

Dimension® EXL™ integrated chemistry system

LOCI® Module

Flex® reagent cartridge

NTP

See shaded sections: Updated information from 2019-05 version.

Issue Date 2020-08

N-terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide

Intended Use: The NTP method is an *in vitro* diagnostic assay for the quantitative measurement of N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in human serum and plasma on the Dimension® EXL™ integrated chemistry system with LOCI® Module. In individuals suspected of having congestive heart failure (CHF), measurements of NT-proBNP are used as an aid in the diagnosis and assessment of severity. The test is further indicated for the risk stratification of patients with acute coronary syndrome and heart failure.

Summary: Left ventricular dysfunction can occur as part of coronary heart disease, arterial hypertension, valvular disease, and primary myocardial disease. If the left ventricular dysfunction remains untreated and is progressive, the potential for mortality is high, e.g., due to sudden cardiac death.

Chronic cardiac insufficiency is a clinical syndrome caused by impairment of the cardiac pumping function. Based on the symptoms, the severity of cardiac insufficiency is classified in stages I-IV by the New York Heart Association (NYHA). Clinical tests and imaging procedures are used to diagnose left ventricular dysfunction.¹

The significance of natriuretic peptides in the control of cardiovascular system function has been established. Initial studies reveal that natriuretic peptides can be used for diagnosing clinical problems associated with left ventricular dysfunction.² The following natriuretic peptides have been reported in the literature: atrial natriuretic peptide (ANP), brain natriuretic peptide (BNP), and C-type natriuretic peptide (CNP).^{3,4}

ANP and BNP have natriuretic and diuretic properties. As antagonists of the renin-angiotensin-aldosterone system, they influence the electrolyte and fluid balance in an organism.^{5,6} In subjects with left ventricular dysfunction, serum and plasma concentrations of BNP increase, as do the concentrations of the biologically inactive prohormone, proBNP. ProBNP consists of 108 amino acids. It is secreted mainly by the left ventricle of the heart and, in this process, is cleaved into physiologically active BNP (77 – 108), and the N-terminal fragment NT-proBNP (1 – 76).⁴

Studies indicate that NT-proBNP can be used in diagnostic and prognostic applications.⁷⁻¹³ The concentration of NT-proBNP in plasma indicates the prognosis for the left ventricular dysfunction. It is also useful in assigning symptoms to cardiac or non-cardiac causes.

Determination of NT-proBNP helps to identify subjects with left ventricular dysfunction. Changes in NT-proBNP concentration can be used to evaluate the success of treatment in patients with left ventricular dysfunction. There are indications that NT-proBNP, due to its functions, is suitable for use in assessing vascular remodeling, and therefore contributes to the establishment of individualized rehabilitation procedures.^{10,11}

Fisher et al. found that congestive heart failure patients with elevated NT-proBNP values had a one year mortality rate of 53% compared to 11% in patients with lower values.¹² In the Gusto IV study which involved more than 6800 patients it was shown that NT-proBNP was the strongest independent predictor of one year mortality in patients with acute coronary syndrome.¹³

The European Society of Cardiology Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure recommends in their guidelines that natriuretic peptides including NT-proBNP "may be most useful clinically as a rule out test due to consistent and very high negative predictive values."

NT-proBNP levels are increased in patients with unstable angina and following myocardial infarction.^{14,15} Although not diagnostic for these conditions, several studies indicate NT-proBNP measurements provide prognostic information for the short- and long-term risk stratification of patients with unstable angina or myocardial infarction.^{15,16,17}

Principles of Procedure: The NTP method is a one-step sandwich chemiluminescent immunoassay based on LOCI® technology. LOCI® reagents include two synthetic bead reagents and a biotinylated monoclonal antibody fragment which recognize an epitope located in the N-terminal part of proBNP. The first bead reagent (Sensibeads) is coated with streptavidin and contains photosensitive dye. The second bead reagent (Chemibeads) is coated with a second antibody specific for a second independent epitope on NT-proBNP and contains chemiluminescent dye. Sample is incubated with Chemibeads and biotinylated antibody to form a particle/NT-proBNP/biotinylated antibody sandwich. Sensibeads then are added and bind to the biotin to form a bead-aggregated immunocomplex. Illumination of the complex by light at 680 nm generates singlet oxygen from Sensibeads, which diffuses to the Chemibeads and triggers a chemiluminescent reaction. The resulting chemiluminescent signal is measured at 612 nm and is directly proportional to the concentration of NT-proBNP in the sample.^{18,19,20}

Reagents

Wells ^a	Form	Ingredient	Concentration ^b	Source
1 – 2	Liquid	Biotinylated antibody	8 µg/mL	Sheep, monoclonal
3 – 4	Liquid	NT-proBNP Chemibeads	150 µg/mL	Sheep, monoclonal
5 – 6	Liquid	Streptavidin Sensibeads	1400 µg/mL	Recombinant <i>E. coli</i>
7 – 8	Liquid	Assay buffer		

a. Wells are numbered consecutively from the wide end of the cartridge.

b. Nominal value per well in a cartridge.

Risk and Safety:



H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P501

Warning!
May cause an allergic skin reaction.

Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace. IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations.
Contains: 5-chloro-2-methyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-methyl-3(2h)-isothiazolone.

Safety data sheets (MSDS/SDS) available on [siemens.com/healthcare](https://www.siemens.com/healthcare)

Precautions: Used HM reaction vessels contain human body fluids; handle with appropriate care to avoid skin contact or ingestion.

For *in vitro* diagnostic use

Reagent Preparation: All reagents are liquid and ready to use.

Store at: 2 – 8 °C

Expiration: Refer to carton for expiration date of individual unopened reagent cartridges. Sealed wells on the instrument are stable for 30 days.

Open well stability: 3 days for wells 1 – 8

Specimen Collection and Handling: Recommended specimen types: Serum or plasma samples (lithium heparin, sodium heparin, and EDTA).

Samples and controls stabilized with azide cannot be used.

Serum and plasma can be collected using recommended procedures for collection of diagnostic blood specimens by venipuncture.^{21,22,23} Each laboratory must determine its appropriate sample timing/collection protocol.

Follow the instructions provided with your specimen collection device for use and processing.²³

Complete clot formation should take place before centrifugation. Serum or plasma should be physically separated from cells as soon as possible with a maximum limit of two hours from the time of collection.²⁴ Specimens should be free of particulate matter.

If clotting time is increased due to thrombolytic or anticoagulant therapy, the use of plasma specimens will allow for faster sample processing and reduce the risk of interference by particulate matter.^{21,24}

Samples are stable for three days when stored at 20 – 25 °C or at 2 – 8 °C or for 12 months when frozen at -20 °C or below.²⁵ Repetitive freezing and thawing of specimens should be avoided.

Ensure that patient samples, calibrators, and controls are equilibrated at ambient temperature (22 – 28 °C) before testing. Samples containing precipitates must be centrifuged before performing the assay.

Procedure

Materials Provided

NTP Flex® reagent cartridge, Cat. No. RF623

Materials Required But Not Provided

LOCI NTP CAL, Cat. No. RC623
Dimension® Sample Diluent, Cat. No. 791092901
HM reaction vessels Cat. No. RXV1A
Quality Control Materials

Test Steps

Sampling, reagent delivery, mixing, and processing are automatically performed by the Dimension® EXL™ System. For details of this processing, refer to your Dimension® EXL™ Operator's Guide.

Test Conditions

Sample Volume (delivered to the HM reaction vessel)	8 µL
Chemibead Reagent Volume	20 µL
Biotinylated Antibody Reagent Volume	20 µL
Sensibead Volume	15 µL
Assay Buffer Volume	100 µL
Temperature	37.0 °C
Reaction Time	14 minutes
Wavelength	680 and 612 nm
Type of Measurement	Chemiluminescence

Calibration	
Assay Range	5 – 35000 pg/mL
Calibration Material	NTP Calibrator, Cat. No. RC623
Calibration Scheme	5 levels, n = 3
Units	pg/mL
Typical Calibration Levels	Level 1: 0 pg/mL Level 2: 250 pg/mL Level 3: 1500 pg/mL Level 4: 12000 pg/mL Level 5: 36750 pg/mL
Calibration Frequency	Every 30 days for any one lot
A new calibration is required	- For each new lot of Flex® reagent cartridges - After major maintenance or service, if indicated by quality control results - As indicated in laboratory quality control procedures - When required by government regulations

Quality Control

Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency. At least once each day of use, analyze two levels of a Quality Control (QC) material with known NT-proBNP concentrations. Follow your laboratory internal QC procedures if the results obtained are outside acceptable limits.

Results: The instrument calculates the concentration of NT-proBNP in pg/mL using the calculation scheme described in your Dimension® EXL™ Operator’s Guide.

Results of this test should always be interpreted in conjunction with the patient’s medical history, clinical presentation and other findings.

Analytical Measurement Range (AMR): 5 – 35000 pg/mL

This is the range of analyte values that can be measured directly from the specimen without any dilution or pretreatment that is not part of the usual analytical process and is equivalent to the assay range.

- Samples with results in excess of 35000 pg/mL can be reported as > 35000 pg/mL or can be manually diluted.
Manual Dilution: Dilute with Sample Diluent (Cat. No. 791092901) to obtain results within the reportable range. The recommended dilution factor is 2. Enter dilution factor on instrument. Reassay. Resulting Readout is corrected for dilution. Dilutions of 1:5 have demonstrated maximum deviations of 20% from the theoretical value.
- Samples with results less than 5 pg/mL should be reported as less than 5 pg/mL.

Limitations of Procedure

Concentrations of natriuretic peptides may be elevated in patients with acute myocardial infarction, patients that are candidates for renal dialysis, and patients that have undergone renal dialysis.

Patient samples may contain heterophilic antibodies that could react in immunoassays to give falsely elevated or depressed results. This assay has been designed to minimize interference from heterophilic antibodies. Nevertheless, complete elimination of this interference from all patient specimens cannot be guaranteed.

A test result that is inconsistent with the clinical picture and patient history should be interpreted with caution.^{26, 27}

The instrument reporting system contains flags and comments to provide the user with information regarding instrument processing errors, instrument status information and potential errors in NT-proBNP results. Refer to your Dimension® EXL™ Operator’s Guide for the meaning of report flags and comments. Any report containing flags and/or comments should be addressed according to your laboratory’s procedure manual and not reported.

Testing specimens from renal dysfunction patients taking biotin may lead to false negative results. Therefore, do not use this device in patients with renal impairment (eGFR <60), unless it is confirmed that the patient is not taking biotin. Patients taking more than 20 mg/day of biotin may have falsely negative results. Do not use this test in patients taking more than 20 mg/day of biotin.

Maximum Observed Repeatability

The expected maximum observed standard deviations for repeatability (within-run precision) using n = 5 replicates at the following analyte concentrations are:

NT-proBNP concentration	Acceptable SD Maximum
152 pg/mL	13.6 pg/mL
446 pg/mL	44.7 pg/mL

A system malfunction may exist if the acceptable SD maximum is exceeded.

Expected Values

NT-proBNP concentrations in the Reference Group are shown in the following tables. Each laboratory should establish its own reference interval for the NTP method as determined on the Dimension® EXL™ System. The recommended medical decision thresholds, by age group, are:

Patients < 75 years:	125 pg/mL
Patients ≥ 75 years:	450 pg/mL

Reference Study Group†

NT-proBNP concentrations were determined in 318 individuals without congestive heart failure (163 women and 155 men) using the Dimension Vista® PBNP method. This population included apparently healthy individuals and individuals with diabetes, hypertension, and pulmonary disease. The statistics for NT-proBNP concentrations in the reference study group are shown in the following table.

Reference Study Group

All	< 55 yrs	55–64 yrs	65–74 yrs	≥ 75 yrs
Mean	45.9	54.6	175.5	451.3
SD	53.6	62.3	197.6	987.1
Median	27.2	28.8	106.2	173.5
95th Percentile	131.2	206.6	880.8	1615.7
% < 125 pg/mL	94%	80%	61%	-
% < 450 pg/mL	-	-	-	79%
N	163	15	18	122

Males	< 55 yrs	55–64 yrs	65–74 yrs	≥ 75 yrs
Mean	39.0	56.7	219.4	520.8
SD	57.8	58.2	242.4	1080.9
Median	16.6	25.4	123.6	173.5
95th Percentile	168.8	154.7	880.8	1969.7
% < 125 pg/mL	93%	83%	55%	-
% < 450 pg/mL	-	-	-	73%
N	76	6	11	62

Females	< 55 yrs	55–64 yrs	65–74 yrs	≥ 75 yrs
Mean	51.9	53.2	106.6	379.5
SD	49.2	68.3	60.8	883.1
Median	39.4	28.8	87.7	167.3
95th Percentile	124.0	206.6	215.2	1453.2
% < 125 pg/mL	95%	78%	71%	-
% < 450 pg/mL	-	-	-	85%
N	87	9	7	60

Disease Study Group†

Blood samples were obtained from 269 patients diagnosed with congestive heart failure (CHF). NT-proBNP concentrations were determined using the Dimension Vista® PBNP. The population included 78 women and 191 men. The descriptive statistics and New York Heart Association (NYHA) functional classes are provided below. Each laboratory should establish a reference range that represents the patient population that is to be evaluated. In addition, laboratories should be aware of their institution’s current practice for the evaluation of CHF.

CHF Population – All	< 55 yrs	55–64 yrs	65–74 yrs	≥ 75 yrs
Mean	6131.8	4455.5	6168.1	8142.7
SD	13470.3	9296.0	10950.5	12699.1
Median	1550.9	1639.5	2541.3	3780.5
95th Percentile	28099.6	19481.5	17768.6	26923.1
% > 125 pg/mL	89%	92%	95%	-
% > 450 pg/mL	-	-	-	94%
N	72	72	59	66

CHF Population – Males	< 55 yrs	55–64 yrs	65–74 yrs	≥ 75 yrs
Mean	7771.4	4954	6537.2	8827.3
SD	15797.2	10536.7	12383.9	12856.6
Median	2526.1	1699.8	2541.3	5529.2
95th Percentile	31237.1	19481.5	17768.6	18634.8
% > 125 pg/mL	94%	94%	93%	-
% > 450 pg/mL	-	-	-	96%
N	48	51	43	49

CHF Population – Females	< 55 yrs	55–64 yrs	65–74 yrs	≥ 75 yrs
Mean	2852.6	3244.9	5176.1	6169.7
SD	5774.0	5200.7	5727.8	12397.4
Median	452.3	1516.9	2270.8	1125.3
95th Percentile	15569.3	7903.1	16889.9	45824.4
% > 125 pg/mL	79%	86%	100%	-
% > 450 pg/mL	-	-	-	88%
N	24	21	16	17

CHF Population – All	All CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Mean	6184.5	3941.9	3648.8	6643.1	11089.2
SD	11737.8	8461.3	4897.0	13567.0	14428.2
Median	2282.2	1161.0	1091.7	2541.3	4537.7
5th Percentile	101.1	100.4	46.6	143.1	74.6
95th Percentile	22331.9	14184.1	14238.5	17497.1	28099.6
% > Cutoff	92%	93%	90%	94%	88%
Minimum	5.1	52.8	24.5	5.1	39.6
Maximum	91446.4	52327.0	18634.8	91446.4	78045.2
N	269	45	60	124	40

CHF Population – Males	All CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Mean	7012.1	4567.5	4402.2	7298.4	14351.2
SD	12991.9	9204.3	5167.4	14789.5	17258.9
Median	3162.6	1639.5	2230.9	3442.2	6015.9
5th Percentile	126.1	136.3	46.5	126.1	101.1
95th Percentile	24004.7	19481.5	14238.5	17497.1	31237.1
% > Cutoff	94%	97%	93%	95%	91%
Minimum	5.1	72.5	44.7	5.1	74.6
Maximum	91446.4	52327.0	18634.8	91446.4	78045.2
N	191	37	40	91	23

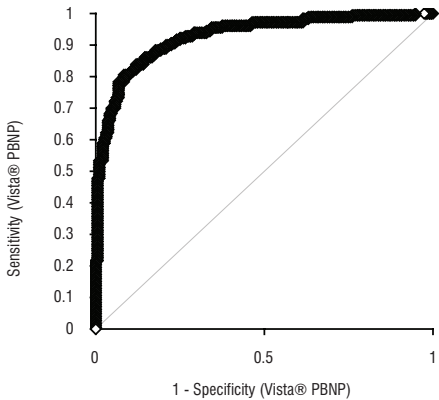
CHF Population – Females

NYHA Functional Class					
	All CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Mean	4157.8	1048.3	2142.1	4836.0	6676.0
SD	7561.7	1636.1	4008.9	9366.5	7864.9
Median	950.2	225.4	705.3	1286.7	3780.5
5th Percentile	84.3	52.8	24.5	143.1	39.6
95th Percentile	22331.9	4960.2	11020.8	26923.1	22997.0
% > Cutoff	87%	75%	85%	94%	82%
Minimum	24.5	52.8	24.5	126.8	39.6
Maximum	45824.4	4960.2	15893.8	45824.4	22997.0
N	78	8	20	33	17

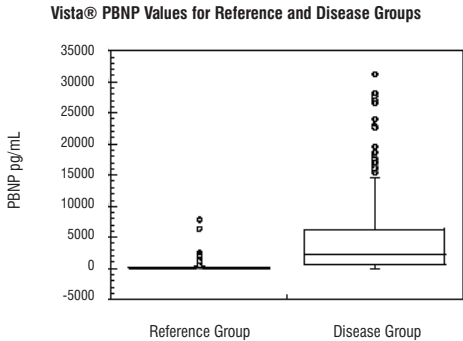
These results show that there is a relationship between the severity of the clinical signs and symptoms of CHF and the median NT-proBNP concentration, demonstrating that the Dimension Vista® PBNP method can be used as an aid in the diagnosis of all degrees of CHF severity including asymptomatic patients.

Interpretation of Results‡

The Receiver Operator Characteristics (ROC) Curve presents the clinical sensitivity and specificity at various cutoffs for the 269 patients diagnosed with CHF and 318 subjects without CHF. The ROC curve for the Dimension Vista® assay is shown below. The area under ROC curve (AUC) for the Dimension Vista® PBNP assay is 0.928 with a 95% confidence interval of 0.907 to 0.949.



A box and whiskers plot of the clinical study population is presented below. Recommended clinical thresholds are 125 pg/mL for patients younger than 75 years and 450 pg/mL for patients 75 years and older. Six disease group samples with values above the assay range are not displayed in the plot.



Sensitivity and Specificity vs. Age and Gender‡

The tables below show the clinical sensitivity and specificity of the Dimension Vista® PBNP assay using a cutoff of 125 pg/mL for patients younger than 75 years and 450 pg/mL for patients 75 years or older.

Males		
	< 75 yrs	≥ 75 yrs
Sensitivity	94% (133/142)	96% (47/49)
95% Confidence Interval	90 – 98	90 – 100
Specificity	87% (81/93)	73% (45/62)
95% Confidence Interval	80 – 94	61 – 84

Females		
	< 75 yrs	≥ 75 yrs
Sensitivity	89% (54/61)	88% (15/17)
95% Confidence Interval	81 – 97	73 – 100
Specificity	92% (95/103)	85% (51/60)
95% Confidence Interval	87 – 97	76 – 94

Age-matched ROC analysis‡

An age-matched ROC analysis of the clinical data was performed via the weighted method described in Kondratovich (2002).²⁸ The resulting AUC is 0.929 with a 95% confidence interval of 0.909 to 0.950.

‡ The Dimension Vista® PBNP method (REF K6423A) and the Dimension® NTP (REF RF623) method utilize the same reagents under equivalent reaction conditions and the results are representative of both methods.

Specific Performance Characteristics

The following data represent typical performance for the Dimension EXL™ System.

Material	Mean pg/mL	Precision ^{29, c}	
		Standard Deviation (%CV)	
		Repeatability	Within-Lab
Serum Pool 1	148	2.7 (1.9)	3.8 (2.5)
Serum Pool 2	434	6.9 (1.6)	10.2 (2.4)
Serum Pool 3	946	17.4 (1.8)	20.9 (2.2)
Serum Pool 4	4315	96.6 (2.2)	144.2 (3.3)
Internal QC	30643	1732.5 (5.7)	2761.3 (9.01)

c. CLSI/NCCLS EP5-A2 was used. During each day of testing, two separate runs, with two test samples, for each test material, were analyzed for 20 days.

Method Comparison³⁰

Serum and Plasma Equivalency^d

Comparison testing results on the Dimension® EXL™ System for lithium heparin, sodium heparin and EDTA plasma samples versus serum samples is provided as follows:

Comparative Specimen	Slope	Intercept pg/mL	Correlation Coefficient	n
Li Heparin	0.99	-25.9	0.9932	50
Na Heparin	0.98	-43.3	0.9919	53
EDTA	0.96	-0.4	0.9988	57

d. Model equation by Passing-Bablok regression is: [plasma results] = slope x [serum results] + intercept.

Regression Statistics^{e, f}

Comparative Method	Slope	Intercept pg/mL	Correlation Coefficient	n
Dimension Vista® PBNP (monoclonal)	0.950	-1.303	0.998	109 ^g

e. CLSI/NCCLS EP9-A2 was used. The method used to fit the regression line was Passing-Bablok Statistics.
f. Model equation by Passing-Bablok linear regression is: [results for Dimension® EXL™ system] = slope x [comparative method results] + intercept.
g. The range of 109 values in the correlation study was 36 – 33493 pg/mL.

Specificity

HIL interference

The NTP method was evaluated for interference to hemoglobin, icterus and lipemia (HIL) according to CLSI/NCCLS EP7-A2.³¹ Bias is the difference in the results between the control sample (without the interferent) and the test sample (contains the interferent) expressed in percent. Bias exceeding 10% is considered interference.

Substance Tested	Substance Concentration	NT-proBNP pg/mL	Bias* %
Hemoglobin (hemolysate)	1000 mg/dL [0.62 mmol/L] ^h	120	< 10
		1400	< 10
Bilirubin (unconjugated)	60 mg/dL [1026 µmol/L]	120	< 10
		1400	< 10
Bilirubin (conjugated)	60 mg/dL [1026 µmol/L]	120	< 10
		1400	< 10
Lipemia (Intralipid®)	3000 mg/dL [33.9 mmol/L]	120	< 10
		1400	< 10

Intralipid® is a registered trademark of Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Germany.

*Analyte results should not be corrected based on this bias.

h. Système International d'Unités [SI units] are in brackets.

Interfering Substances

The NTP method was evaluated for interference according to CLSI/NCCLS EP7-A2.³¹ Bias is the difference in the results between the control sample (without the interferent) and the test sample (contains the interferent) expressed in percent. Bias exceeding 10% is considered interference.

Analyte Concentration	Biotin Test Level (ng/mL)			
	100	250	500	1200
	% Bias			
120 pg/mL	-1.6	-4	-16.3	-74.8
1400 pg/mL	-2.5	-6.4	-17.1	-71.9

* Specimens that contain biotin at a concentration of 250 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to falsely depressed results for patient samples.

* The recommended adult daily dietary intake for biotin is 30 µg/day. Over the counter dietary supplements promoted for use in hair, skin and nail health may contain 5–100 mg of biotin, with recommendations to take multiple pills per day. Pharmacokinetic studies in healthy adults have shown that, in subjects ingesting 5 mg, 10 mg, and 20 mg of biotin, serum concentrations of biotin can reach up to 73 ng/mL, 141 ng/mL, and 355 ng/mL, respectively.³² Subjects who take up to 300 mg of biotin per day may have plasma biotin levels as high as 1160 ng/mL.³³

Non Interfering Substances

The following substances do not interfere with the NTP method when present in serum at the concentrations indicated. Inaccuracies (biases) due to these substances are less than 10% at NT-proBNP concentration of 120 and 1400 pg/mL.

Compound	Concentration	SI Units
Abciximab	21 µg/mL	0.4 µmol/L
Acetaminophen	20 mg/dL	1324 µmol/L
Allopurinol	2.5 mg/dL	184 µmol/L
Amikacin	8 mg/dL	137 µmol/L
Amiodarone	20 µg/mL	31 µmol/L
Amiodipine Besylate	4 µg/mL	7.1 µmol/L
Ampicillin	5.3 mg/dL	152 µmol/L
Ascorbic Acid	6 mg/dL	342 µmol/L
Atenolol	1.0 mg/dL	37.6 µmol/L
Atorvastatin	32 mg/dL	572.9 µmol/L
Caffeine	6 mg/dL	308 µmol/L

Captopril	5.0 mg/dL	230 µmol/L
Carbamazepine	3 mg/dL	127 µmol/L
Chloramphenicol	5 mg/dL	155 µmol/L
Chlordiazepoxide	1 mg/dL	33.3 µmol/L
Chlorpromazine	0.2 mg/dL	6.27 µmol/L
Cholesterol	500 mg/dL	12.9 mmol/L
Cimetidine	2 mg/dL	79.2 µmol/L
Cinnarizine	3.0 mg/dL	81.4 µmol/L
Clopidogrel bisulfate	30 µg/mL	71.4 µmol/L
Creatinine	30 mg/dL	2652 µmol/L
Cyclosporine A	4000 ng/mL	3.3 µmol/L
Dextran 40	3000 mg/dL	750 µmol/L
Diazepam	0.5 mg/dL	17.6 µmol/L
Diclofenac	60 µg/mL	188.6 µmol/L
Digitoxin	60 ng/mL	78.6 nmol/L
Digoxin	6.1 ng/mL	7.8 nmol/L
Diltiazem	120 µg/mL	266.1 µmol/L
Dipyridamole	30 µg/mL	59.4 µmol/L
Dopamine	65 mg/dL	3.4 mmol/L
Enalapril maleate	16 µg/mL	32.5 µmol/L
Erythromycin	6 mg/dL	81.6 µmol/L
Ethanol	400 mg/dL	86.8 mmol/L
Ethosuximide	25 mg/dL	1770 µmol/L
Furosemide	6 mg/dL	181 µmol/L
Gentamicin	1 mg/dL	21 µmol/L
Heparin	3 U/mL	3000 U/L
Hydralazine	20 µg/mL	101.7 µmol/L
Hydrochlorothiazide	20 µg/mL	67.2 µmol/L
Ibuprofen	50 mg/dL	2425 µmol/L
Immunoglobulin G (IgG)	5 g/dL	50 g/L
Indomethacin	16 µg/mL	36.9 µmol/L
Isosorbide dinitrate	6.0 mg/dL	254 µmol/L
Lidocaine	1.2 mg/dL	51.2 µmol/L
Lisinopril	16 µg/mL	36.2 µmol/L
Lithium	2.2 mg/dL	3.2 mmol/L
Lovastatin	16 µg/mL	39.6 µmol/L
L-thyroxine	60 µg/dL	0.77 µmol/L
Methyldopa	2.5 mg/dL	118 µmol/L
Milrinone lactate	2.4 µg/mL	8 µmol/L
Nicotine	0.1 mg/dL	6.2 µmol/L
Nifedipine	6.0 mg/dL	173 µmol/L
Nitrofurantoin	40 µg/mL	168 µmol/L
Nitroglycerin	0.16 µg/mL	0.577 µmol/L
Oxazepam	12 µg/mL	41.8 µmol/L
Oxytetracycline	100 µg/mL	217.2 µmol/L
Penicillin G	25 U/mL	25000 U/L
Pentobarbital	8 mg/dL	354 µmol/L
Phenobarbital	10 mg/dL	431 µmol/L
Phenytoin	5 mg/dL	198 µmol/L
Primidone	4 mg/dL	183 µmol/L
Probenecid	200 µg/mL	700.9 µmol/L
Propoxyphene	0.16 mg/dL	4.91 µmol/L
Propranolol	0.15 mg/dL	5.1 µmol/L
Protein: Albumin	6 g/dL	60 g/L
Protein: Total	12.0 g/dL	120 g/L
Quinidine	20 µg/mL	61.6 µmol/L
Rheumatoid Factor	500 IU/mL	500 IU/mL
Salicylic Acid	60 mg/dL	4.34 mmol/L
Simvastatin	32 µg/mL	76.5 µmol/L
Sulfamethoxazole	320 µg/mL	1263.3 µmol/L
Theophylline	4 mg/dL	222 µmol/L
Trimethoprim	64 µg/mL	220.7 µmol/L
Urea	500 mg/dL	83.3 mmol/L
Uric Acid	20 mg/dL	1190 µmol/L
Valproic Acid	50 mg/dL	3467 µmol/L
Verapamil	16 mg/dL	351.6 µmol/L
Warfarin	4 ug/dL	13 µmol/L

Hook Effect

One step sandwich immunoassays are susceptible to a high dose "hook effect", where an excess of antigen prevents simultaneous binding of the capture and detection antibodies to a single analyte molecule.³⁴ Such samples must be diluted and reassayed prior to reporting the results. The NTP method shows no hook effect up to 400,000 pg/mL.

Cross-reactivity

The following substances have no significant cross-reactivity (less than 1%) at the concentrations indicated when added to samples containing 0 and approximately 125 pg/mL NT-proBNP:

Substance	Concentration
ANP ²⁸	3.1 µg/mL
NT-proANP ₁₋₃₀ (preproANP ₂₆₋₅₅)	3.5 µg/mL
NT-proANP ₃₁₋₆₇ (preproANP ₅₆₋₉₂)	1.0 ng/mL
NT-proANP ₇₉₋₉₈ (preproANP ₁₀₄₋₁₂₃)	1.0 ng/mL
BNP ₃₂ (Natreacor®)	3.5 µg/mL
CNP ₂₂	2.2 µg/mL
DNP	1.0 ng/mL
VNP	1.0 ng/mL
Adrenomedullin	1.0 ng/mL
Aldosterone	0.6 ng/mL
Angiotensin I	0.6 ng/mL
Angiotensin II	0.6 ng/mL
Angiotensin III	1.0 ng/mL
Endothelin	20 pg/mL
Renin	50 ng/mL
Urodilatin	3.5 µg/mL
Arg-Vasopressin	1.0 ng/mL

Analytical Sensitivity: ≤ 5 pg/mL

The analytical sensitivity of the NTP method is ≤ 5 pg/mL. Analytical sensitivity is defined as the concentration at two standard deviations (n = 20) above a sample devoid of NT-proBNP such as the LOCI NTP Level 1 Calibrator (0 pg/mL).

Limit of Detection³⁵: 2.3 pg/mL

The Limit of Detection (LoD) for the NTP method is 2.3 pg/mL, determined consistent with CLSI guideline EP17-A and with proportions of false positives (α) less than 5% and false negatives (β) less than 5%; based on 30 determinations, with 5 blank and 5 low level samples. LOD is the lowest concentration that can be detected reliably.

Functional Sensitivity: Evaluation of the 20% CV limit

Functional sensitivity was evaluated by determining the total imprecision of natural NT-proBNP serum samples. Total imprecision was measured by a two replicate per day, twenty day ANOVA study. The functional sensitivity/ imprecision profile for the Dimension® NTP method corresponds to a coefficient of variation (CV) of 20% at an NT-proBNP level of ≤ 30 pg/mL.

Dilutional Linearity

A patient plasma sample with a high NT-proBNP concentration was diluted across the assay range. Additional plasma samples were diluted linearly to confirm dilutional accuracy at the low end of the assay range. All samples were diluted with low level patient plasma pools. The following table summarizes the results of these studies:

	Sample A	Sample B
Starting Concentration (pg/mL)	47120	1232
Regression Statistics		
Slope	1.004	0.996
Intercept	12.8	10.9
Correlation Coefficient	0.999	0.999
N	5	5
% Recovery		
Average	100.2	101.9
Range	99 – 101	100 – 106

Manufactured under license from Roche Diagnostics.
US 5786163 and foreign equivalents
US Patent Application: 09/890442 and foreign equivalents

Symbols Key: See adjacent panel.

Bibliography: See adjacent panel.

Dimension Vista®, LOCI®, Dimension®, EXL™ and Flex® are trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics.

©2008 Siemens Healthcare Diagnostics
All rights reserved.



Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
500 GBC Drive
Newark, DE 19714 USA



Dimension® EXL™ integrated chemistry system LOCI® Module

Flex® reagent cartridge

NTP

Siehe schraffierte Abschnitte: Aktualisierte Informationen gegenüber der Version 2019-05

Ausgabedatum 2020-08

N-terminales Pro-B-Typ-natriuretisches Peptid

Verwendungszweck: Der NTP-Test ist ein Test zur *In-vitro*-Diagnostik für die quantitative Bestimmung von NT-proBNP (N-terminales pro-B-Typ-natriuretisches Peptid) in Humanserum und -plasma auf dem integrierten chemischen Dimension® EXL™-System mit dem LOCI®-Modul. Bestimmungen von NT-proBNP werden bei der Diagnose von Patienten mit mäßiger kongestiver Herzinsuffizienz (CHF) und bei der Bestimmung des Schweregrads eingesetzt. Der Test ist außerdem indiziert für die Risikoeinschätzung bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom und Herzinsuffizienz.

Zusammenfassung: Eine linksventrikuläre Dysfunktion kann im Rahmen einer koronaren Herzerkrankung, Herzklappenerkrankung, primären Myokarderkrankung und eines arteriellen Hypertonus auftreten. Wenn die linksventrikuläre Dysfunktion nicht behandelt wird und fortschreitet, ist das Sterblichkeitsrisiko hoch. Der Patient kann beispielsweise einen plötzlichen Herztod erleiden.

Chronische Herzinsuffizienz ist ein klinisches Syndrom, das von einer Beeinträchtigung der Herzpumpfunktion verursacht wird. Der Schweregrad der Herzinsuffizienz wird laut der New York Heart Association (NYHA) nach den Symptomen in die Gruppen I – IV eingeteilt. Zur Diagnose einer linksventrikulären Dysfunktion werden klinische Tests und Bildgebungsverfahren eingesetzt.¹

Die Bedeutung natriuretischer Peptide bei der Steuerung des kardiovaskulären Systems ist belegt. Erste Studien ergaben, dass natriuretische Peptide sich für die Diagnose klinischer Probleme mit linksventrikulärer Dysfunktion eignen.² Über die folgenden natriuretischen Peptide wird in der Literatur berichtet: atriales natriuretisches Peptid (ANP), B-Typ- (bzw. Brain-)natriuretisches Peptid (BNP) und C-Typ-natriuretisches Peptid (CNP).^{3,4}

ANP und BNP haben natriuretische und diuretische Eigenschaften. Als Antagonisten des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems beeinflussen sie den Elektrolyten- und Flüssigkeitshaushalt im Organismus.^{5,6} Bei Patienten mit linksventrikulärer Dysfunktion sind die Serum- und Plasmakonzentrationen von BNP ebenso wie die des biologisch inaktiven Pro-Hormons, proBNP, erhöht. proBNP besteht aus 108 Aminosäuren. Es wird hauptsächlich vom linken Ventrikel des Herzens sezerniert und dabei in das physiologisch aktive BNP (77 – 108) und das N-terminale Fragment NT-proBNP (1 – 76) aufgespalten.⁴

Studien weisen darauf hin, dass NT-proBNP in diagnostischen und prognostischen Anwendungen eingesetzt werden kann.⁷⁻¹³ Die Konzentration von NT-proBNP im Plasma erlaubt eine Prognose für linksventrikuläre Dysfunktion. Dieser Wert kann auch bei der Unterscheidung von Symptomen bei Herzerkrankungen von solchen bei anderen Erkrankungen dienen.

Die Bestimmung von NT-proBNP kann zur Identifikation von Personen mit linksventrikulärer Dysfunktion eingesetzt werden. Anhand von Änderungen in der NT-proBNP-Konzentration kann der Behandlungserfolg bei Patienten mit linksventrikulärer Dysfunktion beurteilt werden. Es gibt Anzeichen dafür, dass sich NT-proBNP aufgrund seiner Funktionen auch für die Einschätzung vaskulärer Remodellierung eignet und dadurch zum Aufbau individueller Rehabilitationsprogramme beiträgt.^{10,11}

Fisher et al. belegten für Patienten mit kongestiver Herzinsuffizienz und erhöhten NT-proBNP-Werten eine Mortalitätsrate innerhalb eines Jahres von 53 % gegenüber 11 % bei Patienten mit niedrigeren Werten.¹² Die Gusto IV-Studie mit über 6800 Patienten ergab, dass NT-proBNP bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom der aussagekräftigste unabhängige Vorhersagewert für die Mortalität innerhalb eines Jahres war.¹³

Die Arbeitsgruppe für Diagnose und Behandlung chronischer Herzinsuffizienz der European Society of Cardiology empfiehlt in ihren Richtlinien, dass natriuretische Peptide einschließlich NT-proBNP „als Ausschlussstest klinisch außerordentlich nützlich sein könnten aufgrund konsistenter und sehr hoher negativer prädiktiver Werte“.

NT-proBNP-Konzentrationen sind bei Patienten mit instabiler Angina und bei Patienten nach einem Myokardinfarkt erhöht.^{14,15} Wenngleich dies keine Diagnosegrundlage für diese Bedingungen ist, belegen mehrere Studien, dass NT-proBNP-Messungen prognostische Informationen für die kurz- und langfristige Risikoabschätzung bei Patienten mit instabiler Angina oder Myokardinfarkt bieten.^{15,16,17}

Grundlagen des Verfahrens: Der NTP-Test ist ein Einschritt-Chemilumineszenz-Immunoassay nach dem Sandwich-Prinzip auf Basis der LOCI®-Technologie. Bei den LOCI®-Reagenzien handelt es sich um zwei synthetische Reagenzien (Kügelchen) und ein biotinyliertes Fragment eines monoklonalen Antikörpers, die am N-terminalen Teil von proBNP lokalisierte Epitope erkennen. Die Kügelchen des ersten Reagenz (Sensibeads) sind mit Streptavidin beschichtet und enthalten einen lichtempfindlichen Farbstoff. Beim zweiten Reagenz (Chemibeads) sind die Kügelchen mit einem zweiten Antikörper beschichtet, der für ein weiteres, unabhängiges Epitop auf NT-proBNP spezifisch ist, und enthalten einen Chemilumineszenzfarbstoff. Die Probe wird mit Chemibeads und biotinyliertem Antikörper inkubiert, um Sandwich-Komplexe aus Partikel/NT-proBNP/biotinyliertem Antikörper (Kügelchen) zu bilden. Anschließend werden Sensibeads hinzugefügt, die sich an das Biotin binden und Bead-Aggregat-Immunkomplexe bilden. Bei einer Belichtung des Komplexes mit 680 nm erzeugen die Sensibeads Singulett-Sauerstoff, der in die Chemibeads diffundiert und eine Chemilumineszenzreaktion auslöst. Das hierdurch erzeugte Chemilumineszenzsignal ist bei 612 nm messbar und der NT-proBNP-Konzentration in der Probe direkt proportional.^{18,19,20}

Reagenzien

Zellen*	Form	Inhaltsstoff	Konzentration*	Ursprung
1 – 2	Flüssig	Biotinylierter Antikörper	8 µg/ml	Schaf, monoklonal
3 – 4	Flüssig	NT-proBNP Chemibeads	150 µg/ml	Schaf, monoklonal
5 – 6	Flüssig	Streptavidin Sensibeads	1400 µg/ml	Rekombinante <i>E. coli</i>
7 – 8	Flüssig	Testpuffer		

a. Die Zellen sind vom breiten Ende der Kassette aus durchgehend nummeriert.

b. Nominalwert pro Zelle in einer Kassette.

Gefahrenhinweise und Sicherheitssätze:



H317

P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P501

Warnung!

Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen.

Enthält: 5-chloro-2-methyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-methyl-3(2h)-isothiazolone.

Sicherheitsdatenblätter (MSDS/SDS) verfügbar auf siemens.com/healthcare

Vorsichtsmaßnahmen: Gebrauchte HM-Reaktionsgefäße enthalten menschliche Körperflüssigkeiten; mit entsprechender Vorsicht handhaben und Hautkontakt oder Verschlucken vermeiden.

In-vitro-Diagnostikum

Reagenz Vorbereitung: Alle Reagenzien sind flüssig und gebrauchsfertig.

Aufbewahrung bei: 2 – 8 °C

Verfalldatum: Verfalldatum einzelner ungeöffneter Reagenzkassetten siehe Umkarton. Verschlussene Zellen sind im Gerät 30 Tage lang stabil.

Stabilität geöffneter Zellen: 3 Tage für Zellen 1 – 8

Probenentnahme und -handhabung: Empfohlene Probentypen: Serum- und Plasmaproben (Lithium- oder Natriumheparin und EDTA).

Mit Azid stabilisierte Proben und Kontrollsubstanzen können nicht verwendet werden.

Serum und Plasma können mit empfohlenen Verfahren zur Entnahme diagnostischer Blutproben durch Venenpunktion gewonnen werden.^{21,22,23} Jedes Labor muss für sich eine geeignete Verfahrensweise für den Gewinnungs- und Bearbeitungszeitpunkt festlegen.

Anweisungen zur Verwendung der Probenentnahmeverrichtung und zur Probenverarbeitung beachten.²³

Vor dem Zentrifugieren sollte die vollständige Gerinnung abgewartet werden. Serum oder Plasma müssen sobald wie möglich bzw. spätestens zwei Stunden nach der Entnahme von den Zellen getrennt werden.²⁴ Die Proben müssen partikelfrei sein.

Wenn die Gerinnungszeit aufgrund von thrombolytischer oder gerinnungshemmender Therapie erhöht ist, kann durch die Verwendung von Plasmaproben eine schnellere Probenbearbeitung und ein geringeres Risiko einer Interferenz durch Partikelbildung erreicht werden.^{21,24}

Die Proben sind bei einer Lagerung bei 20 – 25 °C oder 2 – 8 °C drei Tage lang und bei einer Lagerung bei -20 °C oder darunter 12 Monate lang stabil.²⁵ Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

Patientenproben, Kalibratoren und Kontrollsubstanzen müssen vor der Analyse bei Raumtemperatur (22 – 28 °C) äquilibriert werden. Proben, die Niederschläge enthalten, müssen vor der Analyse zentrifugiert werden.

Verfahren

Mitgelieferte Materialien

NTP Flex®-Reagenzkassette, Art.- Nr. RF623

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

LOCI NTP CAL, Art.- Nr. RC623

Dimension® Probenverdünnungslösung, Art.- Nr. 791092901

HM-Reaktionsgefäße, Art.- Nr. RXV1A

Qualitätskontrollmaterialien

Testschritte

Probenentnahme, Reagenzzugabe, Mischen und Bearbeitung werden vom Dimension® EXL™-System automatisch durchgeführt. Weitere Informationen entnehmen Sie bitte dem Dimension® EXL™-Systemhandbuch.

Testbedingungen

Probenvolumen	8 µl
(in das HM-Reaktionsgefäß abgegeben)	
Volumen Chemibead-Reagenz	20 µl
Volumen biotinyliertes Antikörperreagenz	20 µl
Sensibeads-Volumen	15 µl
Volumen Testpuffer	100 µl
Temperatur	37 °C
Reaktionszeit	14 Minuten
Wellenlänge	680 und 612 nm
Messverfahren	Chemilumineszenz

Kalibration	
Messbereich	5 – 35000 pg/ml
Kalibrationsmaterial	NTP-Kalibrator, Art.- Nr. RC623
Kalibrierschema	5 Level, n = 3
Einheiten	pg/ml
Typische Kalibrator-Level	Level 1: 0 pg/ml Level 2: 250 pg/ml Level 3: 1500 pg/ml Level 4: 12000 pg/ml Level 5: 36750 pg/ml
Kalibrationshäufigkeit	Alle 30 Tage für jede Charge
Eine neue Kalibration ist erforderlich	- Für jede neue Charge von Flex®-Reagenzkassetten - Nach größeren Wartungs- oder Servicemaßnahmen, falls die Ergebnisse der Qualitätskontrolle dies nahelegen - Nach Maßgabe der Qualitätskontrollverfahren des Labors - Nach Maßgabe behördlicher Vorschriften

Qualitätskontrolle

Richten Sie sich bei der Häufigkeit der Qualitätskontrollen nach behördlichen Vorschriften oder den Zulassungsbestimmungen. In der Praxis sollten mindestens einmal täglich zwei Konzentrations-Level eines Qualitätskontroll(QK-)materials mit bekannten NT-proBNP-Konzentrationen analysiert werden. Bei Ergebnissen außerhalb der akzeptablen Grenzwerte nach laborinternen QK-Vorschriften vorgehen.

Ergebnisse: Das Gerät gibt die NT-proBNP-Konzentration der Methode in pg/ml nach dem Berechnungsschema an, das im Dimension® EXL™-Bedienungshandbuch dargestellt ist.

Resultate dieses Tests sollten stets in Verbindung mit der Vorgeschichte des Patienten, dem klinischen Bild und anderen Untersuchungsergebnissen interpretiert werden.

Analytischer Messbereich: 5 – 35000 pg/ml

Dies ist der Bereich von Analysewerten, der ohne vorherige Verdünnung oder Vorbehandlung, die nicht Teil des üblichen Analysevorgangs ist, in der Probe direkt ermittelt werden kann, und entspricht dem Testbereich.

- Für Proben mit Ergebnissen über 35000 pg/ml sollte „über 35000 pg/ml“ angegeben werden oder sie sollten manuell verdünnt werden.

Manuelle Verdünnung: Mit Probenverdünnungslösung (Art.- Nr. 791092901) verdünnen, um Ergebnisse innerhalb des Messbereichs zu erhalten. Der empfohlene Verdünnungsfaktor beträgt 2. Geben Sie den Verdünnungsfaktor ein, und wiederholen Sie den Test. Im Ergebnisausdruck wird die Verdünnung berücksichtigt. Verdünnungen von 1:5 können maximale Abweichungen von 20 % vom theoretischen Wert nach sich ziehen.

- Ergebnisse unter 5 pg/ml sollten als „unter 5 pg/ml“ angegeben werden.

Grenzen des Verfahrens

Die Konzentration natriuretischer Peptide kann bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt, Patienten, die eine Dialysebehandlung benötigen, und Patienten, bei denen bereits eine Dialysebehandlung durchgeführt wurde, erhöht sein.

Patientenproben können heterophile Antikörper enthalten, die in Immunoassays zu fehlerhaft erhöhten oder verringerten Werten führen können. Dieser Test wurde so entwickelt, dass eine Interferenz durch heterophile Antikörper minimal ist. Dennoch kann diese Art von Interferenz nicht bei allen Patientenproben vollständig ausgeschlossen werden.

Ein vom klinischen Bild und der Vorgeschichte des Patienten abweichendes Testergebnis sollte deshalb mit Vorbehalt interpretiert werden.“^{26, 27}

Das integrierte Meldesystem des Geräts macht den Benutzer durch Fehlercodes und Hinweise auf Verarbeitungsfehler und Statusinformationen des Geräts sowie potenzielle Fehler in den NT-proBNP-Ergebnissen aufmerksam. Informationen zur Bedeutung der Fehlercodes und Hinweise finden Sie im Bedienungshandbuch des Dimension® EXL™-Systems. Berichte, die Fehlercodes und Hinweise enthalten, sollten nicht weitergeleitet, sondern nach den im jeweiligen Labor geltenden Richtlinien korrigiert werden.

Bei Proben von Patienten, die an einer Nierenfunktionsstörung leiden und Biotin einnehmen, kann der Test u. U. zu falsch negativen Ergebnissen führen. Daher sollte dieses Produkt nur bei Patienten mit Nierenfunktionsstörungen (eGFR < 60) angewendet werden, wenn diese nachweislich kein Biotin einnehmen. Bei Patienten, die mehr als 20 mg/Tag Biotin einnehmen, kann es zu falsch negativen Ergebnissen kommen. Den Test nicht bei Patienten verwenden, die mehr als 20 mg/Tag Biotin einnehmen.

Maximale ermittelte Wiederholbarkeit

Die erwarteten maximal beobachteten Standardabweichungen für die Wiederholbarkeit (Präzision innerhalb der Serie) bei n = 5 Replikaten sind bei folgenden Analytkonzentrationen:

NT-proBNP-Konzentration	Maximal akzeptable SA
152 pg/ml	13.6 pg/ml
446 pg/ml	44.7 pg/ml

Werden die aufgeführten akzeptablen SA-Höchstwerte überschritten, kann es sich um eine Fehlfunktion des Systems handeln.

Erwartete Werte

Die NT-proBNP-Konzentrationen in der Referenzgruppe sind in den folgenden Tabellen aufgeführt. Jedes Labor sollte für die NTP-Methode mit dem Dimension® EXL™-System einen eigenen Referenzbereich definieren. Die empfohlenen medizinischen Entscheidungsgrenzwerte nach Altersgruppe liegen bei:

Patienten < 75 Jahre:	125 pg/ml
Patienten ≥ 75 Jahre:	450 pg/ml

Referenzgruppe der Studie‡

Die NT-proBNP-Konzentrationen wurden bei 318 Personen ohne kongestive Herzinsuffizienz (163 Frauen, 155 Männer) mit dem Dimension Vista® PBNP-Test ermittelt. Diese Population umfasste offensichtlich gesunde Personen sowie Personen mit Diabetes, Bluthochdruck und Lungenerkrankung. Die Daten für die NT-proBNP-Konzentrationen in der Referenzgruppe sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Referenzgruppe der Studie

Alle	< 55 J.	55 – 64 J.	65 – 74 J.	≥ 75 J.
Mittelwert	45.9	54.6	175.5	451.3
SA	53.6	62.3	197.6	987.1
Medianwert	27.2	28.8	106.2	173.5
95. Perzentil	131.2	206.6	880.8	1615.7
% < 125 pg/ml	94 %	80 %	61 %	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	79 %
N	163	15	18	122

Männer

	< 55 J.	55 – 64 J.	65 – 74 J.	≥ 75 J.
Mittelwert	39.0	56.7	219.4	520.8
SA	57.8	58.2	242.4	1080.9
Medianwert	16.6	25.4	123.6	173.5
95. Perzentil	168.8	154.7	880.8	1969.7
% < 125 pg/ml	93 %	83 %	55 %	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	73 %
N	76	6	11	62

Frauen

	< 55 J.	55 – 64 J.	65 – 74 J.	≥ 75 J.
Mittelwert	51.9	53.2	106.6	379.5
SA	49.2	68.3	60.8	883.1
Medianwert	39.4	28.8	87.7	167.3
95. Perzentil	124.0	206.6	215.2	1453.2
% < 125 pg/ml	95 %	78 %	71 %	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	85 %
N	87	9	7	60

Erkrankungsgruppe der Studie‡

Es wurden Blutproben von 269 Patienten gewonnen, bei denen eine kongestive Herzinsuffizienz (CHF) diagnostiziert wurde. NT-proBNP-Konzentrationen wurden mit dem Dimension Vista® PBNP-Test ermittelt. Die Population umfasste 78 Frauen und 191 Männer. Die Zahlenangaben und die Funktionsklassen der New York Heart Association (NYHA) finden Sie im Folgenden. Jedes Labor sollte einen Referenzbereich ermitteln, der der zu untersuchenden Patientenpopulation entspricht. Außerdem sollte sich das Labor über die aktuell in seiner Einrichtung praktizierte Untersuchungsmethodik bei CHF im Klaren sein.

CHF-Population – Alle

	< 55 J.	55 – 64 J.	65 – 74 J.	≥ 75 J.
Mittelwert	6131.8	4455.5	6168.1	8142.7
SA	13470.3	9296.0	10950.5	12699.1
Medianwert	1550.9	1639.5	2541.3	3780.5
95. Perzentil	28099.6	19481.5	17768.6	26923.1
% > 125 pg/ml	89 %	92 %	95 %	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	94 %
N	72	72	59	66

CHF-Population – Männer

	< 55 J.	55 – 64 J.	65 – 74 J.	≥ 75 J.
Mittelwert	7771.4	4954	6537.2	8827.3
SA	15797.2	10536.7	12383.9	12856.6
Medianwert	2526.1	1699.8	2541.3	5529.2
95. Perzentil	31237.1	19481.5	17768.6	18634.8
% > 125 pg/ml	94 %	94 %	93 %	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	96 %
N	48	51	43	49

CHF-Population – Frauen

	< 55 J.	55 – 64 J.	65 – 74 J.	≥ 75 J.
Mittelwert	2852.6	3244.9	5176.1	6169.7
SA	5774.0	5200.7	5727.8	12397.4
Medianwert	452.3	1516.9	2270.8	1125.3
95. Perzentil	15569.3	7903.1	16889.9	45824.4
% > 125 pg/ml	79 %	86 %	100 %	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	88 %
N	24	21	16	17

CHF-Population – Alle

NYHA-Funktionsklasse

	Alle CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Mittelwert	6184.5	3941.9	3648.8	6643.1	11089.2
SA	11737.8	8461.3	4897.0	13567.0	14428.2
Medianwert	2282.2	1161.0	1091.7	2541.3	4537.7
5. Perzentil	101.1	100.4	46.6	143.1	74.6
95. Perzentil	22331.9	14184.1	14238.5	17497.1	28099.6
% > Cutoff	92 %	93 %	90 %	94 %	88 %
Minimum	5.1	52.8	24.5	5.1	39.6
Maximum	91446.4	52327.0	18634.8	91446.4	78045.2
N	269	45	60	124	40

CHF-Population – Männer

NYHA-Funktionsklasse	Alle CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Mittelwert	7012.1	4567.5	4402.2	7298.4	14351.2
SA	12991.9	9204.3	5167.4	14789.5	17258.9
Medianwert	3162.6	1639.5	2230.9	3442.2	6015.9
5. Perzentil	126.1	136.3	46.5	126.1	101.1
95. Perzentil	24004.7	19481.5	14238.5	17497.1	31237.1
% > Cutoff	94 %	97 %	93 %	95 %	91 %
Minimum	5.1	72.5	44.7	5.1	74.6
Maximum	91446.4	52327.0	18634.8	91446.4	78045.2
N	191	37	40	91	23

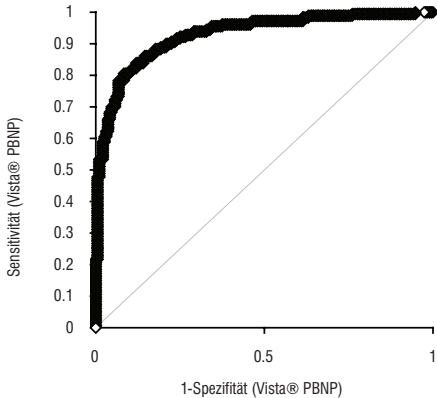
CHF-Population – Frauen

NYHA-Funktionsklasse	Alle CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Mittelwert	4157.8	1048.3	2142.1	4836.0	6676.0
SA	7561.7	1636.1	4008.9	9366.5	7864.9
Medianwert	950.2	225.4	705.3	1286.7	3780.5
5. Perzentil	84.3	52.8	24.5	143.1	39.6
95. Perzentil	22331.9	4960.2	11020.8	26923.1	22997.0
% > Cutoff	87 %	75 %	85 %	94 %	82 %
Minimum	24.5	52.8	24.5	126.8	39.6
Maximum	45824.4	4960.2	15893.8	45824.4	22997.0
N	78	8	20	33	17

Diese Ergebnisse zeigen, dass ein Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der klinischen Zeichen und Symptome bei CHF und den Medianwerten der NT-proBNP-Konzentration besteht. Somit wurde auch bewiesen, dass die Dimension Vista® PBNP-Methode zur Diagnose für CHF aller Schweregrade, einschließlich asymptomatischer Patienten, eingesetzt werden kann.

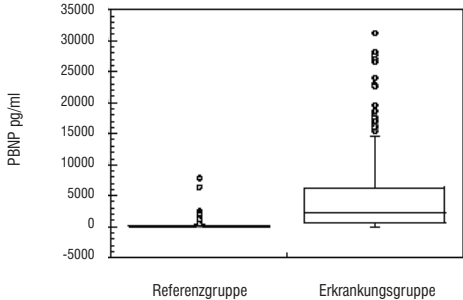
Testauswertung‡

Die Receiver-Operator-Characteristics (ROC)-Kurve stellt die klinische Sensitivität und Spezifität bei verschiedenen Cutoffs für 269 Patienten, die mit CHF diagnostiziert wurden, und 318 Personen ohne CHF dar. Im Folgenden sehen Sie die ROC-Kurve für den Dimension Vista®-Test. Der Bereich unter der ROC-Kurve (AUC) für die Dimension Vista® PBNP-Tests beträgt 0.928 mit einem 95 %-Konfidenzintervall von 0.907 bis 0.949.



Im Folgenden finden Sie einen Boxplot der Population der klinischen Studie. Die empfohlenen klinischen Grenzwerte liegen bei 125 pg/ml für Patienten unter 75 Jahren und 450 pg/ml für Patienten ab 75 Jahren. Sechs Proben aus der Erkrankungsgruppe mit Werten oberhalb des Messbereichs sind in der Grafik nicht mit erfasst.

Vista® PBNP-Werte für Referenz- und Erkrankungsgruppen



Sensitivität und Spezifität im Vergleich mit Alter und Geschlecht‡

Die folgenden Tabellen zeigen die klinische Sensitivität und Spezifität des Dimension® Vista® PBNP-Tests bei einem Cutoff von 125 pg/ml für Patienten unter 75 Jahren und von 450 pg/ml für Patienten ab 75 Jahren.

Männer	< 75 J.	≥ 75 J.
Sensitivität	94 % (133/142)	96 % (47/49)
95 %-Konfidenzintervall	90 – 98	90 – 100
Spezifität	87 % (81/93)	73 % (45/62)
95 %-Konfidenzintervall	80 – 94	61 – 84

Frauen	< 75 J.	≥ 75 J.
Sensitivität	89 % (54/61)	88 % (15/17)
95 %-Konfidenzintervall	81 – 97	73 – 100
Spezifität	92 % (95/103)	85 % (51/60)
95 %-Konfidenzintervall	87 – 97	76 – 94

Altersangepasste ROC-Analyse‡

Eine altersangepasste ROC-Analyse der klinischen Daten wurde mit der gewichteten Methode durchgeführt, wie in Kondratovich (2002) beschrieben.²⁸ Die sich ergebende AUC beträgt 0.929 mit einem 95 %-Konfidenzintervall von 0.909 bis 0.950.

‡ Die Dimension Vista®-PBNP- (REF K6423A) und NTP-Tests (REF RF623) können unter gleichen Bedingungen die gleichen Reagenzien verwenden. Die Ergebnisse sind für beide Methoden repräsentativ.

Spezifische Leistungsdaten

Die Daten stellen die typische Leistung des Dimension® EXL™-Systems dar.

Material	Mittelwert pg/ml	Präzision ^{29, c}	
		Standardabweichung (% VK)	Wiederholbarkeit
Serumpool 1	148	2.7 (1.9)	3.8 (2.5)
Serumpool 2	434	6.9 (1.6)	10.2 (2.4)
Serumpool 3	946	17.4 (1.8)	20.9 (2.2)
Serumpool 4	4315	96.6 (2.2)	144.2 (3.3)
Interne QK	30643	1732.5 (5.7)	2761.3 (9.01)

c. Zugrunde gelegt wurde CLSI/NCCLS EP5-A2. 20 Tage lang wurden an jedem Testtag zwei separate Durchläufe mit zwei Testproben für jedes Testmaterial analysiert.

Methodenvergleich³⁰

Gleichwertigkeit von Serum und Plasma^d

Ergebnisse der Vergleichstests auf dem Dimension® EXL™-System für Lithiumheparin-Plasmaproben im Vergleich zu Serumproben:

Vergleichsprobe	Steigung	Achsabschnitt pg/ml	Korrelationskoeffizient	n
Lithiumheparin	0.99	-25.9	0.9932	50
Natriumheparin	0.98	-43.3	0.9919	53
EDTA	0.96	-0.4	0.9988	57

d. Die Modellgleichung für die Regression nach der Passing-Bablok-Methode lautet: [Plasma-Ergebnis] = Steigung x [Serum-Ergebnis] + Achsabschnitt.

Regressionsstatistik^{e, f}

Vergleichsmethode	Steigung	Achsabschnitt pg/ml	Korrelationskoeffizient	n
Dimension®-PBNP-Kalibrator (monoklonal)	0.950	-1.303	0.998	109 ^g

e. Es wurde CLSI/NCCLS EP9-A2 verwendet. Die Regressionsgerade wurde mit der Passing-Bablok-Methode angepasst.

f. Die Modellgleichung für die lineare Regression nach der Passing-Bablok-Methode lautet: [Ergebnis für Dimension® EXL™-System] = Steigung x [Ergebnis Vergleichsmethode] + Achsabschnitt.

g. Die in der Korrelationsstudie verwendeten 109 Werte lagen zwischen 36 und 33493 pg/ml.

Spezifität

HIL-Interferenz

Der NTP-Test wurde nach CLSI/NCCLS EP7-A2 auf mögliche Interferenz durch Hämoglobin, Ikterus und Lipämie (HIL) evaluiert.³¹ Die Abweichung berechnet sich aus dem Werteunterschied in Prozent zwischen der Kontrollprobe (ohne Störsubstanz) und der Testprobe (mit Störsubstanz). Eine Abweichung von mehr als 10 % wird als Interferenz bezeichnet.

Getestete Substanz	Konzentration der Substanz	NT-proBNP pg/ml	Abweichung* %
Hämoglobin (Hämolyt)	1000 mg/dl [0.62 mmol/l] ^h	120 1400	< 10 < 10
Bilirubin (unkonjugiert)	60 mg/dl [1026 µmol/l]	120 1400	< 10 < 10
Bilirubin (konjugiert)	60 mg/dl [1026 µmol/l]	120 1400	< 10 < 10
Lipämie (Intralipid®)	3000 mg/dl [33.9 mmol/l]	120 1400	< 10 < 10

Intralipid® ist eine eingetragene Marke der Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland.

*Analytwerte dürfen nicht anhand dieser Abweichung korrigiert werden.

h. SI-Einheiten sind in Klammern angegeben.

Störsubstanzen				
Der NTP-Test wurde nach CLSI/NCCLS EP7-A2 auf mögliche Interferenz evaluiert. ³¹ Die Abweichung berechnet sich aus dem Werteunterschied in Prozent zwischen der Kontrollprobe (ohne Störsubstanz) und der Testprobe (mit Störsubstanz). Eine Abweichung von mehr als 10 % wird als Interferenz bezeichnet.				
Analyt-Konzentration	Biotin-Teststufe (ng/ml)			
	100	250	500	1200
	% Abweichung			
120 pg/ml	-1.6	-4	-16.3	-74.8
1400 pg/ml	-2.5	-6.4	-17.1	-71.9

• Proben, die Biotin in einer Konzentration von 250 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Höhere Biotinkonzentrationen können zu falsch niedrigen Ergebnissen für Patientenproben führen.

• Der empfohlene Referenzwert für die Aufnahme von Biotin für Erwachsene beträgt 30 µg/Tag. Rezeptfreie Nahrungsergänzungsmittel, die für gesunde Haare, Haut und Nägel vermarktet werden, können 5–100 mg Biotin enthalten, wobei eine Einnahmeempfehlung von mehreren Tabletten pro Tag besteht. Pharmakokinetische Studien mit gesunden Erwachsenen haben gezeigt, dass die Einnahme von 5 mg, 10 mg und 20 mg zu Biotin-Serumkonzentrationen von bis zu 73 ng/ml, 141 ng/ml und 355 ng/ml führen kann.³² Studienteilnehmer, die bis zu 300 mg Biotin pro Tag einnehmen, können einen Biotin-Plasmaspiegel von 1160 ng/ml erreichen.³³

Nicht störende Substanzen

Die folgenden Substanzen haben keinen Einfluss auf NTP-Testergebnisse, wenn sie in den genannten Konzentrationen im Serum vorhanden sind. Ungenauigkeiten (Abweichungen) aufgrund dieser Substanzen belaufen sich bei NT-proBNP-Konzentrationen zwischen 120 und 1400 pg/ml auf unter 10 %.

Substanz	Konzentration	SI-Einheiten
Abciximab	21 µg/ml	0.4 µmol/l
Acetaminophen	20 mg/dl	1324 µmol/l
Allopurinol	2.5 mg/dl	184 µmol/l
Amikacin	8 mg/dl	137 µmol/l
Amiodaron	20 µg/ml	31 µmol/l
Amlodipinbesylat	4 µg/ml	7.1 µmol/l
Ampicillin	5.3 mg/dl	152 µmol/l
Ascorbinsäure	6 mg/dl	342 µmol/l
Atenolol	1.0 mg/dl	37.6 µmol/l
Atorvastatin	32 mg/dl	572.9 µmol/l
Koffein	6 mg/dl	308 µmol/l
Captopril	5.0 mg/dl	230 µmol/l
Carbamazepin	3 mg/dl	127 µmol/l
Chloramphenicol	5 mg/dl	155 µmol/l
Chlordiazepoxid	1 mg/dl	33.3 µmol/l
Chlorpromazin	0.2 mg/dl	6.27 µmol/l
Cholesterin	500 mg/dl	12.9 mmol/l
Cimetidin	2 mg/dl	79.2 µmol/l
Cinnarizin	3.0 mg/dl	81.4 µmol/l
Clopidogrel-Bisulfat	30 µg/ml	71.4 µmol/l
Kreatinin	30 mg/dl	2652 µmol/l
Cyclosporin A	4000 ng/ml	3.3 µmol/l
Dextran 40	3000 mg/dl	750 µmol/l
Diazepam	0.5 mg/dl	17.6 µmol/l
Diclofenac	60 µg/ml	188.6 µmol/l
Digitoxin	60 ng/ml	78.6 nmol/l
Digoxin	6.1 ng/ml	7.8 nmol/l
Diltiazem	120 µg/ml	266.1 µmol/l
Dipyridamol	30 µg/ml	59.4 µmol/l
Dopamin	65 mg/dl	3.4 mmol/l
Enalaprilmaleat	16 µg/ml	32.5 µmol/l
Erythromycin	6 mg/dl	81.6 µmol/l
Ethanol	400 mg/dl	86.8 mmol/l
Ethosuximid	25 mg/dl	1770 µmol/l
Furosemid	6 mg/dl	181 µmol/l
Gentamicin	1 mg/dl	21 µmol/l
Heparin	3 U/ml	3000 U/l
Hydralazin	20 µg/ml	101.7 µmol/l
Hydrochlorothiazid	20 µg/ml	67.2 µmol/l
Ibuprofen	50 mg/dl	2425 µmol/l
Immunglobulin G (IgG)	5 g/dl	50 g/l
Indomethacin	16 µg/ml	36.9 µmol/l
Isosorbid-Dinitrat	6.0 mg/dl	254 µmol/l
Lidocain	1.2 mg/dl	51.2 µmol/l
Lisinopryl	16 µg/ml	36.2 µmol/l
Lithium	2.2 mg/dl	3.2 mmol/l
Lovastatin	16 µg/ml	39.6 µmol/l
L-Thyroxin	60 µg/dl	0.77 µmol/l
Methyldopa	2.5 mg/dl	118 µmol/l
Milrinon-Laktat	2.4 µg/ml	8 µmol/l
Nikotin	0.1 mg/dl	6.2 µmol/l
Nifedipin	6.0 mg/dl	173 µmol/l
Nitrofurantoin	40 µg/ml	168 µmol/l
Nitroglyzerin	0.16 µg/ml	0.577 µmol/l
Oxazepam	12 µg/ml	41.8 µmol/l
Oxytetracyclin	100 µg/ml	217.2 µmol/l
Penicillin G	25 U/ml	25000 U/l
Pentobarbital	8 mg/dl	354 µmol/l
Phenobarbital	10 mg/dl	431 µmol/l
Phenytoin	5 mg/dl	198 µmol/l
Primidon	4 mg/dl	183 µmol/l
Probenecid	200 µg/ml	700.9 µmol/l
Propoxyphen	0.16 mg/dl	4.91 µmol/l
Propranolol	0.15 mg/dl	5.1 µmol/l
Protein: Albumin	6 g/dl	60 g/l
Gesamteiweiß	12.0 g/dl	120 g/l
Chinidin	20 µg/ml	61.6 µmol/l
Rheumafaktor	500 IU/ml	500 IU/ml
Salicylsäure	60 mg/dl	4.34 mmol/l
Simvastatin	32 µg/ml	76.5 µmol/l
Sulfamethoxazol	320 µg/ml	1263.3 µmol/l
Theophyllin	4 mg/dl	222 µmol/l
Trimethoprim	64 µg/ml	220.7 µmol/l

Harnstoff	500 mg/dl	83.3 mmol/l
Harnsäure	20 mg/dl	1190 µmol/l
Valproinsäure	50 mg/dl	3467 µmol/l
Verapamil	16 mg/dl	351.6 µmol/l
Warfarin	4 µg/ml	13 µmol/l

Hook-Effekt

Ein-Schritt-Sandwich-Assays sind bei hohen Konzentrationen anfällig für den „Hook-Effekt“, bei dem ein Antigen-Überschuss die simultane Bindung der Bindungs- und Markierungsantikörper an ein einziges Analytmolekül verhindert.³⁴ Solche Proben müssen verdünnt und erneut analysiert werden, bevor die Ergebnisse weitergegeben werden. Der NTP-Test zeigt bei Werten bis 400,000 pg/ml keinen Hook-Effekt.

Kreuzreaktivität

Die folgenden Substanzen weisen bei den angegebenen Konzentrationen keine bedeutende Kreuzreaktivität (kleiner als 1 %) auf, wenn sie zu Proben mit 0 und etwa 125 pg/ml NT-proBNP hinzugefügt werden:

Substanz	Konzentration
ANP ²⁸	3.1 µg/ml
NT-proANP ¹⁻³⁰ (preproANP ²⁸⁻⁵⁵)	3.5 µg/ml
NT-proANP ³¹⁻⁶⁷ (preproANP ⁵⁶⁻⁹²)	1.0 ng/ml
NT-proANP ⁷⁹⁻⁹⁸ (preproANP ¹⁰⁴⁻¹²³)	1.0 ng/ml
BNP ³² (Natreacor®)	3.5 µg/ml
CNP ²²	2.2 µg/ml
DNP	1.0 ng/ml
VNP	1.0 ng/ml
Adrenomedullin	1.0 ng/ml
Aldosteron	0.6 ng/ml
Angiotensin I	0.6 ng/ml
Angiotensin II	0.6 ng/ml
Angiotensin III	1.0 ng/ml
Endothelin	20 pg/ml
Renin	50 ng/ml
Urotilatin	3.5 µg/ml
Arg-Vasopressin	1.0 ng/ml

Analytische Sensitivität: ≤ 5 pg/ml

Die analytische Sensitivität für diesen Test liegt bei ≤ 5 pg/ml. Die analytische Sensitivität ist definiert als die Konzentration bei zwei Standardabweichungen (n = 20) über dem Wert einer Probe ohne NT-proBNP, wie z. B. dem LOCI NTP-Kalibrator Level 1 (0 pg/ml).

Nachweisgrenze³⁵: 2.3 pg/ml

Die Nachweisgrenze für den NTP-Test liegt bei 2.3 pg/ml und wurde anhand der CLSI-Richtlinie EP17-A und mit einem Anteil an falsch positiven (α) bzw. falsch negativen (β) Ergebnissen jeweils unter 5 % berechnet; basierend auf 30 Bestimmungen mit 5 Leerproben und 5 Proben mit niedrigen Konzentrationen. LoD stellt die niedrigste Konzentration dar, die von Null unterschieden werden kann.

Funktionelle Sensitivität: Ermittlung der 20 %-VK-Grenze

Die funktionelle Sensitivität wurde durch Bestimmung der Gesamtimpräzision von natürlichen NT-proBNP-Serumproben ermittelt. Die Gesamtimpräzision wurde im Rahmen einer ANOVA-Studie über zwanzig Tage anhand von täglichen Doppelbestimmungen gemessen. Die funktionelle Sensitivität (Impräzisionsprofil) für den Dimension® NTP-Test entspricht einem Variationskoeffizienten (VK) von 20 % bei einer NT-proBNP-Konzentration von ≤ 30 pg/ml.

Verdünnungslinearität

Eine Patientenplasmaprobe mit einer hohen NT-proBNP-Konzentration wurde auf verschiedene Werte im Messbereich verdünnt. Zusätzliche Plasmaproben wurden linear verdünnt, um die Verdünnungsgenauigkeit am unteren Ende des Messbereichs zu bestätigen. Alle Proben wurden mit Patientenplasma-Pools mit niedrigen Werten verdünnt. Die folgende Tabelle fasst die Ergebnisse dieser Studien zusammen:

	Probe A	Probe B
Startkonzentration (pg/ml)	47120	1232
Regressionsstatistik		
Steigung	1.004	0.996
Achsabschnitt	12.8	10.9
Korrelationskoeffizient	0.999	0.999
N	5	5
% Wiederfindung		
Mittelwert	100.2	101.9
Bereich	99 – 101	100 – 106

Hergestellt unter Lizenz von Roche Diagnostics.
US 5786163 und ausländische Entsprechungen
US-Patentanmeldung: 09/890442 und ausländische Entsprechungen

Symbolschlüssel: Siehe Verzeichnis im Anhang.

Literatur: Siehe Verzeichnis im Anhang.

Dimension Vista®, LOCI®, Dimension®, EXL™ und Flex® sind Warenzeichen von Siemens Healthcare Diagnostics.

©2008 Siemens Healthcare Diagnostics
Alle Rechte vorbehalten.



Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
500 GBC Drive
Newark, DE 19714 USA



Dimension® EXL™ integrated chemistry system LOCI® Module

Flex® reagent cartridge

NTP

Voir les sections ombrées : Informations mises à jour à partir de la version 2019-05.

Date d'édition 2020-08

Pro-peptide natriurétique cérébral N-terminal

Utilisation : La méthode NTP est un test de diagnostic *in vitro* pour la mesure quantitative du fragment N-terminal du peptide natriurétique cérébral (NT-proBNP) dans le plasma et le sérum humains sur le système de chimie intégré Dimension® EXL™ avec le module LOCI®. Chez les personnes suspectées d'être atteintes d'une insuffisance cardiaque congestive (ICC), les mesures de NT-proBNP contribuent au diagnostic et à l'évaluation de la gravité de la maladie. Le test est par ailleurs indiqué pour la stratification des risques chez les patients atteints de syndrome coronarien aigu et d'insuffisance cardiaque.

Résumé : Un dysfonctionnement du ventricule gauche peut se produire dans le cadre d'une maladie coronarienne, d'une hypertension artérielle, d'une valvulopathie et d'une maladie myocardique primaire. Si ce dysfonctionnement n'est pas traité et qu'il progresse, le potentiel de mortalité est élevé, résultant par exemple d'un arrêt cardiaque subit.

L'insuffisance cardiaque chronique est un syndrome clinique causé par un dérèglement de la fonction de pompage du cœur. En fonction de ces symptômes, la New York Heart Association (NYHA) classe la gravité de l'insuffisance cardiaque selon des stades I à IV. Le dysfonctionnement du ventricule gauche est diagnostiqué grâce à des tests cliniques et des procédures d'imagerie.¹

L'importance des peptides natriurétiques dans le contrôle de la fonction du système cardiovasculaire a été établie. Des premières études révèlent qu'on peut se servir des peptides natriurétiques dans le cadre du diagnostic de problèmes cliniques associés au dysfonctionnement du ventricule gauche.² Les peptides natriurétiques suivants ont été signalés dans la littérature médicale : peptide natriurétique auriculaire (ANP), peptide natriurétique de type B (BNP) et peptide natriurétique de type C (CNP).^{3,4}

Les peptides ANP et BNP possèdent des propriétés natriurétiques et diurétiques. En tant qu'antagonistes du système rénine-angiotensine-aldostérone, ils influencent l'électrolyte et l'équilibre des fluides dans l'organisme.^{5,6} Chez les sujets atteints d'un dysfonctionnement du ventricule gauche, les concentrations sériques et plasmatiques de BNP augmentent, de même que les concentrations de la prohormone biologiquement inactive (proBNP). La ProBNP comprend 108 acides aminés. Elle est principalement sécrétée par le ventricule gauche du cœur et, lors de ce processus, elle est clivée en BNP physiologiquement active (77 – 108) et en fragment N-terminal de NT-proBNP (1 – 76).⁴

Des études indiquent que la NT-proBNP peut être utilisée dans le cadre d'applications diagnostiques et pronostiques.⁷⁻¹³ La concentration de NT-proBNP dans le plasma indique le pronostic de dysfonctionnement ventriculaire gauche. Elle est également utile à l'affectation de symptômes à des causes cardiaques ou non cardiaques.

La détermination du NT-proBNP permet d'identifier les sujets atteints d'un dysfonctionnement du ventricule gauche. Des modifications de la concentration de NT-proBNP peuvent être utilisées pour évaluer le succès du traitement chez des patients atteints d'un dysfonctionnement ventriculaire gauche. Il existe des indications selon lesquelles la NT-proBNP, en raison de sa fonction, peut servir à l'évaluation d'un remodelage vasculaire et contribue par conséquent à l'établissement de procédures individualisées de réhabilitation.^{10,11}

Fisher et al. ont trouvé que les patients souffrant d'insuffisance cardiaque congestive avec des valeurs élevées de NT-proBNP avaient un taux de mortalité à un an de 53 % contre 11 % chez ceux dont les valeurs étaient inférieures.¹² L'étude Gusto IV, qui impliquait plus de 6800 patients, a révélé que le NT-proBNP était le facteur de prédiction indépendant le plus puissant de la mortalité à un an de patients atteints du syndrome coronarien aigu.¹³

Le groupe de travail pour le diagnostic et le traitement de l'insuffisance cardiaque chronique de la Société Européenne de Cardiologie (ESC) recommande dans ses directives que les peptides natriurétiques, y compris le NT-proBNP, « peuvent être des plus utiles sur le plan clinique comme test d'exclusion étant donné leurs valeurs prédictives négatives très élevées et constantes ».

Les niveaux de NT-proBNP augmentent chez les patients souffrant d'angor instable et suite à un infarctus du myocarde.^{14,15} Même s'il ne peut s'agir d'un diagnostic de ces pathologies, plusieurs études indiquent que des mesures de NT-proBNP peuvent fournir des informations de pronostic pour la stratification des risques à court et à long terme des patients avec un angor instable et après un infarctus du myocarde.^{15,16,17}

Principes de la méthode : La méthode NTP est un immunodosage en sandwich à une seule étape à chimioluminescence basé sur la technologie LOCI®. Les réactifs LOCI® comprennent deux réactifs à billes synthétiques et un fragment d'anticorps monoclonal biotinylé qui reconnaissent un épitope situé sur la partie N-terminale du proBNP. Le premier réactif sur billes (Sensibeads) est recouvert de streptavidine et contient un colorant photosensible. Le deuxième réactif sur billes (Chemibeads) est recouvert d'un deuxième anticorps spécifique d'un deuxième épitope indépendant du NT-proBNP et contient un colorant chimioluminescent. L'échantillon est incubé avec les Chemibeads et l'anticorps biotinylé pour former une structure en sandwich particule/NT-proBNP/anticorps biotinylé. Les Sensibeads sont alors ajoutés et se lient à la biotine pour former des immunocomplexes de billes agrégées. L'illumination du complexe par une lumière à 680 nm génère de l'oxygène singulet à partir des Sensibeads, qui diffuse dans les Chemibeads et déclenche une réaction de chimioluminescence. Le signal chimioluminescent obtenu, mesuré à 612 nm, est directement proportionnel à la concentration de NT-proBNP dans l'échantillon.^{18,19,20}

Réactifs				
Puits*	Forme	Composant	Concentration*	Origine
1 – 2	Liquide	Anticorps biotinylé	8 µg/ml	Mouton, monoclonal
3 – 4	Liquide	Chemibeads NT-proBNP	150 µg/ml	Mouton, monoclonal
5 – 6	Liquide	Sensibeads avec Streptavidine	1400 µg/ml	<i>E. coli</i> recombinante
7 – 8	Liquide	Tampon de dosage		

a. Les puits sont numérotés consécutivement, depuis l'extrémité la plus large de la cartouche.

b. Valeur nominale par puits dans une cartouche.

Risque et sécurité :



H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P501

Avertissement
Peut provoquer une allergie cutanée.

Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau et au savon. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales.

Contient : 5-chloro-2-méthyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-méthyl-3(2h)-isothiazolone.

Les fiches de sécurité sont disponibles sur [siemens.com/healthcare](https://www.siemens.com/healthcare)

Précautions : Après utilisation, les récipients de réaction HM contiennent des liquides biologiques humains. Les manipuler avec soin pour éviter tout risque de contact avec la peau ou d'ingestion.

Pour diagnostic *in vitro*

Préparation des réactifs : Tous les réactifs sont liquides et prêts à l'emploi.

Conservé entre 2 et 8 °C

Péremption : Voir la date de péremption indiquée sur l'emballage de chaque cartouche de réactifs non ouverte. Les puits fermés de l'instrument sont stables pendant 30 jours.

Stabilité des puits ouverts : 3 jours pour les puits 1 à 8

Prélèvement et manipulation des échantillons : Types d'échantillon recommandés : sérum ou plasma (héparine-lithium, héparine-sodium et EDTA).

Il n'est pas possible d'utiliser d'échantillons et de contrôles stabilisés à l'aide d'azide.

Le sérum et le plasma doivent être prélevés au moyen des procédures recommandées de prélèvement d'échantillons sanguins pour diagnostic par ponction veineuse.^{21,22,23} Chaque laboratoire doit définir le protocole de prélèvement et de temporisation de l'échantillon qui lui convient.

Suivre les instructions d'utilisation et de traitement fournies avec le dispositif de prélèvement des échantillons.²³

Une coagulation complète doit avoir lieu avant la centrifugation. Le sérum ou le plasma doit être physiquement séparé des cellules aussitôt que possible, au maximum deux heures après le prélèvement.²⁴ Les échantillons doivent être dépourvus de particules.

Si un traitement thrombolytique ou anticoagulant allonge le temps de coagulation, l'utilisation d'échantillons de plasma permettra d'accélérer le traitement des échantillons et de réduire le risque d'interférence par des matières particulières.^{21,24}

Les échantillons sont stables pendant trois jours quand ils sont conservés entre 20 et 25 °C ou entre 2 et 8 °C ou pendant 12 mois s'ils sont congelés à une température inférieure ou égale à -20 °C.²⁵ Il convient d'éviter de soumettre les échantillons à des cycles répétés de congélation-décongélation.

S'assurer que les échantillons de patients, les calibrateurs et les contrôles sont équilibrés à température ambiante (entre 22 et 28 °C) avant l'analyse. Les échantillons contenant des précipités doivent être centrifugés avant dosage.

Procédure

Matériel fourni

Cartouche de réactifs NTP Flex®, réf. : RF623

Matériel requis mais non fourni

LOCI NTP CAL, réf. : RC623
Diluant d'échantillon Dimension®, réf. : 791092901
Récipients de réaction HM, réf. : RXV1A
Matériel de contrôle de qualité

Étapes du dosage

L'échantillonnage, la distribution des réactifs, le mélange et le traitement sont automatiquement réalisés par le système Dimension® EXL™. Pour les détails du traitement, voir le guide de l'opérateur de Dimension® EXL™.

Conditions du test

Volume d'échantillon (versé dans le réacteur HM)	8 µl
Volume du réactif Chemibead	20 µl
Volume du réactif d'anticorps biotinylé	20 µl
Volume de Sensibeads	15 µl
Volume du tampon de dosage	100 µl
Température	37 °C
Temps de réaction	14 minutes
Longueur d'onde	680 et 612 nm
Type de mesure	Chimioluminescence

Étalonnage	
Domaine de mesure	5 – 35000 pg/ml
Matériel d'étalonnage	Calibrateur NTP; réf. : RC623
Schéma d'étalonnage	5 niveaux, n = 3
Unités	pg/ml
Niveaux d'étalonnage types	Niveau 1 : 0 pg/ml Niveau 2 : 250 pg/ml Niveau 3 : 1500 pg/ml Niveau 4 : 12000 pg/ml Niveau 5 : 36750 pg/ml
Fréquence d'étalonnage	Tous les 30 jours pour chaque lot
Un nouvel étalonnage est requis	- Pour chaque nouveau lot de cartouches de réactifs Flex® - Après une maintenance ou une réparation majeure, en fonction des résultats du contrôle de qualité - Comme indiqué dans les procédures de contrôle de qualité du laboratoire - Selon les réglementations nationales en vigueur

Contrôle de qualité

Se conformer aux réglementations ou aux exigences d'accréditation gouvernementales concernant la fréquence du contrôle de qualité. Analyser au moins une fois par jour d'utilisation, deux niveaux de matériel de contrôle de qualité, aux concentrations de NT-proBNP connues. Suivre les procédures de contrôle de qualité internes du laboratoire si les résultats obtenus ne sont pas compris dans les limites acceptables.

Résultats : L'instrument calcule la concentration de NT-proBNP en pg/ml à l'aide du schéma de calcul décrit dans le manuel d'utilisation du système Dimension® EXL™.

Les résultats de ce test doivent toujours être interprétés en rapport avec les antécédents médicaux du patient, les signes cliniques et autres constatations.

Domaine de mesure analytique (AMR) : 5 – 35000 pg/ml

Il s'agit du domaine des valeurs d'analyse pouvant être mesurées directement dans l'échantillon sans dilution ni traitement préalable qui ne fasse pas partie de la méthode d'analyse usuelle et qui est équivalent au domaine de mesure.

- Les échantillons dont les résultats excèdent 35000 pg/ml peuvent être signalés comme > 35000 pg/ml ou être dilués manuellement.
Dilution manuelle : Diluer avec le diluant d'échantillon (réf. : 791092901) afin d'obtenir un résultat compris dans le domaine communicable. Le facteur de dilution recommandé est de 2. Saisir le facteur de dilution sur l'instrument. Redoser. Le résultat lu tient compte de la dilution. Les dilutions d'1:5 ont présenté des déviations maximales de 20 % par rapport à la valeur théorique.
- Les échantillons renvoyant des résultats inférieurs à 5 pg/ml doivent être signalés comme « inférieur à 5 pg/ml ».

Limites de la procédure

Les concentrations de peptides natriurétiques sont susceptibles d'être élevées chez les patients souffrant d'infarctus aigu du myocarde, ceux qui sont candidats à une dialyse rénale ainsi que ceux qui en ont bénéficié.

Les échantillons de patients peuvent contenir des anticorps hétérophiles susceptibles de réagir dans les immunodosages et fausser les résultats vers le haut ou vers le bas. Ce dosage a été conçu pour limiter l'interférence des anticorps hétérophiles. Toutefois, il est impossible de garantir l'élimination complète de ces interférences dans tous les échantillons de patients.

Un résultat de test qui n'est pas cohérent avec le tableau clinique et les antécédents du patient doit être interprété avec prudence.^{26, 27}

Le système de rapport de l'instrument renvoie des indicateurs et des commentaires pour fournir à l'utilisateur des informations sur les erreurs de traitement et l'état de l'instrument, ainsi que sur les erreurs potentielles dans les résultats de NT-proBNP. Pour connaître la signification de ces indicateurs et commentaires, voir le guide de l'opérateur du système Dimension® EXL™. Les rapports contenant des marqueurs et/ou des commentaires doivent être traités conformément au guide des procédures du laboratoire et non communiqués.

Les tests d'échantillons provenant de patients insuffisants rénaux et prenant de la biotine pourraient présenter des résultats faussement négatifs. En conséquence, n'utilisez pas cet appareil chez les patients atteints d'insuffisance rénale (eGFR < 60), sauf s'il est avéré que le patient ne prend pas de biotine. Les patients prenant plus de 20 mg/jour de biotine peuvent présenter des résultats faussement négatifs. Ne pas utiliser ce test chez les patients prenant plus de 20 mg/jour de biotine.

Répétabilité observée maximale

Les écarts types observés maximum attendus en termes de reproductibilité (précision intra série) avec n = 5 réplicats aux concentrations d'analytes suivantes sont :

Concentration de NT-proBNP	E-T maximum acceptable
152 pg/ml	13.6 pg/ml
446 pg/ml	44.7 pg/ml

Il peut y avoir un dysfonctionnement du système si l'E-T acceptable maximal est dépassé.

Valeurs attendues

Les concentrations de NT-proBNP au sein du groupe de référence sont présentées dans les tableaux suivants. Chaque laboratoire doit définir son propre intervalle de référence pour la méthode NTP, telle qu'elle sera déterminée sur le système Dimension® EXL™. Les seuils de décision médicale recommandés, par tranche d'âge, sont les suivants :

Patients < 75 ans :	125 pg/ml
Patients ≥ 75 ans :	450 pg/ml

Groupe d'étude de référence‡

Les concentrations de NT-proBNP ont été déterminées chez 318 individus ne présentant pas d'insuffisance cardiaque congestive (163 femmes et 155 hommes) grâce à la méthode Dimension Vista® PBNP. Cette population incluait des sujets apparemment en bonne santé et d'autres atteints de diabète, d'hypertension et de maladie pulmonaire. Les statistiques des concentrations de NT-proBNP du groupe d'étude de référence sont présentées dans le tableau suivant.

Groupe d'étude de référence				
Tous	< 55 ans	55-64 ans	65-74 ans	≥ 75 ans
Moyenne	45.9	54.6	175.5	451.3
E-T	53.6	62.3	197.6	987.1
Médiane	27.2	28.8	106.2	173.5
95ème centile	131.2	206.6	880.8	1615.7
% < 125 pg/ml	94 %	80 %	61 %	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	79 %
N	163	15	18	122

Hommes				
< 55 ans	55-64 ans	65-74 ans	≥ 75 ans	
Moyenne	39.0	56.7	219.4	520.8
E-T	57.8	58.2	242.4	1080.9
Médiane	16.6	25.4	123.6	173.5
95ème centile	168.8	154.7	880.8	1969.7
% < 125 pg/ml	93 %	83 %	55 %	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	73 %
N	76	6	11	62

Femmes				
< 55 ans	55-64 ans	65-74 ans	≥ 75 ans	
Moyenne	51.9	53.2	106.6	379.5
E-T	49.2	68.3	60.8	883.1
Médiane	39.4	28.8	87.7	167.3
95ème centile	124.0	206.6	215.2	1453.2
% < 125 pg/ml	95 %	78 %	71 %	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	85 %
N	87	9	7	60

Groupe d'étude de patients malades‡

Des échantillons sanguins ont été prélevés sur 269 patients pour lesquels on a diagnostiqué une insuffisance cardiaque congestive (ICC). Les concentrations de NT-proBNP ont été déterminées grâce à Dimension Vista® PBNP. La population comprenait 78 femmes et 191 hommes. Les statistiques descriptives et les classes fonctionnelles de la New York Heart Association (NYHA) sont présentées ci-dessous. Chaque laboratoire doit définir un intervalle de référence qui représente la population de patients à évaluer. En outre, les laboratoires doivent connaître la pratique en vigueur dans leur établissement pour l'évaluation de l'insuffisance cardiaque congestive.

Population ICC - Tous				
< 55 ans	55-64 ans	65-74 ans	≥ 75 ans	
Moyenne	6131.8	4455.5	6168.1	8142.7
E-T	13470.3	9296.0	10950.5	12699.1
Médiane	1550.9	1639.5	2541.3	3780.5
95ème centile	28099.6	19481.5	17768.6	26923.1
% > 125 pg/ml	89 %	92 %	95 %	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	94 %
N	72	72	59	66

Population ICC - Hommes				
< 55 ans	55-64 ans	65-74 ans	≥ 75 ans	
Moyenne	7771.4	4954	6537.2	8827.3
E-T	15797.2	10536.7	12383.9	12856.6
Médiane	2526.1	1699.8	2541.3	5529.2
95ème centile	31237.1	19481.5	17768.6	18634.8
% > 125 pg/ml	94 %	94 %	93 %	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	96 %
N	48	51	43	49

Population ICC - Femmes				
< 55 ans	55-64 ans	65-74 ans	≥ 75 ans	
Moyenne	2852.6	3244.9	5176.1	6169.7
E-T	5774.0	5200.7	5727.8	12397.4
Médiane	452.3	1516.9	2270.8	1125.3
95ème centile	15569.3	7903.1	16889.9	45824.4
% > 125 pg/ml	79 %	86 %	100 %	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	88 %
N	24	21	16	17

Population ICC - Tous					
Classe fonctionnelle de la NYHA					
Toutes les ICC	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV	
Moyenne	6184.5	3941.9	3648.8	6643.1	11089.2
E-T	11737.8	8461.3	4897.0	13567.0	14428.2
Médiane	2282.2	1161.0	1091.7	2541.3	4537.7
5ème centile	101.1	100.4	46.6	143.1	74.6
95ème centile	22331.9	14184.1	14238.5	17497.1	28099.6
% > seuil	92 %	93 %	90 %	94 %	88 %
Minimum	5.1	52.8	24.5	5.1	39.6
Maximum	91446.4	52327.0	18634.8	91446.4	78045.2
N	269	45	60	124	40

Population ICC - Hommes

Classe fonctionnelle de la NYHA	Toutes les ICC	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Moyenne	7012.1	4567.5	4402.2	7298.4	14351.2
E-T	12991.9	9204.3	5167.4	14789.5	17258.9
Médiane	3162.6	1639.5	2230.9	3442.2	6015.9
5ème centile	126.1	136.3	46.5	126.1	101.1
95ème centile	24004.7	19481.5	14238.5	17497.1	31237.1
% > seuil	94 %	97 %	93 %	95 %	91 %
Minimum	5.1	72.5	44.7	5.1	74.6
Maximum	91446.4	52327.0	18634.8	91446.4	78045.2
N	191	37	40	91	23

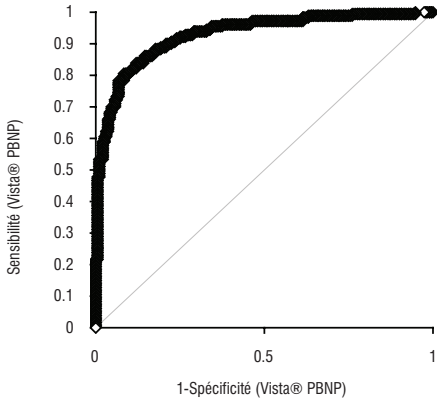
Population ICC - Femmes

Classe fonctionnelle de la NYHA	Toutes les ICC	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Moyenne	4157.8	1048.3	2142.1	4836.0	6676.0
E-T	7561.7	1636.1	4008.9	9366.5	7864.9
Médiane	950.2	225.4	705.3	1286.7	3780.5
5ème centile	84.3	52.8	24.5	143.1	39.6
95ème centile	22331.9	4960.2	11020.8	26923.1	22997.0
% > seuil	87 %	75 %	85 %	94 %	82 %
Minimum	24.5	52.8	24.5	126.8	39.6
Maximum	45824.4	4960.2	15893.8	45824.4	22997.0
N	78	8	20	33	17

Ces résultats montrent l'existence d'un lien entre la sévérité des signes et symptômes cliniques d'une insuffisance cardiaque congestive et la concentration médiane de NT-proBNP, ce qui démontre que la méthode Dimension Vista® PBNP peut servir d'aide au diagnostic de tous les degrés de sévérité de l'insuffisance cardiaque congestive, y compris chez les patients asymptomatiques.

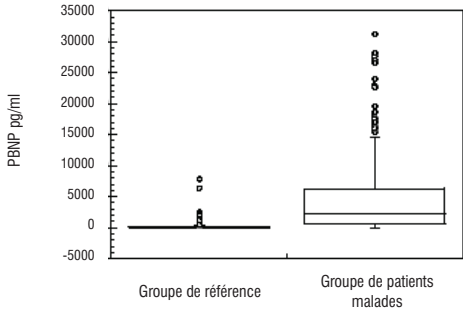
Interprétation des résultats‡

La courbe ROC (Receiver Operator Characteristics) présente la sensibilité et la spécificité cliniques à différents seuils pour les 269 patients avec diagnostic d'ICC et les 318 patients sans ICC. La courbe ROC pour le dosage Dimension Vista® est illustrée ci-dessous. L'aire située sous la courbe ROC (AUC) pour le dosage Dimension Vista® PBNP est de 0.928 avec un intervalle de confiance à 95 % compris entre 0.907 et 0.949.



Un tracé en « boîte à moustaches » de la population de l'étude clinique est présenté ci-dessous. Les seuils cliniques recommandés sont de 125 pg/ml pour les patients de moins de 75 ans et de 450 pg/ml pour les patients âgés de 75 ans ou plus. Six échantillons du groupe malade affichant des valeurs supérieures à l'intervalle de dosage ne sont pas présentés dans le diagramme.

Valeurs Vista® PBNP des groupes de référence et de patients malades



Sensibilité et spécificité par rapport à l'âge et au sexe‡

Les tableaux ci-dessous montrent la sensibilité et la spécificité cliniques du dosage Dimension Vista® PBNP avec un seuil de 125 pg/ml pour les patients de moins de 75 ans et de 450 pg/ml pour ceux de 75 ans ou plus.

Hommes	< 75 ans	≥ 75 ans
Sensibilité	94 % (133/142)	96 % (47/49)
Intervalle de confiance à 95 %	90 – 98	90 – 100
Spécificité	87 % (81/93)	73 % (45/62)
Intervalle de confiance à 95 %	80 – 94	61 – 84

Femmes	< 75 ans	≥ 75 ans
Sensibilité	89 % (54/61)	88 % (15/17)
Intervalle de confiance à 95 %	81 – 97	73 – 100
Spécificité	92 % (95/103)	85 % (51/60)
Intervalle de confiance à 95 %	87 – 97	76 – 94

Analyse ROC alignée sur l'âge‡

Une analyse ROC par correspondance d'âge des données cliniques a été réalisée selon la méthode pondérée décrite dans Kondratovich (2002).²⁸ L'aire sous la courbe (AUC) obtenue était de 0.929 avec un intervalle de confiance à 95 % compris entre 0.909 et 0.950.

‡ La méthode Dimension Vista® PBNP (REF K6423A) et la méthode Dimension® NTP (REF RF623) utilisent les mêmes réactifs, dans des conditions de réaction équivalentes et les résultats sont représentatifs des deux méthodes.

Caractéristiques spécifiques de performance

Les données suivantes représentent la performance type du système Dimension® EXL™.

Matériel	Moyenne pg/ml	Précision ^{29, c}	
		Répétabilité	Écart-type (CV %) Intra-laboratoire
Pool de sérum 1	148	2.7 (1.9)	3.8 (2.5)
Pool de sérum 2	434	6.9 (1.6)	10.2 (2.4)
Pool de sérum 3	946	17.4 (1.8)	20.9 (2.2)
Pool de sérum 4	4315	96.6 (2.2)	144.2 (3.3)
CQ interne	30643	1732.5 (5.7)	2761.3 (9.01)

c. Le document EP5-A2 du CLSI/NCCLS a été utilisé. Chaque jour de test, deux séries distinctes, avec deux échantillons de test, pour chaque matériel de test, ont été analysées pendant 20 jours.

Comparaison de méthode³⁰

Équivalence sérum et plasma^d

Une comparaison des résultats des tests sur le système Dimension® EXL™ pour les échantillons plasmatiques d'héparine-lithium, d'héparine-sodium et d'EDTA par rapport aux échantillons sériques est présentée ci-dessous :

Échantillon comparatif	Pente	Ordonnée à l'origine pg/ml	Coefficient de corrélation	n
Héparine lithium	0.99	-25.9	0.9932	50
Héparine sodium	0.98	-43.3	0.9919	53
EDTA	0.96	-0.4	0.9988	57

d. L'équation par régression linéaire de Passing-Bablok est la suivante : [résultats du plasma] = pente x [résultats du sérum] + ordonnée à l'origine.

Statistiques de régression^{e, f}

Méthode comparative	Pente	Ordonnée à l'origine pg/ml	Coefficient de corrélation	n
Dimension Vista® PBNP (monoclonal)	0.950	-1.303	0.998	109 ^g

e. Le document EP9-A2 du CLSI/NCCLS a été utilisé. La droite de régression linéaire a été ajustée à l'aide de la méthode de Passing-Bablok.

f. L'équation employée pour calculer la régression linéaire de Passing-Bablok est la suivante : [résultats pour le système Dimension® EXL™] = pente x [résultats de la méthode comparée] + ordonnée à l'origine.

g. Les 109 valeurs de l'étude de corrélation s'échelonnaient de 36 à 33493 pg/ml.

Spécificité

Interférence HIL

Les interférences HIL (hémoglobine, icteré et lipémie) générées par la méthode NTP ont été évaluées d'après le document EP7-A2 du CLSI/NCCLS.³¹ Le biais représente la différence dans les résultats entre l'échantillon de contrôle (sans la substance interférente) et l'échantillon de test (contenant la substance interférente) exprimée en pourcentage. Un biais supérieur à 10 % est considéré comme une interférence.

Substance testée	Concentration de la substance	NT-proBNP pg/ml	Biais* %
Hémoglobine (hémolysat)	1000 mg/dl [0.62 mmol/l] ^h	120	< 10
		1400	< 10
Bilirubine (indirecte)	60 mg/dl [1026 µmol/l]	120	< 10
		1400	< 10
Bilirubine (directe)	60 mg/dl [1026 µmol/l]	120	< 10
		1400	< 10
Lipémie (Intralipid®)	3000 mg/dl [33.9 mmol/l]	120	< 10
		1400	< 10

Intralipid® est une marque déposée de Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Allemagne.

*Les résultats de l'analyse ne doivent pas être corrigés en fonction du biais.

h. Les unités SI [Système International d'Unités] sont indiquées entre crochets.

Substances interférentes

La méthode NTP a été évaluée pour définir les interférences conformément au document EP7-A2 du CLSI/NCCLS.³¹ Le biais représente la différence dans les résultats entre l'échantillon de contrôle (sans la substance interférente) et l'échantillon de test (contenant la substance interférente) exprimée en pourcentage. Un biais supérieur à 10 % est considéré comme une interférence.

Concentration d'analyte	Niveau de test de biotine (ng/ml)			
	100	250	500	1200
	% Biais			
120 pg/ml	-1.6	-4	-16.3	-74.8
1400 pg/ml	-2.5	-6.4	-17.1	-71.9

• Les échantillons qui contiennent de la biotine à une concentration de 250 ng/ml démontrent une variation des résultats inférieure ou égale à 10 %. Les concentrations de biotine supérieures peuvent provoquer des résultats faussement faibles sur les échantillons de patients.

• La consommation de biotine alimentaire quotidienne recommandée chez l'adulte est de 30 µg/jour. Les suppléments alimentaires en vente libre conseillés pour améliorer la santé des cheveux, de la peau et des ongles peuvent contenir 5 à 100 mg de biotine, et il est recommandé de prendre plusieurs comprimés par jour. Des études pharmacocinétiques réalisées sur des adultes en bonne santé ont démontré que, chez les sujets qui ingèrent des doses de 5 mg, 10 mg et 20 mg de biotine, les concentrations de biotine sérique peuvent atteindre 73 ng/ml, 141 ng/ml et 355 ng/ml, respectivement.³² Chez les sujets qui prennent jusqu'à 300 mg de biotine par jour, les niveaux de biotine plasmatique peuvent atteindre 1160 ng/ml.³³

Substances non interférentes

Les substances suivantes n'interfèrent pas avec la méthode NTP lorsqu'elles sont présentes dans le sérum aux concentrations indiquées. Les imprécisions (biais) dues à ces substances sont inférieures à 10 % à une concentration de NT-proBNP de 120 et 1400 pg/ml.

Composé	Concentration	Unités SI
Abciximab	21 µg/ml	0.4 µmol/l
Acétaminophène	20 mg/dl	1324 µmol/l
Allopurinol	2.5 mg/dl	184 µmol/l
Amikacine	8 mg/dl	137 µmol/l
Amiodarone	20 µg/ml	31 µmol/l
Amlodipine bésylate	4 µg/ml	7.1 µmol/l
Ampicilline	5.3 mg/dl	152 µmol/l
Acide ascorbique	6 mg/dl	342 µmol/l
Aténolol	1.0 mg/dl	37.6 µmol/l
Atorvastatine	32 mg/dl	572.9 µmol/l
Caféine	6 mg/dl	308 µmol/l
Captopril	5.0 mg/dl	230 µmol/l
Carbamazépine	3 mg/dl	127 µmol/l
Chloramphénicol	5 mg/dl	155 µmol/l
Chlordiazépoxide	1 mg/dl	33.3 µmol/l
Chlorpromazine	0.2 mg/dl	6.27 µmol/l
Cholestérol	500 mg/dl	12.9 mmol/l
Cimétidine	2 mg/dl	79.2 µmol/l
Cinnarizine	3.0 mg/dl	81.4 µmol/l
Bisulfate de clopidogrel	30 µg/ml	71.4 µmol/l
Créatinine	30 mg/dl	2652 µmol/l
Cyclosporine A	4000 ng/ml	3.3 µmol/l
Dextran 40	3000 mg/dl	750 µmol/l
Diazépam	0.5 mg/dl	17.6 µmol/l
Diclofenac	60 µg/ml	188.6 µmol/l
Digitoxine	60 ng/ml	78.6 nmol/l
Digoxine	6.1 ng/ml	7.8 nmol/l
Diltiazem	120 µg/ml	266.1 µmol/l
Dipyridamole	30 µg/ml	59.4 µmol/l
Dopamine	65 mg/dl	3.4 mmol/l
Maléate d'énalapril	16 µg/ml	32.5 µmol/l
Érythromycine	6 mg/dl	81.6 µmol/l
Éthanol	400 mg/dl	86.8 mmol/l
Éthosuximide	25 mg/dl	1770 µmol/l
Furosémide	6 mg/dl	181 µmol/l
Gentamicine	1 mg/dl	21 µmol/l
Héparine	3 U/ml	3000 U/l
Hydralazine	20 µg/ml	101.7 µmol/l
Hydrochlorothiazide	20 µg/ml	67.2 µmol/l
Ibuprofène	50 mg/dl	2425 µmol/l
Immunoglobuline G (IgG)	5 g/dl	50 g/l
Indométhacine	16 µg/ml	36.9 µmol/l
Isosorbide dinitrate	6.0 mg/dl	254 µmol/l
Lidocaïne	1.2 mg/dl	51.2 µmol/l
Lisinopryl	16 µg/ml	36.2 µmol/l
Lithium	2.2 mg/dl	3.2 mmol/l
Lovastatine	16 µg/ml	39.6 µmol/l
L-thyroxine	60 µg/dl	0.77 µmol/l
Méthylidopa	2.5 mg/dl	118 µmol/l
Lactate de milrinone	2.4 µg/ml	8 µmol/l
Nicotine	0.1 mg/dl	6.2 µmol/l
Nifédipine	6.0 mg/dl	173 µmol/l
Nitrofurantoïne	40 µg/ml	168 µmol/l
Nitroglycérine	0.16 µg/ml	0.577 µmol/l
Oxazépam	12 µg/ml	41.8 µmol/l
Oxytétracycline	100 µg/ml	217.2 µmol/l
Pénicilline G	25 U/ml	25000 U/l
Pentobarbital	8 mg/dl	354 µmol/l
Phénobarbital	10 mg/dl	431 µmol/l
Phénytoïne	5 mg/dl	198 µmol/l
Primidone	4 mg/dl	183 µmol/l
Probenécide	200 µg/ml	700.9 µmol/l
Propoxyphène	0.16 mg/dl	4.91 µmol/l
Propranolol	0.15 mg/dl	5.1 µmol/l
Protéine : Albumine	6 g/dl	60 g/l
Protéine : Total	12.0 g/dl	120 g/l
Quinidine	20 µg/ml	61.6 µmol/l
Facteur rhumatoïde	500 IU/ml	500 IU/ml
Acide salicylique	60 mg/dl	4.34 mmol/l
Simvastatine	32 µg/ml	76.5 µmol/l
Sulfaméthoxazole	320 µg/ml	1263.3 µmol/l

Théophylline	4 mg/dl	222 µmol/l
Triméthoprim	64 µg/ml	220.7 µmol/l
Urée	500 mg/dl	83.3 mmol/l
Acide urique	20 mg/dl	1190 µmol/l
Acide valproïque	50 mg/dl	3467 µmol/l
Vérapamil	16 mg/dl	351.6 µmol/l
Warfarine	4 µg/ml	13 µmol/l

Effet Crochet

Les immunodosages en sandwich à une seule étape sont sensibles à un « effet crochet » en cas de forte dose, où un excès d'antigène empêche la liaison simultanée des anticorps de capture et de détection avec une molécule d'analyte unique.³⁴ Ces échantillons doivent être dilués et redosés avant communication des résultats. La méthode NTP n'entraîne aucun effet crochet jusqu'à 400,000 pg/ml.

Réactivité croisée

Les substances suivantes n'ont pas de réactivité croisée significative (inférieure à 1 %) aux concentrations indiquées lorsqu'on les ajoute à des échantillons contenant 0 et environ 125 pg/ml de NT-proBNP.

Substance	Concentration
ANP ₂₈	3.1 µg/ml
NT-proANP ₁₋₃₀ (preproANP ₂₆₋₅₅)	3.5 µg/ml
NT-proANP ₃₁₋₆₇ (preproANP ₅₆₋₉₂)	1.0 ng/ml
NT-proANP ₇₉₋₉₈ (preproANP ₁₀₄₋₁₂₃)	1.0 ng/ml
BNP ₃₂ (Natreacor®)	3.5 µg/ml
CNP ₂₂	2.2 µg/ml
DNP	1.0 ng/ml
VNP	1.0 ng/ml
Adrénomédulline	1.0 ng/ml
Aldostérone	0.6 ng/ml
Angiotensine I	0.6 ng/ml
Angiotensine II	0.6 ng/ml
Angiotensine III	1.0 ng/ml
Endothéline	20 pg/ml
Rénine	50 ng/ml
Uroilatine	3.5 µg/ml
Arg-Vasopressine	1.0 ng/ml

Sensibilité analytique : ≤ 5 pg/ml

La sensibilité analytique de la méthode NTP est de ≤ 5 pg/ml. La sensibilité analytique est définie comme la concentration à deux écarts types (n = 20) au-dessus d'un échantillon dépourvu de NT-proBNP, tel que le calibrateur LOCI NTP de niveau 1 (0 pg/ml).

Limite de détection³⁵ : 2.3 pg/ml

La limite de détection (LDD), pour la méthode NTP est de 2.3 pg/ml, déterminée conformément au document EP17-A du CLSI et avec une proportion de faux positifs (α) inférieure à 5 % et de faux négatifs (β) inférieure à 5 % ; sur la base de 30 déterminations, avec 5 échantillons blancs et 5 échantillons bas. La LDD est la plus faible concentration pouvant être détectée de façon fiable.

Sensibilité fonctionnelle : Évaluation de la limite du CV de 20 %

La sensibilité fonctionnelle a été évaluée en déterminant l'imprécision totale des échantillons sériques de NT-proBNP naturel. L'imprécision totale a été mesurée par une étude ANOVA deux replicats par jour pendant vingt jours. Le profil de sensibilité fonctionnelle/imprécision de la méthode Dimension® NTP correspond à un coefficient de variation (CV) de 20 % pour un niveau de NT-proBNP de ≤ 30 pg/ml.

Linéarité de dilution

L'échantillon de plasma d'un patient dont la concentration de NT-proBNP était élevée a été dilué dans le domaine de mesure. Des échantillons supplémentaires ont été dilués linéairement pour confirmer la précision de la dilution à la limite inférieure de l'intervalle de dosage. Tous les échantillons ont été dilués avec des pools de plasma de patients de faible niveau. Le tableau suivant résume les résultats de ces études :

	Échantillon A	Échantillon B
Concentration de départ (pg/ml)	47120	1232
Statistiques de régression		
Pente	1.004	0.996
Ordonnée à l'origine	12.8	10.9
Coefficient de corrélation	0.999	0.999
N	5	5
% de récupération		
Moyenne	100.2	101.9
Domaine	99 – 101	100 – 106

Fabriqué sous licence de Roche Diagnostics.

US 5786163 et équivalents étrangers

Demande de brevets US : 09/890442 et équivalents étrangers

Explication des symboles : voir le tableau ci-contre.

Bibliographie : voir le tableau ci-contre.

Dimension Vista®, LOCI®, Dimension®, EXL™ et Flex® sont des marques commerciales de Siemens Healthcare Diagnostics.

©2008 Siemens Healthcare Diagnostics
Tous droits réservés.



Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
500 GBC Drive
Newark, DE 19714 USA



Dimension® EXL™ integrated chemistry system LOCI® Module

Flex® reagent cartridge

NTP

Vedere le sezioni ombreggiate: Informazioni aggiornate dalla versione 2019-05.

Data di edizione 2020-08

Frammento N-terminale del propeptide natriuretico cerebrale

Uso previsto: Il metodo NTP è un test diagnostico *in vitro* per la misurazione quantitativa del frammento N-terminale del propeptide natriuretico cerebrale (NT-proBNP) in siero e plasma umani sul sistema di chimica integrato Dimension® EXL™ con modulo LOCI®. Nei pazienti con sospetta insufficienza cardiaca congestizia (CHF), le misurazioni di NT-proBNP vengono utilizzate come supporto alla diagnosi e valutazione della gravità del caso. Il test è inoltre indicato per la stratificazione del rischio dei pazienti con sindrome coronarica acuta e insufficienza cardiaca.

Riassunto: In corso di coronaropatia, ipertensione arteriosa, valvulopatia o miocardiopatia primaria può verificarsi una disfunzione ventricolare sinistra. Se la disfunzione ventricolare sinistra non viene curata ed è progressiva, la probabilità di mortalità è elevata e la causa potrebbe essere la morte cardiaca improvvisa.

L'insufficienza cardiaca cronica è una sindrome clinica causata dalla compromissione della funzionalità della pompa del cuore. In base alla sintomatologia, la gravità dell'insufficienza cardiaca viene classificata secondo classi da I a IV dalla New York Heart Association (NYHA). Per la diagnosi della disfunzione ventricolare sinistra si utilizzano test clinici e tecniche di imaging.¹

Nel controllo della funzione del sistema cardiovascolare è stata riconosciuta l'importanza dei peptidi natriuretici. I primi studi effettuati rivelano che i peptidi natriuretici possono essere utilizzati per diagnosticare problemi clinici associati alla disfunzione ventricolare sinistra.² In letteratura sono noti i seguenti peptidi natriuretici: peptide natriuretico atriale (ANP), peptide natriuretico cerebrale di tipo B (BNP) e peptide natriuretico di tipo C (CNP).^{3,4}

I peptidi ANP e BNP hanno proprietà natriuretiche e diuretiche. Quali antagonisti del sistema renina-angiotensina-aldosterone, influiscono sull'equilibrio degli elettroliti e dei fluidi nell'organismo.^{5,6} Nei soggetti affetti da disfunzione ventricolare sinistra, le concentrazioni di BNP presenti nel siero e nel plasma aumentano alla stregua delle concentrazioni del proBNP, pro-ormone biologicamente inattivo. Il proBNP è costituito da 108 amminoacidi. Viene secreto principalmente dal ventricolo sinistro del cuore e, nel corso di questo processo, si suddivide in BNP fisiologicamente attivo (amminoacidi 77 – 108) e frammento N-terminale di proBNP (amminoacidi 1 – 76).⁴

Gli studi indicano che l'NT-proBNP può essere utilizzato in applicazioni diagnostiche e prognostiche.⁷⁻¹³ La concentrazione di NT-proBNP nel plasma rappresenta un indicatore della prognosi di disfunzione ventricolare sinistra. È inoltre un utile strumento per l'attribuzione della sintomatologia a cause cardiache o di natura diversa.

La determinazione dell'NT-proBNP consente di identificare i soggetti con disfunzione ventricolare sinistra. Eventuali variazioni delle concentrazioni di NT-proBNP possono essere utilizzate per valutare l'efficacia del trattamento nei pazienti con disfunzione ventricolare sinistra. Alcuni elementi indicano che, per le sue funzioni, l'NT-proBNP è indicato per l'uso nella valutazione del rimodellamento vascolare, contribuendo alla definizione dei programmi di riabilitazione personalizzati.^{10,11}

Fisher et al. hanno rilevato che i pazienti affetti da insufficienza cardiaca congestizia con elevati valori di NT-proBNP presentavano un tasso di mortalità entro un anno pari al 53% rispetto all'11% nei pazienti con valori inferiori.¹² Lo studio Gusto IV, che ha coinvolto oltre 6800 pazienti, ha riconosciuto nel frammento NT-proBNP il principale indicatore indipendente di mortalità a un anno in pazienti affetti da sindrome coronarica acuta.¹³

Nelle sue linee guida, la European Society of Cardiology Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure (Task Force della Società Europea di Cardiologia sulla diagnosi e la cura dell'Insufficienza cardiaca cronica) sostiene che i peptidi natriuretici, compreso l'NT-proBNP, "possono rivelarsi più utili dal punto di vista clinico come test di esclusione a causa di valori predittivi negativi molto alti e coerenti".

I livelli di NT-proBNP aumentano nei pazienti con angina instabile e in seguito a infarto miocardico.^{14,15} Sebbene non patognomonicamente, numerosi studi hanno indicato come i valori di NT-proBNP forniscano informazioni prognostiche per la stratificazione del rischio a breve e a lungo termine in pazienti affetti da angina instabile o infarto del miocardio.^{15,16,17}

Principi del metodo: Il metodo NTP è un immunodosaggio chemiluminescente a sandwich a fase singola basato sulla tecnologia LOCI®. I reagenti LOCI® comprendono due reagenti sintetici in microsfere e un frammento di anticorpo monoclonale biotinilato che riconoscono un epitopo situato nella parte N-terminale del proBNP. Il primo reagente in microsfere (Sensibead) è rivestito con streptavidina e contiene un colorante fotosensibile. Il secondo reagente in microsfere (Chemibead) è rivestito con un secondo anticorpo specifico per un secondo epitopo indipendente nell'NT-proBNP e contiene un colorante chemiluminescente. Il campione viene incubato con anticorpo biotinilato e Chemibead per formare un sandwich particella/NT-proBNP/anticorpo biotinilato. Infine si aggiungono le microsfere Sensibead che si legano alla biotina per formare un immunocomplesso aggregato alle microsfere. L'illuminazione del complesso a 680 nm genera ossigeno singoletto dalle microsfere Sensibead che si diffonde nelle microsfere Chemibead dando luogo a una reazione chemiluminescente. Il segnale chemiluminescente risultante viene misurato a 612 nm ed è direttamente proporzionale alla concentrazione di NT-proBNP nel campione.^{18,19,20}

Reagenti

Pozzetti ^a	Forma	Componente	Concentrazione ^b	Origine
1 – 2	Liquida	Anticorpo biotinilato	8 µg/ml	Ovina, monoclonale
3 – 4	Liquida	Chemibead NT-proBNP	150 µg/ml	Ovina, monoclonale
5 – 6	Liquida	Microsfere Sensibead rivestite di streptavidina	1400 µg/ml	<i>E. coli</i> ricombinante
7 – 8	Liquida	Tampone di misura		

a. I pozzetti sono numerati consecutivamente a partire dall'estremità larga della cartuccia.
b. Valore nominale per pozzetto in una cartuccia.

Rischio e sicurezza:



H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P501
Avvertenza!
Può provocare una reazione allergica cutanea.

Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali.

Contiene: 5-chloro-2-methyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-methyl-3(2h)-isothiazolone.

Le schede di sicurezza sono disponibili sul sito [siemens.com/healthcare](https://www.siemens.com/healthcare)

Precauzioni: I recipienti di reazione HM utilizzati contengono liquidi di derivazione umana. Maneggiare con cura per evitare il contatto accidentale con la pelle o l'ingestione.

Per uso diagnostico *in vitro*

Preparazione del reagente: Tutti i reagenti sono liquidi e pronti per l'uso.

Conservare a: 2 – 8 °C

Scadenza: Per la data di scadenza delle singole cartucce reagenti ancora chiuse fare riferimento alla confezione. I pozzetti sigillati sullo strumento sono stabili per 30 giorni.

Stabilità pozzetto aperto: 3 giorni per i pozzetti da 1 a 8

Raccolta e manipolazione dei campioni: Tipi di campioni consigliati: campioni di siero o plasma (litio eparina, sodio eparina ed EDTA).

Non è possibile utilizzare campioni e controlli stabilizzati con azide.

Il siero e il plasma possono essere prelevati utilizzando le procedure consigliate per il prelievo dei campioni diagnostici di sangue mediante venopuntura.^{21,22,23} Ogni laboratorio deve determinare il proprio protocollo di tempistica/raccolta dei campioni.

Per l'uso del dispositivo di raccolta dei campioni e l'analisi, seguire le istruzioni fornite col dispositivo.²³

La formazione completa del coagulo deve avvenire prima della centrifugazione. Separare fisicamente il siero o il plasma dalle cellule nel più breve tempo possibile entro un limite massimo di due ore dalla raccolta.²⁴ I campioni devono essere privi di materiale corpuscolato.

Se il tempo di coagulazione aumenta a causa di una terapia anticoagulante o trombolitica, l'uso di campioni di plasma consentirà un'analisi più rapida riducendo il rischio di interferenza da parte del materiale corpuscolato.^{21,24}

I campioni sono stabili per tre giorni se conservati a 20 – 25 °C o a 2 – 8 °C oppure per 12 mesi se congelati a -20 °C o a una temperatura inferiore.²⁵ Evitare di congelare e scongelare ripetutamente i campioni.

Accertarsi che i campioni dei pazienti, i calibratori e i controlli siano equilibrati a temperatura ambiente (22 – 28 °C) prima del test. I campioni contenenti precipitati devono essere centrifugati prima di eseguire il test.

Procedura

Materiale fornito

Cartuccia reagente NTP Flex®, Num. cat. RF623

Materiale necessario ma non fornito

LOCI NTP CAL, Num. cat. RC623
Diluente per campioni Dimension®, Num. cat. 791092901
Recipienti di reazione HM, Num. cat. RXV1A
Materiali di controllo qualità

Fasi del test

Il sistema Dimension® EXL™ effettua automaticamente il campionamento, l'erogazione del reagente, la miscelazione e il processo di analisi. Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla Guida per l'operatore del sistema Dimension® EXL™.

Condizioni del test

Volume di campione (erogato nel recipiente di reazione HM)	8 µl
Volume di reagente Chemibead	20 µl
Volume di reagente anticorpo biotinilato	20 µl
Volume di reagente Sensibead	15 µl
Volume tampone di misura	100 µl
Temperatura	37.0 °C
Tempo di reazione	14 minuti
Lunghezza d'onda	680 e 612 nm
Tipo di misurazione	Chemiluminescenza

	Calibrazione
Intervallo di misura	5 – 35000 pg/ml
Materiale di calibrazione	Calibratore NTP; Num. cat. RC623
Schema di calibrazione	5 livelli, n = 3
Unità	pg/ml
Livelli di calibrazione tipici	Livello 1: 0 pg/ml Livello 2: 250 pg/ml Livello 3: 1500 pg/ml Livello 4: 12000 pg/ml Livello 5: 36750 pg/ml
Frequenza di calibrazione	Ogni 30 giorni per ciascun lotto
Occorre effettuare una nuova calibrazione	- Per ogni nuovo lotto di cartucce reagenti Flex® - In seguito a manutenzione o riparazione importante, se indicato dai risultati del controllo qualità - Se indicato nelle procedure del controllo qualità del laboratorio - Quando richiesto in base alle normative in vigore

Controllo qualità

Per la frequenza dei controlli di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento. Almeno una volta per ogni giorno di utilizzo, analizzare due livelli di un materiale di controllo qualità (CQ) con concentrazioni note di NT-proBNP. Seguire le procedure di controllo qualità interne del laboratorio se i risultati ottenuti non rientrano nei limiti accettabili.

Risultati: Lo strumento calcola la concentrazione di NT-proBNP in pg/ml utilizzando lo schema di calcolo illustrato nella Guida per l'operatore di Dimension® EXL™.

I risultati di questo test devono essere sempre interpretati alla luce della anamnesi del paziente, della presentazione clinica e valutando contestualmente l'esito di altri accertamenti.

Intervallo di misura analitica (AMR): 5 – 35000 pg/ml

È l'intervallo dei valori di analita che è possibile misurare direttamente dal campione senza alcuna diluizione o pretrattamento che non sia parte integrante del processo di analisi abituale e sia equivalente all'intervallo di misura.

- I campioni con risultati superiori a 35000 pg/ml possono essere refertati come > 35000 pg/ml o diluiti manualmente.
Diluizione manuale: Diluire con il Diluente per campioni (Num. cat. 791092901) per ottenere risultati che rientrino nell'intervallo di misura. Il fattore di diluizione raccomandato è 2. Inserire il fattore di diluizione nello strumento. Ripetere l'analisi. La lettura che ne risulta è quella corretta per la diluizione. Diluizioni di 1:5 hanno dimostrato deviazioni massime del 20% dal valore teorico.
- Campioni con risultati inferiori a 5 pg/ml devono essere refertati come inferiori a 5 pg/ml.

Limiti della procedura

Le concentrazioni di peptidi natriuretici possono essere elevate nei pazienti affetti da infarto miocardico acuto, nei soggetti candidati alla dialisi renale e negli individui che sono già stati sottoposti alla dialisi renale.

I campioni dei pazienti possono contenere anticorpi eterofiliici che potrebbero reagire negli immunodosaggi dando luogo a risultati falsamente elevati o ridotti. Il test è stato concepito in modo da ridurre al minimo l'interferenza da parte degli anticorpi eterofiliici. Nonostante ciò, non è possibile garantire la completa eliminazione di questa interferenza da tutti i campioni di pazienti.

Risultati del test incoerenti con il quadro clinico e l'anamnesi del paziente devono essere interpretati con cautela.^{26, 27}

Il sistema di refertazione dello strumento contiene avvisi e commenti per fornire all'utente informazioni sugli errori di analisi dello strumento, informazioni sullo stato dello strumento e i potenziali errori nei risultati dell'NT-proBNP. Per il significato di avvisi e commenti nei referti fare riferimento alla Guida per l'operatore di Dimension® EXL™. Tutti i referti contenenti avvisi e/o commenti vanno gestiti in base al manuale di procedura del proprio laboratorio e non refertati.

I test eseguiti su campioni di pazienti con disfunzione renale che assumono biotina possono restituire risultati falsi negativi. Pertanto, non utilizzare questo dispositivo in pazienti con compromissione renale (eGFR < 60), a meno che non sia confermato che il paziente non sta assumendo biotina. I pazienti che assumono più di 20 mg/die di biotina possono avere risultati falsi negativi. Non utilizzare questo test in pazienti che assumono più di 20 mg/die di biotina.

Ripetibilità massima osservata

Le massime deviazioni standard osservate previste di ripetibilità (precisione intra-serie) con l'utilizzo di n = 5 ripetizioni alle seguenti concentrazioni di analita sono:

Concentrazione di NT-proBNP	SD massima accettabile
152 pg/ml	13.6 pg/ml
446 pg/ml	44.7 pg/ml

Si potrebbe verificare un malfunzionamento del sistema se viene superata la SD massima accettabile.

Valori attesi

Le concentrazioni di NT-proBNP nel gruppo di riferimento vengono mostrate nelle tabelle riportate di seguito. Ciascun laboratorio deve determinare il proprio intervallo di riferimento per il metodo NTP eseguito sul sistema Dimension® EXL™. Le soglie decisionali mediche consigliate, per gruppo di età, sono:

Pazienti < 75 anni:	125 pg/ml
Pazienti ≥ 75 anni:	450 pg/ml

Gruppo di studio di riferimento‡

Le concentrazioni di NT-proBNP sono state determinate in 318 individui non affetti da insufficienza cardiaca congestizia (163 donne e 155 uomini) utilizzando il metodo Dimension Vista® PBNP. Questa popolazione comprendeva individui apparentemente sani e soggetti affetti da diabete, ipertensione e patologia polmonare. Le statistiche per le concentrazioni di NT-proBNP nel gruppo di studio di riferimento vengono mostrate nella tabella riportata di seguito.

Gruppo di studio di riferimento

Tutti	< 55 anni	55 – 64 anni	65 – 74 anni	≥ 75 anni
Media	45.9	54.6	175.5	451.3
SD	53.6	62.3	197.6	987.1
Mediana	27.2	28.8	106.2	173.5
95° percentile	131.2	206.6	880.8	1615.7
% < 125 pg/ml	94%	80%	61%	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	79%
N	163	15	18	122

Uomini

	< 55 anni	55 – 64 anni	65 – 74 anni	≥ 75 anni
Media	39.0	56.7	219.4	520.8
SD	57.8	58.2	242.4	1080.9
Mediana	16.6	25.4	123.6	173.5
95° percentile	168.8	154.7	880.8	1969.7
% < 125 pg/ml	93%	83%	55%	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	73%
N	76	6	11	62

Donne

	< 55 anni	55 – 64 anni	65 – 74 anni	≥ 75 anni
Media	51.9	53.2	106.6	379.5
SD	49.2	68.3	60.8	883.1
Mediana	39.4	28.8	87.7	167.3
95° percentile	124.0	206.6	215.2	1453.2
% < 125 pg/ml	95%	78%	71%	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	85%
N	87	9	7	60

Gruppo di studio della malattia‡

I campioni di sangue sono stati prelevati da 269 pazienti a cui era stata diagnosticata insufficienza cardiaca congestizia. Le concentrazioni di NT-proBNP sono state determinate utilizzando il metodo Dimension Vista® PBNP. La popolazione comprendeva 78 donne e 191 uomini. Le statistiche descrittive e le classi funzionali della New York Heart Association (NYHA) vengono riportate di seguito. Ciascun laboratorio deve stabilire un intervallo di riferimento che rappresenti la popolazione di pazienti da valutare. Inoltre, nei laboratori deve essere nota la prassi utilizzata presso il proprio istituto per la valutazione dell'insufficienza cardiaca congestizia.

Popolazione CHF - Tutti

	< 55 anni	55 – 64 anni	65 – 74 anni	≥ 75 anni
Media	6131.8	4455.5	6168.1	8142.7
SD	13470.3	9296.0	10950.5	12699.1
Mediana	1550.9	1639.5	2541.3	3780.5
95° percentile	28099.6	19481.5	17768.6	26923.1
% > 125 pg/ml	89%	92%	95%	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	94%
N	72	72	59	66

Popolazione CHF – Uomini

	< 55 anni	55 – 64 anni	65 – 74 anni	≥ 75 anni
Media	7771.4	4954	6537.2	8827.3
SD	15797.2	10536.7	12383.9	12856.6
Mediana	2526.1	1699.8	2541.3	5529.2
95° percentile	31237.1	19481.5	17768.6	18634.8
% > 125 pg/ml	94%	94%	93%	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	96%
N	48	51	43	49

Popolazione CHF – Donne

	< 55 anni	55 – 64 anni	65 – 74 anni	≥ 75 anni
Media	2852.6	3244.9	5176.1	6169.7
SD	5774.0	5200.7	5727.8	12397.4
Mediana	452.3	1516.9	2270.8	1125.3
95° percentile	15569.3	7903.1	16889.9	45824.4
% > 125 pg/ml	79%	86%	100%	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	88%
N	24	21	16	17

Popolazione CHF - Tutti

Classe funzionale NYHA

	Tutti CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Media	6184.5	3941.9	3648.8	6643.1	11089.2
SD	11737.8	8461.3	4897.0	13567.0	14428.2
Mediana	2282.2	1161.0	1091.7	2541.3	4537.7
5° percentile	101.1	100.4	46.6	143.1	74.6
95° percentile	22331.9	14184.1	14238.5	17497.1	28099.6
% > soglia	92%	93%	90%	94%	88%
Minimo	5.1	52.8	24.5	5.1	39.6
Massimo	91446.4	52327.0	18634.8	91446.4	78045.2
N	269	45	60	124	40

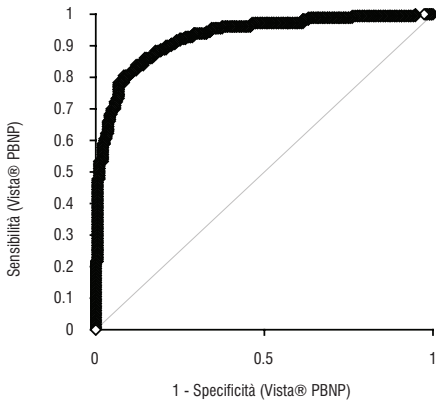
Popolazione CHF – Uomini					
Classe funzionale NYHA					
	Tutti CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Media	7012.1	4567.5	4402.2	7298.4	14351.2
SD	12991.9	9204.3	5167.4	14789.5	17258.9
Mediana	3162.6	1639.5	2230.9	3442.2	6015.9
5° percentile	126.1	136.3	46.5	126.1	101.1
95° percentile	24004.7	19481.5	14238.5	17497.1	31237.1
% > soglia	94%	97%	93%	95%	91%
Minimo	5.1	72.5	44.7	5.1	74.6
Massimo	91446.4	52327.0	18634.8	91446.4	78045.2
N	191	37	40	91	23

Popolazione CHF – Donne					
Classe funzionale NYHA					
	Tutti CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Media	4157.8	1048.3	2142.1	4836.0	6676.0
SD	7561.7	1636.1	4008.9	9366.5	7864.9
Mediana	950.2	225.4	705.3	1286.7	3780.5
5° percentile	84.3	52.8	24.5	143.1	39.6
95° percentile	22331.9	4960.2	11020.8	26923.1	22997.0
% > soglia	87%	75%	85%	94%	82%
Minimo	24.5	52.8	24.5	126.8	39.6
Massimo	45824.4	4960.2	15893.8	45824.4	22997.0
N	78	8	20	33	17

Questi risultati correlano la gravità dei segni e dei sintomi clinici di insufficienza cardiaca congestizia alla concentrazione mediana di NT-proBNP e dimostrano che il metodo PBNP Dimension Vista® è un utile strumento diagnostico indipendentemente dal grado di gravità della patologia, anche in pazienti asintomatici.

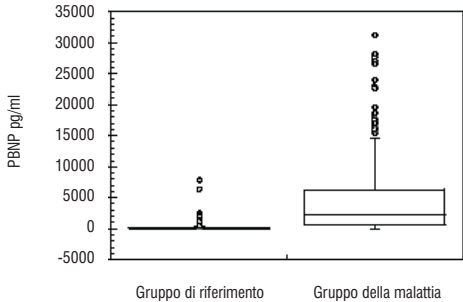
Interpretazione dei risultati‡

La curva ROC (Receiver Operator Characteristics) mostra la sensibilità e la specificità cliniche ai vari livelli soglia per i 269 pazienti con insufficienza cardiaca congestizia e i 318 soggetti non affetti da tale patologia. Tale curva per il test Dimension Vista® è riportata di seguito. L'area al di sotto della curva (AUC) per il test Dimension Vista® PBNP è 0.928 con un intervallo di confidenza del 95% compreso tra 0.907 e 0.949.



Di seguito viene riportato un diagramma a scatola della popolazione dello studio clinico. Le soglie cliniche raccomandate che consentono di escludere l'insufficienza cardiaca cronica sono di 125 pg/ml per i pazienti di età inferiore a 75 anni e di 450 pg/ml per i pazienti di età pari o superiore a 75 anni. Nel diagramma non sono rappresentati sei campioni del gruppo della malattia con valori superiori all'intervallo di misura.

Valori Vista® PBNP per i gruppi di riferimento e della malattia



Sensibilità e specificità rispetto a età e sesso‡

Le tabelle riportate di seguito mostrano la sensibilità e la specificità cliniche del test Dimension Vista® PBNP utilizzando una soglia di 125 pg/ml per pazienti di età inferiore a 75 anni e una soglia di 450 pg/ml per pazienti di età pari o superiore a 75 anni.

Uomini		
	< 75 anni	≥ 75 anni
Sensibilità	94% (133/142)	96% (47/49)
Intervallo di confidenza 95%	90 – 98	90 – 100
Specificità	87% (81/93)	73% (45/62)
Intervallo di confidenza 95%	80 – 94	61 – 84

Donne		
	< 75 anni	≥ 75 anni
Sensibilità	89% (54/61)	88% (15/17)
Intervallo di confidenza 95%	81 – 97	73 – 100
Specificità	92% (95/103)	85% (51/60)
Intervallo di confidenza 95%	87 – 97	76 – 94

Analisi ROC basata sulla corrispondenza di età‡

I dati clinici sono stati elaborati tramite l'analisi ROC basata sulla corrispondenza di età utilizzando il metodo ponderato descritto da Kondratovich (2002).²⁸ La curva AUC risultante è 0.929 con un intervallo di confidenza del 95% compreso tra 0.909 e 0.950.

‡ Il metodo Dimension Vista® PBNP (RIF. K6423A) e il metodo Dimension® NTP (RIF. RF623) utilizzano gli stessi reagenti in condizioni di reazione equivalenti e i risultati sono rappresentativi per entrambi i metodi.

Caratteristiche specifiche di prestazione

I dati seguenti rappresentano le prestazioni tipiche per il sistema Dimension® EXL™.

Materiale	Media pg/ml	Precisione ^{29, c}	
		Deviazione standard (% CV)	
		Ripetibilità	Intra-laboratorio
Pool di siero 1	148	2.7 (1.9)	3.8 (2.5)
Pool di siero 2	434	6.9 (1.6)	10.2 (2.4)
Pool di siero 3	946	17.4 (1.8)	20.9 (2.2)
Pool di siero 4	4315	96.6 (2.2)	144.2 (3.3)
CQ interno	30643	1732.5 (5.7)	2761.3 (9.01)

c. Sono state utilizzate le linee guida del CLSI/NCCLS EP5-A2. Durante ogni giorno di test, per 20 giorni, sono stati analizzati, in due serie distinte, due campioni di test, per ciascun materiale di test.

Comparazione dei metodi³⁰

Equivalenza di siero e plasma^d

I risultati dei test di confronto effettuati sul sistema Dimension® EXL™ per i campioni di plasma con litio eparina, sodio eparina ed EDTA rispetto ai campioni di siero vengono proposti come segue:

Campione comparativo	Pendenza	Intercetta pg/ml	Coefficiente di correlazione	n
Litio eparina	0.99	-25.9	0.9932	50
Sodio eparina	0.98	-43.3	0.9919	53
EDTA	0.96	-0.4	0.9988	57

d. L'equazione del modello per la regressione Passing-Bablok è: [risultati plasma] = pendenza x [risultati siero] + intercetta.

Statistiche di regressione^{a, f}

Metodo comparativo	Pendenza	Intercetta pg/ml	Coefficiente di correlazione	n
Dimension Vista® PBNP (monoclonale)	0.950	-1.303	0.998	109 ^e

e. Sono state utilizzate le linee guida del CLSI/NCCLS EP9-A2. Il metodo utilizzato per l'adattamento della retta di regressione è stato quello delle statistiche Passing-Bablok.

f. L'equazione del modello per la regressione lineare Passing-Bablok è: [risultati per sistema Dimension® EXL™] = pendenza x [risultati metodo comparativo] + intercetta.

g. Nello studio di correlazione, l'intervallo dei 109 valori è stato: 36 – 33493 pg/ml.

Specificità

Interferenza HIL

È stata verificata l'interferenza sul metodo NTP da parte di emoglobina, ittero e lipemia (HIL), in base alle linee guida del CLSI/NCCLS EP7-A2.³¹ Il bias è la differenza tra i risultati del campione di controllo (non contenente sostanze interferenti) e quelli del campione di test (contenente sostanze interferenti), espressa in percentuale. Un errore sistematico superiore al 10% viene considerato "interferenza".

Sostanza analizzata	Concentrazione della sostanza	NT-proBNP pg/ml	% bias*
Emoglobina (emolisato)	1000 mg/dl [0.62 mmol/l] ^h	120	< 10
		1400	< 10
Bilirubina (non coniugata)	60 mg/dl [1026 µmol/l]	120	< 10
		1400	< 10
Bilirubina (coniugata)	60 mg/dl [1026 µmol/l]	120	< 10
		1400	< 10
Lipemia (Intralipid®)	3000 mg/dl [33.9 mmol/l]	120	< 10
		1400	< 10

Intralipid® è un marchio registrato di Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Germania.

*I risultati dell'analisi non devono essere corretti in base a questo bias.

h. Le unità SI (Système International d'Unités) sono tra parentesi.

Sostanze interferenti				
Le interferenze sul metodo NTP sono state valutate in base al CLSI/NCCLS EP7-A2. ³¹ Il bias è la differenza tra i risultati del campione di controllo (non contenente sostanze interferenti) e quelli del campione di test (contenente sostanze interferenti), espressa in percentuale. Un errore sistematico superiore al 10% viene considerato "interferenza".				
Concentrazione di analita	Livello di test biotina (ng/ml)			
	100	250	500	1200
	Bias %			
120 pg/ml	-1.6	-4	-16.3	-74.8
1400 pg/ml	-2.5	-6.4	-17.1	-71.9

• I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 250 ng/ml dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Concentrazioni di biotina superiori a questa potrebbero portare a risultati falsamente sottostimati nei campioni dei pazienti.

• L'assunzione giornaliera raccomandata di un adulto di biotina è 30 µg/die. Gli integratori alimentari da banco promossi per la salute dei capelli, della pelle e delle unghie possono contenere 5–100 mg di biotina, con raccomandazioni relative all'assunzione di più compresse al giorno. Studi di farmacocinetica su adulti sani hanno dimostrato che, nei soggetti che assumono 5 mg, 10 mg e 20 mg di biotina, le concentrazioni sieriche di biotina possono raggiungere rispettivamente fino a 73 ng/ml, 141 ng/ml e 355 ng/ml.³² I soggetti che assumono fino a 300 mg di biotina al giorno possono presentare livelli plasmatici di biotina fino a 1160 ng/ml.³³

Sostanze non interferenti

Le seguenti sostanze non interferiscono con il metodo NTP, se presenti nel siero nelle concentrazioni indicate. Le imprecisioni sistematiche (bias) dovute a tali sostanze sono inferiori al 10% a una concentrazione di NT-proBNP di 120 e 1400 pg/ml.

Composto	Concentrazione	Unità S.I.
Abciximab	21 µg/ml	0.4 µmol/l
Acetaminofene	20 mg/dl	1324 µmol/l
Allopurinolo	2.5 mg/dl	184 µmol/l
Amikacina	8 mg/dl	137 µmol/l
Amiodarone	20 µg/ml	31 µmol/l
Amiodipina besilato	4 µg/ml	7.1 µmol/l
Ampicillina	5.3 mg/dl	152 µmol/l
Acido ascorbico	6 mg/dl	342 µmol/l
Atenololo	1.0 mg/dl	37.6 µmol/l
Atorvastatina	32 mg/dl	572.9 µmol/l
Caffeina	6 mg/dl	308 µmol/l
Captopril	5.0 mg/dl	230 µmol/l
Carbamazepina	3 mg/dl	127 µmol/l
Cloramfenicolo	5 mg/dl	155 µmol/l
Clordiazepossido	1 mg/dl	33.3 µmol/l
Clorpromazina	0.2 mg/dl	6.27 µmol/l
Colesterolo	500 mg/dl	12.9 mmol/l
Cimetidina	2 mg/dl	79.2 µmol/l
Cinnarizina	3.0 mg/dl	81.4 µmol/l
Clopidogrel bisolfato	30 µg/ml	71.4 µmol/l
Creatinina	30 mg/dl	2652 µmol/l
Ciclosporina A	4000 ng/ml	3.3 µmol/l
Destrano 40	3000 mg/dl	750 µmol/l
Diazepam	0.5 mg/dl	17.6 µmol/l
Diclofenac	60 µg/ml	188.6 µmol/l
Digitossina	60 ng/ml	78.6 nmol/l
Digossina	6.1 ng/ml	7.8 nmol/l
Diltiazem	120 µg/ml	266.1 µmol/l
Dipiridamolo	30 µg/ml	59.4 µmol/l
Dopamina	65 mg/dl	3.4 mmol/l
Enalapril maleato	16 µg/ml	32.5 µmol/l
Eritromicina	6 mg/dl	81.6 µmol/l
Etanolo	400 mg/dl	86.8 mmol/l
Etosuccimide	25 mg/dl	1770 µmol/l
Furosemide	6 mg/dl	181 µmol/l
Gentamicina	1 mg/dl	21 µmol/l
Eparina	3 U/ml	3000 U/l
Iralazina	20 µg/ml	101.7 µmol/l
Iidroclorotiazide	20 µg/ml	67.2 µmol/l
Ibuprofene	50 mg/dl	2425 µmol/l
Immunoglobulina G (IgG)	5 g/dl	50 g/l
Indometacina	16 µg/ml	36.9 µmol/l
Isosorbide dinitrato	6.0 mg/dl	254 µmol/l
Lidocaina	1.2 mg/dl	51.2 µmol/l
Lisinopril	16 µg/ml	36.2 µmol/l
Litio	2.2 mg/dl	3.2 mmol/l
Lovastatina	16 µg/ml	39.6 µmol/l
L-tiroxina	60 µg/dl	0.77 µmol/l
Metildopa	2.5 mg/dl	118 µmol/l
Milrinone lattato	2.4 µg/ml	8 µmol/l
Nicotina	0.1 mg/dl	6.2 µmol/l
Nifedipina	6.0 mg/dl	173 µmol/l
Nitrofurantoina	40 µg/ml	168 µmol/l
Nitroglicerina	0.16 µg/ml	0.577 µmol/l
Oxazepam	12 µg/ml	41.8 µmol/l
Ossitettraciclina	100 µg/ml	217.2 µmol/l
Penicillina G	25 U/ml	25000 U/l
Pentobarbital	8 mg/dl	354 µmol/l
Fenobarbital	10 mg/dl	431 µmol/l
Fenitoina	5 mg/dl	198 µmol/l
Primidone	4 mg/dl	183 µmol/l
Probenecid	200 µg/ml	700.9 µmol/l
Propossifene	0.16 mg/dl	4.91 µmol/l
Propranololo	0.15 mg/dl	5.1 µmol/l
Proteine: albumina	6 g/dl	60 g/l
Proteine: totali	12.0 g/dl	120 g/l
Chinidina	20 µg/ml	61.6 µmol/l
Fattore reumatoide	500 IU/ml	500 IU/ml
Acido salicilico	60 mg/dl	4.34 mmol/l
Simvastatina	32 µg/ml	76.5 µmol/l
Sulfametossazolo	320 µg/ml	1263.3 µmol/l

Teofilina	4 mg/dl	222 µmol/l
Trimetoprim	64 µg/ml	220.7 µmol/l
Urea	500 mg/dl	83.3 mmol/l
Acido urico	20 mg/dl	1190 µmol/l
Acido valproico	50 mg/dl	3467 µmol/l
Verapamil	16 mg/dl	351.6 µmol/l
Warfarina	4 µg/ml	13 µmol/l

Effetto Gancio

Gli immunodosaggi a sandwich a fase singola sono sensibili all' "effetto gancio" a dosi elevate, dove un eccesso di antigene impedisce il legame simultaneo degli anticorpi di cattura e rilevazione a una singola molecola dell'analita.³⁴ Tali campioni devono essere diluiti e rianalizzati prima di refertare i risultati. Il metodo NTP non mostra alcun effetto gancio fino ad almeno 400,000 pg/ml.

Cross-reattività

Alle concentrazioni indicate, le sostanze seguenti non hanno mostrato una significativa cross-reattività (inferiore all'1%) se aggiunte a campioni con concentrazioni di NT-proBNP di circa 0 pg/ml e 125 pg/ml:

Sostanza	Concentrazione
ANP ₂₈	3.1 µg/ml
NT-proANP ₁₋₃₀ (preproANP ₂₆₋₅₅)	3.5 µg/ml
NT-proANP ₂₁₋₆₇ (preproANP ₅₆₋₉₂)	1.0 ng/ml
NT-proANP ₇₈₋₉₈ (preproANP ₁₀₄₋₁₂₃)	1.0 ng/ml
BNP ₃₂ (Natrecor®)	3.5 µg/ml
CNP ₂₂	2.2 µg/ml
DNP	1.0 ng/ml
VNP	1.0 ng/ml
Adrenomedullina	1.0 ng/ml
Aldosterone	0.6 ng/ml
Angiotensina I	0.6 ng/ml
Angiotensina II	0.6 ng/ml
Angiotensina III	1.0 ng/ml
Endotelina	20 pg/ml
Renina	50 ng/ml
Uroilattina	3.5 µg/ml
Arg-Vasopressina	1.0 ng/ml

Sensibilità analitica: ≤ 5 pg/ml

La sensibilità analitica del metodo NTP è ≤ 5 pg/ml. La sensibilità analitica è definita come la concentrazione a due deviazioni standard (n = 20) al di sopra di un campione privo di NT-proBNP, come il calibratore LOCI NTP di livello 1 (0 pg/ml).

Limite di rilevazione³⁵: 2.3 pg/ml

Il limite di rilevazione (LoD) per il metodo NTP è di 2.3 pg/ml, determinato conformemente alle linee guida EP17-A del CLSI con proporzioni di falsi positivi (α) inferiori al 5% e falsi negativi (β) inferiori al 5%; basato su 30 determinazioni, con 5 campioni bianchi e 5 campioni con livelli bassi. Il limite di rilevazione (LoD) è la concentrazione più bassa che è possibile rilevare in modo affidabile.

Sensibilità funzionale: Valutazione del limite del 20% CV

La sensibilità funzionale è stata valutata determinando l'imprecisione totale dei campioni di siero di NT-proBNP naturale. L'imprecisione totale è stata misurata mediante uno studio ANOVA con due ripetizioni al giorno, per venti giorni. La sensibilità funzionale o profilo di imprecisione per il metodo Dimension® NTP corrisponde a un coefficiente di variazione (CV) del 20% a un livello di NT-proBNP di ≤ 30 pg/ml.

Linearità di diluizione

Un campione di plasma proveniente da pazienti con una concentrazione elevata di NT-proBNP è stato diluito per l'intero intervallo di misura. Altri campioni di plasma sono stati diluiti in modo lineare per confermare l'accuratezza della diluizione ai valori inferiori dell'intervallo di misura. Tutti i campioni sono stati diluiti con pool di campioni di plasma provenienti da pazienti che presentavano livelli bassi. Nella tabella che segue sono riassunti i risultati degli studi:

	Campione A	Campione B
Concentrazione iniziale (pg/ml)	47120	1232
Statistiche di regressione		
Pendenza	1.004	0.996
Intercetta	12.8	10.9
Coefficiente di correlazione	0.999	0.999
N	5	5
% recupero		
Medio	100.2	101.9
Intervallo	99 – 101	100 – 106

Prodotto su licenza di Roche Diagnostics.
Brevetto USA 5786163 ed equivalenti stranieri
Applicazione di brevetto USA: 09/890442 ed equivalenti stranieri

Interpretazione simboli: Vedere la sezione aggiunta.

Bibliografia: Vedere la sezione aggiunta.

Dimension Vista®, LOCI®, Dimension®, EXL™ e Flex® sono marchi di Siemens Healthcare Diagnostics.

©2008 Siemens Healthcare Diagnostics
Tutti i diritti riservati.



Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
500 GBC Drive
Newark, DE 19714 USA



Dimension® EXL™ integrated chemistry system LOCI® Module

Flex® reagent cartridge

NTP

Consulte las secciones sombreadas: Información actualizada desde la versión de 2019-05.

Fecha de la edición 2020-08

Pro-péptido natriurético cerebral N-terminal

Uso previsto: El método NTP es un análisis de diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa del péptido natriurético cerebral N-terminal (NT-proBNP) en suero y plasma humanos en el sistema integrado de química Dimension® EXL™ con el módulo LOCI®. En los sujetos en los que se sospecha la existencia de insuficiencia cardíaca congestiva (ICC), las determinaciones de NT-proBNP se utilizan como ayuda en el diagnóstico y en la evaluación de la gravedad. Este análisis también está indicado para la estratificación del riesgo en pacientes con síndrome coronario agudo e insuficiencia cardíaca.

Resumen: La disfunción del ventrículo izquierdo puede ocurrir como parte de la cardiopatía coronaria, la hipertensión arterial, las valvulopatías y la enfermedad miocárdica primaria. Si la disfunción del ventrículo izquierdo no se trata y es progresiva, la mortalidad potencial es elevada, por ejemplo debido a muerte súbita de origen cardíaco.

La insuficiencia cardíaca crónica es un síndrome clínico causado por un deterioro de la función de bombeo del corazón. En función de los síntomas, la New York Heart Association (NYHA) clasifica la gravedad de la insuficiencia cardíaca en estadios I – IV. La disfunción del ventrículo izquierdo se diagnostica mediante pruebas clínicas y procedimientos de imagen.¹

Se ha demostrado la importancia de los péptidos natriuréticos en el control de la función del sistema cardiovascular. Los estudios iniciales revelaron que los péptidos natriuréticos facilitan el diagnóstico de los problemas clínicos asociados a una disfunción del ventrículo izquierdo.² Se han descrito en la literatura médica los siguientes péptidos natriuréticos: péptido natriurético auricular (ANP), péptido natriurético cerebral (BNP) y péptido natriurético de tipo C (CNP).^{3,4}

El ANP y el BNP poseen propiedades natriuréticas y diuréticas. Como antagonistas del sistema renina-angiotensina-aldosterona, influyen en el equilibrio hidroelectrolítico del organismo.^{5,6} En sujetos con disfunción del ventrículo izquierdo, las concentraciones séricas y plasmáticas de BNP aumentan, al igual que las concentraciones de la prohormona biológicamente inactiva, el proBNP. El proBNP consta de 108 aminoácidos. Es secretado fundamentalmente por el ventrículo izquierdo del corazón y, en este proceso, se escinde en el BNP fisiológicamente activo y (7 – 108) y en el fragmento N-terminal NT-proBNP (1 – 76).⁴

Los estudios indican que el NT-proBNP puede utilizarse en aplicaciones diagnósticas y pronósticas.⁷⁻¹³ La concentración de NT-proBNP en el plasma indica el pronóstico de la disfunción del ventrículo izquierdo. También es de utilidad para atribuir síntomas a causas cardíacas o no cardíacas.

La determinación de NT-proBNP ayuda a identificar a los sujetos con disfunción del ventrículo izquierdo. Los cambios en la concentración de NT-proBNP pueden utilizarse para evaluar el éxito del tratamiento en los pacientes con disfunción del ventrículo izquierdo. Existen indicios de que el NT-proBNP, debido a sus funciones, es adecuado para utilizarse en la evaluación de la remodelación vascular y, por consiguiente, contribuye a establecer procedimientos de rehabilitación individualizados.^{10,11}

Fisher y cols. comprobaron que los pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva que presentaban concentraciones elevadas de NT-proBNP tenían una tasa de mortalidad al año del 53% en comparación con la tasa del 11% de los pacientes con concentraciones más bajas.¹² En el estudio Gusto IV con más de 6800 pacientes, se demostró que el NT-proBNP era el factor pronóstico independiente más potente de la mortalidad al año en los pacientes con síndrome coronario agudo.¹³

El Grupo de trabajo de la European Society of Cardiology para el diagnóstico y el tratamiento de la insuficiencia cardíaca crónica señala en sus directrices lo siguiente en relación con los péptidos natriuréticos, incluido el NT-proBNP: “es posible que sean de mayor utilidad clínica como análisis de descartar, debido a que se asocian a valores pronósticos negativos muy elevados y uniformes.”

Las concentraciones de NT-proBNP son elevadas en los pacientes que tienen angina inestable y en los que han sufrido un infarto de miocardio.^{14,15} Aunque no sirvan para diagnosticar estos trastornos, diversos estudios indican que las determinaciones de NT-proBNP proporcionan información pronóstica para la estratificación a corto y a largo plazo de los pacientes con angina inestable o infarto de miocardio.^{15,16,17}

Principios del procedimiento: El método NTP es un inmunoensayo de quimioluminiscencia tipo sándwich de un paso basado en la tecnología LOCI®. Los reactivos LOCI® incluyen dos reactivos sintéticos en miniesferas y un fragmento de anticuerpo monoclonal biotinilado que reconoce un epítipo situado en la porción N-terminal del proBNP. El primer reactivo en forma de miniesferas (Sensibeads) está recubierto con estreptavidina y contiene un colorante fotosensible. El segundo reactivo en microesferas (Chemibeads) está recubierto con un segundo anticuerpo específico de un segundo epítipo independiente en el NT-proBNP y contiene un colorante quimioluminiscente. La muestra se incuba con las Chemibeads y el anticuerpo biotinilado para formar un sándwich partícula-NT-proBNP-anticuerpo biotinilado. A continuación, se añaden las Sensibeads y se unen a la biotina para formar un inmunocomplejo de miniesferas agregadas. La iluminación del complejo con luz a 680 nm genera un oxígeno singlete de las Sensibeads, que se difunde a las Chemibeads y desencadena una reacción quimioluminiscente. La señal quimioluminiscente resultante se mide a 612 nm y es directamente proporcional a la concentración de NT-proBNP en la muestra.^{18,19,20}

Reactivos

Pocillos ^a	Forma	Ingrediente	Concentración ^b	Origen
1 – 2	Líquido	Anticuerpo biotinilado	8 µg/mL	Carnero, monoclonal
3 – 4	Líquido	Chemibeads NT-proBNP	150 µg/mL	Carnero, monoclonal
5 – 6	Líquido	Sensibeads con estreptavidina	1400 µg/mL	<i>E.coli</i> recombinante
7 – 8	Líquido	Tampón del análisis		

a. Los pocillos están numerados consecutivamente desde el extremo ancho del cartucho.
b. Valor nominal por pocillo en un cartucho.

Riesgos y seguridad:



H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P501
¡Advertencia!
Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales.
Contiene: 5-chloro-2-methyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-methyl-3(2h)-isothiazolone.

Las fichas de datos de seguridad (MSDS/SDS) están disponibles en [siemens.com/healthcare](https://www.siemens.com/healthcare)

Precauciones: Los vasos de reacción HM usados contienen fluidos corporales de origen humano; manipular con el cuidado apropiado para evitar el contacto con la piel o la ingestión.

Para uso diagnóstico *in vitro*

Preparación del reactivo: Todos los reactivos son líquidos y están listos para su uso.

Conservar a: 2 – 8 °C

Caducidad: Consulte en el envase la fecha de caducidad de los cartuchos de reactivos individuales sin abrir. En el instrumento, los pocillos sellados son estables durante 30 días.

Estabilidad de los pocillos abiertos: 3 días para los pocillos 1 – 8

Recogida de muestras y manipulación: Tipos de muestras recomendadas: Muestras de suero o plasma (heparina de litio, heparina de sodio y EDTA).

No se pueden utilizar muestras y controles estabilizados con azida.

El suero y el plasma pueden recolectarse utilizando los procedimientos recomendados para la recolección de muestras de sangre de diagnóstico, por venopunción.^{21,22,23} Cada laboratorio debe determinar un protocolo adecuado de recogida/cronometraje de muestras.

Siga las instrucciones de uso y procesamiento suministradas con el dispositivo de recogida de muestras.²³

Antes de la centrifugación, debe producirse la formación completa del coágulo. El suero y el plasma deben separarse físicamente de las células lo antes posible en el plazo límite de dos horas desde el momento de la obtención de la muestra.²⁴ Las muestras deben estar libres de partículas.

Si el tiempo de coagulación se aumenta debido a un tratamiento trombolítico o anticoagulante, el uso de muestras de plasma permitirá un procesamiento más rápido de las muestras y reducirá el riesgo de interferencias debidas a partículas.^{21,24}

Las muestras son estables durante tres días cuando se conservan a 20 – 25 °C o 2 – 8 °C o durante 12 meses si se congelan a -20 °C o una temperatura inferior.²⁵ Debe evitarse la congelación y descongelación repetidas de las muestras.

Asegúrese de que las muestras de pacientes, los calibradores y los controles estén equilibrados a temperatura ambiente (22 – 28 °C) antes del análisis. Las muestras que contengan precipitados deben centrifugarse antes de realizar el análisis.

Procedimiento

Materiales suministrados

Cartucho de reactivos Flex® de NTP, ref. RF623

Materiales necesarios pero no suministrados

Calibrador LOCI NTP, ref. RC623
Diluyente de muestras Dimension®, ref. 791092901
Vasos de reacción HM, ref. RXV1A
Materiales de control de calidad

Proceso del análisis

El sistema Dimension® EXL™ realiza de forma automática el muestreo, la dispensación de reactivos, la mezcla y el procesamiento. Para más detalles sobre este proceso, consulte el Manual del usuario del sistema Dimension® EXL™.

Condiciones del análisis

Volumen de muestra (dispensado en el vaso de reacción HM)	8 µL
Volumen de reactivo Chemibeads	20 µL
Volumen de reactivo de anticuerpo biotinilado	20 µL
Volumen de Sensibead	15 µL
Volumen del tampón del análisis	100 µL
Temperatura	37.0 °C
Tiempo de reacción	14 minutos
Longitud de onda	680 y 612 nm
Tipo de medición	Quimioluminiscencia

Calibración	
Intervalo de ensayo	5 – 35000 pg/mL
Material de calibración	Calibrador de NTP; ref. RC623
Esquema de calibración	5 niveles, n = 3
Unidades	pg/mL
Niveles habituales de calibración	Nivel 1: 0 pg/mL Nivel 2: 250 pg/mL Nivel 3: 1500 pg/mL Nivel 4: 12000 pg/mL Nivel 5: 36750 pg/mL
Frecuencia de calibración	Cada 30 días para cualquier lote
Se requiere una nueva calibración	- Para cada lote nuevo de cartuchos de reactivos Flex®. - Después de la realización de importantes tareas de mantenimiento o servicio, si los resultados de control de calidad así lo indican. - Tal como se indica en los procedimientos de control de calidad del laboratorio - Cuando es obligatorio según las reglamentaciones gubernamentales

Control de calidad

Siga las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad. Al menos una vez por día de uso, analice dos niveles de un material de control de calidad (CC) con concentraciones conocidas de NT-proBNP. Siga los procedimientos internos de CC de su laboratorio si los resultados obtenidos no se encuentran dentro de los límites aceptables.

Resultados: El instrumento calcula la concentración de NT-proBNP en pg/mL utilizando el esquema de cálculo descrito en el Manual del usuario del sistema Dimension® EXL™.

Los resultados de esta prueba deberán interpretarse siempre de acuerdo con la historia clínica del paciente, la sintomatología clínica y otras observaciones.

Rango de medición analítico (AMR): 5 – 35000 pg/mL

Se trata del rango de valores de analito que puede medirse directamente de la muestra sin requerir dilución ni tratamiento previo que no sea parte del proceso analítico habitual y que sea equivalente al intervalo del ensayo.

- Las muestras con resultados superiores a 35000 pg/mL se pueden registrar como > 35000 pg/mL o se pueden diluir manualmente.
Dilución manual: Diluir con diluyente de muestras (ref. 791092901) para obtener resultados dentro del rango informable. El factor de dilución recomendado es 2. Introduzca el factor de dilución en el instrumento. Repita el análisis. La lectura resultante se corregirá en función de la dilución. Las diluciones de 1:5 pueden ocasionar desviaciones máximas del 20% con respecto al valor teórico.
- Las muestras con resultados inferiores a 5 pg/mL se registrarán como menos de 5 pg/mL.

Limitaciones del procedimiento

Las concentraciones de péptidos natriuréticos pueden estar elevadas en los pacientes con infarto agudo de miocardio, en pacientes que puedan requerir diálisis renal y en pacientes que se hayan sometido a diálisis renal.

Las muestras de paciente pueden contener anticuerpos heterófilos que podrían reaccionar en los inmunoensayos y dar resultados falsamente elevados o reducidos. Este análisis se ha diseñado para reducir al mínimo la interferencia causada por anticuerpos heterófilos. Sin embargo, no es posible garantizar la completa eliminación de esta interferencia de todas las muestras de paciente.

Si un resultado de la prueba se contradice con el cuadro clínico y la historia del paciente, deberá interpretarse con precaución.^{26, 27}

El sistema de información del instrumento contiene alarmas y comentarios que proporcionan al usuario información relativa a los errores de procesamiento del instrumento, información del estado de éste y posibles errores en los resultados de NT-proBNP. Consulte el Manual del usuario del sistema Dimension® EXL™ para conocer el significado de las alarmas y los comentarios de los informes. Cualquier informe que contenga alarmas y/o comentarios se debe tratar siguiendo el manual de procedimiento de su laboratorio y no se debe informar sobre él.

Al analizar las muestras de pacientes con disfunción renal que toman biotina se pueden obtener falsos resultados negativos. En consecuencia, no utilice este producto en pacientes con insuficiencia renal (eGFR < 60), a no ser que esté confirmado que el paciente no está tomando biotina. Los pacientes que toman más de 20 mg/día de biotina pueden obtener falsos resultados negativos. No utilice esta prueba en pacientes que tomen más de 20 mg/día de biotina.

Repetibilidad máxima observada

Las desviaciones estándar máximas observadas esperadas para la repetibilidad (precisión intra-ensayo) utilizando n= 5 duplicados en las siguientes concentraciones de analito son:

Concentración de NT-proBNP	DE máxima aceptable
152 pg/mL	13.6 pg/mL
446 pg/mL	44.7 pg/mL

Es posible que el sistema no funcione correctamente si se excede la DE máxima aceptable.

Valores esperados

En las tablas siguientes se muestran las concentraciones de NT-proBNP en el grupo de referencia. Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo de referencia para el método NTP según se determine en el sistema Dimension® EXL™. Los umbrales recomendados de decisión médica, por grupo de edad, son:

Pacientes < 75 años:	125 pg/mL
Pacientes ≥ 75 años:	450 pg/mL

Grupo de estudio de referencia‡

Se determinaron las concentraciones de NT-proBNP en 318 sujetos sin insuficiencia cardíaca congestiva (163 mujeres y 155 hombres) utilizando el método PBNP de Dimension Vista®. Esta población incluyó a sujetos aparentemente sanos y a sujetos con diabetes, hipertensión y enfermedad pulmonar. En la tabla siguiente se muestran los datos estadísticos para las concentraciones de NT-proBNP en el grupo de estudio de referencia.

Grupo de estudio de referencia

Todos	< 55 años	55 a 64 años	65 a 74 años	≥ 75 años
Media	45.9	54.6	175.5	451.3
DE	53.6	62.3	197.6	987.1
Mediana	27.2	28.8	106.2	173.5
Percentil 95	131.2	206.6	880.8	1615.7
% < 125 pg/mL	94%	80%	61%	-
% < 450 pg/mL	-	-	-	79%
N	163	15	18	122

Hombres

	< 55 años	55 a 64 años	65 a 74 años	≥ 75 años
Media	39.0	56.7	219.4	520.8
DE	57.8	58.2	242.4	1080.9
Mediana	16.6	25.4	123.6	173.5
Percentil 95	168.8	154.7	880.8	1969.7
% < 125 pg/mL	93%	83%	55%	-
% < 450 pg/mL	-	-	-	73%
N	76	6	11	62

Mujeres

	< 55 años	55 a 64 años	65 a 74 años	≥ 75 años
Media	51.9	53.2	106.6	379.5
DE	49.2	68.3	60.8	883.1
Mediana	39.4	28.8	87.7	167.3
Percentil 95	124.0	206.6	215.2	1453.2
% < 125 pg/mL	95%	78%	71%	-
% < 450 pg/mL	-	-	-	85%
N	87	9	7	60

Grupo de estudio de enfermedad‡

Se obtuvieron muestras de sangre de 269 pacientes con diagnóstico de insuficiencia cardíaca congestiva (ICC). Se determinaron las concentraciones de NT-proBNP utilizando el método PBNP de Dimension Vista®. La población incluyó a 78 mujeres y a 191 hombres. A continuación se muestran los datos estadísticos descriptivos y las clases funcionales de la New York Heart Association (NYHA). Cada laboratorio debe establecer un intervalo de referencia que represente la población de pacientes que se va a evaluar. Además, los laboratorios deben conocer la práctica actual de su centro para la evaluación de la ICC.

Población con ICC – Todos	< 55 años	55 a 64 años	65 a 74 años	≥ 75 años
Media	6131.8	4455.5	6168.1	8142.7
DE	13470.3	9296.0	10950.5	12699.1
Mediana	1550.9	1639.5	2541.3	3780.5
Percentil 95	28099.6	19481.5	17768.6	26923.1
% > 125 pg/mL	89%	92%	95%	-
% > 450 pg/mL	-	-	-	94%
N	72	72	59	66

Población con ICC – Hombres

	< 55 años	55 a 64 años	65 a 74 años	≥ 75 años
Media	7771.4	4954	6537.2	8827.3
DE	15797.2	10536.7	12383.9	12856.6
Mediana	2526.1	1699.8	2541.3	5529.2
Percentil 95	31237.1	19481.5	17768.6	18634.8
% > 125 pg/mL	94%	94%	93%	-
% > 450 pg/mL	-	-	-	96%
N	48	51	43	49

Población con ICC – Mujeres

	< 55 años	55 a 64 años	65 a 74 años	≥ 75 años
Media	2852.6	3244.9	5176.1	6169.7
DE	5774.0	5200.7	5727.8	12397.4
Mediana	452.3	1516.9	2270.8	1125.3
Percentil 95	15569.3	7903.1	16889.9	45824.4
% > 125 pg/mL	79%	86%	100%	-
% > 450 pg/mL	-	-	-	88%
N	24	21	16	17

Población con ICC – Todos					
Clase funcional de la NYHA					
	Todas las ICC	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Media	6184.5	3941.9	3648.8	6643.1	11089.2
DE	11737.8	8461.3	4897.0	13567.0	14428.2
Mediana	2282.2	1161.0	1091.7	2541.3	4537.7
Percentil 5	101.1	100.4	46.6	143.1	74.6
Percentil 95	22331.9	14184.1	14238.5	17497.1	28099.6
% > límite	92%	93%	90%	94%	88%
Mínimo	5.1	52.8	24.5	5.1	39.6
Máximo	91446.4	52327.0	18634.8	91446.4	78045.2
N	269	45	60	124	40

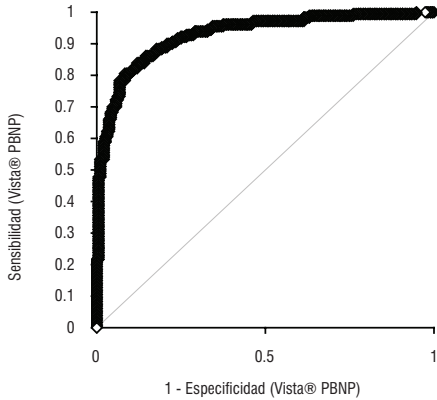
Población con ICC – Hombres					
Clase funcional de la NYHA					
	Todas las ICC	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Media	7012.1	4567.5	4402.2	7298.4	14351.2
DE	12991.9	9204.3	5167.4	14789.5	17258.9
Mediana	3162.6	1639.5	2230.9	3442.2	6015.9
Percentil 5	126.1	136.3	46.5	126.1	101.1
Percentil 95	24004.7	19481.5	14238.5	17497.1	31237.1
% > límite	94%	97%	93%	95%	91%
Mínimo	5.1	72.5	44.7	5.1	74.6
Máximo	91446.4	52327.0	18634.8	91446.4	78045.2
N	191	37	40	91	23

Población con ICC – Mujeres					
Clase funcional de la NYHA					
	Todas las ICC	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Media	4157.8	1048.3	2142.1	4836.0	6676.0
DE	7561.7	1636.1	4008.9	9366.5	7864.9
Mediana	950.2	225.4	705.3	1286.7	3780.5
Percentil 5	84.3	52.8	24.5	143.1	39.6
Percentil 95	22331.9	4960.2	11020.8	26923.1	22997.0
% > límite	87%	75%	85%	94%	82%
Mínimo	24.5	52.8	24.5	126.8	39.6
Máximo	45824.4	4960.2	15893.8	45824.4	22997.0
N	78	8	20	33	17

Estos resultados muestran que existe una relación entre la gravedad de los signos y síntomas clínicos de la ICC y la mediana de la concentración de NT-proBNP, lo que demuestra que el método PBNP con el sistema Dimension Vista® puede utilizarse como ayuda en el diagnóstico de todos los grados de gravedad de la ICC, incluidos los pacientes asintomáticos.

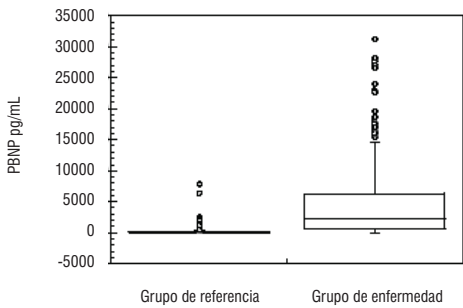
Interpretación de los resultados‡

La curva de características operativas del receptor (ROC) presenta la sensibilidad y especificidad clínicas en diversos valores límite para los 269 pacientes diagnosticados de ICC y los 318 sujetos sin ICC. A continuación se muestra la curva ROC para los análisis con el sistema Dimension Vista®. El área bajo la curva ROC (AUC) para el análisis de PBNP con el sistema Dimension Vista® es 0.928 con un intervalo de confianza del 95% de 0.907 a 0.949.



A continuación se muestra un diagrama de cajas y bigotes de la población del estudio clínico. Los umbrales clínicos recomendados son 125 pg/mL para los pacientes menores de 75 años y 450 pg/mL para los pacientes de 75 años o más. No se muestran en el gráfico seis muestras del grupo de enfermedad con valores por encima del intervalo del ensayo.

Valores de PBNP de Vista® para los grupos de referencia y de enfermedad



Sensibilidad y especificidad en relación con la edad y el sexo‡

Las tablas que aparecen a continuación muestran la sensibilidad y la especificidad clínicas de los análisis de PBNP con el sistema Dimension Vista® utilizando un valor límite de 125 pg/mL para los pacientes menores de 75 años y 450 pg/mL para los pacientes de 75 años o más.

Hombres		
	< 75 años	≥ 75 años
Sensibilidad	94% (133/142)	96% (47/49)
Intervalo de confianza del 95%	90 – 98	90 – 100
Especificidad	87% (81/93)	73% (45/62)
Intervalo de confianza del 95%	80 – 94	61 – 84

Mujeres		
	< 75 años	≥ 75 años
Sensibilidad	89% (54/61)	88% (15/17)
Intervalo de confianza del 95%	81 – 97	73 – 100
Especificidad	92% (95/103)	85% (51/60)
Intervalo de confianza del 95%	87 – 97	76 – 94

Análisis ROC ajustado en función de la edad‡

Se realizó un análisis ROC ajustado en función de la edad de los datos clínicos mediante el método ponderado descrito por Kondratovich (2002).²⁸ El AUC resultante es 0.929 con un intervalo de confianza del 95% de 0.909 a 0.950.

‡ El método PBNP de Dimension Vista® (REF K6423A) y el método NTP de Dimension® (REF RF623) utilizan los mismos reactivos en condiciones de reacción equivalentes y los resultados son representativos de ambos métodos.

Características específicas de funcionamiento

Los siguientes datos representan el rendimiento típico del sistema Dimension® EXL™.

Precisión ^{29, c}			
Material	Media pg/mL	Desviación estándar (%CV)	
		Repetibilidad	Intra-laboratorio
Mezcla de sueros 1	148	2.7 (1.9)	3.8 (2.5)
Mezcla de sueros 2	434	6.9 (1.6)	10.2 (2.4)
Mezcla de sueros 3	946	17.4 (1.8)	20.9 (2.2)
Mezcla de sueros 4	4315	96.6 (2.2)	144.2 (3.3)
CC interno	30643	1732.5 (5.7)	2761.3 (9.01)

c. Se utilizó la directriz EP5-A2 del CLSI/NCCLS. Durante 20 días se analizaron cada día dos ensayos independientes, con dos muestras de análisis para cada material de análisis.

Comparación del método³⁰

Equivalencia de suero y plasma^d

A continuación, se muestran los resultados de los análisis de comparación en el sistema Dimension® EXL™ de las muestras de plasma con heparina de litio, heparina de sodio y EDTA frente a las muestras de suero:

Muestra comparativa	Pendiente	Intersección pg/mL	Coefficiente de correlación	n
Heparina de litio	0.99	-25.9	0.9932	50
Heparina de sodio	0.98	-43.3	0.9919	53
EDTA	0.96	-0.4	0.9988	57

d. El modelo de ecuación mediante la regresión de Passing-Bablok es: [resultados de plasma] = pendiente x [resultados en suero] + intersección.

Estadística de regresión^{e, f}

Método comparativo	Pendiente	Intersección pg/mL	Coefficiente de correlación	n
PBNP de Dimension Vista® (monoclonal)	0.950	-1.303	0.998	109 ^g

e. Se utilizó la directriz EP9-A2 del CLSI/NCCLS. El método utilizado para ajustar la línea de regresión fueron los estadísticos de Passing-Bablok.

f. El modelo de ecuación mediante la regresión lineal de Passing-Bablok es: [resultados para el sistema Dimension® EXL™] = pendiente x [resultados del método comparativo] + intersección.

g. El intervalo de 109 valores en el estudio de correlación fue de 36 – 33493 pg/mL.

Especificidad

Interferencia HIL

Se evaluó la interferencia en el método NTP de la hemoglobina, ictericia y lipemia (HIL) según la directriz EP7-A2 del CLSI/NCCLS.³¹ La deriva es la diferencia en los resultados entre la muestra de control (sin el interferente) y la muestra analizada (que contiene el interferente) expresada en porcentaje. Se considera interferencia una deriva superior al 10%.

Sustancia analizada	Concentración de la sustancia	NT-proBNP pg/mL	Deriva* %
Hemoglobina (hemolizado)	1000 mg/dL [0.62 mmol/L] ^h	120	< 10
		1400	< 10
Bilirrubina (no conjugada)	60 mg/dL [1026 µmol/L]	120	< 10
		1400	< 10
Bilirrubina (conjugada)	60 mg/dL [1026 µmol/L]	120	< 10
		1400	< 10
Lipemia (Intralipid®)	3000 mg/dL [33.9 mmol/L]	120	< 10
		1400	< 10

Intralipid® es una marca registrada de Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Alemania.

*Los resultados del análisis no deben corregirse en función de esta deriva.

h. Las unidades del Sistema Internacional de Unidades [unidades SI] se indican entre corchetes.

Sustancias que causan interferencia				
Se valoró el método NTP en términos de interferencia según la directriz EP7-A2 del CLSI/NCCLS. ³¹ La deriva es la diferencia en los resultados entre la muestra de control (sin el interferente) y la muestra analizada (que contiene el interferente) expresada en porcentaje. Se considera interferencia una deriva superior al 10%.				
Concentración de análitos	Nivel de análisis de biotina (ng/mL)			
	100	250	500	1200
	% Deriva			
120 pg/mL	-1.6	-4	-16.3	-74.8
1400 pg/mL	-2.5	-6.4	-17.1	-71.9

• Las muestras que contienen biotina en una concentración de 250 ng/mL han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Las concentraciones de biotina superiores a esta pueden producir resultados falsamente disminuidos en las muestras de los pacientes.

• La ingesta alimenticia de biotina recomendada en adultos es de 30 µg/día. Los suplementos alimentarios sin receta que se anuncian para mejorar el estado del cabello, la piel y las uñas pueden contener 5–100 mg de biotina, y lo que se recomienda es tomar varias píldoras al día. En estudios farmacocinéticos en adultos sanos se ha observado que, en individuos que toman 5 mg, 10 mg y 20 mg de biotina, las concentraciones en suero de biotina pueden alcanzar hasta 73 ng/mL, 141 ng/mL y 355 ng/mL, respectivamente.³² Los individuos que toman hasta 300 mg de biotina al día pueden presentar unos niveles de biotina en plasma de hasta 1160 ng/mL.³³

Sustancias que no causan interferencia

Las siguientes sustancias no interfieren con el método de NTP si están presentes en el suero en las concentraciones indicadas. Las inexactitudes (derivadas) debidas a estas sustancias son inferiores al 10% en la concentración de NT-proBNP de 120 y 1400 pg/mL.

Compuesto	Concentración	Unidades (SI)
Abciximab	21 µg/mL	0.4 µmol/L
Acetaminofeno	20 mg/dL	1324 µmol/L
Alopurinol	2.5 mg/dL	184 µmol/L
Amicacina	8 mg/dL	137 µmol/L
Amiodarona	20 µg/mL	31 µmol/L
Besilato de amlodipina	4 µg/mL	7.1 µmol/L
Ampicilina	5.3 mg/dL	152 µmol/L
Ácido ascórbico	6 mg/dL	342 µmol/L
Atenolol	1.0 mg/dL	37.6 µmol/L
Atorvastatina	32 mg/dL	572.9 µmol/L
Cafeína	6 mg/dL	308 µmol/L
Captopril	5.0 mg/dL	230 µmol/L
Carbamazepina	3 mg/dL	127 µmol/L
Cloranfenicol	5 mg/dL	155 µmol/L
Clordiazepóxido	1 mg/dL	33.3 µmol/L
Clorpromazina	0.2 mg/dL	6.27 µmol/L
Colesterol	500 mg/dL	12.9 mmol/L
Cimetidina	2 mg/dL	79.2 µmol/L
Cinarizina	3.0 mg/dL	81.4 µmol/L
Bisulfato de clopidogrel	30 µg/mL	71.4 µmol/L
Creatinina	30 mg/dL	2652 µmol/L
Ciclosporina A	4000 ng/mL	3.3 µmol/L
Dextrano 40	3000 mg/dL	750 µmol/L
Diazepam	0.5 mg/dL	17.6 µmol/L
Diclofenaco	60 µg/mL	188.6 µmol/L
Digitoxina	60 ng/mL	78.6 nmol/L
Digoxina	6.1 ng/mL	7.8 nmol/L
Diltiazem	120 µg/mL	266.1 µmol/L
Dipiridamol	30 µg/mL	59.4 µmol/L
Dopamina	65 mg/dL	3.4 mmol/L
Maleato de enalapril	16 µg/mL	32.5 µmol/L
Eritromicina	6 mg/dL	81.6 µmol/L
Etanol	400 mg/dL	86.8 mmol/L
Etosuximida	25 mg/dL	1770 µmol/L
Furosemida	6 mg/dL	181 µmol/L
Gentamicina	1 mg/dL	21 µmol/L
Heparina	3 U/mL	3000 U/L
Hidralazina	20 µg/mL	101.7 µmol/L
Hidroclorotiazida	20 µg/mL	67.2 µmol/L
Ibuprofeno	50 mg/dL	2425 µmol/L
Inmunoglobulina G (IgG)	5 g/dL	50 g/L
Indometacina	16 µg/mL	36.9 µmol/L
Dinitrato de isosorbida	6.0 mg/dL	254 µmol/L
Lidocaína	1.2 mg/dL	51.2 µmol/L
Lisinopril	16 µg/mL	36.2 µmol/L
Litio	2.2 mg/dL	3.2 mmol/L
Lovastatina	16 µg/mL	39.6 µmol/L
L-tiroxina	60 µg/dL	0.77 µmol/L
Metildopa	2.5 mg/dL	118 µmol/L
Lactato de milrinona	2.4 µg/mL	8 µmol/L
Nicotina	0.1 mg/dL	6.2 µmol/L
Nifedipina	6.0 mg/dL	173 µmol/L
Nitrofurantoina	40 µg/mL	168 µmol/L
Nitroglicerina	0.16 µg/mL	0.577 µmol/L
Oxazepam	12 µg/mL	41.8 µmol/L
Oxitetraciclina	100 µg/mL	217.2 µmol/L
Penicilina G	25 U/mL	25000 U/L
Pentobarbital	8 mg/dL	354 µmol/L
Fenobarbital	10 mg/dL	431 µmol/L
Fenitoína	5 mg/dL	198 µmol/L
Primidona	4 mg/dL	183 µmol/L
Probenecid	200 µg/mL	700.9 µmol/L
Propoxifeno	0.16 mg/dL	4.91 µmol/L
Propranolol	0.15 mg/dL	5.1 µmol/L
Proteína: Albúmina	6 g/dL	60 g/L
Proteína: Total	12.0 g/dL	120 g/L
Quinidina	20 µg/mL	61.6 µmol/L
Factor reumatoide	500 IU/mL	500 IU/mL
Ácido salicílico	60 mg/dL	4.34 mmol/L
Simvastatina	32 µg/mL	76.5 µmol/L
Sulfametoxazol	320 µg/mL	1263.3 µmol/L
Teofilina	4 mg/dL	222 µmol/L

Trimetoprima	64 µg/mL	220.7 µmol/L
Urea	500 mg/dL	83.3 mmol/L
Ácido úrico	20 mg/dL	1190 µmol/L
Ácido valproico	50 mg/dL	3467 µmol/L
Verapamilo	16 mg/dL	351.6 µmol/L
Warfarina	4 µg/mL	13 µmol/L

Efecto de saturación

Los inmunoensayos sándwich de un paso son susceptibles a un efecto de saturación (hook effect) a concentraciones altas, en el cual un exceso de antígeno impide la unión simultánea de los antígenos de captura y detección a una única molécula de analito.³⁴ Estas muestras deben diluirse y volver a analizarse antes de registrar los resultados. El método NTP no muestra ningún efecto de saturación hasta 400,000 pg/mL.

Reactividad cruzada

Las siguientes sustancias no tienen una reactividad cruzada significativa (inferior al 1%) en las concentraciones indicadas cuando se añaden a muestras que contienen 0 y aproximadamente 125 pg/mL de NT-proBNP:

Sustancia	Concentración
ANP ₂₈	3.1 µg/mL
NT-proANP ₁₋₃₀ (preproANP ₂₆₋₅₅)	3.5 µg/mL
NT-proANP ₃₁₋₆₇ (preproANP ₅₆₋₉₂)	1.0 ng/mL
NT-proANP ₇₉₋₉₈ (preproANP ₁₀₄₋₁₂₃)	1.0 ng/mL
BNP ₃₂ (Natreacor®)	3.5 µg/mL
CNP ₂₂	2.2 µg/mL
DNP	1.0 ng/mL
VNP	1.0 ng/mL
Adrenomedulina	1.0 ng/mL
Aldosterona	0.6 ng/mL
Angiotensina I	0.6 ng/mL
Angiotensina II	0.6 ng/mL
Angiotensina III	1.0 ng/mL
Endotelina	20 pg/mL
Renina	50 ng/mL
Uroilatinina	3.5 µg/mL
Arg-vasopresina	1.0 ng/mL

Sensibilidad analítica: ≤ 5 pg/mL

La sensibilidad analítica del método NTP es ≤ 5 pg/mL. La sensibilidad analítica se define como la concentración en dos desviaciones estándar (n = 20) por encima de una muestra sin NT-proBNP, como el calibrador de nivel 1 de LOCI NTP (0 pg/mL).

Límite de detección³⁵: 2.3 pg/mL

El límite de detección (LoD) de NTP es 2.3 pg/mL, determinado de acuerdo con la directriz EP17-A del CLSI y con proporciones de falsos positivos (α) inferiores al 5% y falsos negativos (β) inferiores al 5%; basado en 30 determinaciones, con 5 muestras en blanco y 5 de bajo nivel. El LOD es la concentración mínima que se puede detectar de manera fiable.

Sensibilidad funcional: Evaluación del límite de CV del 20%

La sensibilidad funcional se evaluó mediante la determinación de la imprecisión total de las muestras de NT-proBNP natural en suero. La imprecisión total se midió mediante un estudio ANOVA de dos réplicas diarias durante veinte días. La sensibilidad funcional (perfil de imprecisión) del método NTP de Dimension® corresponde a un coeficiente de variación (CV) de 20% para un nivel de NT-proBNP ≤ 30 pg/mL.

Linealidad de la dilución

Se diluyó en el intervalo del ensayo una muestra de plasma de paciente con una elevada concentración de NT-proBNP. Se diluyeron linealmente muestras adicionales de plasma para confirmar la exactitud de la dilución en el extremo inferior del intervalo del ensayo. Todas las muestras se diluyeron con mezclas de plasmas de pacientes con niveles bajos. La tabla siguiente resume los resultados de estos estudios:

	Muestra A	Muestra B
Concentración inicial (pg/mL)	47120	1232
Estadística de regresión		
Pendiente	1.004	0.996
Intersección	12.8	10.9
Coefficiente de correlación	0.999	0.999
N	5	5
% de recuperación		
Promedio	100.2	101.9
Intervalo	99 – 101	100 – 106

Fabricado bajo licencia de Roche Diagnostics.
US 5786163 y equivalentes extranjeras
Solicitud de patente de Estados Unidos: 09/890442 y equivalentes extranjeras

Clave de los símbolos: Véase el panel adyacente.

Bibliografía: Véase el panel adyacente.

Dimension Vista®, LOCI®, Dimension®, EXL™ y Flex® son marcas comerciales de Siemens Healthcare Diagnostics.

©2008 Siemens Healthcare Diagnostics
Reservados todos los derechos.

Bibliography / Literatur / Bibliographie / Bibliografia / Bibliografía

1. Remme WJ, Swedberg K. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure, Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure, European Society of Cardiology. Eur Heart J 2001; 22: 1527–1560.
2. Richards AM, Nicholls GM, Yandle TG, Frampton C, Espiner EA, Turner JG, et al. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and adrenomedullin: New neurohormonal predictors of left ventricular function and prognosis after myocardial infarction. Circulation 1998; 97: 1921–1929.
3. de Bold AJ. Atrial natriuretic factor: A hormone produced by the heart. Science 1985; 230: 767–770.
4. Valli N, Gobinet A, Bordenave L. Review of 10 years of the clinical use of brain natriuretic peptide in cardiology. J Lab Clin Med 1999; 134: 437–444.
5. de Bold AJ, Boerensstein HB, Varesse AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial extracts in rats. Life Sci 1981; 28: 89–94.
6. Epstein M, Loutzenhiser R, Friedland E, Aceto RM, Camargo MJF, Atlas SA. Relationship of increased plasma natriuretic factor and renal sodium handling during immersion-induced central hypervolemia in normal humans. J Clin Invest 1987; 79: 738–745.
7. Struthers AD. How to use natriuretic peptide levels for diagnosis and prognosis. The European Society of Cardiology. Eur Heart J 1999; 20: 1374–1375.
8. Hunt PJ, Richards AM, Nicholls MG, Yandle TG, Doughty RN, Espiner EA. Immunoreactive aminoterminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP): A new marker for cardiac impairment. Clin Endocrinol 1997; 47: 287–296.
9. Talwar S, Squire IB, Davies JE, Barnett DB, Ng LL. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and the ECG in the assessment of left ventricular systolic dysfunction in a high risk population. Eur Heart J 1999; 20: 1736–1744.
10. Darbar D, Davidson NC, Gillespie N, Choy A-MJ, Lang CC, Shyr Y, et al. Diagnostic value of B-type natriuretic peptide concentrations in patients with acute myocardial infarction. A J Cardiol 1996; 78: 284–287.
11. McDonagh TA, Robb SD, Murdoch DR, Morton JJ, Ford I, Morrison CE, et al. Biochemical detection of left-ventricular systolic dysfunction. Lancet 1998; 351: 9–13.
12. Fisher C et al. NT-proBNP predicts prognosis in patients with chronic heart failure. Heart 2003; 89: 879–881.
13. James SK et al. NT-proBNP and other risk markers for the separate prediction of mortality and subsequent myocardial infarction in patients with unstable coronary artery disease. GUSTO IV Substudy. Circulation 2003; 108: 275–281.
14. Talwar S, Squire I, Downie P, Davies J, Ng LL. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and cardiotrophin 1 are raised in unstable angina. Heart 2000; 84: 421–424.
15. Jernberg T, Stridsberg M, Venge P, Lindahl B. N-Terminal pro-brain natriuretic peptide on admission for early risk stratification of patients with chest pain and no ST-segment elevation. J Am Coll Cardiol 2002; 40: 437–445.
16. Zeller M, Cottin Y, Laurent Y, Danchin N, L'Huillier I, et al. N-Terminal pro-brain natriuretic peptide levels in patients with non-ST-elevation myocardial infarction. Cardiology 2004; 102: 37–40.
17. Richards AM, Nicholls MG, Espiner E, Lainchbury J, et al. B-type natriuretic peptides and ejection fraction for prognosis after myocardial infarction. Circulation 2003; 107: 2786–2792.
18. Ullman EF, Kirakossian H, Switchenko AC, Ishkanian J, et al. Luminescent oxygen channeling assay (LOCI™): sensitive, broadly applicable homogeneous immunoassay method. Clin Chem 42: 9 1996, 1518–1526.
19. Ullman EF, Kirakossian H, Sharat S, Ping Wu Z, Irvin BR, et al. Luminescent oxygen channeling immunoassay: Measurement of particle binding kinetics by chemiluminescence. Proc.Natl.Acad.Sci. USA, Vol 91, pp. 5426–5430, June 1994 Biochemistry.
20. Ullman EF. Homogeneous Immunoassays, The Immunoassay Handbook, 2nd ed., David Wild editor, 2001 192–194.
21. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Biology, Fourth Edition, Elsevier Saunders, St. Louis, MO 2006; pp. 41–58 (specimen collection).
22. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard – Fifth Edition*. CLSI/NCCLS document H3-A5 [ISBN 1-56238-515-1]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2003.
23. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Tubes and Additives for Venous Blood Specimen Collection; Approved Standard – Fifth Edition*. CLSI/NCCLS document H1-A5 [ISBN 1-56238-519-4]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2003.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline – Third Edition*. CLSI/NCCLS document H18-A3 [ISBN 1-56238-555-0]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2004.
25. Elecsys® proBNP Assay Package Insert Sheet, Roche Diagnostics GmbH, December 2003.
26. Vaidya HC, Beatty BG. Eliminating interference from heterophilic antibodies in a two-site immunoassay for creatine kinase MB by using F(ab')₂ conjugate and polyclonal mouse IgG. Clin Chem 1992; 38: 1737–1742.
27. Kricka LJ. Human Anti-Animal Antibody Interferences in Immunological Assays. Clin Chem 1999; 45: 7; 942–956.
28. Kondratovich, M (2002). Matched Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis and propensity scores. Proceedings of the 2002 Joint Statistical Meeting, Biopharmaceutical Section, New York, NY.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline – Second Edition*. CLSI/NCCLS document EP5-A2 [ISBN 1-56238-542-9]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA, 19087-1898 USA, 2004.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Second Edition*. CLSI/NCCLS document EP9-A2 [ISBN 1-56238-472-4]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2002.
31. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline – Second Edition*. CLSI/NCCLS document EP7-A2 [ISBN 1-56238-584-4]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2005.
32. Grimsey P, Frey N, Bendig G, et al. Population pharmacokinetics of exogenous biotin and the relationship between biotin serum levels and *in vitro* immunoassay interference. *Int. J. Pharmacokinet.* 2017;2(4):247–256.
33. Piketty ML, Prie D, Sedel F, et al. High-dose biotin therapy leading to false biochemical endocrine profiles: validation of a simple method to overcome biotin interference. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55(6):817–825.
34. Ryall RG, Story CJ, and Turner DR. Reappraisal of the causes of the “hook effect” in two-site immunoradiometric assays. Anal Biochem 1982; 127: 308–315.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline*. CLSI/NCCLS document EP17-A [ISBN 1-56238-551-8]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2004.



Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
500 GBC Drive
Newark, DE 19714 USA

Global Siemens
Headquarters
Siemens AG
Wittelsbacherplatz 2
80333 Muenchen
Germany

Global Siemens
Healthcare Headquarters
Siemens AG
Healthcare Sector
Henkestrasse 127
91052 Erlangen
Germany
Phone: +49 9131 84-0
siemens.com/healthcare

Global Division
Siemens Healthcare
Diagnostics Inc.
511 Benedict Avenue
Tarrytown, NY 10591
USA
siemens.com/healthcare

**Symbols Key
Symbolschlüssel
Explication des Symboles
Interpretazione simboli
Clave de los Símbolos**



Do not reuse / Nicht zur Wiederverwendung / Ne pas réutiliser / Non riutilizzare / No reutilizar



Use By / Verwendbar bis / Utiliser jusque / Utilizzare entro / Fecha de caducidad



Batch Code / Chargenbezeichnung / Code du lot / Codice del lotto / Código de lote



Catalogue Number / Bestellnummer / Référence du catalogue / Numero di catalogo / Número de catálogo



Caution, consult accompanying documents / Achtung, Begleitdokumente beachten / Attention voir notice d'instructions / Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso / Atención, ver instrucciones de uso



Manufacturer / Hersteller / Fabricant / Fabbricante / Fabricante



Authorized Representative in the European Community / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft / Mandataire dans la Communauté européenne / Mandatario nella Comunità Europea / Representante autorizado en la Comunidad Europea



Contains sufficient for <n> tests / Inhalt ausreichend für <n> Tests / Contenu suffisant pour “n” tests / Contenuto sufficiente per “n” saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos



In Vitro Diagnostic Medical Device / In-Vitro-Diagnostikum / Dispositif médical de diagnostic *in vitro* / Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* / Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Temperature Limitation / Temperaturbegrenzung / Limites de température / Limiti di temperatura / Limite de temperatura



Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter les instructions d'utilisation / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de uso



Non-sterile / Nicht steril / Non stérile / Non sterile / No estéril



CE Mark / CE Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / Marca CE



Contents / Inhalt / Contenu / Contenuto / Contenido



Reconstitution Volume / Rekonstitutionsvolumen / Volume de reconstitution / Volume di ricostituzione / Volumen de reconstitución



Level / Konzentration / Niveau / Livello / Nivel

2014-10_ERGS

