

Exdia NT-proBNP

Einstufiger Immunassay für NT-proBNP Zur Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik

Einstufiger quantitativer Assay für die zeitaufgelöste Fluoreszenz-Immunchromatographie zum Nachweis des N-terminalen pro-B-Typ-natriuretischen Peptids in humanem Vollblut, Serum und Plasma

Hergestellt von Precision Biosensor Inc.

1. BESTIMMUNGSGEMÄßER GEBRAUCH

Der Exdia NT-proBNP-Test ist ein Assay für die zeitaufgelöste Fluoreszenz-Immunchromatographie zur quantitativen Bestimmung von NT-proBNP (N-terminales pro-B-Typ-natriuretisches Peptid) in humanen Vollblut-, Serum- und Plasmaproben bei Cutoff-Konzentrationen von 125 pg/ml für Patienten unter 75 Jahren und 450 pg/ml für Patienten ab 75 Jahren; er dient als Hilfsmittel bei der Diagnose von Personen mit Verdacht auf Herzinsuffizienz. Die Testergebnisse müssen von einem Kardiologen in Verbindung mit anderen klinischen Informationen wie den klinischen Symptomen des Patienten sowie sonstigen Testergebnissen zur Diagnose einer Herzinsuffizienz interpretiert werden.

2. ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Die natriuretischen Peptide sind eine Familie von Molekülen, die aus mehreren strukturell verwandten Hormonen besteht, darunter das **atriale** natriuretische Peptid (ANP), das natriuretische Peptid vom B-Typ (von *brain* =Gehirn) (BNP), das natriuretische Peptid vom C-Typ (CNP) und das Dendroaspis-natriuretische Peptid (DNP). Das B-Typ-natriuretische Peptid wird zunächst als Prä-Pro-Peptid mit 134 Aminosäuren produziert und dann in proBNP mit 108 Aminosäuren gespalten. Dieses Vorläufermolekül wird in sekretorischen Granula in Myozyten gespeichert. Nach der Freisetzung wird proBNP durch die Protease Furin in N-terminales (NT)-proBNP (76 Aminosäuren, biologisch inerte Teil) und BNP (das biologisch aktiv ist) gespalten. Beim Menschen finden sich NT-proBNP und BNP in größter Konzentration im linksventrikulären Myokard, sind aber auch im **atrialen** Gewebe sowie im Myokard des rechten Ventrikels nachweisbar. Es gibt eine beträchtliche Anzahl von Belegen dafür, dass NT-proBNP- und BNP-Spiegel mit der Diagnose, dem klinischen Status und der Prognose der Herzinsuffizienz korrelieren und für das Langzeitmanagement von Patienten mit Herzinsuffizienz nützlich sein können.

3. PRINZIP

Der Exdia NT-proBNP-Test ist ein Assay für die zeitaufgelöste Fluoreszenz-Immunchromatographie zur quantitativen Bestimmung von NT-proBNP in Vollblut, Serum und Plasma. Der Membranstreifen enthält eine Test- und eine Kontrolllinie: Streptavidin für biotinylierte NT-proBNP-Antikörper und Ziege-anti-Huhn-IgY-Antikörper für die Kontrolllinie. Am Ende der Membran befindet sich ein Farbstoffpad, das biotinylierte NT-proBNP-Antikörper und Fluoreszenzpartikel enthält, die mit NT-proBNP-Antikörpern gekoppelt sind. Wenn eine Probe in die Probenvertiefung gegeben wird, bindet das in der Probe vorhandene NT-proBNP sowohl an den NT-proBNP-spezifischen fluoreszenzgekoppelten Antikörper als auch an den biotinylierten Antikörper. Die Immunkomplexe wandern entlang der Nitrozellulosemembran durch die Testlinie, binden an das auf der Testlinie immobilisierte Streptavidin und erzeugen ein spezifisches Testsignal. Ungebundene Immunkomplexe durchlaufen die Testlinie. Mit Europiumpartikeln gekoppeltes IgY wird von Ziege-anti-Huhn-IgY-Antikörpern an der Kontrolllinie abgefangen, sodass ein Kontrollsignal erzeugt wird, das die Gültigkeit des Assays anzeigt. Zur Messung der Konzentration von NT-proBNP muss die getestete Kassette mit dem Exdia Analysator gelesen werden. Das Lesegerät kann die Fluoreszenzintensität der Testlinie analysieren und nach der vorgegebenen Gleichung in die Konzentration des NT-proBNP in der Probe umrechnen.

4. REAGENZIEN

Der Exdia NT-proBNP-Test enthält alle Reagenzien, die für den Nachweis von NT-proBNP in humanem Vollblut, Serum und Plasma notwendig sind. Die Kassette enthält einen Membranstreifen, der auf der Testlinie mit Streptavidin beschichtet ist, und ein Farbstoffpad, das mit biotinylierten monoklonalen anti-NT-proBNP-Antikörpern der Maus sowie mit Europiumpartikeln getränkt ist, die mit anti-NT-proBNP Antikörpern gekoppelt sind. Ein Stabilisator mit 0,05 % Natriumazid, 5 % Trehalose und anderen Chemikalien (z. B. Natriumphosphat für die Pufferkapazität) sind in getrockneter Form auf dem Farbstoff-Pad aufgebracht.

5. MATERIALIEN

Mitteliefert

- 20 oder 10 Testkassetten in Beuteln versiegelt, mit Einweg-Transferpipette (80 µl) und Trockenmittel
- 1 QR-Karte zur Kalibrierung (chargenspezifisch)
- 1 Gebrauchsanweisung

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

- Sammelbehälter für Vollblut, Serum oder Plasma
- Materialien für die positive und negative Qualitätskontrolle
- Zeitmesser
- Exdia Analysator

6. LAGERUNG UND STABILITÄT

Das Testkit sollte für die Dauer der Haltbarkeit bei 2 bis 30 °C im versiegelten Originalbeutel gelagert werden.

7. VORSICHTSMAßNAHMEN

- Nur zum Gebrauch in der *In-vitro*-Diagnostik sowie für den professionellen Einsatz.
- Keine hämolytierten Proben verwenden, da Hämolyse die Testergebnisse beeinflusst.
- Alle Proben als potenziell infektiös behandeln. Für die Handhabung und Entsorgung sind geeignete Verfahren festzulegen.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen für jede getestete klinische Probe eine frische Transferpipette verwenden.
- Das Testkit nicht verwenden, wenn der Beutel beschädigt oder nicht korrekt versiegelt ist.
- Das Testkit nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

8. ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN

- Dieser Test kann für Vollblut-, Plasma- und Serumproben verwendet werden. Bei Verwendung von Serumproben das Blut in einem Röhrchen ohne Gerinnungshemmer sammeln und vor der Zentrifugation mindestens 25 Minuten lang gerinnen lassen. Vollblut- oder Plasmaproben mit Heparin oder EDTA als Antikoagulans können für Tests mit diesem Produkt verwendet werden. Andere Antikoagulantien sind noch nicht ausgewertet worden. Jedes Labor sollte die Eignung seiner eigenen Blutentnahmeröhrchen und Produkte zur Trennung von Serum festlegen. Diese Produkte können von Hersteller zu Hersteller und zuweilen auch von Charge zu Charge variieren. Diese Produkte können von Hersteller zu Hersteller und zuweilen auch von Charge zu Charge variieren.
- Die Proben sind unter standardisierten Laborbedingungen zu entnehmen.
- Optimale Ergebnisse wurden erzielt, wenn die Patientenproben unmittelbar nach der Entnahme getestet wurden. Vollblutproben sollten innerhalb von 4 Stunden nach der Entnahme verwendet werden. Plasma- oder Serumproben können 24 Stunden lang bei 2 bis 8 °C gekühlt werden. Wenn die Tests nicht innerhalb von 24 Stunden durchgeführt werden können, sind die Proben bei –20 °C oder darunter einzufrieren.
- Als Konservierungsmittel kann bis zu 0,1 % Natriumazid zugesetzt werden, ohne dass die Testergebnisse beeinträchtigt werden.
- Gekühlte oder gefrorene Serum- oder Plasmaproben müssen vor dem Test Raumtemperatur erreichen und homogen sein.

9. TESTVERFAHREN UND PROTOKOLL

- Probe gemäß den Anleitungen unter „ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN“ entnehmen.
- Testkassette und Probe vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (20 bis 30 °C) bringen.
- Testkassette unmittelbar vor dem Gebrauch aus dem versiegelten Beutel entnehmen. Kassette mit einer Patienten- oder Kontrollkennung beschriften.
- Mit der mitgelieferten Einweg-Transferpipette 80 µl der Probe in die Probenvertiefung der Testkassette geben.
- Ergebnisse nach 15 Minuten (14,5 bis 15,5 Minuten) ablesen. Testkassette mit dem Exdia Analysator gemäß der Betriebsanleitung analysieren.

10. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die Signalintensität der Testlinie kann mit dem Exdia Analysator analysiert werden und die Messergebnisse werden unter Verwendung von vorgegebenen, für Exdia NT-proBNP-Kassetten spezifischen Kalibrierkurven als Konzentration der Analyten ausgedrückt.

11. EINSCHRÄNKUNGEN

- Das mit der aktuellen Kassette erhaltene Testergebnis darf nur als Indikator für eine Herzinsuffizienz verwendet werden und bedarf einer weiteren Bestätigung.
- Wie bei allen diagnostischen Tests sollte eine endgültige klinische Diagnose nicht auf der Grundlage der Ergebnisse eines einzigen Tests gestellt werden. Das Testergebnis sollte in Verbindung mit anderen klinischen Informationen wie klinischen Anzeichen und Symptomen sowie sonstigen Testergebnissen zur Diagnose einer Herzinsuffizienz verwendet werden. Eine Bestätigung der Testergebnisse sollte, zusammen mit klinischen Symptomen und Laborbefunden betrachtet, nur durch einen Arzt erfolgen.
- Die Patientenproben können heterophile Antikörper enthalten, die möglicherweise in Immunassays reagieren und ein falsch erhöhtes oder erniedrigtes Ergebnis liefern. Dieser Assay wurde so konzipiert, dass Interferenzen durch heterophile Antikörper minimiert werden. Dennoch kann keine vollständige Eliminierung dieser Interferenzen bei allen Patientenproben garantiert werden. Ein Testergebnis, das nicht mit dem klinischen Bild und der Anamnese übereinstimmt, ist mit Vorsicht zu interpretieren.

12. QUALITÄTSKONTROLLE

Das Vorhandensein einer Fluoreszenzbande im Kontrollbereich des Fensters dient als interne Kontrolle, die sicherstellt, dass ein ausreichendes Probenvolumen hinzugefügt wurde. Fehlt diese Kontrollbande, ist das zugehörige Testergebnis ungültig und der Test muss erneut durchgeführt werden. Die Gute Laborpraxis empfiehlt zur Gewährleistung einer ordnungsgemäßen Testdurchführung eine Qualitätskontrolle. Materialien für die Qualitätskontrolle sind von kommerziellen Quellen erhältlich und sollten nach den gleichen Verfahren wie die Tests an Patientenproben getestet werden. Die gute Laborpraxis empfiehlt, dass bei jeder neuen Charge oder im Falle eines fragwürdigen Testergebnisses bei der Verwendung der Reagenzkassette externe Kontrollen getestet werden sollten. Wenn die Qualitätskontrollverfahren in Ihrem Labor häufigere Kontrollen zur Überprüfung der Testergebnisse erfordern, befolgen Sie diese laborspezifischen Vorschriften. Die empfohlene Anforderung für das Testen der mit dem Gerät bereitgestellten Exdia internen Qualitätskontrolle ist für einen regelmäßigen Zeitraum. Sollte das Testergebnis aus irgendeinem Grund fragwürdig sein, wenden Sie sich bitte an den Kundensupport.

13. REFERENZBEREICH

Die Cutoff-Werte des Exdia NT-proBNP-Tests wurden durch Vergleich mit dem Elecsys® pro-BNP Immunassay von Roche bestimmt. Der Cutoff-Wert von NT-proBNP liegt für Patienten unter 75 Jahren bei 125 pg/ml und für Patienten ab 75 Jahren bei 450 pg/ml. Jedes Labor sollte jedoch seinen eigenen Referenzbereich festlegen. Es wurde festgestellt, dass die Cutoff-Werte anders ausfallen, wenn ein anderes quantitatives Assay-System als der Elecsys® pro-BNP Immunassay von Roche verwendet wird.

14. LEISTUNGSMERKMALE

14-1 Nachweisgrenzen

Studien zur Leerwertgrenze (Limit of Blank, LoB), Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) und Bestimmungsgrenze (Limit of Quantification, LoQ) wurden gemäß der Richtlinie EP17-A des Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) durchgeführt. Die Bestimmung der Leerwertgrenze erfolgte durch 100 Wiederholungstests mit Plasma-Blindproben, die von 10 Personen ohne Herzsymptome abgenommen worden waren. Die Verteilung der Blindproben-Testergebnisse wurde statistisch analysiert; sodann wurde die Zahl an der 95. Perzentile des negativen Probenlaufs als Leerwertgrenze des Exdia NT-proBNP-Tests bestimmt.

Zur Bestimmung der vorläufigen Nachweisgrenze des Exdia NT-proBNP-Tests wurden fünf Konzentrationsgrade von schwach positiven Proben (zwischen 18 und 30 pg/ml) mit 20 Wiederholungen pro Konzentrationsgrad getestet. Die Bestimmungsgrenze wurde ebenfalls nach der CLSI-Richtlinie EP17-A auf der Grundlage der Ergebnisse der Nachweisgrenzenverifizierung bestimmt. Die Bestimmungsgrenze wurde als zuverlässig nachgewiesene Konzentration bestimmt (gleich oder größer als die Nachweisgrenze) bei Assay-Genauigkeitskriterien von weniger als 20 %.

Die ermittelte Leerwertgrenze (LoB), die verifizierte Nachweisgrenze (LoD) und die ermittelte Bestimmungsgrenze (LoQ) sind nachfolgend zusammengefasst:

	LoB	LoD	LoQ
Konzentration (pg/ml)	12 pg/ml	20 pg/ml	20 pg/ml

14-2 Linearität/Berichtsbereich des Assays

Die Linearitätsstudie für den Exdia NT-proBNP wurde gemäß den Anweisungen der CLSI-Richtlinie EP6-A durchgeführt. Der Datensatz wurde mit Proben gesammelt, die den dynamischen Bereich des Exdia NT-proBNP-Assaysystems abdecken; es wurde bestätigt, dass das lineare Modell in der Lage ist, zwischen den Versuchspunkten zu interpolieren. Der Exdia NT-proBNP-Test war von 20 bis 12.000 pg/ml nachweislich linear mit einer Wiederholbarkeit von 10,8 % innerhalb dieses Intervalls.

14-3 Interferenz- und Spezifitätstest

Normalplasma und Patientenplasma mit 600 pg/ml NT-proBNP wurden mit potenziellen Störsubstanzen versetzt. Die Substanzen im folgenden Konzentrationsgrad wirken sich nicht interferierend auf die Leistung des Exdia NT-proBNP-Tests aus.

	Substanzen	Konzentration
Endogene Substanzen	Humanserumalbumin	5 g/dl
	Hämoglobin	4 g/dl
	Triglycerid	1 g/dl
	Cholesterin	50 g/dl
	Bilirubin	10 mg/dl
Potenziell kreuzreagierende endogene Proteine	ANP	1 mg/dl
	BNP	1 mg/dl
	CNP	1 mg/dl

Die folgenden Medikamente und Chemikalien haben sich als nicht störend für die Leistung von Exdia NT-proBNP erwiesen.

Acetaminophen	Dopamin	PCP
Acetylsalicylsäure	Erythromycin	Phenobarbital
Allopurinol	Fluoxetin	Phenytoin
Ampicillin	Furosemid	Probenecid
Ascorbinsäure	Hydrocodon	Procainamid
Koffein	Ibuprofen	Propranolol
Captopril	Indometacin	Chimidin
Chloramphenicol	Metoprolol	Sulfamethoxazol
Kokain	Morphin	Theophyllin
Digoxin	Nikotin	Trinitroglyzerin
Diltiazem	Nitrofurantoin	Verapamil
Dipyridamol	Oxytetracyclin	Warfarin

14-4 Genauigkeitsprüfung

Die Genauigkeit des Exdia NT-proBNP-Tests mit dem Exdia Analysator wurde gemäß der CLSI-Richtlinie EP5-A bestimmt. Proben mit drei verschiedenen Konzentrationen, 300 pg/ml (niedrige Konzentration), 1500 pg/ml (mittlere Konzentration), 5000 pg/ml (hohe Konzentration), wurden durch Verdünnung von rekombinantem humanem NT-proBNP-Protein hergestellt. An 20 aufeinander folgenden Tagen wurden täglich zehn Wiederholungen jeder Probe auf einer Exdia-Testkassette getestet. Die Testergebnisse wurden mit dem Exdia Analysator ausgelesen und statistisch ausgewertet. Der Variationskoeffizient v innerhalb eines Laufs betrug 10,0 % (niedrige Konzentration) bzw. 12,6 % (mittlere Konzentration) und 11,2 % (hohe Konzentration); der v der Gesamtpräzision betrug 11,1 % (niedrige Konzentration) bzw. 13,9 % (mittlere Konzentration) und 13,7 % (hohe Konzentration).

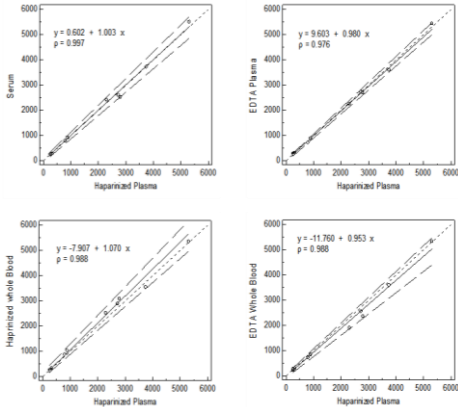
Probenkonz.	Niedrige Konz. 300 pg/ml	Mittlere Konz. 1500 pg/ml	Hohe Konz. 5000 pg/ml
Mittelwert (pg/ml)	301	1.455	5.191
v innerhalb des Laufs (%)	10,0 %	12,6 %	11,2 %
v für alle Läufe (%)	11,1 %	13,9 %	13,7 %

14-5 Vergleiche zwischen Matrices

In der Matrix-Vergleichsstudie wurde die Leistung des NT-proBNP-Tests auf der Exdia NT-proBNP-Testkassette evaluiert. Dazu wurden Proben mit jeweils passenden Matrices verwendet – Vollblut, Serum oder Plasma, in Heparin oder EDTA als Antikoagulans.

Vollblut wurde von fünf Probanden abgenommen. Jede Probe wurde auf zwei Fläschchen aufgeteilt und mit unterschiedlichen Mengen an NT-proBNP-Protein versetzt. Die Zielkonzentrationen von NT-proBNP wurde für jede Probe unterschiedlich festgelegt (Bereich zwischen 250 und 5500 pg/ml). Anschließend wurde jedes Fläschchen mit NT-proBNP-versetzten Proben unterschiedlich behandelt, sodass 5 Probentypen entstanden: Serum, heparinisiertes Vollblut, heparinisiertes Plasma, EDTA-behandeltes Vollblut und EDTA-behandeltes Plasma.

Die Daten wurden mit Hilfe der Passing-Bablok-Regression sowie der Rangkorrelation nach Spearman ausgewertet. Dies erfolgte mit der Software MedCalc (MedCalc Software bvba, Ostende, Belgien). Die Daten der Regressions- und der Korrelationsanalyse zeigten eine starke Korrelation zwischen den getesteten Matrices und heparinisiertem Plasma (der Korrelationskoeffizient zwischen den Matrices lag bei 0,976 bis 0,997), was darauf hinweist, dass die Proben in den verschiedenen Matrices (heparinisiertes Vollblut, heparinisiertes Plasma, EDTA-behandeltes Vollblut, EDTA-behandeltes Plasma und Serum) für den NT-proBNP-Test unter Verwendung der Exdia NT-proBNP-Testkassette gleichwertige Ergebnisse erzielen.

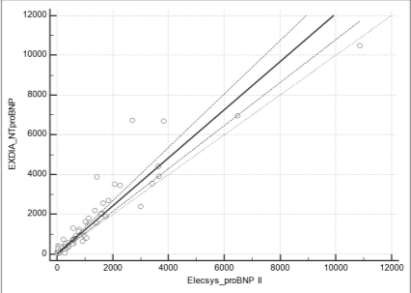


Die durchgezogene Linie ist die Regressionslinie der Passing-Bablok-Analyse. Die identische Regression (y=x) ist als gepunktete Linie dargestellt. Das 95%-Konfidenzintervall (KI) der Regression ist als gestrichelte Linie angegeben.

14-6 Vergleich zwischen den Methoden

Für den Exdia NT-proBNP-Test in Verbindung mit dem Exdia Analysator wurde gegenüber dem Roche Cobas e411 proBNP II (Roche, Schweiz) eine Vergleichsstudie der Methoden durchgeführt. Von 100 Patienten im Krankenhaus wurden Plasmaproben gesammelt. Von den 100 Proben wurden 7 Proben, die nicht im analytischen Messbereich des Exdia NT-proBNP lagen, ausgeschlossen. Das Gesamtergebnis der 93 Proben wurde mit dem Passing-Bablok-Modell regrediert und die Korrelation anhand der Rangkorrelation nach Spearman analysiert. Das Ergebnis ist in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst. Den Ergebnisse zufolge lässt die Steigung von 1,21 und die Linearität bis zu 12.000 pg/ml mit p=0,936 eine gute Korrelation zwischen den beiden Systemen erkennen. Die mit dem Exdia Analysator gemessene NT-proBNP-Konzentration zeigte also eine starke Korrelation mit dem Roche e411 proBNP II Assay.

N	Beobachtungsbereiche (pg/ml)	Schnittpunkt (pg/ml)	Steigung	Korrelationskoeffizient
93	20–12000	-3,17	1,21	0,936



15. LITERATUR

- [...]

Für weitere Informationen oder Fragen zu diesem Produkt wenden Sie sich bitte an den Kundensupport unter support@precision-bio.com

Precision Biosensor Inc.
306, Techno 2-ro, Yuseong-gu,
Daejeon, 34036
Republik Korea
Tel.: +82-42-867-6300
Fax: +82-42-867-6302
www.precision-bio.com



KS Medizintechnik
Telefon: 0800 - 10 10 871 seit 1921
HIER GÜNSTIG KAUFEN
www.ksmedizintechnik.de

EC REP
mdi Europa GmbH
Langenhagener Str. 71, 30855
Langenhagen
Tel.: +49 511 39 08 95 30
E-Mail: info@mdi-europa.com
www.mdi-europa.com

Dokumentnummer: PB-KRUM-01-EN
Revisionsnummer: 05
Gültigkeitsdatum: 26. Januar 2021