hoci sú odvodené od spoločného prekursora, BNP a NT-proBNP sa v mnohých ohľadoch líšia. Ako biologicky aktívna molekula sa BNP eliminuje z krvného obehu špecifickými receptormi a degraduje sa v preriforálnej krvi, zatiaľ čo NT-proBNP ako biologicky inertná molekula nie. V rodine natriuretických peptidov sa zdá, že NT-proBNP je najlepším prediktorom klinického výsledku v prípade preťaženia extracelulárnou tekutinou u hemodialyzovaných pacientov (9). NT-proBNP je však stabilnejší ako BNP, a to je dôležité kritérium pre diagnostické účely. Má dlhšiu trvanlivosť v plnej krvi, možno ho detegovať v plazme a sére a je stabilný pri izbovej teplote (6). NT-proBNP-CHECK-1 je rýchly kvantitatívny test na detekciu NT-proBNP vo vzorkách plnej krvi, séra alebo heparinizovanej plazmy. Metóda je založená na jedinečnej kombinácii monoklonálneho farbivového konjugátu a protilátok na pevnej fáze (získaných pomocou špecifických peptidov na imunizáciu myší) na identifikáciu NT-proBNP v testovaných vzorkách s vysokým stupňom špecificity. V závislosti od koncentrácie NT-proBNP vo vzorke sa na teste objavujú rôzne čiary, ktoré umožňujú jeho kvantitatívne meranie, ak sa použije v kombinácii s prístrojom EASYREADER+® od spoločnosti VEDALAB.

III. KOMPONENTY SÚPRAVY

NT-proBNP-CHECK-1 Každá súprava obsahuje všetko potrebné na vykonanie 10 alebo 20 testov.

- Testovacie zariadenia NT-proBNP-CHECK-1:	10	20 ks
- Jednorazové plastové pipety:	10	20 ks
- Riedidlo v kvapkadlovej fľaštičke:	2,5 ml	5 ml
- Príbalový leták	1	1

- Kontroly (voliteľné):

Pozitívna kontrola (ref. V18000) a negatívna kontrola (ref. V18001): lyofilizovaný prípravok neinfekčnej zlúčeniny v zriedenom ľudskom sére, testovaný a zistený ako negatívny na antigény HIV, HCV a HBs, obsahujúci 0,05 % azidu sodného je voliteľne dostupný ako pozitívna a negatívna kontrola (1x 0,25 ml). Rozsah koncentrácie je uvedený na štítku injekčnej liekovky.

IV. SKLADOVANIE A STABILITA

- 1) Všetky komponenty súpravy NT-proBNP-CHECK-1 by sa mali skladovať pri izbovej teplote (+4 °C až +30 °C) v uzavretom vrecku.
- 2) **Testovaciu súpravu nezmrazujte.**
- 3) Súprava NT-proBNP-CHECK-1 je stabilná do dátumu expirácie uvedeného na štítku obalu.

V. BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

1. Tento test je určený len na diagnostické použitie in vitro a profesionálne použitie.
2. Pred vykonaním testu si pozorne prečítajte návod na použitie.
3. So všetkými vzorkami zaobchádzajte, ako keby obsahovali infekčné agensy. Po dokončení testu vzorky opatrne zlikvidujte po ich autoklávaní po dobu najmenej jednej hodiny. Prípadne ich môžete pred likvidáciou ošetriť 0,5 % až 1 % roztokom chlórnanu sodného po dobu jednej hodiny.
4. Počas testovania vzoriek noste ochranný odev, ako sú laboratórne plášte a jednorazové rukavice.
5. V priestoroch, kde sa manipuluje so vzorkami a činidlami zo súpravy, nejedzte, nepite ani nefajčite.
6. Počas odberu a testovania vzoriek sa vyhýbajte kontaktu rúk s očami alebo nosom.
7. Nepoužívajte po dátume expirácie uvedenom na štítku obalu.
8. Nepoužívajte test z poškodeného ochranného obalu.
9. **Ak sa test vykonáva s vzorkami plnej krvi, mali by sa použiť iba čerstvé vzorky (< 4 hodiny).**
10. **Ak sú prítomné antikoagulanty, mali by sa použiť iba heparinizované vzorky.**

2

VI. ODBER A PRÍPRAVA VZORIEK

- 1) Test NT-proBNP-CHECK-1 sa vykonáva s použitím vzoriek plnej ľudskej krvi, séra alebo heparinizovanej plazmy. **Nepoužívajte hemolyzované vzorky.**
- 2) Vzorka by sa mala odobrať za štandardných laboratórnych podmienok (asepticky, aby sa predišlo hemolyze).
- 3) Vzorky pacientov sa najlepšie testujú ihneď.
- 4) Vzorky obsahujúce zrazeninu môžu vykazovať nekonzistentné výsledky testu. Takéto vzorky by sa mali pred testovaním vyčistiť.
- 5) Ak sa test má vykonať do 48 hodín po odbere, vzorka by sa mala uchovávať v chladničke (+2 °C až +8 °C). Ak sa testovanie oneskoruje o viac ako 48 hodín, vzorka by sa mala zmraziť. Zmrazená vzorka sa musí pred testovaním úplne rozmraziť, dôkladne premiešať a nechať vychladnúť na izbovú teplotu. Zabráňte opakovanému zmrazovaniu a rozmrazovaniu.
- 6) V prípade zakalenia, vysokej viskozity alebo prítomnosti častíc vo vzorke séra by sa mala pred testovaním zriediť rovnakým objemom (V/V) negatívnej vzorky.

VII. POSTUP TESTU

DÔLEŽITÉ: Pred vykonaním akýchkoľvek meraní zapnite čítačku a nechajte ju zohriať aspoň 30 minút.

a) Testovanie kontrol

Pre lyofilizované pozitívne aj negatívne kontroly rekonštituujte každú fľaštičku s 0,25 ml destilovanej vody. Po rozpustení počkajte 15 minút. Pridajte požadovaný objem (25 µl) pomocou laboratórnej pipety (jednorazové hroty) do jamky na vzorku v kazete a postupujte rovnako ako pri vzorke pacienta. Očakávaná úroveň koncentrácie (v pg/ml) je uvedená na štítku fľaštičky a získaný výsledok sa musí zhodovať s uvedenou hodnotou. Úroveň koncentrácie sa môže mierne meniť v závislosti od čísla šarže. Rekonštituovaná fľašti

čka sa má uchovávať pri teplote +2 °C až +8 °C a má sa spotrebovať do 7 dní po rekonštitúcii.

b) Testovanie vzorky

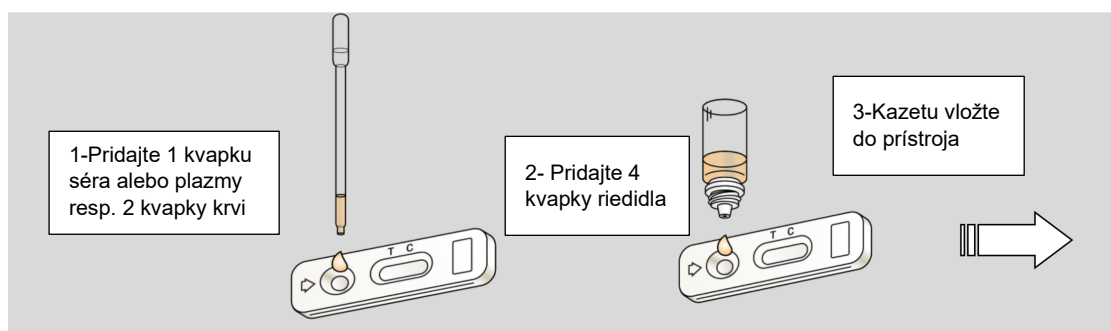
Postupujte podľa nižšie uvedených pokynov alebo si pozrite obrázok č. 1. 1.

1. Pred testovaním nechajte vzorky a testovacie zariadenia NT-proBNP-CHECK-1 zohriať na izbovú teplotu.
2. Vyberte reakčnú kazetu z ochranného obalu roztrhnutím pozdĺž deliacej čiary.
3. Označte kazetu menom pacienta alebo kontrolným číslom.
4. Naplňte kvapkadlo na sérum vzorkou (sérom alebo plazmou) a držiak ho vertikálne, kvapnite 1 kvapku (25 µl) do jamky na vzorku. Ak sa používa vzorka plnej krvi, kvapnite 2 kvapky (50 µl) do jamky na vzorku.

Poznámka: Po pridaní vzorky do jamky na vzorku je veľmi dôležité počkať jednu minútu, kým sa úplne vstrebe, a až potom pridajte riedidlo.

5. Držte liekovku s riedidlom vertikálne a pridajte presne 4 kvapky (150 µl) riedidla do jamky na vzorku s intervalom 2-3 sekundy medzi jednotlivými kvapkami.
6. Po 15 minútach odčítajte výsledok (v pg/ml) buď pomocou okamžitého, alebo odpočítavacieho režimu odčítania.

Všeobecné pokyny na používanie čítačky rýchlych testov VEDALAB nájdete v príslušnom letáku.



Obrázok č. 1

3

VIII. VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

a) Linearita

Bola vykonaná štúdia s použitím vopred testovaných vzoriek séra (Biomerieux Mini Vidas Analyser) a dávková odpoveď získaná testom NT-proBNP-CHECK-1 zodpovedá lineárnej regresii v rozsahu 125 až 6 500 pg/ml:

$$Y = 0,9541 x + 36,446$$

Merací rozsah je 125 – 6 500 pg/ml.

Pre koncentráciu NT-proBNP nižšiu ako 125 pg/ml sa výsledok zobrazí ako „< 125 pg/ml“.

Pre koncentráciu NT-proBNP vyššiu ako 6 500 pg/ml sa výsledok zobrazí ako „> 6 500 pg/ml“.

b) Analytická citlivosť

Citlivosť NT-proBNP-CHECK-1 je 125 pg/ml.

Nižšie koncentrácie NT-proBNP budú zobrazené ako „<125 pg/ml“

c) Analytická špecificita

Nasledujúce látky boli testované na krížovú reakciu (Tabuľka 1). Údaje boli oznámené dodávateľom protilátok proti NT-proBNP.

Látky	Reaktivita (%)
NT-proBNP	100 %
proBNP	100 %
BNP	Žiadne

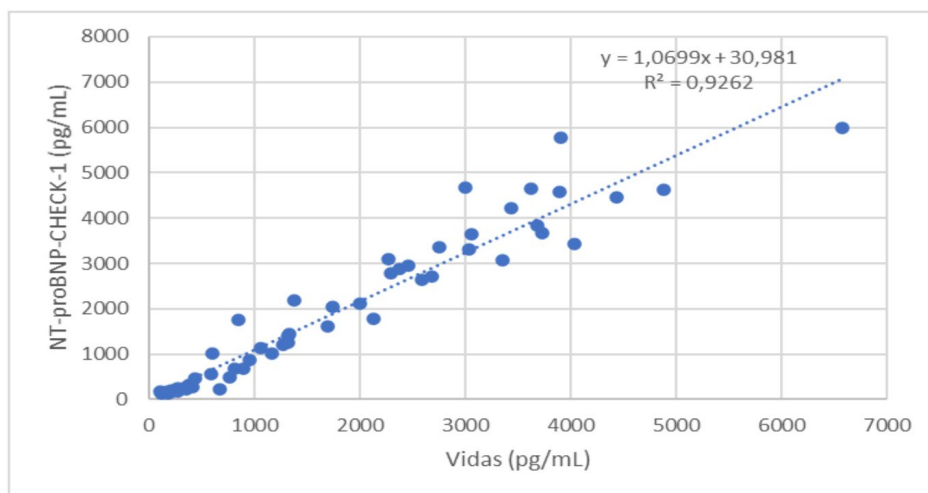
Tabuľka 1: Analytická špecificita

d) Hook efekt

Vysoko pozitívne vzorky séra s koncentráciou NT-proBNP do 147 ng/ml neustále vykazovali pozitívne výsledky a nevykazovali žiadny hook efekt. 1.

e) Presnosť

Klinická štúdia bola vykonaná s použitím 90 predbežne testovaných vzoriek séra/plazmy (analyzátor VIDAS, BIOMERIEUX) a testu NT-proBNP-CHECK-1. Získané výsledky ukazujú koreláciu 96,24 % (CI 95 % [93,7 – 97,8] *) medzi oboma metódami (obrázok č. 2).



Obr. 2

Na určenie diagnostickej citlivosti a špecificity testu NT-proBNP-CHECK-1 boli v závislosti od veku pacienta zvážené nasledujúce rôzne hraničné koncentrácie NT-proBNP (Tabuľka 2):

NT-proBNP cut-off	Diagnostic sensitivity	Diagnostic specificity	Correlation	Positive predictive value	Negative predictive value
450 pg/mL (<50 years)	$\frac{46}{47} \times 100 = 97.87\%$ (IC 95% [88.11-100]*)	$\frac{42}{43} \times 100 = 97.67\%$ (IC 95% [87.08-100]*)	$\frac{(46+42)}{90} \times 100 = 97.78\%$ (IC 95% [91.78-100]*)	$\frac{46}{47} \times 100 = 97.87\%$ (IC 95% [88.11-100]*)	$\frac{42}{43} \times 100 = 97.67\%$ (IC 95% [87.08-100]*)
900 pg/mL (>50 et <75 years)	$\frac{38}{40} \times 100 = 97.50\%$ (IC 95% [86.19-100]*)	$\frac{48}{50} \times 100 = 96.00\%$ (IC 95% [85.59-100]*)	$\frac{(39+48)}{90} \times 100 = 96.67\%$ (IC 95% [90.10-99.56]*)	$\frac{39}{41} \times 100 = 95.12\%$ (IC 95% [82.66-100]*)	$\frac{48}{49} \times 100 = 97.96\%$ (IC 95% [88.56-100]*)
1800 pg/mL (>75 years)	$\frac{29}{30} \times 100 = 96.67\%$ (IC 95% [82.05-100]*)	$\frac{58}{60} \times 100 = 96.67\%$ (IC 95% [87.87-100]*)	$\frac{(29+58)}{90} \times 100 = 96.67\%$ (IC 95% [90.10-99.56]*)	$\frac{29}{31} \times 100 = 93.55\%$ (IC 95% [77.59-100]*)	$\frac{58}{59} \times 100 = 98.31\%$ (IC 95% [90.40-100]*)

Tabuľka 2: Diagnostická citlivosť a špecificita

*CI 95 %: 95 % interval spoľahlivosti

f) Referenčné hodnoty

Dôrazne sa odporúča, aby si každé laboratórium stanovilo vlastné referenčné hodnoty. Štandardné referenčné hodnoty pre prípady neakútneho kongestívneho srdcového zlyhania sú však uvedené v tabuľke 3 nižšie (7, 8).

	Vek		
	<50	>50 a <75	>75
Normála hodnota	<125 pg/mL	<125 pg/mL	<450 pg/mL
Zelená zóna	125-450 pg/mL	125-900 pg/mL	450-1,800 pg/mL
Patologická hodnota	>450 pg/mL	>900 pg/mL	>1,800 pg/mL

Tabuľka 3: Referenčné hodnoty

g) Opakovateľnosť v rámci šarže

Bolo vykonaných 20 replikátov každej z 3 vzoriek séra s koncentráciou NT-proBNP 660 pg/ml, 1 913 pg/ml a 4 782 pg/ml. Získané výsledky ukázali variačný koeficient (CV) 14,8 %, 10,6 % a 9,7 %.

h) Reprodukovateľnosť medzi šaržami

Reprodukovateľnosť medzi jednotlivými cyklami bola stanovená vykonaním 3 vzoriek séra s koncentráciou NT-proBNP 171 pg/ml, 1 082 pg/ml a 4 070 pg/ml meraných s použitím troch rôznych šarží NT-proBNP-CHECK-1. Získané variačné koeficienty (CV) sú 8,4 %, 13,4 % a 8,3 %.

i) Interferencie

1- Bilirubín, triglyceridy a hemoglobín.

4 vzorky séra obsahujúce 0; 660; 1 913 a 4 782 pg/ml NT-proBNP s prídavkom bilirubínu (10 mg/l), triglyceridov (15 g/l) alebo hemoglobínu (5 g/l) boli testované v troch opakovaniach pomocou kvantitatívneho rýchleho testu NT-proBNP-CHECK-1. Výsledky ukazujú, že bilirubín, triglyceridy a hemoglobín neinterferujú až do koncentrácií 10 mg/l, 15 g/l a 5 g/l.

2- Vzorka séra s negatívnym výsledkom na reumatoidný faktor (RF) 1

(<125 pg/ml) s prídavkom reumatoidného faktora (2 000 IU/ml) bola testovaná v troch opakovaniach pomocou kvantitatívneho rýchleho testu NT-proBNP-CHECK-1. Výsledky ukazujú opakované namerané hodnoty „<125 pg/ml“, a preto koncentrácia RF do 2 000 IU/ml neinterferuje s kvantitatívnym rýchlym testom NT-proBNP-CHECK-1.

3- HAMA 1

negatívna vzorka séra (<125 pg/ml) s prídavkom HAMA (ľudské anti-myšie protilátky) typu 1 alebo 2 bola testovaná v troch opakovaniach pomocou kvantitatívneho rýchleho testu NT-proBNP-CHECK-1. Výsledky ukazujú, že ani HAMA typu 1 (protilátky, ktoré môžu byť prítomné u zdravých pacientov), ani HAMA typu 2 (objavujúce sa u pacientov po liečbe monoklonálnymi protilátkami) neinterferujú s kvantitatívnym rýchlym testom NT-proBNP-CHECK-1 pri testovaných koncentráciách.

4- Antikoagulancia

Ak sú prítomné antikoagulancia, má sa použiť iba heparín.

j) Matricový efekt

30 vzoriek séra alebo heparinizovanej plazmy s pridanými červenými krvinkami bolo analyzovaných pomocou kvantitatívneho rýchleho testu NT-proBNP-CHECK-1. Medzi vzorkami plazmy a vzorkami plnej krvi sa nezistil žiadny rozdiel vo výsledkoch, t. j. nebol pozorovaný žiadny matricový efekt.

IX. OBMEDZENIA

1. Rovnako ako pri akomkoľvek diagnostickom postupe, lekár by mal vyhodnotiť údaje získané pomocou tejto súpravy na základe ďalších dostupných klinických informácií.
2. Tento formát testu sa má používať iba s prístrojom VEDALAB EASY READER+®.
3. Ak sa čas čítania (15 minút) prísne nedodrží, získajú sa nesprávne výsledky.
4. Tento formát testu by sa nemal používať na vizuálne čítanie.
5. Rovnako ako pri akejkoľvek diagnostickej metóde alebo pri akýchkoľvek meraniach pomocou analyzátorov, existuje variabilita získaného výsledku. Preto by sa pre konečnú hodnotu a klinický význam výsledku mal zväžiť rozsah spoľahlivosti +/- 25 %.
6. Odporúča sa, aby si každé laboratórium stanovilo vlastné referenčné rozsahy na základe reprezentatívnej populácie pacientov, aby sa otestovala platnosť poskytnutých údajov. Uvedené údaje by preto mali slúžiť len ako orientačné pokyny.
7. Pre dosiahnutie lepších výsledkov sa odporúča prísne dodržiavať nasledujúce odporúčania týkajúce sa teploty a pred začiatkom meraní čítačku 30 minút zahrievať.
8. Niektoré vzorky séra s vysokou koncentráciou reumatoidného faktora (RF) môžu počas testovania poskytnúť nešpecifické pozitívne výsledky. Takéto prípady by sa mali pred testovaním rozlíšiť.
9. Test je navrhnutý tak, aby eliminoval potenciálnu interferenciu ľudských protilátok proti myšiam (HAMA). Vysoká hladina HAMA však môže viesť k falošne pozitívnym výsledkom.
10. Ak sa test vykonáva s plnou krvou, používajte iba čerstvé vzorky plnej krvi (<4 hodiny).
11. **V prípade prítomnosti antikoagulantov by sa mali používať iba vzorky s heparínom.**

X. BIBLIOGRAFIA

- 1- **Pandey KN.** Biology of natriuretic peptides and their receptors. *Peptides* 2005;26: 901-32.
- 2- **Di Angelantonio E, Chowdury R, Sarwar N, Ray KK, Gobin R, Saleheen D, and al.** B-type natriuretic peptides and cardiovascular risk: systematic review and meta-analysis of 40 prospective studies. *Circulation* 2009;120: 2177-87
- 3- **Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Duc P, and al.** Rapid measurement of the B-type natriuretic peptide in emergency diagnosis of heart failure. *N engl J Med* 2002;347: 161-7.
- 4- **Januzzi JL Jr, Camargo CA, Anwaruddin S, Baggish AL, Chen AA, Krauser DG, and al.** The N-Terminal pro-BNP investigation of dyspnea in the emergency department (PRIDE) study. *Am J Cardiol* 2005;95: 948-54.
- 5- **G.C.M. Lissen, T. Jaarsma, H.L. Hillege, A.A. Voors, D. J. Van Veldhuisen.** A comparison of the prognostic value of BNP versus NT-pro BNP after hospitalisation for heart failure. *Neth Heart* 2018;26: 486-492
- 6- **Pemberton C.J., Johnson M.L., Yandle T.G. and al.** Deconvolution analysis of cardiac natriuretic peptides during acute volume overload. *Hypertension* 2000;36: 355-359
- 7- **S. Ekelund, K. Manfred.** Choosing cut-offs for NT pro BNP – Acute care testing org – 2011; 1-4
- 8- *Precis de bio pathologie. Analyses médicales spécialisées.* *Biomnis* 2012; 1-3
- 9- **Pastural—Thaumat M., Ecohard R, Boumendjel N., Abdullah E. and al.** Relative changes in NT-proBNP level: An important risk predictor of cardiovascular congestion in Haemodialysis Patients. *Nephron Extra* 2012; 2: 311-318.