

«ID\_Biol» «Name\_Biol»  
«Laboratoire»  
«Etablissement»  
«Adresse»  
«CP» «Ville»

Code client : «Ship\_to»  
N/Réf : JDB/jp 050309

Paris La Défense, le 09 mars 2005

**A l'attention des Directeurs des Etablissements, des Responsables de Laboratoire et des Correspondants locaux de Réactovigilance**

**INFORMATION IMPORTANTE**  
**Analyseurs de Chimie Clinique Dimension®**  
**N-terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide, référence catalogue : RF423.**  
**Lots DA5046, FA5084, FA5106, FB5155, FW5071**

Cher Client,

Nous vous informons que des résultats de NT-proBNP (PBNP) faussement élevés ont été mis en évidence quand des échantillons de plasma prélevés sur des tubes EDTA sont dosés et comparés aux mêmes échantillons de plasma prélevés sur des tubes héparine-lithium ou héparine-sodium.

**En accord avec l'AFSSAPS nous vous demandons, pour les lots de Flex® PBNP cités ci-dessus, de ne plus utiliser les tubes de prélèvement EDTA pour le prélèvement des échantillons et le dosage du NT-proBNP(PBNP). Vous pouvez continuer à tester des échantillons prélevés dans des tubes héparine-lithium ou sodium.**

Le paragraphe «Prélèvement de l'échantillon» de la fiche technique du réactif Flex® PBNP est modifié en conséquence. Vous trouverez en pièce jointe la fiche technique mise à jour.  
Des investigations sont en cours pour identifier la cause de ces résultats élevés avec des tubes de prélèvement EDTA.

Nous vous prions de bien vouloir diffuser cette information à tout le personnel concerné de votre laboratoire et vous recommandons de conserver une copie dans vos fichiers d'Assurance Qualité.

**Dans le cadre de notre Système Qualité, veuillez nous retourner par fax, au 01.42.91.22.51, l'accusé de réception joint, complété et signé.**


N'hésitez pas à prendre contact avec notre Centre d'Assistance Technique et Scientifique au 01.42.91.24.00 pour toute aide ou information complémentaire.


Nous vous remercions pour votre compréhension et vous prions d'agréer, Cher Client, l'expression de nos sincères salutations.


Jean-Denis BERVILLE  
*Chef de Produit Chimie Clinique  
Et Marqueurs Cardiaques*


Florence JOLY  
*Responsable Affaires Réglementaires et  
Assurance Qualité*


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


**EXP**  "Use By" date in year-month-day format / Verfalldatum im Jahr-Monat-Tag Format / Utiliser jusqu'à la date: AAAA-MM-LJ / Scadenza: AAAA-MM-GG / Caducidad año-mes-día


**LOT**  Batch Code / Charge / Numéro de Lot / Lotto / Código de Lote


**REF**  Catalogue Number / Katalog Nummer / Référence/ Codice Catalogo / Número de Catálogo


 Manufactured by / Hergestellt von / Fabriqué par/ Prodotto da / Fabricado por

**EC REP**  Authorized Representative / Bevollmächtigter/ Mandataire / Rappresentanza autorizzata/ Representante Autorizado

**IVD**  *In Vitro* Diagnostic Medical Device / *In Vitro* Diagnosticum / Dispositif Médical Diagnostic *In Vitro*/ Dispositivo Médico per Diagnostica *in Vitro* / Producto sanitario para el Diagnóstico *In Vitro*

 Temperature Limitation / Lagertemperatur / Limite de Température / Conservazione / Limitación de Temperatura

 Consult Instructions for Use / Gebrauchshinweise beachten/ Consulter la Notice d'Utilisation / Istruzioni per l'uso/ Consultar Instrucciones para el Uso


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

2004-12-01- EFIGS

1st fold

2nd fold

12" @ 100%

 **Dade Behring Inc.**  
Newark, DE 19714, U.S.A.

**EC REP** **Dade Behring Limited**  
Regus House, Atterbury  
Milton Keynes MK10 9RG  
United Kingdom



2005-03 E PN 755423.001

**Dimension® PBNP Insert Sheet**  
PN 755423.001 Rev E  
Issued 2004-03

6.0" @ 100 %

# DADE BEHRING

**Dimension®** clinical chemistry system  
**Heterogeneous Immunoassay Module**

## Flex® reagent cartridge

## PBNP

### N-terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide Flex® reagent cartridge

**Intended Use:** The PBNP assay used on the Dimension® clinical chemistry system with the heterogeneous immunoassay module is an *in vitro* diagnostic assay for the quantitative determination of N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in human plasma. 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.<sup>1</sup>

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.<sup>2</sup> The following natriuretic peptides have been reported in the literature: atrial natriuretic peptide (ANP), brain natriuretic peptide (BNP), and C-type natriuretic peptide (CNP).<sup>3,4</sup>

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.<sup>5,6</sup> 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).<sup>4</sup>

Studies indicate that NT-proBNP can be used in diagnostic and prognostic applications.<sup>7-13</sup> 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.<sup>10,11</sup>

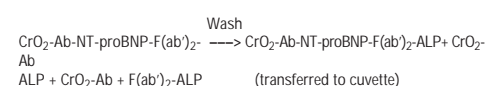
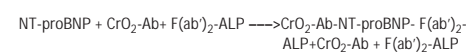
Fisher et al found that congestive heart failure patients with elevated NT-proBNP values had a one year mortality rate of 53% compared to 11% in patients with lower values<sup>12</sup>. In the Gusto IV study which involved more than 6800 patients it was shown that NT-proBNP was the strongest independent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

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<sup>14,15</sup>. 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.<sup>15,16,17</sup>

**Principles of Procedure:** The PBNP method is a one step enzyme immunoassay based on the "sandwich" principle. Sample is incubated with chromium dioxide particles coated with polyclonal antibodies which recognize epitopes located in the N-terminal part of proBNP, and a conjugate reagent [alkaline phosphatase (ALP)] labeled polyclonal antibody specific for a second independent epitope on NT-proBNP, to form a particle/NT-proBNP/conjugate sandwich. Unbound conjugate is removed by magnetic separation and washing. After separation and washing, the particle/NT-proBNP/conjugate sandwich is transferred to the cuvette where the sandwich bound ALP triggers an amplification cascade.\* ALP dephosphorylates synthetic flavin adenine dinucleotide phosphate (FADP) to produce FAD. FAD binds to apo D-amino acid oxidase and converts it to active holo D-amino acid oxidase. Each molecule of holo D-amino acid oxidase produces multiple molecules of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the presence of horseradish peroxidase (HRP), converts 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid (DCHBS) and 4-aminoantipyrene (4-AAP) to a colored product that absorbs at 510 nm. The color change measured is directly proportional to the concentration of NT-proBNP present in the patient sample.

\*Technology licensed from London Biotechnology, Ltd., London, U.K.



### Reagents

Wells <sup>a</sup>	Form	Ingredient	Concentration <sup>b</sup>	Source
1,2	Tablets <sup>c</sup>	FADP	0.056 mg/mL	
		D-proline	68.8 mg/mL	
3,4	Tablets <sup>c</sup>	Apo-D-amino acid oxidase	0.23 mg/mL	Porcine Kidney
		Horseradish peroxidase	0.19 mg/mL	Horseradish
		DCHBS	3.9 mg/mL	
		4-AAP	0.94 mg/mL	
5	Empty			
6	Tablets <sup>c</sup>	Antibody-CrO <sub>2</sub>	1.3 mg/mL <sup>d</sup>	Sheep
7	Liquid	Buffer and stabilizers		
8	Liquid	Antibody-Alkaline phosphatase <sup>d</sup>		Sheep
		Buffer and stabilizers		

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

b. Nominal value in hydrated cartridge.

c. Tablets contain excipients, buffers, and stabilizers.

d. Antibody titer and conjugate activity vary from lot to lot.

**Reagent Preparation:** Mixing and diluting are automatically performed by the instrument.

**Precautions:** Irritant. Contains 2-chloroacetamide. May cause sensitization by skin contact. Avoid contact with skin. Wear suitable gloves. Contains sodium azide (<0.1%) as a preservative. Sodium azide can react with copper or lead pipes in drain lines to form explosive compounds. Dispose of properly in accordance with local regulations.

**Used cuvettes contain human body fluids; handle with appropriate care to avoid skin contact or ingestion.**

For *in vitro* diagnostic use

**Storage Instructions:** Store at 2 – 8 °C.

**Expiration:** Refer to carton for expiration date of individual unopened reagent cartridges. Sealed or unhydrated cartridge wells on the instrument are stable for 30 days. Once wells 1, 2, 3 and 4 have been entered by the instrument, they are stable for 2.5 days. Once wells 6, 7 and 8 have been entered by the instrument, they are stable for 5 days.

\***Specimen Collection:** Plasma samples (lithium heparin and sodium heparin) can be collected using normal procedures.<sup>18</sup>

Comparison testing results on the Dimension® system for lithium heparin plasma samples versus sodium heparin plasma samples is provided as follows:

Comparative Specimen	Slope	Intercept	Correlation Coefficient	N
Na Heparin	0.95	0.9	0.998	55

Model equation by Passing-Bablok linear regression is: results for Dimension® system = [slope x (Li heparin results)] + intercept.

Serum samples should not be used with the PBNP method.

Samples are stable for three days when stored at 20 – 25 °C or 2 – 8 °C or for 12 months when frozen at -20 °C or below.<sup>19</sup> 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.

Blood collected in the presence of EDTA, citrate or oxalate and frozen plasma samples with insufficient anticoagulants potentially can cause clumping of the chrome particles and should not be used.

Each laboratory should determine the acceptability of its own blood collection tubes. Variations in these products may exist between manufacturers and, at times, from lot-to-lot.

### Potential Interfering Substances

The following substances have no significant effect (less than 10 %) when added to approximately 125 pg/mL NT-proBNP at the concentrations indicated:

Compound	Concentration
Acetaminophen	20 mg/dL [1323 µmol/L] <sup>e</sup>
Allopurinol	2.5 mg/dL [184 µmol/L]
Amiodarone	20 µg/mL [31 µmol/L]
Amikacin	15 mg/dL [256 µmol/L]
Amidopine Besylate	4 µg/mL [7.1 µmol/L]
Ampicillin	5 mg/dL [143 µmol/L]
Ascorbic Acid	3 mg/dL [170.3 µmol/L]

Atenolol	1.0 mg/dL	[37.6 µmol/L]
Bilirubin, conjugated	60 mg/dL	[1026 µmol/L]
Bilirubin, unconjugated	20 mg/dL	[342 µmol/L]
Caffeine	10 mg/dL	[515 µmol/L]
Captopril	5.0 mg/dL	[230 µmol/L]
Carbamazepine	12 mg/dL	[508 µmol/L]
Chloramphenicol	25 mg/dL	[774 µmol/L]
Chlordiazepoxide	2 mg/dL	[67 µmol/L]
Chlorpromazine	5 mg/dL	[157 µmol/L]
Cholesterol	500 mg/dL	[12.9 mmol/L]
Cimetidine	10 mg/dL	[396 µmol/L]
Creatinine	30 mg/dL	[2652 µmol/L]
Cyclosporine A	4000 ng/mL	[3.3 µmol/L]
Dextran75	2500 mg/dL	[333 µmol/L]
Diazepam	2 mg/dL	[70 µmol/L]
Diclofenac	60 µg/mL	[188.6 µmol/L]
Digitoxin	60 ng/mL	[78.6 nmol/L]
Digoxin	5 ng/mL	[6.4 nmol/L]
Diltiazem	120 µg/mL	[266.1 µmol/L]
Dipyridamole	30 µg/mL	[59.4 µmol/L]
Erythromycin	20 mg/dL	[273 µmol/L]
Ethanol	350 mg/dL	[76 mmol/L]
Ethosuximide	30 mg/dL	[2125 µmol/L]
Furosemide	2 mg/dL	[61 µmol/L]
Gentamicin	12 mg/dL	[251 µmol/L]
Hemoglobin (monomer)	1000 mg/dL	[0.62 mmol/L]
Heparin, sodium	8 IU/mL	[8000 IU/L]
Hydralazine	20 µg/mL	[101.7 µmol/L]
Hydrochlorothiazide	20 µg/mL	[67.2 µmol/L]
Ibuprofen	40 mg/dL	[1939 µmol/L]
Indomethacin	16 µg/mL	[36.9 µmol/L]
Isosorbide dinitrate	6.0 mg/dL	[254 µmol/L]
Lidocaine	6 mg/dL	[256 µmol/L]
Lipemia (triglyceride)	3000 mg/dL	[33.9 mmol/L]
Lisinopril	16 µg/mL	[36.2 µmol/L]
Lithium chloride	3.5 mg/dL	[5.07 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]
Nicotine	2 mg/dL	[123 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	[25,000 U/L]
Pentobarbital	10 mg/dL	[442 µmol/L]
Phenobarbital	15 mg/dL	[646 µmol/L]
Phenytoin	10 mg/dL	[396 µmol/L]
Primidone	10 mg/dL	[458 µmol/L]
Probenecid	200 µg/mL	[700.9 µmol/L]
Propoxyphene	0.4 mg/dL	[12 µmol/L]
Propranolol	0.15 mg/dL	[5.1 µmol/L]
Protein, human albumin	6 g/dL	[60 g/L]
Protein, human IgG	6 g/dL	[60 g/L]
Protein, total high	12 g/dL	[120 g/L]
Protein, total low	3-4 g/dL	[30 - 40 g/L]
Quinidine	20 µg/mL	[61.6 µmol/L]
Rheumatoid Factors	500 IU/mL	[500,000 IU/L]
Salicylic acid	50 mg/dL	[3.6 mmol/L]
Simvastatin	32 µg/mL	[76.5 µmol/L]
Sulfamethoxazole	320 µg/mL	[1263.3 µmol/L]
Theophylline	25 mg/dL	[1388 µmol/L]
Trimethoprim	64 µg/mL	[220.7 µmol/L]
Urea	500 mg/dL	[83.3 mmol/L]
Uric acid	20 mg/dL	[1.2 mmol/L]
Valproic acid	50 mg/dL	[3467 µmol/L]
Verapamil	16 mg/dL	[0.33 µmol/L]
Warfarin	4 µg/mL	[13.0 µmol/L]

e. Systeme International d'Unites (SI Units) are in brackets

#### Procedure

##### Materials provided

PBNP Flex® reagent cartridge, Cat. No. RF423

##### Materials needed but not provided

Dimension® PBNP Calibrator, Cat. No. RC423

Reaction Vessels, Cat. No. RXV1A

Chemistry Wash, Cat. No. RD701

Probe Cleaner, Cat. No. RD702

Sample Probe Cleaner, Cat. No. RD703

Sample Diluent, Cat. 791092901

Quality Control products such as:

MAS® and Cardiolmmune® proBNP Liquid Assayed Cardiac Marker Control

BioRad Liquichek™ Cardiac Markers Control LT

Audit™ MicroFD™ BNP Control

MAS® and Cardiolmmune® are registered trademarks of Medical Analysis Systems, Inc. Camarillo, CA

Liquichek™ is a trademark of BioRad, Bio-Rad Laboratories, Diagnostics Group, Irvine, California 92618

Audit™ and MicroFD™ are trademarks of Audit™ MicroControls, Inc. Las Vegas, NV 89102

##### Test Steps

Sampling, reagent delivery, mixing, processing, and printing of results are automatically performed by the Dimension® system with heterogenous immunoassay module. For details of this processing, refer to your Dimension® system manual.

##### Test Conditions

##### Reaction Vessel

Sample Volume:	50 µL
Antibody-CrO <sub>2</sub> :	25 µL
Antibody-ALP:	40 µL
Temperature	37 °C ± 1.0 °C
Incubation period	6.4 minutes

<b>Cuvette</b>	<b>Reaction</b>	<b>Blanking</b>
Transfer Volume	40 µL	0 µL
FADP Reagent Volume	30 µL	30 µL
APO Reagent Volume	30 µL	30 µL
Diluent Volume	350 µL	390 µL
Temperature	37 °C ± 0.1 °C	
Reaction Period	5.4 minutes	
Wavelength	510 and 700 nm	
Type of measurement	Bichromatic Rate	
Units	pg/mL	

##### Calibration

The general calibration procedure is described in your Dimension® system manual. The following information should be considered when calibrating the PBNP method:

**PBNP requires lot specific calibration scalars. See PBNP Flex® carton label. These scalars must be entered in the calibration screen prior to calibration. Failure to enter these scalars will cause inaccurate results.**

Assay Range	10 – 30,000 pg/mL
Reference Material:	Dimension® PBNP Calibrator (Cat. No. RC423)
Calibration Range:	0 - 30,000 pg/mL
Calibration Levels	0, 300, 1500, 12,000, 30,000 pg/mL
Calibration Scheme:	Five levels. Level 1 is tested in quadruplicate. Levels 2, 3 and 5 are tested in triplicate. Level 4 is tested in duplicate. Assure that enough sample is dispensed in each cup to allow for the number of determinations for each level during calibration.
Calibration Frequency:	Every new reagent lot. or Every 30 days for any one lot.
Starting Coefficients:	C <sub>0</sub> -2826.0 C <sub>1</sub> 16014.0 C <sub>2</sub> -2.2 C <sub>3</sub> 18293.0 C <sub>4</sub> 0.5
Calibration Scalars	See carton label. Flex® lot specific scalars must be entered in the calibration screen prior to calibration.
A, B, C and D:	

##### Quality Control

At least once each day of use, analyze two levels of quality control material with known NT-proBNP concentration. Test results are invalid if they fall outside of the laboratory's acceptable limits. Follow the procedure outlined in your Dimension® system manual.

A system malfunction may exist if the following 5-test precision is observed:

<b>Concentration</b>	<b>S.D.</b>
150 pg/mL	>15 pg/mL
450 pg/mL	>45 pg/mL

**Results:** The Dimension® system automatically calculates concentrations of NT-proBNP in pg/mL using the calculation scheme illustrated in your Dimension® system manual. Results of this test should always be interpreted in conjunction with the patient's medical history, clinical presentation and other findings.

##### Limitations of Procedure

Results < 10.0 pg/mL should be reported as "less than 10.0 pg/mL" instead of the numerical value.

Manual dilutions: > 30,000 pg/mL  
Results in excess of 30,000 pg/mL should be repeated after diluting the sample with Dimension® PBNP calibrator Level 1 or Dimension® Sample Diluent to obtain results within the assay range. Enter dilution factor. Reassay. Resulting readout is corrected for dilution.

Autodilution (AD): Autodilution is not recommended for this method.

One-step immunometric assays 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.<sup>20</sup> Such samples must be diluted and reassayed prior to reporting the results (see dilution information listed above). The PBNP method shows no hook effect up to at least 300,000 pg/mL.

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.<sup>21</sup>

The instrument reporting system contains error messages to warn the operator of specific malfunctions. Any report slip containing such error messages should be held for follow-up. Refer to your Dimension® system manual.

**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 PBNP method as determined on the Dimension® system. The recommended decision thresholds from these distributions are:

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

1st fold

2nd fold

12" @ 100%

### Reference Study Group

NT-proBNP concentration was determined in 308 individuals without congestive heart failure (163 women and 145 men). 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.

All	<55 yrs	55 - 64 yrs	65 - 74 yrs	≥ 75 yrs
Mean	32.1	39.1	83.1	353.6
SD	38.2	46.2	54.6	775.8
Median	17.9	18.8	59.5	125.6
95 <sup>th</sup> Percentile	81.9	163.1	202.6	1372.8
% < 125 pg/mL	97%	93%	88%	-
% < 450 pg/mL	-	-	-	83%
N	163	15	8	122
Males	<55 yrs	55 - 64 yrs	65 - 74 yrs	≥ 75 yrs
Mean	29.7	37.9	76.0	414.3
SD	42.5	41.6	-	889.0
Median	13.4	13.4	76.0	111.8
95 <sup>th</sup> Percentile	134.4	114.3	76.0	1475.7
% < 125 pg/mL	95%	100%	100%	-
% < 450 pg/mL	-	-	-	77%
N	76	6	1	62
Females	<55 yrs	55 - 64 yrs	65 - 74 yrs	≥ 75 yrs
Mean	34.2	39.9	84.1	291.0
SD	34.0	51.6	58.9	639.7
Median	23.7	18.8	59.5	131.3
95 <sup>th</sup> Percentile	75.8	163.1	202.6	1080.7
% < 125 pg/mL	99%	89%	86%	-
% < 450 pg/mL	-	-	-	88%
N	87	9	7	60

### Disease Study Group

Blood samples were obtained from 227 patients diagnosed with congestive heart failure (CHF). The population included 69 women and 158 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	2400.1	3120.7	4167.4	4579.3
SD	3855.9	8809.1	8550.7	8721.2
Median	660.5	533.3	1506.7	2513.4
95 <sup>th</sup> Percentile	10961.2	16817.2	10889.3	11398.6
% > 125 pg/mL	79%	73%	90%	-
% > 450 pg/mL	-	-	-	91%
N	48	49	61	69

CHF Population - Males	<55 yrs	55 - 64 yrs	65 - 74 yrs	≥ 75 yrs
Mean	2748.2	3475.1	4427.8	5773.0
SD	4179.3	10332.0	9669.3	10238.5
Median	1148.2	821.7	1273.4	3086.6
95 <sup>th</sup> Percentile	12127.1	16817.2	10889.3	14118.8
% > 125 pg/mL	77%	84%	89%	-
% > 450 pg/mL	-	-	-	92%
N	34	32	45	47

CHF Population - Females	<55 yrs	55 - 64 yrs	65 - 74 yrs	≥ 75 yrs
Mean	1554.7	2453.7	3435.2	2028.9
SD	2886.2	5024.5	4175.0	2581.3
Median	257.8	492.9	1828.4	1077.1
95 <sup>th</sup> Percentile	10961.2	20855.8	13287.1	8891.2
% > 125 pg/mL	86%	53%	94%	-
% > 450 pg/mL	-	-	-	91%
N	14	17	16	22

CHF Population - All NYHA Functional Class	NYHA Functional Class				
	All CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Mean	3693.0	1492.9	2124.5	5423.2	7134.5
SD	7911.8	2260.2	2946.1	10692.5	11900.1
Median	1422.0	659.2	1077.1	2636.5	2754.5
5 <sup>th</sup> Percentile	59.3	47.9	29.4	117.4	76.4
95 <sup>th</sup> Percentile	11398.6	5748.8	8344.4	13287.1	20855.8
% > Cutoff	85%	76%	83%	90%	90%
Minimum	17.6	21.7	17.6	60.3	50.6
Maximum	70025.3	10613.6	16817.2	70025.3	63515.3
N	227	53	72	71	31

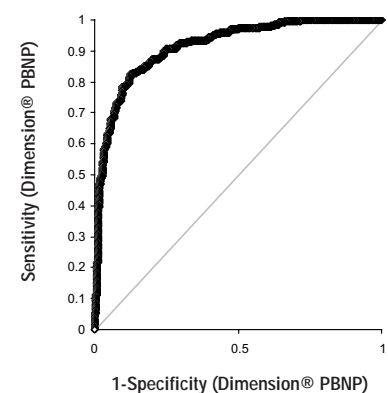
CHF Population - Males NYHA Functional Class	NYHA Functional Class				
	All CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Mean	4273.6	1706.9	2582.3	6273.3	9300.3
SD	9109.3	2242.9	3238.0	12099.8	15619.8
Median	1710.7	938.6	1273.4	3269.9	2717.1
5 <sup>th</sup> Percentile	60.3	57.8	33.1	122.1	76.4
95 <sup>th</sup> Percentile	13600.1	5748.8	8344.4	15686.3	63515.3
% > Cutoff	86%	81%	83%	93%	88%
Minimum	21.7	21.7	27.3	60.3	76.4
Maximum	70025.3	10613.6	16817.2	70025.3	63515.3
N	158	41	48	53	16

CHF Population - Females NYHA Functional Class	NYHA Functional Class				
	All CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Mean	2363.5	761.6	1208.8	2920.1	4824.3
SD	3725.4	1301.7	2013.8	3749.6	5565.2
Median	933.5	232.6	550.2	1933.5	2754.5
5 <sup>th</sup> Percentile	50.6	47.9	24.4	103.2	50.6
95 <sup>th</sup> Percentile	10375.0	4723.5	2524.6	13287.1	20855.8
% > Cutoff	81%	58%	83%	83%	93%
Minimum	17.6	47.9	17.6	103.2	50.6
Maximum	20855.8	4723.5	10029.4	13287.1	20855.8
N	69	12	24	18	15

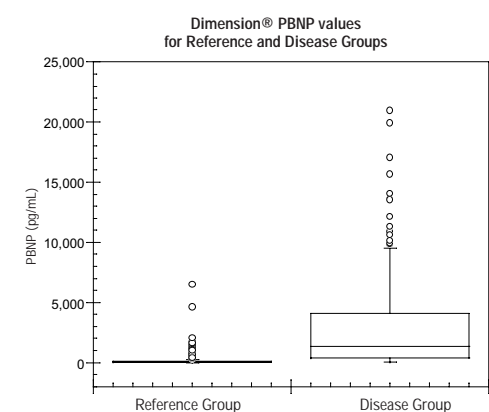
These results show that there is a relationship between the severity of the clinical signs and symptoms of CHF and the median NT-proBNP concentration, demonstrating that the Dimension® PBNP Method can be used as an aid in the diagnosis of all degrees of CHF severity including asymptomatic patients.

### Interpretation of Results

The Receiver Operator Characteristics (ROC) Curve presents the clinical sensitivity and specificity at various cutoffs for the 227 patients diagnosed with CHF and 308 subjects without CHF. The ROC curve for the Dimension PBNP assay is shown below. The area under ROC curve (AUC) for the Dimension PBNP assay is 0.921 with a 95% confidence interval of 0.898 to 0.943.



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. Three 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® 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	84% (93/111)	92% (43/47)
95% Confidence Interval	77 - 91	84 - 99
Specificity	95% (79/83)	77% (48/62)
95% Confidence Interval	91 - 100	67 - 88

Females	<75 yrs	≥ 75 yrs
Sensitivity	77% (36/47)	91% (20/22)
95% Confidence Interval	64 - 89	79 - 100
Specificity	97% (100/103)	88% (53/60)
95% Confidence Interval	94 - 100	80 - 96

### Age -matched ROC analysis

An age-matched ROC analysis of the clinical data was performed via the weighted method described in Kondratovich (2002)<sup>22</sup>. The resulting AUC is 0.925 with a 95% confidence interval of 0.903 to 0.946.

### Specific Performance Characteristics<sup>f</sup>

Material	Reproducibility <sup>g</sup>				
	Mean (pg/mL)	Within-Run Precision		Total Precision	
		SD (pg/mL)	%CV	SD (pg/mL)	%CV
Human Plasma					
Pool 1	159.0	3.4	2.2	9.1	5.7
Internal QC Pools					
Pool 1	449.5	8.1	1.8	16.6	3.7
Pool 2	956.7	15.3	1.6	34.9	3.6
Audit™ MicroFD™ BNP Control					
Level 1	175.5	2.0	1.1	6.8	3.8
Level 2	3733.8	71.8	1.9	115.9	3.1

f. All specific performance characteristics tests were run after normal recommended equipment quality control checks were performed (Refer to your Dimension® system manual).

g. Reproducibility testing was done in accordance with the NCCLS Approved Guideline for User Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices EP5-A, 1999. Specimens at each level were analyzed in duplicate once per day for 20 days. The within-run and total standard deviations were calculated by the analysis of variance method.

### Correlation

A method comparison study was performed to demonstrate equivalency of the Dimension® PBNP and Elecsys® proBNP assays. Samples for the study were obtained from patients known to have CHF (n=224), patients with signs and symptoms suggestive of CHF (n=17), and randomly selected patients without knowledge of medical history or diagnosis (n=111).

### Regression Statistics<sup>h,i,j</sup>

Comparative Method	Slope	Intercept pg/mL	Correlation Coefficient	n
Elecsys® proBNP	0.90 (95% CI: 0.88 to 0.92)	-15.4 (95% CI: -25.0 to -8.9)	0.985	352

h. Model equation for regression statistics is: results for Dimension® system = [Slope x (comparative method results)] + intercept.

i. The range of PBNP values in the correlation study was: 16.1 - 29,893.1 pg/mL.

j. Elecsys® Systems is a registered trademark of Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim. US Distributor: Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN 46250-0457 USA.

### Functional Sensitivity

Functional sensitivity of Dimension® PBNP is ≤ 30.0 pg/mL. Functional sensitivity is the lowest NT-proBNP concentration that can be measured with a total precision coefficient of variation of 20%.

### Analytical Specificity

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 <sub>28</sub>	3.1 µg/mL
NT-proANP <sub>1-30</sub> (preproANP <sub>26-55</sub> )	3.5 µg/mL
NT-proANP <sub>31-67</sub> (preproANP <sub>56-92</sub> )	1.0 ng/mL
NT-proANP <sub>79-98</sub> (preproANP <sub>104-123</sub> )	1.0 ng/mL
BNP <sub>32</sub> (Natreacor®)	3.5 µg/mL
CNP <sub>22</sub>	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

The analytical sensitivity of the PBNP method is ≤10.0 pg/mL. Analytical sensitivity is defined as the concentration at two standard deviations (N=20) above a sample devoid of PBNP, such as the PBNP Level 1 Calibrator (0 pg/mL).

### Dilutional Linearity

A patient plasma sample with a high NT-proBNP concentration was diluted across the assay range. Two 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	Sample C
Starting Concentration (pg/mL)	35979	4616	1037
<b>Regression Statistics</b>			
Slope	0.954	0.990	1.030
Intercept	511.9	-8.5	-1.6
Correlation Coefficient	0.999	1.000	0.999
N	6	6	6
<b>% Recovery</b>			
Average	99.8	98.6	101.0
Range	95.9-104.5	96.4-100.0	96.8-103.8

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:

- 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.
- 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.
- de Bold AJ. Atrial natriuretic factor: A hormone produced by the heart. Science 1985; 230:767 - 770.
- Valli N, Gobinet A, Bordernave L. Review of 10 years of the clinical use of brain natriuretic peptide in cardiology. J Lab Clin Med 1999;134:437-444.
- de Bold AJ, Boerenstein HB, Varess AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial extracts in rats. Life Sci 1981;28:89-94.
- 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.
- Struthers AD. How to use natriuretic peptide levels for diagnosis and prognosis. The European Society of Cardiology. Eur Heart J 1999;20:1374-1375.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Fisher C et al. NT-proBNP predicts prognosis in patients with chronic heart failure. Heart 2003; 89:879-881.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3<sup>rd</sup> edition, W.B Saunders Co. Philadelphia, PA 1999 pp. 42-72 (specimen collection).
- Elecsys® proBNP Assay Package Insert Sheet, Roche Diagnostics GmbH, December 2003.
- Ryall RG, Story CJ, and Turner DR. Reappraisal of the causes of the "hook effect" in two-site immunoradiometric assays. Anal Biochem 982;127:308 - 315.
- Vaidya HC, Beatty BG. Eliminating interference from heterophilic antibodies in a two-site immunoassay for creatine kinase MB by using F(ab')<sub>2</sub> conjugate and polyclonal mouse IgG. Clin Chem 1992;38:1737-1742.
- Kondratovich, M (2002). Matched Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis and propensity scores. Proceedings of the 2002 Joint Statistical Meeting, Biopharmaceutical Section, New York, NY.

Dimension® and Flex® are registered trademarks of Dade Behring Inc., in the U. S. Patent and Trademark Office, in Germany and many other countries.

\* An asterisk in the margin denotes a revised section.

DADE BEHRING

Dimension® clinical chemistry system  
Heterogeneous Immunoassay Module

Flex® reagent cartridge

PBNP

N-terminales Pro-B-Typ-natriuretisches Peptid Flex®-Reagenzkassette

**Verwendungszweck:** Der PBNP-Test wird auf dem klinisch-chemischen System Dimension® mit heterogenem Immunoassay-Modul als *in vitro*-diagnostischer Test für die quantitative Bestimmung von NT-proBNP (N-terminales pro-B-Typ-natriuretisches Peptid) in Humanplasma verwendet. Bei Patienten mit vermuteter kongestiver Herzinsuffizienz (CHF) werden Bestimmungen von NT-proBNP in der Diagnose und zur Einschätzung des Schweregrads eingesetzt. Der Test ist außerdem indiziert für die Risikostratifizierung von Patienten mit akutem Koronarsyndrom und Herzinsuffizienz.

**Zusammenfassung:** Eine linksventrikuläre Dysfunktion kann als Teil einer koronaren Herzerkrankung, bei arterieller Bluthochdruck, einem kongestiven Herzfehler oder bei primärer Kardiomyopathie auftreten. Wenn die linksventrikuläre Dysfunktion unbehandelt bleibt und progressiv ist, ist das Sterblichkeitsrisiko, z.B. durch Herztod, hoch.

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 klassifiziert. Zur Diagnose einer linksventrikulären Dysfunktion werden klinische Tests und Bildgebungsverfahren eingesetzt.<sup>1</sup>

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.<sup>2</sup> 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).<sup>3,4</sup>

ANP und BNP haben natriuretische und diuretische Eigenschaften. Als Antagonisten des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems beeinflussen sie den Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushalt im Organismus.<sup>5,6</sup> Bei Patienten mit linksventrikulärer Dysfunktion sind die Serum- und Plasmakonzentrationen von BNP erhöht, ebenso wie die des biologisch inaktiven Pro-Hormons, proBNP. 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.<sup>4</sup>

Studien weisen darauf hin, dass NT-proBNP in diagnostischen und prognostischen Anwendungen eingesetzt werden kann.<sup>7-13</sup> Die Konzentration von NT-proBNP im Plasma erlaubt eine Prognose für linksventrikuläre Dysfunktion. Die Substanz 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.<sup>10,11</sup>

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

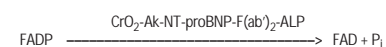
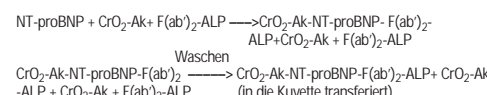
Die Fachgruppe für die Diagnose und Behandlung chronischer Herzinsuffizienz der europäischen Gesellschaft für Kardiologie sagt in ihren Richtlinien, dass natriuretische Peptide einschließlich NT-proBNP "als Ausschlussstest klinisch außerordentlich nützlich sein könnten aufgrund ihrer konsistenten und sehr hohen negativen prädiktiven werten".

NT-proBNP-Konzentrationen sind erhöht bei Patienten mit instabiler Angina und nach einem Myokardinfarkt.<sup>14,15</sup> Obwohl sie nicht als ausreichende Diagnose für diese Zustände gelten, bieten NT-proBNP-Werte mehreren Studien zufolge prognostische Daten für die Stratifikation kurz- und langfristiger Risiken bei Patienten mit instabiler Angina oder Myokardinfarkt.<sup>15,16,17</sup>

**Grundlagen des Verfahrens:** Die PBNP-Methode ist ein Einstufen-Enzym-Immunoassay nach dem "Sandwich"-Prinzip. Die Probe wird mit Chromdioxid-Partikeln, die mit polyklonalen Antikörpern beschichtet sind, die am N-terminalen Teil von proBNP lokalisierte Epitope erkennen, sowie mit einem Konjugatreagenz [mit alkalischer Phosphatase (ALP) markierter polyklonaler Antikörper, der für ein zweites, unabhängiges Epitop am NT-proBNP spezifisch ist] inkubiert. Es bildet sich ein Sandwich-Komplex aus Partikel/NT-proBNP/Konjugat. Ungebundenes Konjugat wird durch magnetische Trennung und Waschen entfernt. Nach Trennung und Waschen wird der Partikel/NT-proBNP/Konjugatkomplex in die Küvette transferiert, wo das im Sandwich gebundene ALP eine Verstärkungskaskade aktiviert. \* ALP dephosphoryliert synthetisches Flavin-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (FADP) zu FAD. FAD bindet sich an Apo-D-Aminosäureoxidase und wandelt diese in aktive Holo-D-Aminosäureoxidase um. Jedes Molekül Holo-D-Aminosäureoxidase produziert mehrere Moleküle Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> wandelt bei Vorhandensein von Meerrettichperoxidase (HRP) 3,5-Dichloro-2-

Hydroxybenzolsulfonsäure (DCHBS) und 4-Aminoantipyrin (4-AAP) in ein farbiges Produkt um, das Licht bei 510 nm absorbiert. Die gemessene Farbänderung ist direkt proportional zur Konzentration von NT-proBNP in der Patientenprobe.

\*Technologie lizenziert von London Biotechnology Ltd., London, UK.



Reagenzien

Zelle <sup>a</sup>	Konsistenz	Inhaltsstoff	Konzentration <sup>b</sup>	Quelle
1,2	Tabletten:	FADP	0.056 mg/ml	
		D-prolin	68.8 mg/ml	
3,4	Tabletten:	Apo-D-Aminosäureoxidase	0.23 mg/ml	Schweineniere
		Meerrettichperoxidase	0.19 mg/ml	Meerrettich
		DCHBS	3.9 mg/ml	
		4-AAP	0.94 mg/ml	
5	Leer			
6	Tabletten:	Antikörper-CrO2	1.3 mg/ml <sup>d</sup>	Schaf
7	Flüssig	Puffer und Stabilisatoren		
8	Flüssig	Antikörper/alkalische Phosphatase <sup>d</sup> Puffer und Stabilisatoren		Schaf

- Die Zellen sind vom breiten Ende der Kassette aus durchgehend nummeriert.
- Nennwert in aufgelöster Kassette.
- Tabletten enthalten Füllstoffe, Puffer und Stabilisatoren.
- Der Antikörperlter und die Konjugataktivität schwanken von Charge zu Charge.

**Vorbereitung der Reagenzien:** Mischung und Verdünnung werden vom Gerät automatisch durchgeführt.

**Vorsichtsmaßnahmen:** Reizend. Enthält 2-Chloroacetamid. Sensibilisierung durch Hautkontakt möglich. Berührung mit der Haut vermeiden. Geeignete Schutzhandschuhe tragen. Enthält Natriumazid (< 0.1 %) als Konservierungsmittel. Natriumazid kann mit kupfer- oder bleihaltigen Abflussrohren explosive Verbindungen eingehen. Entsorgen Sie bitte ordnungsgemäß entsprechend den geltenden Richtlinien.

Gebrauchte Küvetten enthalten menschliche Körperflüssigkeiten; behandeln Sie die Küvetten mit der entsprechenden Vorsicht; vermeiden Sie Hautkontakt oder Verschlucken.

*In-vitro*-Diagnosticum.

**Lagerungsvorschriften:** Bei 2-8 °C lagern.

**Verfallzeit:** Verfalldatum einzelner ungeöffneter Reagenzkassetten siehe Umkarton. Versiegelte und unaufgelöste Zellen sind im Gerät 30 Tage stabil. Nach Punktion durch das Gerät sind Zellen 1, 2, 3 und 4 zweieinhalb Tage lang stabil. Nach Punktion durch das Gerät sind Zellen 6, 7 und 8 fünf Tage lang stabil.

**\*Probengewinnung:** Plasmaproben (Lithiumheparin und Natriumheparin) können mit normalen Verfahren entnommen werden.<sup>18</sup>

Ergebnisse der Vergleichstests auf dem Dimension-System für Lithiumheparin-Plasmaproben im Vergleich zu Natriumheparin-Plasmaproben:

Vergleichsprobe	Steigung	Achsabschnitt	Korrelationskoeffizient	n
Na-Heparin	0.95	0.9	0.998	55

Die Modellgleichung für die lineare Regression nach der Passing-Bablok-Methode lautet: Ergebnisse für Dimension ®-System = [Steigung x (Li-Heparin-Ergebnisse)] + Achsabschnitt.

Serumproben sollten für die PBNP-Methode nicht verwendet werden.

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.<sup>19</sup> Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

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

In EDTA, Citrat oder Oxalat gewonnene Blutproben sowie eingefrorene Plasmaproben mit unzureichenden Antikoagulantien können zur Verklumpung der Chrompartikeln führen und sollten daher nicht verwendet werden.

Jedes Labor sollte die Eignung seiner Blutentnahmeröhrchen festlegen. Die Beschaffenheit dieser Produkte variiert von Hersteller zu Hersteller und manchmal von Charge zu Charge.

### Potentielle Störsubstanzen

Die folgenden Substanzen haben keine signifikante Auswirkung (weniger als 10 %), wenn Sie in den genannten Konzentrationen zu Proben mit ungefähr 125 pg/ml NT-proBNP hinzugefügt werden.

Verbindung	Konzentration	Konzentration
Acetaminophen	20 mg/dl	[1323 µmol/l] <sup>e</sup>
Allopurinol	2.5 mg/dl	[184 µmol/l]
Amiodaron	20 µg/ml	[31 µmol/l]
Amikacin	15 mg/dl	[256 µmol/l]
Amiodipinbesylat	4 µg/ml	[7.1 µmol/l]
Ampicillin	5 mg/dl	[143 µmol/l]
Ascorbinsäure	3 mg/dl	[170.3 µmol/l]
Atenolol	1.0 mg/dl	[37.6 µmol/l]
Bilirubin, konjugiert	60 mg/dl	[1026 µmol/l]
Bilirubin, unkonjugiert	20 mg/dl	[342 µmol/l]
Koffein	10 mg/dl	[515 µmol/l]
Captopril	5.0 mg/dl	[230 µmol/l]
Carbamazepin	12 mg/dl	[508 µmol/l]
Chloramphenicol	25 mg/dl	[774 µmol/l]
Chlordiazepoxid	2 mg/dl	[67 µmol/l]
Chlorpromazin	5 mg/dl	[157 µmol/l]
Cholesterin	500 mg/dl	[12.9 mmol/l]
Cimetidin	10 mg/dl	[396 µmol/l]
Kreatinin	30 mg/dl	[2652 µmol/l]
Cyclosporin A	4000 ng/ml	[3.3 µmol/l]
Dextran75	2500 mg/dl	[333 µmol/l]
Diazepam	2 mg/dl	[70 µmol/l]
Diclofenac	60 µg/ml	[188.6 µmol/l]
Digitoxin	60 ng/ml	[78.6 nmol/l]
Digoxin	5 ng/ml	[6.4 nmol/l]
Diltiazem	120 µg/ml	[266.1 µmol/l]
Dipyridamol	30 µg/ml	[59.4 µmol/l]
Erythromycin	20 mg/dl	[273 µmol/l]
Ethanol	350 mg/dl	[76 mmol/l]
Ethosuximid	30 mg/dl	[2125 µmol/l]
Furosemid	2 mg/dl	[61 µmol/l]
Gentamicin	12 mg/dl	[251 µmol/l]
Hämoglobin (monomer)	1000 mg/dl	[0.62 mmol/l]
Heparin (Natrium)	8 IU/ml	[8000 IU/l]
Hydralazin	20 µg/ml	[101.7 µmol/l]
Hydrochlorothiazid	20 µg/ml	[67.2 µmol/l]
Ibuprofen	40 mg/dl	[1939 µmol/l]
Indomethacin	16 µg/ml	[36.9 µmol/l]
Isosorbid-Dinitrat	6.0 mg/dl	[254 µmol/l]
Lidocain	6 mg/dl	[256 µmol/l]
Lipämie (Triglyceride)	3000 mg/dl	[33.9 mmol/l]
Lisinopryl	16 µg/ml	[36.2 µmol/l]
Lithiumchlorid	3.5 mg/dl	[5.07 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]
Nikotin	2 mg/dl	[123 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	[25.000 U/l]
Pentobarbital	10 mg/dl	[442 µmol/l]
Phenobarbital	15 mg/dl	[646 µmol/l]
Phenytol	10 mg/dl	[396 µmol/l]
Primidon	10 mg/dl	[458 µmol/l]
Probenecid	200 µg/ml	[700.9 µmol/l]
Propoxyphen	0.4 mg/dl	[12 µmol/l]
Propranolol	0.15 mg/dl	[5.1 µmol/l]
Protein, humanes Albumin	6 g/dl	[60 g/l]
Protein, humanes IgG	6 g/dl	[60 g/l]
Protein, gesamt hoch	12 g/dl	[120 g/l]
Protein, gesamt niedrig	3-4 g/dl	[30 - 40 g/l]
Chininidin	20 µg/ml	[61.6 µmol/l]
Rheumafaktoren	500 IU/ml	[500,000 IU/l]
Salicylsäure	50 mg/dl	[3.6 mmol/l]
Simvastatin	32 µg/ml	[76.5 µmol/l]
Sulfamethoxazol	320 µg/ml	[1263.3 µmol/l]
Theophyllin	25 mg/dl	[1388 µmol/l]
Trimethoprim	64 µg/ml	[220.7 µmol/l]
Harnstoff	500 mg/dl	[83.3 mmol/l]
Harnsäure	20 mg/dl	[1.2 mmol/l]
Valproinsäure	50 mg/dl	[3467 µmol/l]
Verapamil	16 mg/dl	[0.33 µmol/l]
Warfarin	4 µg/ml	[13.0 µmol/l]

e. SI-Einheiten sind in Klammern angegeben.

### Verfahren

#### Gelieferte Materialien

PBNP Flex®-Reagenzkassette, Kat.-Nr. RF423

#### Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Dimension® PBNP-Kalibrator, Kat.-Nr. RC423

Reaktionsgefäße, Kat.-Nr. RXV1A

Waschlösung, Kat.-Nr. RD701

Nadelreinigungslösung, Kat.-Nr. RD702

Probennadelreinigungslösung, Kat.-Nr. RD703

Probenverdünnungslösung, Kat.-Nr. 791092901

Qualitätskontrollprodukte, wie z. B.:

MAS® Cardiolmmune® proBNP Liquid Assayed Cardiac Marker

Kontrollsubstanz

Bio-Rad Liquecheck™ Cardiac Markers Kontrollsubstanz LT

Audit™ MicroFD™ BNP Kontrollsubstanz

MAS® Cardiolmmune® sind eingetragene Handelsmarken von Medical Analysis

Systems, Inc. Camarillo, CA, USA

Liquecheck™ ist eine Handelsmarke von Bio-Rad Laboratories, Irvine, California

92618, USA

Audit™ und MicroFD™ sind Handelsmarken von Audit™ MicroControls, Inc. Las

Vegas, NV 89102, USA

#### Testschritte

Probennahme, Reagenzzugabe, Mischung und Bearbeitung sowie Ergebnisausdruck werden vom System Dimension® mit dem heterogenen Immunoassay-Modul automatisch durchgeführt. Weitere Informationen entnehmen Sie dem Dimension®-Systemhandbuch.

### Testbedingungen

#### Reaktionsgefäß

Probenvolumen:	50 µl	
Antikörper-CrO <sub>2</sub> :	25 µl	
Antikörper-ALP:	40 µl	
Temperatur	37 °C ± 1.0 °C	
Inkubationszeit	6.4 Minuten	
<b>Küvette</b>	<b>Reaktion</b>	<b>Leerwert</b>
Transfervolumen	40 µl	0 µl
FADP-Reagenzvolumen	30 µl	30 µl
APO-Reagenzvolumen	30 µl	30 µl
Verdünnungsvolumen	350 µl	390 µl
Temperatur	37 °C ± 0.1 °C	
Reaktionszeit	5.4 Minuten	
Wellenlänge	510 und 700 nm	
Messtyp	Kinetik, bichromatisch	
Einheiten	pg/ml	

#### Kalibration

Das allgemeine Kalibrierverfahren wird im Dimension®-Systemhandbuch beschrieben. Bei der Kalibration der PBNP-Methode ist folgendes zu beachten:

Für die Kalibration von PBNP sind chargenspezifischen Skaler-Werte erforderlich. Siehe Etikett des PBNP Flex®-Umkartons. Diese Skaler-Werte müssen vor der Kalibration im Kalibrationsbildschirm eingegeben werden. Andernfalls werden ungenaue Ergebnisse ermittelt.

Messbereich	10 – 30000 pg/ml
Referenzmaterial:	Dimension® PBNP-Kalibrator (Kat.-Nr. RC423)
Kalibrationsbereich:	0 - 30000 pg/ml
Kalibrator-Konzentrationen	0, 300, 1500, 12000, 30000 pg/ml
Kalibrierschema:	Fünf Level. Level 1 wird in Vierfachbestimmung analysiert. Level 2, 3 und 5 werden in Dreifachbestimmung analysiert. Level 4 wird in Doppelbestimmung analysiert. Achten Sie darauf, dass in jedes Cup genügend Probe gefüllt wird, um die Anzahl der Bestimmungen für jeden Level der Kalibration durchführen zu können. Jede neue Reagenzkassettencharge oder Alle 30 Tage für jede Charge
Kalibrierhäufigkeit:	Jede neue Reagenzkassettencharge oder Alle 30 Tage für jede Charge
Startkoeffizienten:	C <sub>0</sub> -2826.0 C <sub>1</sub> 16014.0 C <sub>2</sub> -2.2 C <sub>3</sub> 18293.0 C <sub>4</sub> 0.5
Skaler-Faktoren	Siehe Etikett des Umkartons. Diese Flex®-chargenspezifischen Faktoren müssen vor der Kalibration im Kalibrationsbildschirm eingegeben werden.
A, B, C und D:	

#### Qualitätskontrolle

Analysieren Sie mindestens einmal im täglichen Gebrauch zwei Level eines Qualitätskontrollmaterials mit bekannten NT-proBNP-Konzentrationen. Testergebnisse sind ungültig, wenn Sie außerhalb der zulässigen Grenzen des Labors liegen. Befolgen Sie die im Dimension®-Systemhandbuch gegebenen Anleitungen.

Treten die im folgenden aufgeführten Präzisionswerte über 5 Tests auf, kann es sich um eine Fehlfunktion des Systems handeln:

Konzentration	SA
150 pg/ml	>15 pg/ml
450 pg/ml	>45 pg/ml

#### Ergebnisse

Das Dimension®-System berechnet die Konzentration von NT-proBNP in pg/ml nach dem Berechnungsschema, das im Dimension®-Systemhandbuch dargestellt ist. Die Ergebnisse aus diesem Test sollten stets in Zusammenhang mit der Anamnese des Patienten, dem klinischen Erscheinungsbild und anderen Befunden interpretiert werden.

#### Grenzen des Verfahrens

Ergebnisse < 10.0 pg/ml sollte anstelle des numerischen Werts der Vermerk "unter 10.0 pg/ml" weitergegeben werden.

Manuelle Verdünnung: > 30000 pg/ml

Bei Ergebnissen von mehr als 30000 pg/ml sollte die Probe mit Dimension® PBNP-Kalibrator Level 1 oder Dimension® Probenverdünnungslösung verdünnt werden, um Ergebnisse innerhalb des Messbereichs zu erhalten. Verdünnungsfaktor eingeben. Test wiederholen. Im Ergebnisausdruck wird die Verdünnung berücksichtigt.

Automatische Verdünnung (AD): Automatische Verdünnung wird für diese Methode nicht empfohlen.

Immunometrische Ein-Schritt-Tests sind gegenüber einem "Hook-Effekt" bei hohen Konzentrationen anfällig, wobei ein Antigen-Überschuss die simultane Bindung der Bindungs- und Markierungsantikörper an ein einziges Analytmolekül verhindert.<sup>20</sup> Solche Proben müssen verdünnt und erneut analysiert werden, bevor die Ergebnisse weitergegeben werden (zur Verdünnung siehe oben). Die PBNP-Methode zeigt keinen Hook-Effekt bei Werten bis mindestens 300000 pg/ml.

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

Patientenproben können heterophile Antikörper enthalten, die in Immunoassays zu falsch erhöhten oder erniedrigten Ergebnissen führen können. Dieser Test wurde so entwickelt, dass eine Interferenz durch heterophile Antikörper minimal ist.<sup>21</sup>

1st fold

2nd fold

12" @ 100%



Das integrierte Meldesystem des Geräts enthält Fehlermeldungen, die das Bedienpersonal auf bestimmte Fehlfunktionen aufmerksam machen. Jedes Befundblatt, das solche Fehlermeldungen enthält, sollte für Folgemaßnahmen aufbewahrt werden. Siehe Dimension®-Systemhandbuch.

#### Erwartungswerte

Die NT-proBNP-Konzentrationen in der Referenzgruppe sind in den folgenden Tabellen aufgeführt. Jedes Labor sollte seinen eigenen Referenzbereich für die PBNP-Methode unter Verwendung des Dimension®-Systems festlegen. Die geeignetsten Entscheidungsgrenzwerte aus diesen Distributionen sind:

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

#### Referenzgruppe der Studie

Die NT-proBNP-Konzentration wurde ermittelt bei 308 Personen ohne kongestive Herzinsuffizienz (163 Frauen, 145 Männer). 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.

Alle	<55 Jahre	55 - 64 Jahre	65 - 74 Jahre	≥ 75 Jahre
Mittelwert	32.1	39.1	83.1	353.6
SD	38.2	46.2	54.6	775.8
Medianwert	17.9	18.8	59.5	125.6
95. Perzentile	81.9	163.1	202.6	1372.8
% < 125 pg/ml	97%	93%	88%	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	83%
n	163	15	8	122

Männer	<55 Jahre	55 - 64 Jahre	65 - 74 Jahre	≥ 75 Jahre
Mittelwert	29.7	37.9	76.0	414.3
SD	42.5	41.6	-	889.0
Medianwert	13.4	13.4	76.0	111.8
95. Perzentile	134.4	114.3	76.0	1475.7
% < 125 pg/ml	95%	100%	100%	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	77%
n	76	6	1	62

Frauen	<55 Jahre	55 - 64 Jahre	65 - 74 Jahre	≥ 75 Jahre
Mittelwert	34.2	39.9	84.1	291.0
SD	34.0	51.6	58.9	639.7
Medianwert	23.7	18.8	59.5	131.3
95. Perzentile	75.8	163.1	202.6	1080.7
% < 125 pg/ml	99%	89%	86%	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	88%
n	87	9	7	60

#### Erkrankungsgruppe der Studie

Es wurden Blutproben von 227 Patienten gewonnen, bei denen eine kongestive Herzinsuffizienz (CHF) diagnostiziert wurde. Die Population umschloss 69 Frauen und 158 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 Jahre	55 - 64 Jahre	65 - 74 Jahre	≥ 75 Jahre
Mittelwert	2400.1	3120.7	4167.4	4579.3
SD	3855.9	8809.1	8550.7	8721.2
Medianwert	660.5	533.3	1506.7	2513.4
95. Perzentile	10961.2	16817.2	10889.3	11398.6
% > 125 pg/ml	79%	73%	90%	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	91%
n	48	49	61	69

CHF Population – Männer	<55 Jahre	55 - 64 Jahre	65 - 74 Jahre	≥ 75 Jahre
Mittelwert	2748.2	3475.1	4427.8	5773.0
SD	4179.3	10332.0	9669.3	10238.5
Medianwert	1148.2	821.7	1273.4	3086.6
95. Perzentile	12127.1	16817.2	10889.3	14118.8
% > 125 pg/ml	77%	84%	89%	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	92%
n	34	32	45	47

CHF Population – Frauen	<55 Jahre	55 - 64 Jahre	65 - 74 Jahre	≥ 75 Jahre
Mittelwert	1554.7	2453.7	3435.2	2028.9
SD	2886.2	5024.5	4175.0	2581.3
Medianwert	257.8	492.9	1828.4	1077.1
95. Perzentile	10961.2	20855.8	13287.1	8891.2
% > 125 pg/ml	86%	53%	94%	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	91%
n	14	17	16	22

CHF Population – Alle	Alle CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Mittelwert	3693.0	1492.9	2124.5	5423.2	7134.5
SD	7911.8	2260.2	2946.1	10692.5	11900.1
Medianwert	1422.0	659.2	1077.1	2636.5	2754.5
5. Perzentile	59.3	47.9	29.4	117.4	76.4
95. Perzentile	11398.6	5748.8	8344.4	13287.1	20855.8
% > Cutoff	85%	76%	83%	90%	90%
Minimum	17.6	21.7	17.6	60.3	50.6
Maximum	70025.3	10613.6	16817.2	70025.3	63515.3
n	227	53	72	71	31

#### CHF Population – Männer

NYHA-Funktionsklasse	Alle CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Mittelwert	4273.6	1706.9	2582.3	6273.3	9300.3
SD	9109.3	2242.9	3238.0	12099.8	15619.8
Medianwert	1710.7	938.6	1273.4	3269.9	2717.1
5. Perzentile	60.3	57.8	33.1	122.1	76.4
95. Perzentile	13600.1	5748.8	8344.4	15686.3	63515.3
% > Cutoff	86%	81%	83%	93%	88%
Minimum	21.7	21.7	27.3	60.3	76.4
Maximum	70025.3	10613.6	16817.2	70025.3	63515.3
n	158	41	48	53	16

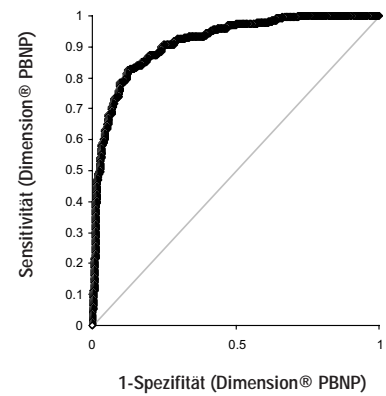
#### CHF Population – Frauen

NYHA-Funktionsklasse	Alle CHF	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Mittelwert	2363.5	761.6	1208.8	2920.1	4824.3
SD	3725.4	1301.7	2013.8	3749.6	5565.2
Medianwert	933.5	232.6	550.2	1933.5	2754.5
5. Perzentile	50.6	47.9	24.4	103.2	50.6
95. Perzentile	10375.0	4723.5	2524.6	13287.1	20855.8
% > Cutoff	81%	58%	83%	83%	93%
Minimum	17.6	47.9	17.6	103.2	50.6
Maximum	20855.8	4723.5	10029.4	13287.1	20855.8
n	69	12	24	18	15

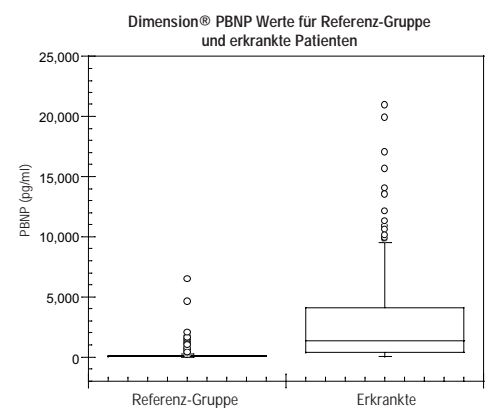
Diese Ergebnisse zeigen, dass eine Beziehung besteht zwischen der Schwere der klinischen Zeichen und Symptome von CHF und dem Mittelwert der NT-proBNP-Konzentration. Die Dimension® PBNP-Methode eignet sich daher zur Diagnose von CHF aller Schweregrade, einschließlich asymptomatischer Patienten.

#### Ergebnisinterpretation

Die Receiver-Operator-Characteristics (ROC) Kurve vergleicht die klinische Sensitivität und Spezifität bei verschiedenen Cutoffs für die 227 Patienten mit CHF und 308 Personen ohne CHF. Im Folgenden sehen Sie die ROC-Kurve für den Dimension PBNP-Test. Die Fläche unter der Kurve (AUK) für den Dimension PBNP-Test beträgt 0.921 mit einem 95%-Konfidenzintervall von 0.898 bis 0.943.



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. Drei Proben aus der Erkrankungsgruppe mit Werten oberhalb des Messbereichs sind in der Grafik nicht mit erfasst.



#### Sensitivität und Spezifität im Vergleich mit Alter und Geschlecht

Die folgenden Tabellen zeigen die klinische Sensitivität und Spezifität des Dimension® 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 Jahre	≥75 Jahre
Sensitivität	84% (93/111)	92% (43/47)
95% Konfidenzintervall	77 - 91	84 - 99
Spezifität	95% (79/83)	77% (48/62)
95% Konfidenzintervall	91 - 100	67 - 88

Frauen	<75 Jahre	≥75 Jahre
Sensitivität	77% (36/47)	91% (20/22)
95% Konfidenzintervall	64 - 89	79 - 100
Spezifität	97% (100/103)	88% (53/60)
95% Konfidenzintervall	94-100	80 - 96

### Altersangepasste ROC-Analyse

Eine altersangepasste ROC-Analyse der klinischen Daten wurde vorgenommen mit der in Kondratovich (2002)<sup>22</sup> beschriebenen, gewichteten Methode. Die sich ergebende AUK beträgt 0.925 mit einem 95%-Konfidenzintervall von 0.903 bis 0.946.

### Spezifische Funktionsmerkmale<sup>f</sup>

Material	Reproduzierbarkeit <sup>g</sup>			Gesamt	
	Mittelwert (pg/ml)	SD (pg/ml)	%VK	SD (pg/ml)	%VK
Humanplasma Pool					
Pool 1	159.0	3.4	2.2	9.1	5.7
Interne QC-Pools					
Pool 1	449.5	8.1	1.8	16.6	3.7
Pool 2	956.7	15.3	1.6	34.9	3.6
Audit™ MicroFD™ BNP Kontrollsubstanz					
Level 1	175.5	2.0	1.1	6.8	3.8
Level 2	3733.8	71.8	1.9	115.9	3.1

f. Alle Tests der spezifischen Funktionsmerkmale wurden durchgeführt, nachdem die normalen, empfohlenen Gerätequalitätskontrollen erfolgt waren (siehe Dimension®-Handbuch).

g. Die Reproduzierbarkeitstests wurden durchgeführt gemäß der NCCLS Approved Guideline for User Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices EP5-A, 1999. Proben jeder Konzentrationsstufe wurden in Doppelbestimmung ein Mal täglich an 20 Tagen analysiert. Die Standardabweichung in der Serie und die Gesamt-Standardabweichung wurden mit Hilfe einer Varianz-Analyse berechnet.

### Korrelation

Eine Methodenvergleichsstudie wurde durchgeführt, um die Gleichwertigkeit der beiden Methoden Dimension® PBNP und Elecsys® proBNP festzustellen. Die Proben für die Studie wurden von Patienten gewonnen, die bekanntermaßen CHF hatten (n=224), von Patienten, die Symptome von CHF zeigten (n=17) sowie von zufällig ausgewählten Personen ohne Kenntnis des medizinischen Hintergrunds oder der Diagnose (n=111).

### Regressionsstatistik<sup>h,i,j</sup>

Vergleichsmethode	Steigung	Achsabschnitt pg/ml	Korrelations-Koeffizient	n
Elecsys® proBNP	0.90 (95% CI: 0.88 - 0.92)	-15.4 (95% CI: -25.0 - (-8.9))	0.985	352

h. Die Modellgleichung für die Regressionsstatistik lautet: [Ergebnis für Dimension®-System = [Steigung x (Ergebnis Vergleichsmethode)] + Achsabschnitt].

i. Die PBNP-Werte in der Korrelationsstudie lagen zwischen 16.1 und 29.893.1 pg/ml.

j. Elecsys® Systems ist ein eingetragenes Warenzeichen von Roche Diagnostics GmbH, 68298 Mannheim. US-Distributor: Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN 46250-0457, USA.

### Funktionelle Sensitivität

Die funktionelle Sensitivität des Dimension® PBNP liegt bei ≤30 pg/ml. Die funktionelle Sensitivität ist die niedrigste NT-proBNP Konzentration die bei einem Gesamt-Präzisionskoeffizienten von 20% gemessen werden kann.

### Analytische Spezifität

Die Dimension® PBNP-Methode ist spezifisch für NT-proBNP und zeigt keine signifikante Kreuzreaktivität mit den folgenden Substanzen (getestet mit NT-proBNP-Konzentrationen von ca. 0 pg/ml und 125 pg/ml).

Substanz	Konzentration
ANP <sup>28</sup>	3.1 µg/ml
NT-proANP <sup>1-30</sup> (preproANP <sup>26-55</sup> )	3.5 µg/ml
NT-proANP <sup>31-67</sup> (preproANP <sup>56-92</sup> )	1.0 ng/ml
NT-proANP <sup>79-98</sup> (preproANP <sup>104-123</sup> )	1.0 ng/ml
BNP <sup>32</sup> (Natrecor®)	3.5 µg/ml
CNP <sup>22</sup>	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
Urodilatin	3.5 µg/ml
Arg-Vasopressin	1.0 ng/ml

### Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität der PBNP-Methode beträgt ≤ 10.0 pg/ml. Die analytische Sensitivität ist definiert als die Konzentration bei zwei Standardabweichungen (n=20) über dem Wert einer Probe ohne PBNP, wie z. B. dem PBNP-Level 1 Kalibrator (0 pg/ml).

### Verdünnungslinearität

Eine Patientenplasmaprobe mit einer hohen NT-proBNP-Konzentration wurde auf verschiedene Werte im Messbereich verdünnt. Zwei weitere 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	Probe C
Startkonzentration (pg/ml)	35979	4616	1037
<b>Regressionsstatistik</b>			
Steigung	0.954	0.990	1.030
Achsabschnitt	511.9	-8.5	-1.6
Korrelations-koeffizient	0.999	1.000	0.999
n	6	6	6
<b>% Wiederfindung</b>			
Mittelwert	99.8	98.6	101.0
Bereich	95.9-104.5	96.4-100.0	96.8-103.8

Hergestellt unter Lizenz von Roche Diagnostics.

US-Patent 5786163 und ausländische Entsprechungen

US-Patentanmeldung: 09/890442 und ausländische Entsprechungen

**Symbolschlüssel:** Siehe Verzeichnis im Anhang.

### Literatur:

- 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.
- 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.
- de Bold AJ. Atrial natriuretic factor: A hormone produced by the heart. Science 1985; 230:767 - 770.
- Valli N, Gobinet A, Bordernave L. Review of 10 years of the clinical use of brain natriuretic peptide in cardiology. J Lab Clin Med 1999;134:437-444.
- de Bold AJ, Boerstein HB, Varess AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial extracts in rats. Life Sci 1981;28:89-94.
- 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.
- Struthers AD. How to use natriuretic peptide levels for diagnosis and prognosis. The European Society of Cardiology. Eur Heart J 1999;20:1374-1375.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Fisher C et al. NT-proBNP predicts prognosis in patients with chronic heart failure. Heart 2003; 89:879-881.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition, W.B Saunders Co. Philadelphia, PA 1999 pp. 42-72 (specimen collection).
- Elecsys® proBNP Assay Package Insert Sheet, Roche Diagnostics GmbH, December 2003.
- 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.
- Vaidya HC, Beatty BG. Eliminating interference from heterophilic antibodies in a two-site immunoassay for creatine kinase MB by using F(ab')<sub>2</sub> conjugate and polyclonal mouse IgG. Clin Chem 1992;38:1737-1742.
- Kondratovich, M (2002). Matched Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis and propensity scores. Proceedings of the 2002 Joint Statistical Meeting, Biopharmaceutical Section, New York, NY.

Dimension® und Flex® sind eingetragene Warenzeichen von Dade Behring Inc., im US Patent and Trademark Office, in Deutschland sowie in vielen anderen Ländern.

\*Ein Sternchen am Rand kennzeichnet einen abgeänderten Teil.

## DADE BEHRING

Dimension® clinical chemistry system  
Heterogeneous Immunoassay Module

### Flex® reagent cartridge

### PBNP

#### Cartouche de réactifs Flex® N-terminal proBNP

**Utilisation :** Le coffret PBNP utilisé sur le système de chimie clinique Dimension® avec le module d'immunodosage en phase hétérogène est un dosage diagnostique *in vitro* utilisé pour la détermination quantitative du N-terminal proBNP (NT-proBNP) dans le plasma humain. Chez les personnes suspectées d'être atteintes d'une insuffisance cardiaque congestive, les mesures de NT-proBNP contribuent au diagnostic et à l'évaluation de la sévérité 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 le dysfonctionnement du ventricule gauche n'est pas traité et qu'il est évolutif, le risque de mortalité est élevé (mort cardiaque subite).

Une insuffisance cardiaque chronique est un syndrome clinique causé par un dérèglement de la fonction de pompage du cœur. D'après les symptômes, la sévérité de l'insuffisance cardiaque est classée par niveaux (I à IV) par la New York Heart Association (NYHA). Des tests cliniques et des procédures d'imagerie permettent de diagnostiquer un dysfonctionnement du ventricule gauche.<sup>1</sup>

La signification des peptides natriurétiques dans la commande de la fonction du système cardiovasculaire a été établie. Des études initiales révèlent que les peptides natriurétiques peuvent servir à diagnostiquer les problèmes cliniques associés à un dysfonctionnement du ventricule gauche.<sup>2</sup> Les peptides natriurétiques suivants ont été signalés dans les revues : peptide natriurétique auriculaire (ANP), peptide natriurétique de type B (BNP) et peptide natriurétique de type C (CNP).<sup>3,4</sup>

ANP et BNP ont des propriétés natriurétiques et diurétiques. En tant qu'antagonistes du système rénine-angiotensine-aldostérone, ils influent sur la balance des électrolytes et des fluides dans un organisme.<sup>5,6</sup> 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 pro hormone biologiquement inactive (proBNP). La proBNP comprend 108 acides aminés. Elle est principalement sécrétée par le ventricule gauche du cœur et, durant ce processus, est coupée en BNP physiologiquement active (77-108) et en fragment N-terminal NT-proBNP (1-76).<sup>4</sup>

Les études indiquent que la cartouche NT-proBNP peut être appliquée aux diagnostics et aux pronostics.<sup>7-13</sup> 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. Les changements de concentration de NT-proBNP permettent d'évaluer la réussite du traitement de patients atteints d'un dysfonctionnement du ventricule gauche. Les fonctions du NT-proBNP tendent à indiquer qu'il est adapté à l'évaluation du remodelage vasculaire et qu'il contribue par conséquent à la mise en place de procédures de rééducation personnalisées.<sup>10,11</sup>

Fisher et son équipe ont constaté que, chez les patients souffrant d'insuffisance cardiaque congestive présentant des taux élevés de NT-proBNP, le taux de mortalité sur un an était de 53 % comparativement à 11 %, chez les patients présentant des taux inférieurs.<sup>12</sup> L'étude Gusto IV, qui impliquait plus de 6800 patients, a révélé que NT-proBNP était le facteur de prédiction indépendant le plus puissant de la mortalité sur un an de patients atteint du syndrome coronarien aigu.<sup>13</sup>

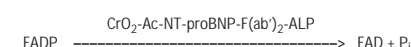
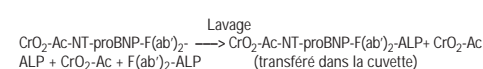
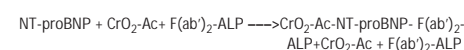
Le groupe de travail pour le diagnostic et le traitement de l'insuffisance cardiaque chronique de la Société Européenne de Cardiologie (ESC) recommande dans ses directives que les peptides natriurétiques, y compris le NT-proBNP, « peuvent être des plus utiles sur le plan clinique comme test d'exclusion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

Les niveaux de NT-proBNP sont augmentés chez les patients avec un angor instable et après un infarctus du myocarde.<sup>14,15</sup> 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.<sup>15,16,17</sup>

**Principe de la méthode :** La méthode PBNP est un immunodosage enzymatique en une étape basé sur le principe du « sandwich ». L'échantillon est incubé avec des particules de dioxyde de chrome enduites d'anticorps polyclonaux qui reconnaissent les épitopes situés sur la partie N-terminal du proBNP et un anticorps polyclonal marqué au réactif conjugué [phosphatase alcaline (ALP)] spécifique d'un second épitope indépendant sur NT-proBNP pour former un sandwich particule/NT-proBNP/conjugué. Le conjugué non lié est retiré par séparation magnétique et lavage. Après séparation et lavage, le sandwich particule/NT-proBNP/conjugué est transféré à la cuvette où l'ALP liée au sandwich déclenche une cascade d'amplification.\* L'ALP déphosphorylate le flavine-adenine dinucléotide phosphate (FADP) synthétique pour produire le FAD. Le FAD se lie à l'apo D-amino acide oxydase et la transforme en holo D-amino acide oxydase

active. Chaque molécule de holo D-amino acide oxydase produit plusieurs molécules de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). En présence de peroxydase de raifort (HRP), le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> transforme l'acide 3,5-dichloro-2-hydroxybenzènesulfonique (DCHBS) et la 4-aminoantipyrine (4-AAP) en un produit coloré qui absorbe à 510 nm. Le virage de couleur mesuré est directement proportionnel à la concentration de NT-proBNP présente dans l'échantillon du patient.

\*Technologie cédée sous licence par London Biotechnology, Ltd., London, U.K.



#### Réactifs

Puits <sup>a</sup>	Forme	Composition	Concentration <sup>b</sup>	Origine
1,2	Pastilles <sup>c</sup>	FADP	0.056 mg/ml	
		D-proline	68.8 mg/ml	
3,4	Pastilles <sup>c</sup>	Apo-D-amino acide oxydase	0.23 mg/ml	Rein de porc
		Peroxydase du raifort	0.19 mg/ml	Raifort
		DCHBS	3.9 mg/ml	
		4-AAP	0.94 mg/ml	
5	Vide			
6	Pastilles <sup>c</sup>	Anticorps-CrO2	1.3 mg/ml <sup>d</sup>	Mouton
7	Liquide	Tampon et stabilisant		
8	Liquide	Anticorps-Phosphatase alcaline <sup>d</sup>		Mouton
		Tampon et stabilisants		

- Les puits sont numérotés consécutivement, depuis l'extrémité la plus large de la cartouche.
- Valeur nominale dans la cartouche hydratée.
- Les pastilles contiennent des excipients, tampons et stabilisants.
- Le titre de l'anticorps et l'activité du conjugué peuvent varier d'un lot à l'autre.

**Préparation du réactif :** Le mélange et la dilution sont automatiquement réalisés par l'instrument.

**Précautions :** Irritant. Contient chloracetamide. Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. Éviter le contact avec la peau. Porter des gants appropriés. Contient de l'azoture de sodium (<0.1 %) comme conservateur. L'azoture de sodium peut réagir avec les tuyaux d'évacuation en cuivre ou en plomb et former des composés explosifs. Mettre au rebut conformément aux réglementations locales.

**Après utilisation, les cuves optiques contiennent des liquides d'origine humaine : manipuler avec soin pour éviter tout contact cutané ou toute ingestion.**

Pour usage diagnostique *in vitro*

**Conservation :** Conserver entre 2 et 8 °C.

**Expiration :** Se référer à l'emballage pour connaître la date d'expiration des cartouches de réactifs individuelles non ouvertes. Les puits scellés ou non hydratés de la cartouche sont stables dans l'instrument pendant 30 jours. Une fois percés par l'instrument, les puits 1, 2, 3 et 4 sont stables pendant 2.5 jours. Une fois percés par l'instrument, les puits 6, 7 et 8 sont stables pendant 5 jours.

**\*Prélèvement de l'échantillon :** Les échantillons de plasma se prélèvent selon les procédures standard (héparine-lithium et héparine-sodium).<sup>18</sup>

La comparaison des résultats des tests sur le système Dimension pour des échantillons de plasma à l'héparine-lithium et des échantillons de plasma à l'héparine-sodium est résumée dans le tableau ci-dessous :

Échantillon de comparaison	Pente	Ordonnée à l'origine	Coefficient de corrélation	N
Héparine-sodium	0.95	0.9	0.998	55

L'équation par régression linéaire de Passing-Bablok est la suivante : résultats pour le système Dimension® = [pente x (résultats héparine-lithium)] + ordonnée à l'origine.

Ne pas utiliser d'échantillons de sérum avec la méthode PBNP.

Les échantillons sont stables pendant trois jours lorsqu'ils sont conservés entre 20-25 °C ou 2 et 8 °C pendant 12 mois lorsqu'ils sont congelés à -20 °C ou moins.<sup>19</sup> Les cycles répétés de congélation/décongélation sont à éviter.

S'assurer que les échantillons patients, les calibrateurs et les contrôles se trouvent à température ambiante (22-28 °C).

Les échantillons contenant des précipités doivent être centrifugés avant dosage.

Le sang prélevé en présence d'EDTA, citrate ou d'oxalate et les échantillons de plasma congelés ne contenant pas suffisamment d'anticoagulants peuvent causer l'agglutination des particules de chrome et ne doivent pas être utilisés.

Chaque laboratoire devra établir l'acceptabilité de ses propres tubes de prélèvement sanguin. Ces produits peuvent varier d'un fabricant à un autre et, parfois, d'un lot à un autre.

#### Substances interférentes potentielles

Les substances suivantes sont dépourvues d'effet significatif (moins de 10 %) lorsqu'elles sont ajoutées à environ 125 pg/ml de NT-proBNP aux concentrations indiquées :

Composé	Concentration	
Paracétamol (acétaminophène)	20 mg/dl	[1323 µmol/l] <sup>e</sup>
Allopurinol	2.5 mg/dl	[184 µmol/l]
Amiodarone	20 µg/ml	[31 µmol/l]
Amikacine	15 mg/dl	[256 µmol/l]
Bésylate d'amiodipine	4 µg/ml	[7.1 µmol/l]
Ampicilline	5 mg/dl	[143 µmol/l]
Acide ascorbique	3 mg/dl	[170.3 µmol/l]
Aténolol	1.0 mg/dl	[37.6 µmol/l]
Bilirubine, conjugué	60 mg/dl	[1026 µmol/l]
Bilirubine, non conjugué	20 mg/dl	[342 µmol/l]
Caféine	10 mg/dl	[515 µmol/l]
Captopril	5.0 mg/dl	[230 µmol/l]
Carbamazépine	12 mg/dl	[508 µmol/l]
Chloramphénicol	25 mg/dl	[774 µmol/l]
Chloridiazépoxyde	2 mg/dl	[67 µmol/l]
Chlorpromazine	5 mg/dl	[157 µmol/l]
Cholestérol	500 mg/dl	[12.9 mmol/l]
Cimétidine	10 mg/dl	[396 µmol/l]
Créatinine	30 mg/dl	[2652 µmol/l]
Ciclosporine A	4000 ng/ml	[3.3 µmol/l]
Dextran75	2500 mg/dl	[333 µmol/l]
Diazépam	2 mg/dl	[70 µmol/l]
Diclofenac	60 µg/ml	[188.6 µmol/l]
Digitoxine	60 ng/ml	[78.6 nmol/l]
Digoxine	5 ng/ml	[6.4 nmol/l]
Diltiazem	120 µg/ml	[266.1 µmol/l]
Dipyridamole	30 µg/ml	[59.4 µmol/l]
Erythromycine	20 mg/dl	[273 µmol/l]
Éthanol	350 mg/dl	[76 mmol/l]
Éthosuximide	30 mg/dl	[2125 µmol/l]
Furosemide	2 mg/dl	[61 µmol/l]
Gentamicine	12 mg/dl	[251 µmol/l]
Hémoglobine (monomère)	1000 mg/dl	[0.62 mmol/l]
Héparine, sodium	8 IU/ml	[8000 IU/l]
Hydralazine	20 µg/ml	[101.7 µmol/l]
Hydrochlorothiazide	20 µg/ml	[67.2 µmol/l]
Ibuprofène	40 mg/dl	[1939 µmol/l]
Indométhacine	16 µg/ml	[36.9 µmol/l]
Dinitrate d'isosorbide	6.0 mg/dl	[254 µmol/l]
Lidocaïne	6 mg/dl	[256 µmol/l]
Lipémie (triglycérides)	3000 mg/dl	[33.9 mmol/l]
Lisinopril	16 µg/ml	[36.2 µmol/l]
Chlorure de lithium	3.5 mg/dl	[5.07 mmol/l]
Lovastatine	16 µg/ml	[39.6 µmol/l]
L-thyroxine	60 µg/dl	[0.77 µmol/l]
Méthildopa	2.5 mg/dl	[118 µmol/l]
Nicotine	2 mg/dl	[123 µmol/l]
Nifédipine	6.0 mg/dl	[173 µmol/l]
Nitrofurantoiné	40 µg/ml	[168 µmol/l]
Nitroglycérine	0.16 µg/ml	[0.577 µmol/l]
Oxazépam	12 µg/ml	[41.8 µmol/l]
Oxylétracycline	100 µg/ml	[217.2 µmol/l]
Pénicilline G	25 U/ml	[25,000 U/l]
Pentobarbital	10 mg/dl	[442 µmol/l]
Phénobarbital	15 mg/dl	[646 µmol/l]
Phénytoïne	10 mg/dl	[396 µmol/l]
Primidone	10 mg/dl	[458 µmol/l]
Probenécide	200 µg/ml	[700.9 µmol/l]
Propoxyphène	0.4 mg/dl	[12 µmol/l]
Propranolol	0.15 mg/dl	[5.1 µmol/l]
Protéine, albumine humaine	6 g/dl	[60 g/l]
Protéine, IgG humaine	6 g/dl	[60 g/l]
Protéine, totale (haut)	12 g/dl	[120 g/l]
Protéine, totale (bas)	3-4 g/dl	[30 - 40 g/l]
Quinidine	20 µg/ml	[61.6 µmol/l]
Facteurs rhumatoïdes	500 IU/ml	[500,000 IU/l]
Acide salicylique	50 mg/dl	[3.6 mmol/l]
Simvastatine	32 µg/ml	[76.5 µmol/l]
Sulfaméthoxazole	320 µg/ml	[1263.3 µmol/l]
Theophylline	25 mg/dl	[1388 µmol/l]
Triméthoprime	64 µg/ml	[220.7 µmol/l]
Urée (masse d'azote)	500 mg/dl	[83.3 mmol/l]
Acide urique	20 mg/dl	[1.2 mmol/l]
Acide valproïque	50 mg/dl	[346.7 µmol/l]
Vérapamil	16 mg/dl	[0.33 µmol/l]
Warfarine	4 µg/ml	[13.0 µmol/l]

e. Les valeurs correspondant au Système International d'Unités (unités SI) sont indiquées entre crochets.

#### Procédure

##### Matériel fournis

Cartouche de réactifs Flex® PBNP, n° de réf. RF423

##### Matériels nécessaires mais non fournis

Calibrateur Dimension® PBNP, n° de réf. RC423

Cupules réactionnelles, n° de réf. RXV1A

Solution de lavage, n° de réf. RD701

Solution de nettoyage de la sonde réactif, n° de réf. RD702

Solution de lavage de la sonde-échantillon, n° de réf. RD703

Diluant échantillon, n° de réf. 791092901

Produits de contrôle qualité tels que :

Contrôle MAS® Cardiolmmune® proBNP Liquid Assayed Cardiac Marker

Contrôle Bio-Rad Liquichek™ Cardiac Markers LT

Contrôle Audit™ MicroFD™ BNP

Liquichek™ est une marque déposée de Bio-Rad Laboratories, Irvine, California 92618

MAS® et Cardiolmmune® sont des marques déposées de Medical Analysis Systems, Inc. Camarillo, CA

Audit™ et MicroFD™ sont des marques de commerce de Audit™ MicroControls, Inc. Las Vegas, NV 89102

#### Étapes du dosage

L'échantillonnage, la distribution des réactifs, le mélange, le traitement et l'impression des résultats sont réalisés automatiquement par le système Dimension® avec le module d'immunodosage en phase hétérogène. Pour plus de détails sur ce traitement, consulter le manuel du Dimension®.

#### Conditions du Dosage

##### Vase à réaction

Volume de l'échantillon :	50 µl
Anticorps-CrO <sub>2</sub> :	25 µl
Anticorps-ALP :	40 µl
Température	37 °C ± 1.0 °C
Période d'incubation	6.4 minutes

##### Cupule Réactionnelle

Volume de transfert	40 µl	0 µl
Volume de réactif FADP	30 µl	30 µl
Volume de réactif APO	30 µl	30 µl
Volume de diluant	350 µl	390 µl
Température	37 °C ± 0.1 °C	
Période de réaction	5.4 minutes	
Longueur d'onde	510 et 700 nm	
Type de mesure	Taux bichromatique	
Unités	pg/ml	

#### Étalonnage

La procédure générale d'étalonnage est décrite dans le manuel du système Dimension®. Les informations suivantes doivent être prises en compte pour étalonner la méthode PBNP :

**Le coffret PBNP nécessite des facteurs d'étalonnage spécifiques de chaque lot. Voir l'étiquette de la boîte PBNP Flex®. Ces facteurs doivent être entrés dans l'écran de configuration avant l'étalonnage. Il est obligatoire de rentrer ces facteurs pour obtenir de bons résultats.**

Intervalle de mesure :	10 – 30000 pg/ml
Matériel de référence :	Calibrateur Dimension® PBNP (n° de réf. RC423)
Intervalle d'étalonnage :	0 - 30000 pg/ml
Niveaux d'étalonnage :	0, 300, 1500, 12000, 30000 pg/ml
Schéma d'étalonnage :	Cinq niveaux. Le niveau 1 est dosé en quatre exemplaires. Les niveaux 2, 3 et 5 sont dosés en trois exemplaires. Le niveau 4 est dosé en deux exemplaires. S'assurer qu'un volume d'échantillon suffisant est distribué dans chaque cupule pour permettre le nombre de déterminations souhaité pour chaque niveau durant l'étalonnage.
Fréquence d'étalonnage :	À chaque nouveau lot de réactifs ou Tous les 30 jours pour un même lot
Coefficients de départ :	C <sub>0</sub> -2826.0 C <sub>1</sub> 16014.0 C <sub>2</sub> -2.2 C <sub>3</sub> 18293.0 C <sub>4</sub> 0.5
Facteurs d'étalonnage A, B, C et D :	Voir étiquette de la boîte. Les facteurs d'étalonnage spécifiques de chaque lot Flex® doivent être entrés dans l'écran d'étalonnage avant l'étalonnage.

#### Contrôle qualité

Au moins une fois par jour d'utilisation, analyser deux niveaux de matériel de contrôle qualité aux concentrations de NT-proBNP connues. Les résultats du test ne sont pas valides s'ils se situent en dehors des limites acceptables du laboratoire. Suivre la procédure décrite dans le manuel du système Dimension®.

Un dysfonctionnement du système peut se produire si un essai de précision sur 5 dosages donne les résultats indiqués ci-dessous :

Concentration	Écart-type
150 pg/ml	>15 pg/ml
450 pg/ml	>45 pg/ml

**Résultats :** Le système Dimension® calcule automatiquement les concentrations de NT-proBNP en pg/ml selon la méthode de calcul illustrée dans le manuel du système Dimension®. Les résultats de ce test doivent toujours être interprétés en conjonction avec les antécédents médicaux du patient, son motif de présentation clinique et d'autres constatations.

#### Limites de la procédure

Résultats :	< 10.0 pg/ml doivent être indiqués comme étant « inférieurs à 10.0 pg/ml » et non pas sous forme de valeur numérique.
Dilutions manuelles :	> 30000 pg/ml Les échantillons dont le résultat dépasse 30000 pg/ml doivent être redosés après dilution de l'échantillon avec le calibrateur Dimension® PBNP niveau 1 ou le diluant d'échantillon Dimension® pour obtenir des résultats dans les limites de l'intervalle de dosage. Entrer le facteur de dilution. Redoser. Le résultat tient compte de la dilution.
Autodilution (AD) :	L'autodilution n'est pas recommandée pour cette méthode.

Les dosages immunologiques en une étape sont sensibles à un « effet crochet » à forte dose, où un excès d'antigènes empêche la liaison simultanée des anticorps de capture et de détection en une molécule d'analyte unique.<sup>20</sup> Ces échantillons doivent être dilués et redosés avant la communication des résultats (voir les informations de dilution ci-dessus). La méthode PBNP ne présente aucun effet crochet jusqu'à 300000 pg/ml.

1st fold

2nd fold

12" @ 100%

Les concentrations de peptides natriurétiques peuvent être élevées chez les patients présentant un infarctus du myocarde aigu, les patients candidats à une dialyse rénale et ceux qui ont subi une dialyse rénale.

Les échantillons patients peuvent contenir des anticorps hétérophiles susceptibles de réagir dans les immunodosages pour fausser les résultats vers le haut ou vers le bas. Ce dosage a été conçu pour minimiser les interférences des anticorps hétérophiles.<sup>21</sup>

Le système d'impression de l'instrument comporte des messages d'erreur permettant d'avertir l'utilisateur des défauts de fonctionnement spécifiques. Toute feuille de résultats comportant un tel message d'erreur doit être conservée pour investigation. Se reporter au manuel du système Dimension®.

#### Valeurs attendues

Les concentrations de NT-proBNP dans le groupe de référence sont indiquées dans les tableaux suivants. Chaque laboratoire doit définir son propre intervalle de référence pour la méthode PBNP à l'aide du système Dimension®. Les seuils de décision les plus appropriés issus de ces répartitions sont les suivants :

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

#### Groupe d'étude de référence

La concentration de NT-proBNP a été déterminée chez 308 personnes ne présentant pas d'insuffisance cardiaque congestive (163 femmes et 145 hommes). Cette population incluait des sujets apparemment en bonne santé et d'autres atteints de diabète, d'hypertension et de maladie pulmonaire. Les concentrations de NT-proBNP dans le groupe de référence de l'étude sont indiquées dans le tableau suivant.

Tous	<55 ans	55 - 64 ans	65 - 74 ans	≥75 ans
Moyenne	32.1	39.1	83.1	353.6
ET	38.2	46.2	54.6	775.8
Médiane	17.9	18.8	59.5	125.6
95 <sup>ème</sup> centile	81.9	163.1	202.6	1372.8
% < 125 pg/ml	97%	93%	88%	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	83%
N	163	15	8	122

Hommes	<55 ans	55 - 64 ans	65 - 74 ans	≥75 ans
Moyenne	29.7	37.9	76.0	414.3
ET	42.5	41.6	-	889.0
Médiane	13.4	13.4	76.0	111.8
95 <sup>ème</sup> centile	134.4	114.3	76.0	1475.7
% < 125 pg/ml	95%	100%	100%	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	77%
N	76	6	1	62

Femmes	<55 ans	55 - 64 ans	65 - 74 ans	≥75 ans
Moyenne	34.2	39.9	84.1	291.0
ET	34.0	51.6	58.9	639.7
Médiane	23.7	18.8	59.5	131.3
95 <sup>ème</sup> centile	75.8	163.1	202.6	1080.7
% < 125 pg/ml	99%	89%	86%	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	88%
N	87	9	7	60

#### Groupe d'étude malade

Des échantillons sanguins ont été prélevés sur 227 patients souffrant d'une insuffisance cardiaque congestive diagnostiquée. La population incluait 69 femmes et 158 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 atteinte d'insuffisance cardiaque congestive - Tous les sujets				
	<55 ans	55 - 64 ans	65 - 74 ans	≥75 ans
Moyenne	2400.1	3120.7	4167.4	4579.3
ET	3855.9	8809.1	8550.7	8721.2
Médiane	660.5	533.3	1506.7	2513.4
95 <sup>ème</sup> centile	10961.2	16817.2	10889.3	11398.6
% > 125 pg/ml	79%	73%	90%	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	91%
N	48	49	61	69

Population atteinte d'insuffisance cardiaque congestive - Hommes				
	<55 ans	55 - 64 ans	65 - 74 ans	≥75 ans
Moyenne	2748.2	3475.1	4427.8	5773.0
ET	4179.3	10332.0	9669.3	10238.5
Médiane	1148.2	821.7	1273.4	3086.6
95 <sup>ème</sup> centile	12127.1	16817.2	10889.3	14118.8
% > 125 pg/ml	77%	84%	89%	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	92%
N	34	32	45	47

Population atteinte d'insuffisance cardiaque congestive - Femmes				
	<55 ans	55 - 64 ans	65 - 74 ans	≥75 ans
Moyenne	1554.7	2453.7	3435.2	2028.9
ET	2886.2	5024.5	4175.0	2581.3
Médiane	257.8	492.9	1828.4	1077.1
95 <sup>ème</sup> centile	10961.2	20855.8	13287.1	8891.2
% > 125 pg/ml	86%	53%	94%	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	91%
N	14	17	16	22

#### Population atteinte d'insuffisance cardiaque congestive - Tous les sujets

	Classe fonctionnelle de la NYHA				
	Tous sujets atteints d'insuffisance	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Moyenne	3693.0	1492.9	2124.5	5423.2	7134.5
ET	7911.8	2260.2	2946.1	10692.5	11900.1
Médiane	1422.0	659.2	1077.1	2636.5	2754.5
5 <sup>ème</sup> centile	59.3	47.9	29.4	117.4	76.4
95 <sup>ème</sup> centile	11398.6	5748.8	8344.4	13287.1	20855.8
% > seuil	85%	76%	83%	90%	90%
Minimum	17.6	21.7	17.6	60.3	50.6
Maximum	70025.3	10613.6	16817.2	70025.3	63515.3
N	227	53	72	71	31

#### Population atteinte d'insuffisance cardiaque congestive - Hommes

	Classe fonctionnelle de la NYHA				
	Tous sujets atteints d'insuffisance	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Moyenne	4273.6	1706.9	2582.3	6273.3	9300.3
ET	9109.3	2242.9	3238.0	12099.8	15619.8
Médiane	1710.7	938.6	1273.4	3269.9	2717.1
5 <sup>ème</sup> centile	60.3	57.8	33.1	122.1	76.4
95 <sup>ème</sup> centile	13600.1	5748.8	8344.4	15686.3	63515.3
% > seuil	86%	81%	83%	93%	88%
Minimum	21.7	21.7	27.3	60.3	76.4
Maximum	70025.3	10613.6	16817.2	70025.3	63515.3
N	158	41	48	53	16

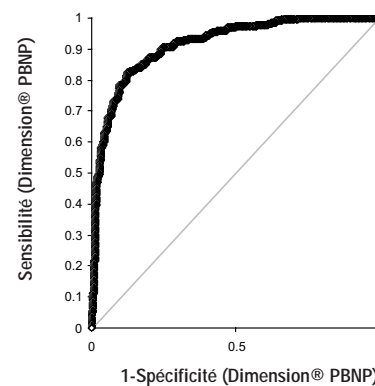
#### Population atteinte d'insuffisance cardiaque congestive - Femmes

	Classe fonctionnelle de la NYHA				
	Tous sujets atteints d'insuffisance	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Moyenne	2363.5	761.6	1208.8	2920.1	4824.3
ET	3725.4	1301.7	2013.8	3749.6	5565.2
Médiane	933.5	232.6	550.2	1933.5	2754.5
5 <sup>ème</sup> centile	50.6	47.9	24.4	103.2	50.6
95 <sup>ème</sup> centile	10375.0	4723.5	2524.6	13287.1	20855.8
% > seuil	81%	58%	83%	83%	93%
Minimum	17.6	47.9	17.6	103.2	50.6
Maximum	20855.8	4723.5	10029.4	13287.1	20855.8
N	69	12	24	18	15

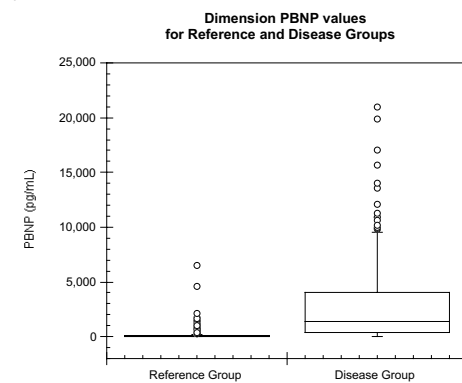
Ces résultats montrent une relation entre la sévérité des signes et des symptômes cliniques d'une insuffisance cardiaque congestive et la concentration moyenne de NT-proBNP, ce qui démontre que la méthode Dimension® PBNP peut servir d'aide au diagnostic de tous les degrés de sévérité d'insuffisance cardiaque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

#### Interprétation des résultats

La courbe ROC présente la spécificité et la sensibilité cliniques à des seuils divers pour les 227 patients avec diagnostic confirmé d'insuffisance cardiaque congestive et 308 sujets sans insuffisance cardiaque congestive. La courbe ROC pour le coffret Dimension PBNP est illustrée ci-dessous. La surface sous la courbe ROC (AUC) pour le coffret Dimension PBNP est de 0.921 avec un intervalle de confiance à 95 % compris entre 0.898 et 0.943.



Un tracé « boîtes 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 de 75 ans et plus. Trois échantillons de groupe malade dont les valeurs se situent au-dessus du domaine de mesure ne sont pas affichés sur le tracé.



### Sensibilité et spécificité en fonction de l'âge et du sexe

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

Hommes	<75 ans	≥75 ans
Sensibilité	84% (93/111)	92% (43/47)
Intervalle de confiance à 95 %	77 - 91	84 - 99
Spécificité	95% (79/83)	77% (48/62)
Intervalle de confiance à 95 %	91 - 100	67 - 88
Femmes	<75 ans	≥75 ans
Sensibilité	77% (36/47)	91% (20/22)
Intervalle de confiance à 95 %	64 - 89	79 - 100
Spécificité	97% (100/103)	88% (53/60)
Intervalle de confiance à 95 %	94 - 100	80 - 96

### Analyse ROC pour âge identique

Une analyse ROC pour âge identique des données cliniques a été effectuée via la méthode pondérée décrite par Kondratovich (2002)<sup>22</sup>. La surface sous la courbe résultante était de 0.925 avec un intervalle de confiance à 95 % compris entre 0.903 et 0.946.

### Caractéristiques Spécifiques f

Material	Reproductibilité g			Total	
	Moyenne (pg/ml)	Dans la Série Ecart-type (pg/ml)	%CV	Ecart-type (pg/ml)	%CV
Pool de Plasma humain 1	159.0	3.4	2.2	9.1	5.7
Pools QC internes					
Pool de Plasma humain 1	449.5	8.1	1.8	16.6	3.7
Pool de Plasma humain 2	956.7	15.3	1.6	34.9	3.6
Contrôle Audit™ MicroFD™ BNP					
Niveau 1	175.5	2.0	1.1	6.8	3.8
Niveau 2	3733.8	71.8	1.9	115.9	3.1

- f. Tous les tests de caractéristiques spécifiques de performance ont eu lieu après réalisation des vérifications de contrôle qualité de l'équipement normalement recommandés (se reporter au manuel du système Dimension®).
- g. Le test de reproductibilité a eu lieu conformément à la directive agréée du NCCLS pour l'évaluation par l'utilisateur des performances de précision des systèmes de chimie clinique, EP5-A, 1999. Les échantillons correspondant à chaque niveau ont été analysés deux fois par jour pendant 20 jours. Les écarts-types dans la série et total ont été calculés par la méthode de l'analyse de variance.

### Corrélation

Une étude de comparaison des méthodes a été réalisée pour démontrer l'équivalence des coffrets Dimension® PBNP et Elecsys® proBNP. Les échantillons utilisés pour l'étude ont été prélevés auprès de patients avec un diagnostic connu d'insuffisance cardiaque congestive (n=224), de patients avec des signes et symptômes suggérant une insuffisance cardiaque congestive (n=17) et de patients sélectionnés de manière aléatoire, sans connaissance d'antécédents médicaux ou de diagnostic (n=111).

### Statistique de Régression h,i,j

Méthode Comparée	Pente	Ordonnée à l'origine (pg/ml)	Coefficient de Corrélation	n
Elecsys® proBNP	0.90 (95% CI: 0.88 - 0.92)	-15.4 (95% CI: -25.0 - (-8.9))	0.985	352

- h. Le modèle d'équation pour l'analyse statistique de régression est : résultats pour le système Dimension® = [pente x (résultats de la méthode comparée)] + ordonnée à l'origine.
- i. L'intervalle de valeurs de PBNP dans l'étude de corrélation était : 16.1 - 29.893 1 pg/ml.
- j. Elecsys® est une marque déposée de Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim. Distributeur aux États-Unis : Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN 46250-0457 USA.

### Sensibilité fonctionnelle

La sensibilité fonctionnelle du coffret Dimension® PBNP est de ≤ 30.0 pg/ml. La sensibilité fonctionnelle est la plus faible concentration de NT-proBNP pouvant être mesurée avec un coefficient de variation de précision totale de 20 %.

### Spécificité analytique

La méthode Dimension® PBNP est spécifique du NT-proBNP et n'indique aucune réactivité croisée significative avec les substances suivantes (testée avec des concentrations de NT-proBNP de 0 pg/ml et 125 pg/ml environ).

Substance	Concentration
ANP <sub>28</sub>	3.1 µg/ml
NT-proANP <sub>1-30</sub> (préproANP <sub>26-55</sub> )	3.5 µg/ml
NT-proANP <sub>31-67</sub> (préproANP <sub>56-92</sub> )	1.0 ng/ml
NT-proANP <sub>79-98</sub> (préproANP <sub>104-123</sub> )	1.0 ng/ml
BNP <sub>32</sub> (Natrecor®)	3.5 µg/ml
CNP <sub>22</sub>	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
Urodilatine	3.5 µg/ml
Arg-Vasopressine	1.0 ng/ml

### Sensibilité analytique

La sensibilité analytique de la méthode PBNP est de ≤10.0 pg/ml. La sensibilité analytique se définit comme la concentration à deux écarts-types (N=20) au-dessus d'un échantillon dépourvu de PBNP, comme le calibrateur Niveau 1 PBNP (0 pg/ml).

### Linéarité par dilution

Un échantillon de plasma d'un patient présentant une forte concentration de NT-proBNP a été dilué à travers le domaine de mesure. Deux échantillons de plasma supplémentaires ont été dilués linéairement pour confirmer la précision de dilution à la limite inférieure du domaine de mesure. Tous les échantillons ont été dilués avec des pools de plasma patient faiblement concentrés. Le tableau suivant résume les résultats de ces études :

	Échantillon A	Échantillon B	Échantillon C
Concentration de départ (pg/ml)	35979	4616	1037
<b>Statistiques de régression</b>			
Pente	0.954	0.990	1.030
Ordonnée à l'origine	511.9	-8.5	-1.6
Coefficient de corrélation	0.999	1.000	0.999
N	6	6	6
<b>% de recouvrement</b>			
Moyenne	99.8	98.6	101.0
Intervalle	95.9-104.5	96.4-100.0	96.8-103.8

Fabriqué sous licence de Roche Diagnostics

Brevet 5786163 (US) et équivalents étrangers

Demande de brevet (US) : 09/890442 et équivalents étrangers

Explication des Symboles: Voir page annexe.

### Bibliographie:

- 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.
- 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.
- de Bold AJ. Atrial natriuretic factor: A hormone produced by the heart. Science 1985; 230:767 - 770.
- 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 .
- de Bold AJ, Boerenstein HB, Varess AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial extracts in rats. Life Sci 1981;28:89-94.
- 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.
- Struthers AD. How to use natriuretic peptide levels for diagnosis and prognosis. The European Society of Cardiology. Eur Heart J 1999;20:1374-1375.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Fisher C et al. NT-proBNP predicts prognosis in patients with chronic heart failure. Heart 2003; 89:879-881.
- 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.
- Talwar S, Squire I, Downie P, Davies J, Ng LL. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and cardiotropin 1 are raised in unstable angina. Heart 2000;84:421-424.
- 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.
- 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.
- 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.
- Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition, W.B Saunders Co. Philadelphia, PA 1999 pp. 42-72 (specimen collection).
- Elecsys® proBNP Assay Package Insert Sheet, Roche Diagnostics GmbH, December 2003.
- Ryall RG, Story CJ, and Turner DR. Reappraisal of the causes of the "hook effect" in two-site immunoradiometric assays. Anal Biochem 982;127:308 - 315.
- Vaidya HC, Beatty BG. Eliminating interference from heterophilic antibodies in a two-site immunoassay for creatine kinase MB by using F(ab')<sub>2</sub> conjugate and polyclonal mouse IgG. Clin Chem 1992;38:1737-1742.
- Kondratovich, M (2002). Matched Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis and propensity scores. Proceedings of the 2002 Joint Statistical Meeting, Biopharmaceutical Section, New York, NY.

Dimension® et Flex® sont des marques déposées de Dade Behring Inc., aux U.S.A. Bureau des Brevets et des Marques Déposées, en Allemagne et dans beaucoup d'autres pays.

\*Un astérisque dans la marge correspond à une section modifiée.

 Dade Behring Inc.  
Newark, DE 19714, U.S.A.

 **EC REP** Dade Behring Limited  
Regus House, Atterbury  
Milton Keynes MK10 9RG  
United Kingdom



2005-03 E PN 755423 001-FR

DADE BEHRING

Dimension® clinical chemistry system  
Heterogeneous Immunoassay Module

Flex® reagent cartridge

PBNP

Cartuccia reagente Flex® per il Frammento N-terminale pro-Peptide Natriuretico Cerebrale

**Uso previsto:** Il test PBNP, utilizzato nel sistema di chimica clinica Dimension® con il modulo per immunodosaggi in fase eterogenea, è un test diagnostico per uso *in vitro* impiegato per la determinazione quantitativa del Frammento N-terminale pro-Peptide Natriuretico Cerebrale (NT-proBNP, N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide) nel plasma umano. Nei pazienti con sospetto di insufficienza cardiaca congestizia (CHF), le misurazioni di NT-proBNP costituiscono un utile strumento di diagnosi e di valutazione della gravità del caso. Il test è inoltre indicato per la stratificazione del rischio in pazienti affetti da sindrome coronarica acuta e da insufficienza cardiaca.

**Riassunto:** La disfunzione del ventricolo sinistro può manifestarsi come parte della coronaropatia, dell'ipertensione arteriosa, della valvulopatia e della miocardiopatia primaria. Se la disfunzione del ventricolo sinistro non viene trattata ed è progressiva, vi è un'alta probabilità di morte, ad esempio come conseguenza di un improvviso attacco cardiaco.

L'insufficienza cardiaca cronica è una sindrome clinica causata da un danno alla funzionalità della pompa cardiaca. In base ai sintomi, la gravità dell'insufficienza cardiaca viene classificata secondo i gradi compresi tra I e IV definiti dalla "New York Heart Association (NYHA)". Per la diagnosi della disfunzione del ventricolo sinistro vengono impiegate tecniche diagnostiche ad immagini e test clinici.<sup>1</sup>

L'importanza dei peptidi natriuretici nel controllo della funzionalità del sistema cardiovascolare è ormai confermata. I primi studi effettuati rivelano che i peptidi natriuretici possono essere utilizzati per la diagnosi di problemi clinici associati alla disfunzione del ventricolo sinistro.<sup>2</sup> In letteratura, sono noti i peptidi natriuretici riportati di seguito: peptide natriuretico atriale (ANP, Atrial Natriuretic Peptide), peptide natriuretico cerebrale (BNP, Brain Natriuretic Peptide) e peptide natriuretico di tipo C (CNP, C-Type Natriuretic Peptide).<sup>3,4</sup>

I peptidi ANP e BNP hanno proprietà natriuretiche e diuretiche. In qualità di antagonisti del sistema renina-angiotensina-aldosterone, questi peptidi influenzano l'equilibrio di elettroliti e fluido nell'organismo.<sup>5,6</sup> Nei soggetti affetti da disfunzione del ventricolo sinistro, le concentrazioni di BNP nel siero e nel plasma aumentano, così come aumentano le concentrazioni di proBNP, proormone biologicamente inattivo. Il proBNP consiste di 108 amminoacidi, viene secreto principalmente dal ventricolo sinistro del cuore e, in questo processo, viene suddiviso in BNP fisiologicamente attivo (77-108) e nel frammento N-terminale di proBNP (1-76).<sup>4</sup>

Gli studi indicano che è possibile utilizzare il frammento NT-proBNP a fini diagnostici e prognostici.<sup>7-13</sup> La sua concentrazione plasmatica è un indicatore precoce di disfunzione ventricolare sinistra nonché un utile strumento per l'attribuzione della sintomatologia a cause cardiache o di diversa natura.

La determinazione di NT-proBNP è di ausilio nell'identificazione di soggetti affetti da disfunzione del ventricolo sinistro. Le variazioni nella concentrazione di NT-proBNP possono essere utilizzate per valutare il successo del trattamento in pazienti affetti da disfunzione del ventricolo sinistro. Ci sono indicazioni in base alle quali il frammento NT-proBNP, grazie alle sue funzioni, risulta idoneo per la valutazione del rimodellamento vascolare, in questo modo contribuendo alla definizione di programmi di riabilitazione personalizzati.<sup>10,11</sup>

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

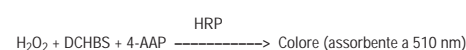
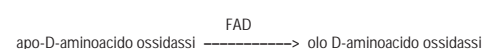
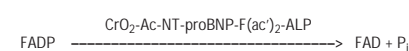
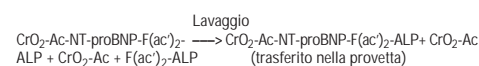
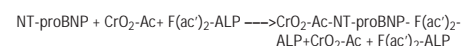
La "European Society of Cardiology Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure" sostiene nelle proprie linee guida che i peptidi natriuretici, compreso NT-proBNP, "possono rivelarsi più utili dal punto di vista clinico come test di esclusione a causa di valori predittivi negativi molto alti e coerenti".

I livelli circolanti di NT-proBNP aumentano in pazienti con angina instabile e a seguito di infarto miocardico.<sup>14,15</sup> Benché non patognomonicamente, diversi studi hanno indicato come i valori di NT-proBNP forniscano informazioni prognostiche per la stratificazione del rischio a breve e lungo termine in pazienti con angina instabile o infarto miocardico.<sup>15,16,17</sup>

**Principi del metodo:** Il metodo PBNP è un dosaggio immunoenzimatico a una fase basato sul principio "sandwich". Il campione viene incubato con particelle di diossido di cromo rivestite di anticorpi policlonali, che riconoscono gli epitopi situati nel frammento N-terminale di proBNP, e un anticorpo policlonale marcato con reagente coniugato [fosfatasi alcalina (ALP, Alkaline Phosphatase)] specifico di un secondo epitopo indipendente su NT-proBNP, per formare un sandwich costituito da particella/NT-proBNP/coniugato. Il coniugato non legato viene rimosso mediante separazione magnetica e lavaggio. Dopo la separazione e il lavaggio, il sandwich particella/NT-proBNP/coniugato viene trasferito nella provetta in cui la fosfatasi alcalina legata avvia un'amplificazione a cascata.\* La fosfatasi alcalina defosfora il flavina adenina dinucleotide fosfato (FADP, Flavin Adenine Dinucleotide Phosphate) per produrre FAD. Il FAD si lega all'apo-D-amminoacido ossidasi e la converte in olo-D-amminoacido

ossidasi attiva. Ciascuna molecola di olo-D-amminoacido ossidasi produce più molecole di perossido di idrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in presenza di Radice di Rafano perossidasi (HRP, Horseradish Peroxidase) converte l'acido 3,5-dicloro-2-idrossibenzensolfonico (DCHBS) e la 4-amminoantipirina (4-AAP) in un prodotto colorato assorbente a 510 nm. La variazione di colore misurata è direttamente proporzionale alla concentrazione di NT-proBNP presente nel campione del paziente.

\*Tecnologia concessa in licenza da London Biotechnology, Ltd., Londra, Regno Unito



Reagenti

Pozzetti <sup>a</sup>	Forma	Componente	Concentrazione <sup>b</sup>	Origine
1,2	Compressa <sup>c</sup>	FADP D-prolina	0.056 mg/ml 68.8 mg/ml	
3,4	Compressa <sup>c</sup>	Apo-D-amminoacido ossidasi Radice di Rafano perossidasi DCHBS 4-AAP	0.23 mg/ml 0.19 mg/ml 3.9 mg/ml 0.94 mg/ml	Rene di maiale Barbaforte
5	Vuoto			
6	Compressa <sup>c</sup>	Anticorpo-CrO2	1.3 mg/ml <sup>d</sup>	Ovino
7	Liquida	Tampone e agenti stabilizzanti		
8	Liquida	Anticorpo-fosfatasi alcalina <sup>d</sup> Tampone e agenti stabilizzanti		Ovino

- I pozzetti sono numerati consecutivamente a partire dall'estremità larga della cartuccia.
- Valore nominale della cartuccia idratata.
- Le compresse contengono eccipienti, tamponi e agenti stabilizzanti.
- Il titolo anticorpale e l'attività del coniugato variano a seconda del lotto.

**Preparazione reagente:** La miscelazione e la diluizione vengono effettuate automaticamente dallo strumento.

**Precauzioni:** Irritante. Contiene Cloracetamide. Può provocare sensibilizzazione per contatto con la pelle. Evitare il contatto con la pelle. Usare guanti adatti. Contiene azoturo di sodio (< 0.1%) come conservante. L'azoturo di sodio può reagire con le tubazioni in rame o piombo nelle linee di scarico formando composti esplosivi. Provvedere allo smaltimento in modo appropriato e secondo le normative locali.

Le provette utilizzate contengono fluidi di origine umana; maneggiare con cura per evitare il contatto con la pelle o l'ingestione.

Per uso diagnostico *in vitro*

**Istruzioni per la conservazione:** Conservare a 2-8 °C.

**Scadenza:** Per la data di scadenza individuale delle cartucce reagenti chiuse, fare riferimento alla confezione. I pozzetti delle cartucce sigillate o non idratate sullo strumento sono stabili per 30 giorni. Una volta che lo strumento è stato inserito nei pozzetti 1, 2, 3 e 4, questi sono stabili per 2.5 giorni. Una volta che lo strumento è stato inserito nei pozzetti 6, 7 e 8, questi sono stabili per 5 giorni.

\***Raccolta del campione:** I campioni plasma (eparina di litio e eparina di sodio) possono essere raccolti secondo le normali procedure.<sup>18</sup>

I risultati dei test di confronto eseguiti sul sistema Dimension® per i campioni di litio eparina in plasma rispetto ai campioni di eparina di sodio in plasma sono i seguenti:

Campione comparativo	Pendenza	Intercetta	Coefficiente di correlazione	N
Eparina di sodio	0.95	0.9	0.998	55

L'equazione modello per la statistica di regressione lineare Passing-Bablok è: risultati del sistema Dimension® = [pendenza x (risultati per eparina di litio)] + intercetta.

Con il metodo PBNP non devono essere utilizzati campioni di siero.

I campioni sono stabili per tre giorni, se vengono conservati a 20-25 °C o 2-8 °C o per 12 mesi se vengono congelati -20 °C o ad una temperatura inferiore<sup>19</sup>. Evitare il congelamento e lo scongelamento ripetuti dei campioni.

Accertarsi che i campioni dei pazienti, i calibratori e i controlli si trovino a temperatura ambiente (22-28 °C) prima dei test.

1st fold

2nd fold

Il sangue raccolto in presenza di EDTA, citrato o ossalato e i campioni di plasma congelati con quantità insufficienti di anticoagulanti non dovrebbero essere utilizzati poiché, potenzialmente, possono causare un agglomeramento delle particelle di cromo.

Ciascun laboratorio deve determinare l'accettabilità delle provette utilizzate per i prelievi ematici. Tra questi prodotti sono possibili variazioni a seconda della ditta produttrice e, talvolta, da lotto a lotto.

#### Sostanze potenzialmente interferenti

Le seguenti sostanze non producono un effetto significativo (meno del 10%) se aggiunte a circa 125 pg/ml di NT-proBNP nelle concentrazioni indicate:

Composto	Concentrazione	
Acetaminofene	20 mg/dl	[1323 µmol/l] <sup>e</sup>
Allopurinolo	2.5 mg/dl	[184 µmol/l]
Amiodarone	20 µg/ml	[31 µmol/l]
Amikacina	15 mg/dl	[256 µmol/l]
Amiodipina besilato	4 µg/ml	[7.1 µmol/l]
Ampicillina	5 mg/dl	[143 µmol/l]
Acido ascorbico	3 mg/dl	[170.3 µmol/l]
Atenololo	1.0 mg/dl	[37.6 µmol/l]
Bilirubina, coniugata	60 mg/dl	[1026 µmol/l]
Bilirubina, non coniugata	20 mg/dl	[342 µmol/l]
Caffeina	10 mg/dl	[515 µmol/l]
Captopril	5.0 mg/dl	[230 µmol/l]
Carbamazepina	12 mg/dl	[508 µmol/l]
Cloramfenicolo	25 mg/dl	[774 µmol/l]
Clordiazepossido	2 mg/dl	[67 µmol/l]
Clorpromazina	5 mg/dl	[157 µmol/l]
Colesterolo	500 mg/dl	[12.9 mmol/l]
Cimetidina	10 mg/dl	[396 µmol/l]
Creatinina	30 mg/dl	[2652 µmol/l]
Ciclosporina A	4000 ng/ml	[3.3 µmol/l]
Destrano 75	2500 mg/dl	[333 µmol/l]
Diazepam	2 mg/dl	[70 µmol/l]
Diclofenac	60 µg/ml	[188.6 µmol/l]
Digitossina	60 ng/ml	[78.6 nmol/l]
Digossina	5 ng/ml	[6.4 nmol/l]
Diltiazem	120 µg/ml	[266.1 µmol/l]
Dipiridamolo	30 µg/ml	[59.4 µmol/l]
Eritromicina	20 mg/dl	[273 µmol/l]
Etanolo	350 mg/dl	[76 mmol/l]
Etosuccimide	30 mg/dl	[2125 µmol/l]
Furosemide	2 mg/dl	[61 µmol/l]
Gentamicina	12 mg/dl	[251 µmol/l]
Emoglobina (monomero)	1000 mg/dl	[0.62 mmol/l]
Eparina, sodio	8 IU/ml	[8000 IU/l]
Iralazina	20 µg/ml	[101.7 µmol/l]
Idroclorotiazide	20 µg/ml	[67.2 µmol/l]
Ibuprofene	40 mg/dl	[1939 µmol/l]
Indometacina	16 µg/ml	[36.9 µmol/l]
Isosorbide dinitrato	6.0 mg/dl	[254 µmol/l]
Lidocaina	6 mg/dl	[256 µmol/l]
Lipemia (trigliceridi)	3000 mg/dl	[33.9 mmol/l]
Lisinopril	16 µg/ml	[36.2 µmol/l]
Cloruro di litio	3.5 mg/dl	[5.07 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]
Nicotina	2 mg/dl	[123 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]
Ossitetraciclina	100 µg/ml	[217.2 µmol/l]
Penicillina G	25 U/ml	[25,000 U/l]
Pentobarbital	10 mg/dl	[442 µmol/l]
Fenobarbital	15 mg/dl	[646 µmol/l]
Fenitoina	10 mg/dl	[396 µmol/l]
Primidone	10 mg/dl	[458 µmol/l]
Probenecid	200 µg/ml	[700.9 µmol/l]
Propossifene	0.4 mg/dl	[12 µmol/l]
Propranololo	0.15 mg/dl	[5.1 µmol/l]
Proteina, albumina umana	6 g/dl	[60 g/l]
Proteina, IgG umana	6 g/dl	[60 g/l]
Proteina, totale alto	12 g/dl	[120 g/l]
Proteina, totale basso	3-4 g/dl	[30 - 40 g/l]
Chinidina	20 µg/ml	[61.6 µmol/l]
Fattori reumatoidi	500 IU/ml	[500,000 IU/l]
Acido salicilico	50 mg/dl	[3.6 mmol/l]
Simvastatina	32 µg/ml	[76.5 µmol/l]
Sulfametossazolo	320 µg/ml	[1263.3 µmol/l]
Teofilina	25 mg/dl	[1388 µmol/l]
Trimetoprim	64 µg/ml	[220.7 µmol/l]
Urea	500 mg/dl	[83.3 mmol/l]
Acido urico	20 mg/dl	[1.2 mmol/l]
Acido valproico	50 mg/dl	[3467 µmol/l]
Verapamil	16 mg/dl	[0.33 µmol/l]
Warfarin	4 µg/ml	[13.0 µmol/l]

e. Le unità S.I. (Système International d'Unités, sistema internazionale di unità) sono riportate tra parentesi.

#### Procedura

##### Materiali forniti

Cartuccia reagente Flex® per PBNP, Cod. RF423

##### Materiali necessari ma non inclusi

Calibratore PBNP per Dimension®, Cod. RC423

Provette di reazione, Cod. RXV1A

Soluzione di lavaggio chimico, Cod. RD701

Soluzione di pulizia per la sonda, Cod. RD702

Soluzione di pulizia per la sonda di campionamento, Cod. RD703

Diluente per campioni, Cod. 791092901

Prodotti di controllo di qualità, ad esempio:

Controllo marker cardiaco liquido MAS® Cardiolmmune® proBNP testato

Controllo marker cardiaco Bio-Rad Liquichek™ LT

Controllo Audit™ MicroFD™ BNP

MAS® Cardiolmmune® sono marchi registrati di Medical Analysis Systems, Inc.

Camarillo, CA

Liquichek™ è un marchio di Bio-Rad Laboratories, Irvine, California 92618

Audit™ e MicroFD™ sono marchi di Audit™ MicroControls, Inc. Las Vegas, NV

89102

#### Fasi del test

Il sistema Dimension® effettua automaticamente il campionamento, l'erogazione del reagente, la miscelazione, il processo di analisi e la stampa dei risultati con il modulo per immunodosaggi in fase eterogenea. Per dettagli relativi a questo tipo di elaborazione, fare riferimento al manuale del sistema Dimension®.

#### Condizioni del test

##### Provetta di reazione

Volume del campione:	50 µl
Anticorpo-CrO <sub>2</sub> :	25 µl
Anticorpo-ALP:	40 µl
Temperatura	37 °C ± 1.0 °C
Periodo di incubazione	6.4 minuti

##### Provetta

Provetta	Reazione	Bianco
Volume di trasferimento	40 µl	0 µl
Volume reagente FADP	30 µl	30 µl
Volume reagente APO	30 µl	30 µl
Volume diluente	350 µl	390 µl
Temperatura	37 °C ± 0.1 °C	
Periodo di reazione	5.4 minuti	
Lunghezza d'onda	510 e 700 nm	
Tipo di misurazione	Letture bicromatica	
Unità	pg/ml	

#### Calibrazione

La procedura generale di calibrazione è descritta nel manuale del sistema Dimension®. Quando si calibra il metodo PBNP, prendere in considerazione le seguenti informazioni:

**Il metodo PBNP richiede l'uso di fattori di calibrazione specifici per lotto. Vedere l'etichetta sulla confezione di PBNP Flex®. Prima della calibrazione, è necessario immettere i fattori nella schemata di calibrazione. In caso contrario, saranno ottenuti risultati imprecisi.**

Intervallo di misura:	10 – 30,000 pg/ml
Materiale di riferimento:	Calibratore PBNP per Dimension® (Cod. RC423)
Intervallo di calibrazione:	0 – 30000 pg/ml
Livelli di calibrazione:	0, 300, 1500, 12000, 30000 pg/ml
Schema di calibrazione:	Cinque livelli. Il livello 1 viene analizzato in quadruplicato. I livelli 2, 3 e 5 vengono analizzati in triplicato. Il livello 4 viene analizzato in duplicato. Assicurarsi che in ogni vaschetta venga distribuita una quantità di campione sufficiente per il numero di determinazioni di ciascun livello durante la calibrazione.

Frequenza di calibrazione: Ogni nuovo lotto di reagente oppure Ogni 30 giorni per qualsiasi lotto

Coefficienti Assegnati:

C <sub>0</sub>	-2826.0
C <sub>1</sub>	16014.0
C <sub>2</sub>	-2.2
C <sub>3</sub>	18293.0
C <sub>4</sub>	0.5

Scaler di calibrazione: Vedere l'etichetta sulla confezione. Prima della calibrazione, è necessario immettere gli scaler specifici per il lotto Flex® nella schemata di calibrazione.

#### Controllo di qualità

Almeno una volta per ogni giorno di utilizzo, analizzare due livelli del materiale di controllo di qualità con una concentrazione nota di NT-proBNP. I risultati dei test non sono validi se non sono compresi entro i limiti accettabili di laboratorio. In questo caso, seguire la procedura delineata nel manuale del sistema Dimension®.

Si potrebbe essere in presenza di un malfunzionamento del sistema, se si osserva la seguente precisione su 5 test:

Concentrazione	D.S.
150 pg/ml	>15 pg/ml
450 pg/ml	>45 pg/ml

**Risultati:** Il sistema Dimension® calcola automaticamente le concentrazioni di NT-proBNP in pg/ml utilizzando lo schema di calcolo illustrato nel manuale del sistema Dimension®. I risultati dei test devono essere sempre interpretati insieme all'anamnesi, al quadro clinico e ad altri rilievi relativi al paziente.

#### Limiti della procedura

Risultati: < 10.0 pg/ml dovrebbero essere riportati come "inferiori a 10.0 pg/ml".

Diluzioni manuali: > 30000 pg/ml

I test che ottengono risultati superiori a 30000 pg/ml dovrebbero essere ripetuti dopo la diluizione del campione con calibratore Dimension® PBNP di livello 1 o diluente per campioni Dimension® per ottenere risultati compresi nell'intervallo di misura. Immettere il fattore di diluizione. Rieseguire la prova. La lettura che ne risulta è quella corretta per la diluizione.

Diluizione automatica (AD): La diluizione automatica non è consigliata con questo metodo.

I test immunometrici a una fase sono suscettibili dell' "effetto gancio" ad alte dosi, dove un eccesso di antigene impedisce il legame simultaneo degli anticorpi di cattura e rilevazione a una singola molecola dell'analita.<sup>20</sup> Tali campioni devono essere diluiti e sottoposti di nuovo a test prima della generazione dei referti dei risultati (vedere le informazioni relative alla diluizione fornite in precedenza). Il metodo PBNP non mostra alcun effetto gancio fino ad almeno 300000 pg/ml.

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

1st fold

2nd fold

12" @ 100%



I campioni dei pazienti possono contenere anticorpi eterofili che potrebbero reagire negli immunodosaggi, dando risultati falsamente alti o bassi. Questo test è stato concepito per ridurre al minimo l'interferenza con gli anticorpi eterofili.<sup>21</sup>

Il sistema di refertazione dello strumento include messaggi di errore che avvertono l'operatore della presenza di guasti specifici. Qualsiasi referto contenente messaggi di errore deve essere conservato per un eventuale follow-up. Fare riferimento al manuale del sistema Dimension®.

**Valori attesi:** Le concentrazioni di NT-proBNP nel gruppo di riferimento vengono mostrate nelle tabelle riportate di seguito. Ogni laboratorio deve stabilire il proprio intervallo di riferimento per il metodo PBNP come determinato nel sistema Dimension®. Le soglie decisionali più appropriate per queste distribuzioni sono riportate di seguito:

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

#### Gruppo di studio di riferimento

La concentrazione di NT-proBNP è stata determinata in 308 individui non affetti da insufficienza cardiaca congestizia (163 donne e 145 uomini). 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.

Tutti	<55 Anni	55 - 64 Anni	65 - 74 Anni	≥ 75 Anni
Media	32.1	39.1	83.1	353.6
DS	38.2	46.2	54.6	775.8
Mediana	17.9	18.8	59.5	125.6
95° percentile	81.9	163.1	202.6	1372.8
% < 125 pg/ml	97%	93%	88%	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	83%
N	163	15	8	122

Uomini	<55 Anni	55 - 64 Anni	65 - 74 Anni	≥ 75 Anni
Media	29.7	37.9	76.0	414.3
DS	42.5	41.6	-	889.0
Mediana	13.4	13.4	76.0	111.8
95° percentile	134.4	114.3	76.0	1475.7
% < 125 pg/ml	95%	100%	100%	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	77%
N	76	6	1	62

Donne	<55 Anni	55 - 64 Anni	65 - 74 Anni	≥ 75 Anni
Media	34.2	39.9	84.1	291.0
DS	34.0	51.6	58.9	639.7
Mediana	23.7	18.8	59.5	131.3
95° percentile	75.8	163.1	202.6	1080.7
% < 125 pg/ml	99%	89%	86%	-
% < 450 pg/ml	-	-	-	88%
N	87	9	7	60

#### Gruppo di studio della malattia

I campioni di sangue sono stati prelevati da 227 pazienti a cui era stata diagnosticata insufficienza cardiaca congestizia (ICC). La popolazione comprendeva 69 donne e 158 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, i laboratori devono essere consapevoli della pratica corrente presso il proprio istituto per la valutazione dell'insufficienza cardiaca congestizia.

Popolazione ICC - Tutti	<55 Anni	55 - 64 Anni	65 - 74 Anni	≥ 75 Anni
Media	2400.1	3120.7	4167.4	4579.3
DS	3855.9	8809.1	8550.7	8721.2
Median	660.5	533.3	1506.7	2513.4
95° percentile	10961.2	16817.2	10889.3	11398.6
% > 125 pg/ml	79%	73%	90%	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	91%
N	48	49	61	69

Popolazione ICC - Uomini	<55 Anni	55 - 64 Anni	65 - 74 Anni	≥ 75 Anni
Media	2748.2	3475.1	4427.8	5773.0
DS	4179.3	10332.0	9669.3	10238.5
Median	1148.2	821.7	1273.4	3086.6
95° percentile	12127.1	16817.2	10889.3	14118.8
% > 125 pg/ml	77%	84%	89%	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	92%
N	34	32	45	47

Popolazione ICC - Donne	<55 Anni	55 - 64 Anni	65 - 74 Anni	≥ 75 Anni
Media	1554.7	2453.7	3435.2	2028.9
DS	2886.2	5024.5	4175.0	2581.3
Median	257.8	492.9	1828.4	1077.1
95th percentile	10961.2	20855.8	13287.1	8891.2
% > 125 pg/ml	86%	53%	94%	-
% > 450 pg/ml	-	-	-	91%
N	14	17	16	22

Popolazione ICC - Tutti	Tutti ICC	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Media	3693.0	1492.9	2124.5	5423.2	7134.5
DS	7911.8	2260.2	2946.1	10692.5	11900.1
Median	1422.0	659.2	1077.1	2636.5	2754.5
5° percentile	59.3	47.9	29.4	117.4	76.4
95° percentile	11398.6	5748.8	8344.4	13287.1	20855.8
% > Cutoff	85%	76%	83%	90%	90%
Minimo	17.6	21.7	17.6	60.3	50.6
Massimo	70025.3	10613.6	16817.2	70025.3	63515.3
N	227	53	72	71	31

#### Popolazione ICC - Uomini

Classe funzionale NYHA	Tutti ICC	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Media	4273.6	1706.9	2582.3	6273.3	9300.3
DS	9109.3	2242.9	3238.0	12099.8	15619.8
Median	1710.7	938.6	1273.4	3269.9	2717.1
5° percentile	60.3	57.8	33.1	122.1	76.4
95° percentile	13600.1	5748.8	8344.4	15686.3	63515.3
% > Cutoff	86%	81%	83%	93%	88%
Minimo	21.7	21.7	27.3	60.3	76.4
Massimo	70025.3	10613.6	16817.2	70025.3	63515.3
N	158	41	48	53	16

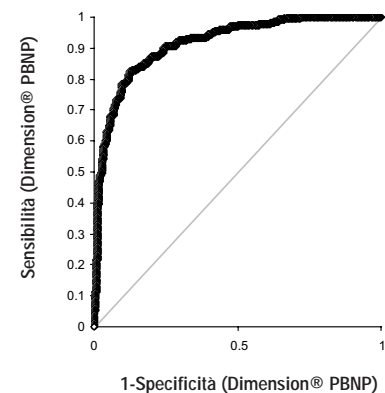
#### Popolazione ICC - Donne

Classe funzionale NYHA	Tutti ICC	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Media	2363.5	761.6	1208.8	2920.1	4824.3
DS	3725.4	1301.7	2013.8	3749.6	5565.2
Median	933.5	232.6	550.2	1933.5	2754.5
5° percentile	50.6	47.9	24.4	103.2	50.6
95° percentile	10375.0	4723.5	2524.6	13287.1	20855.8
% > Cutoff	81%	58%	83%	83%	93%
Minimo	17.6	47.9	17.6	103.2	50.6
Massimo	20855.8	4723.5	10029.4	13287.1	20855.8
N	69	12	24	18	15

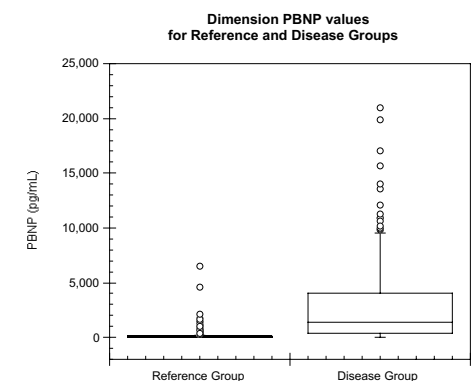
Questi risultati correlano la gravità dei segni e dei sintomi clinici di insufficienza cardiaca congestizia (ICC) alla concentrazione mediana di NT-proBNP e dimostrano che il metodo PBNP Dimension® è un utile strumento diagnostico indipendentemente dal grado di severità di tale patologia, anche in pazienti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

#### Interpretazione dei risultati

La curva ROC (Receiver Operator Characteristics) mostra la sensibilità e la specificità clinica ai vari livelli soglia per i 227 pazienti con insufficienza cardiaca congestizia e i 308 soggetti non affetti da tale patologia. Tale curva per il test Dimension PBNP è mostrata di seguito. L'area al di sotto della curva ROC (AUC) per il test Dimension® PBNP è 0.921 con un livello di confidenza del 95% compreso tra 0.898 e 0.943.



Di seguito è riportato un diagramma scatola-baffi della popolazione dello studio clinico. Le soglie cliniche raccomandate 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 tre campioni di gruppi patologici con valori superiori all'intervallo di misura.



#### Sensibilità e specificità vs età e sesso

Le tabelle riportate di seguito mostrano la sensibilità e la specificità cliniche del test PBNP per Dimension® mediante 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 uguale o superiore a 75 anni.

Uomini	<75 Anni	≥75 Anni
sensibilità	84% (93/111)	92% (43/47)
Intervallo di confidenza 95%	77 - 91	84 - 99
specificità	95% (79/83)	77% (48/62)
Intervallo di confidenza 95%	91 - 100	67 - 88

Donne	<75 Anni	≥75 Anni
sensibilità	77% (36/47)	91% (20/22)
Intervallo di confidenza 95%	64 - 89	79 - 100
specificità	97% (100/103)	88% (53/60)
Intervallo di confidenza 95%	94 - 100	80 - 96

### Analisi basata sulla corrispondenza di età

I dati clinici sono stati esaminati tramite l'analisi basata sulla corrispondenza di età utilizzando il metodo ponderato descritto da Kondratovich (2002)<sup>22</sup>. La curva AUC risultante è 0.925 con un intervallo di confidenza del 95% compreso tra 0.903 e 0.946.

### Caratteristiche specifiche di prestazione<sup>f</sup>

Materiale	Riproducibilità g			Total	
	Media (pg/ml)	SD (pg/ml)	%CV	SD (pg/ml)	%CV
Pool di plasma umano 1	159.0	3.4	2.2	9.1	5.7
Pool QC interni					
Pool di plasma umano 1	449.5	8.1	1.8	16.6	3.7
Pool di plasma umano 2	956.7	15.3	1.6	34.9	3.6
Controllo Audit <sup>TM</sup> MicroFD <sup>TM</sup> BNP					
Livello 1	175.5	2.0	1.1	6.8	3.8
Livello 2	3733.8	71.8	1.9	115.9	3.1

- f. Tutti i test riguardanti le caratteristiche specifiche di prestazione sono stati eseguiti dopo aver effettuato le normali verifiche del controllo di qualità consigliate per l'apparecchiatura (fare riferimento al manuale del sistema Dimension<sup>®</sup>).
- g. I test di riproducibilità sono stati effettuati secondo linee guida approvate per la valutazione da parte dell'utente della precisione dei dispositivi di chimica clinica dell'NCCLS (EP5-A, 1999). I campioni di ogni livello sono stati analizzati in duplicato una volta al giorno per 20 giorni. Le deviazioni standard intra serie e totale sono state calcolate mediante il metodo dell'analisi della varianza.

### Correlazione

È stato eseguito uno studio sulla comparazione dei metodi per dimostrare l'equivalenza dei test Dimension<sup>®</sup> PBNP e Elecsys<sup>®</sup> proBNP. I campioni per lo studio sono stati ottenuti da pazienti che presentavano insufficienza cardiaca congestizia (224), segni e sintomi clinici di insufficienza cardiaca congestizia (17) e pazienti selezionati casualmente senza precedente anamnesi o diagnosi (111).

Metodo Comparativo	Statistiche di regressione <sup>h,i,j</sup>			n
	Pendenza	Intercetta (pg/ml)	Coefficiente di Correlazione	
Elecsys <sup>®</sup> proBNP	0.90 (95% CI: 0.88 - 0.92)	-15.4 (95% CI: -25.0 - (-8.9))	0.985	352

- h. L'equazione modello per la statistica di regressione è: risultati del sistema Dimension<sup>®</sup> = [pendenza x (risultati metodo comparativo)] + intercetta.
- i. L'intervallo dei valori di PBNP nello studio di correlazione è stato: 16.1 - 29.893.1 pg/ml.
- j. Elecsys<sup>®</sup> Systems è un marchio registrato di Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim. Distributore negli U.S.A.: Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN 46250-0457 U.S.A.

### Sensibilità funzionale

La sensibilità funzionale di PBNP per Dimension<sup>®</sup> è ≤ 30.0 pg/ml. La sensibilità funzionale corrisponde alla concentrazione più bassa di NT-proBNP che può essere misurata con un coefficiente di precisione totale di variazione pari al 20%.

### Specificità analitica

Il metodo PBNP per Dimension<sup>®</sup> è specifico per NT-proBNP e non mostra reattività crociata significativa verso le sostanze riportate di seguito (analizzate con concentrazioni di NT-proBNP di circa 0 pg/ml e 125 pg/ml).

Sostanza	Concentrazione
ANP <sup>28</sup>	3.1 µg/ml
NT-proANP <sup>1-30</sup> (preproANP <sup>26-55</sup> )	3.5 µg/ml
NT-proANP <sup>31-67</sup> (preproANP <sup>56-92</sup> )	1.0 ng/ml
NT-proANP <sup>79-98</sup> (preproANP <sup>104-123</sup> )	1.0 ng/ml
BNP <sup>32</sup> (Natreacor <sup>®</sup> )	3.5 µg/ml
CNP <sup>22</sup>	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
Endothelina	20 pg/ml
Renina	50 ng/ml
Urodilattina	3.5 µg/ml
Arg-Vasopressina	1.0 ng/ml

### Sensibilità analitica

La sensibilità analitica del metodo PBNP è ≤ 10.0 pg/ml. La sensibilità analitica viene definita come la concentrazione a due deviazioni standard (N=20) su un campione privo di PBNP, come il calibratore PBNP Livello 1 (0 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 due 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	Campione C
Concentrazione iniziale (pg/ml)	35979	4616	1037
<b>Statistiche di regressione</b>			
Pendenza	0.954	0.990	1.030
Intercetta	511.9	-8.5	-1.6
Coefficiente di correlazione	0.999	1.000	0.999
N	6	6	6
<b>% di recupero</b>			
Media	99.8	98.6	101.0
Intervallo	95.9-104.5	96.4-100.0	96.8-103.8

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:

- 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.
  - 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.
  - de Bold AJ. Atrial natriuretic factor: A hormone produced by the heart. Science 1985; 230:767 - 770.
  - 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 .
  - de Bold AJ, Boerenstein HB, Varess AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial extracts in rats. Life Sci 1981;28:89-94.
  - 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.
  - Struthers AD. How to use natriuretic peptide levels for diagnosis and prognosis. The European Society of Cardiology. Eur Heart J 1999;20:1374-1375.
  - 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.
  - 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.
  - 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.
  - 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.
  - Fisher C et al. NT-proBNP predicts prognosis in patients with chronic heart failure. Heart 2003; 89:879-881.
  - 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.
  - Talwar S, Squire I, Downie P, Davies J, Ng LL. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and cardiostrophin 1 are raised in unstable angina. Heart 2000;84:421-424.
  - 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.
  - 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.
  - 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.
  - Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3<sup>rd</sup> edition, W.B Saunders Co. Philadelphia, PA 1999 pp. 42-72 (specimen collection).
  - Elecsys<sup>®</sup> proBNP Assay Package Insert Sheet, Roche Diagnostics GmbH, December 2003.
  - 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.
  - Vaidya HC, Beatty BG. Eliminating interference from heterophilic antibodies in a two-site immunoassay for creatine kinase MB by using F(ab')<sub>2</sub> conjugate and polyclonal mouse IgG. Clin Chem 1992;38:1737-1742.
  - Kondratovich, M (2002). Matched Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis and propensity scores. Proceedings of the 2002 Joint Statistical Meeting, Biopharmaceutical Section, New York, NY.
- Dimension<sup>®</sup> e Flex<sup>®</sup> sono un marchio registrato della Dade Behring Inc. presso l'Ufficio Brevetti e Marchi in U.S. in Germania ed in molti altri paesi.

Un asterisco (\*) indica una sezione aggiornata.

DADE BEHRING

Dimension® clinical chemistry system  
Heterogeneous Immunoassay Module

Flex® reagent cartridge

PBNP

Cartucho de reactivos Flex® de pro-Péptido Natriurético Cerebral N-terminal (PBNP)

**Uso previsto:** El ensayo de PBNP que se utiliza en el sistema de química clínica Dimension® con el módulo de inmunoensayo heterogéneo es un ensayo de diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa del pro-péptido natriurético cerebral N-terminal (NT-proBNP) en plasma humano. Los valores de NT-proBNP se utilizan como ayuda en el diagnóstico y valoración de la gravedad en personas que puedan padecer una insuficiencia cardíaca congestiva (ICC). Además, la prueba está indicada para la estratificación del riesgo en pacientes con síndrome coronario agudo e insuficiencia cardíaca.

**Resumen:** La disfunción ventricular izquierda puede producirse como parte de una cardiopatía coronaria, de la hipertensión arterial, de una enfermedad valvular o de una enfermedad miocárdica primaria. Si la disfunción ventricular izquierda no se trata y progresa, la tasa de mortalidad aumenta como consecuencia, por ejemplo, de una muerte cardíaca súbita.

La insuficiencia cardíaca crónica es un síndrome clínico provocado por un trastorno en la función de bombeo del corazón. La Asociación de cardiología de Nueva York, (New York Heart Association, NYHA), clasifica la insuficiencia cardíaca en cuatro (I-IV) niveles de gravedad, basándose en los síntomas. En el diagnóstico de la disfunción ventricular izquierda se utilizan pruebas clínicas y procedimientos de imagen.<sup>1</sup>

Se ha comprobado la importancia de los péptidos natriuréticos en el control del funcionamiento del sistema cardiovascular. Los estudios iniciales revelaron que se pueden utilizar los péptidos natriuréticos en el diagnóstico de problemas clínicos asociados a un trastorno del ventrículo izquierdo.<sup>2</sup> Se han publicado estudios sobre los siguientes péptidos natriuréticos: péptido natriurético atrial (ANP), péptido natriurético cerebral (BNP) y péptido natriurético de tipo C (CNP).<sup>3,4</sup>

ANP y BNP tienen propiedades natriuréticas y diuréticas. Como antagonistas del sistema renina-angiotensina-aldosterona, influyen en el equilibrio hídrico y electrolítico del organismo.<sup>5,6</sup> En individuos con disfunción ventricular izquierda, las concentraciones séricas y plasmáticas de BNP aumentan, al igual que las concentraciones de la prohormona biológicamente inactiva, proBNP. La proBNP está compuesta por 108 aminoácidos. Esta prohormona es segregada principalmente por el ventrículo izquierdo del corazón y, durante el proceso de secreción, se divide en la hormona fisiológicamente activa BNP (77-108) y en el fragmento N-terminal NT-proBNP (1-76).<sup>4</sup>

Los estudios revelan que NT-proBNP puede utilizarse con fines diagnósticos y para la determinación del pronóstico.<sup>7-13</sup> La concentración de NT-proBNP en el plasma es un indicador del pronóstico de la disfunción ventricular izquierda. También es útil en la clasificación de síntomas de origen cardíaco y no cardíaco.

La determinación de la cantidad de NT-proBNP ayuda a identificar a los individuos que tienen una disfunción ventricular izquierda. Se pueden utilizar los cambios en la concentración de NT-proBNP para evaluar el éxito del tratamiento en pacientes con disfunción ventricular izquierda. Existen indicios de que NT-proBNP, debido a sus funciones, es adecuado para la valoración de la remodelación vascular y que, por lo tanto, permite establecer procedimientos de rehabilitación individualizados.<sup>10,11</sup>

Fisher et al descubrieron que los pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva con valores elevados de NT-proBNP tuvieron un índice de mortalidad al año del 53% en comparación al 11% en pacientes con valores inferiores.<sup>12</sup> En el estudio Gusto IV, que incluyó a más de 6800 pacientes, se mostró que NT-proBNP fue el valor predictivo independiente más importante de la mortalidad a un año en pacientes con síndrome coronario agudo.<sup>13</sup>

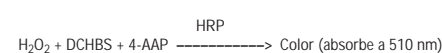
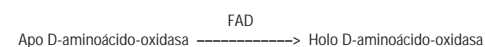
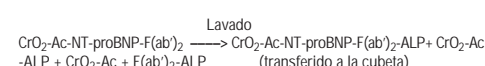
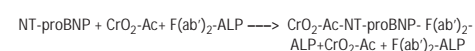
El grupo de trabajo para el diagnóstico y el tratamiento de la insuficiencia cardíaca crónica de la Sociedad europea de cardiología menciona en sus directrices que los péptidos natriuréticos, incluido el NT-proBNP, "pueden ser muy útiles clínicamente como pruebas para descartar, puesto que proporcionan valores predictivos negativos muy elevados de forma constante".

Las concentraciones de NT-proBNP aumentan en pacientes con angina inestable y como consecuencia de un infarto de miocardio.<sup>14,15</sup> Aunque no hay diagnóstico para estas condiciones, diversos estudios demuestran que los valores de NT-proBNP proporcionan información para la determinación del pronóstico, en la estratificación del riesgo a corto y largo plazo de pacientes con angina inestable o infarto de miocardio.<sup>15,16,17</sup>

**Principios del procedimiento:** El método PBNP es un inmunoensayo enzimático de una etapa basado en el principio "sándwich". La muestra se incuba con partículas de dióxido de cromo recubiertas con anticuerpos policlonales capaces de reconocer epítopos situados en la parte N-terminal del proBNP y un anticuerpo policlonal marcado con reactivo conjugado [fosfatasa alcalina (ALP)] específico para un segundo epítipo independiente de NT-proBNP, para que forme un sándwich de conjugado/NT-proBNP/partícula. Se retira el conjugado libre por medio de la separación magnética y el lavado. Después de la separación y el lavado, el sándwich de conjugado se coloca en la cubeta en la que la ALP ligada en sándwich activa una cascada de amplificación.\* La ALP defosforila el FADP (fosfato de flavina adenina dinucleótido) para producir FAD. El FAD se une a la Apo-D-aminoácido-oxidasa y la convierte en holo-D-aminoácido-

oxidasa activa. Cada molécula de holo-D-aminoácido-oxidasa produce varias moléculas de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en presencia de peroxidasa de rábano (HRP) convierte el ácido 3,5-dicloro-2 hidroxibenzenosulfónico (DCHBS) y la 4-aminoantipirina (4-AAP) en un producto de color que absorbe a 510 nm.<sup>9</sup> El cambio de color medido es directamente proporcional a la concentración de NT-proBNP presente en la muestra del paciente.

\*Tecnología autorizada de London Biotechnology, Ltd., London, U.K.



Reactivos

Pocillos <sup>a</sup>	Forma	Ingrediente	Concentración <sup>b</sup>	Origen
1,2	Tabletas <sup>c</sup>	FADP	0.056 mg/mL	
		D-prolina	68.8 mg/mL	
3,4	Tabletas <sup>c</sup>	Apo-D-aminoácido-oxidasa	0.23 mg/mL	Rinón porcino
		Peroxidasa de rábano	0.19 mg/mL	Rábano
		DCHBS (ácido dicloro-2-hidroxibenzenosulfónico)	3.9 mg/mL	
		4-AAP (4 aminoantipirina)	0.94 mg/mL	
5	Vacio			
6	Tabletas <sup>c</sup>	Anticuerpo-CrO2	1.3 mg/mL <sup>d</sup>	Ovino
7	Líquido	Tampón y estabilizantes		
8	Líquido	Anticuerpo-fosfatasa alcalina <sup>d</sup> tampón y estabilizantes		Ovino

- a. Los pocillos están numerados consecutivamente desde el extremo ancho del cartucho.
- b. Valor nominal en cartucho hidratado.
- c. Las tabletas contienen excipiente, tampones y estabilizantes.
- d. El valor del anticuerpo y la actividad del conjugado pueden variar de lote a lote.

**Preparación de reactivos:** El instrumento realiza la mezcla y la dilución automáticamente.

**Precauciones:** Irritante. Contiene 2-Cloracetamida. Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel. Evítense el contacto con la piel. Usense guantes adecuados. Contiene azida de sodio (<0.1%) como conservante. La azida de sodio puede reaccionar con tuberías de cobre o de plomo en los conductos de drenaje y formar compuestos explosivos. Elimine este producto de forma apropiada conforme a la normativa local.

**Las cubetas usadas contienen líquidos corporales humanos; manipúlelas con la debida atención para evitar la ingestión y el contacto con la piel.**

Para uso diagnóstico *in vitro*

**Conservación:** Conservar a 2 – 8 °C.

**Fecha de caducidad:** Consulte en la caja la fecha de caducidad de los cartuchos de reactivos individuales cerrados. Los pocillos del cartucho sellados o no hidratados en el instrumento son estables durante 30 días. Una vez que los pocillos 1, 2, 3 y 4 han sido abiertos por el instrumento, son estables durante 2.5 días. Una vez que los pocillos 6, 7 y 8 han sido abiertos por el instrumento, son estables durante 5 días.

**\*Recogida de muestras:** Se pueden tomar muestras de plasma (heparina de sodio y heparina de litio) siguiendo el procedimiento habitual.<sup>18</sup>

La comparación de los resultados de las pruebas en el sistema Dimension® entre las muestras de plasma con heparina de litio frente a heparina de sodio se presenta de la siguiente forma:

Muestra comparativa	Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación	N
Heparina de Na	0.95	0.9	0.998	55

La ecuación modelo para la regresión lineal de Passing-Bablok es: resultados del sistema Dimension® = [pendiente x (resultados de heparina de Li)] + intersección.

No se deben utilizar muestras de suero con el método PBNP.

Las muestras son estables durante 3 días si se conservan a 20 - 25 °C o 2 – 8 °C o durante 12 meses si se congelan a -20 °C o a una temperatura inferior.<sup>19</sup> Debe evitarse congelar y descongelar repetidamente las muestras.

Asegúrese de que las muestras del paciente, los calibradores y los controles están equilibrados a temperatura ambiente (22 – 28 °C) antes de realizar el análisis. Se deben centrifugar las muestras que contengan precipitados antes de realizar el ensayo.

Las muestras de sangre tomadas en presencia de EDTA, citrato u oxalato, y las muestras de plasma con insuficientes anticoagulantes pueden producir aglutinación de las partículas de cromo y no se deben utilizar.

Cada laboratorio debe establecer las normas de aceptabilidad para sus propios tubos de recogida de sangre. Puede haber variaciones entre productos de diferentes fabricantes y, en ocasiones, entre distintos lotes.

#### Sustancias que pueden interferir

Las siguientes sustancias no tienen un efecto significativo (inferior al 10%) al añadirse a aproximadamente 125 pg/mL de NT-proBNP, a las concentraciones indicadas:

Compuesto	Concentración
Acetaminofeno	20 mg/dL [1323 µmol/L] <sup>e</sup>
Alopurinol	2.5 mg/dL [184 µmol/L]
Amiodarona	20 µg/mL [31 µmol/L]
Amicacina	15 mg/dL [256 µmol/L]
Amiodipina besilato	4 µg/mL [7.1 µmol/L]
Ampicilina	5 mg/dL [143 µmol/L]
Ácido ascórbico	3 mg/dL [170.3 µmol/L]
Atenolol	1.0 mg/dL [37.6 µmol/L]
Bilirrubina, conjugada	60 mg/dL [1026 µmol/L]
Bilirrubina, no conjugada	20 mg/dL [342 µmol/L]
Cafeína	10 mg/dL [515 µmol/L]
Captopril	5.0 mg/dL [230 µmol/L]
Carbamazepina	12 mg/dL [508 µmol/L]
Cloranfenicol	25 mg/dL [774 µmol/L]
Clordiazepóxido	2 mg/dL [67 µmol/L]
Clorpromazina	5 mg/dL [157 µmol/L]
Coolesterol	500 mg/dL [12.9 mmol/L]
Cimetidina	10 mg/dL [396 µmol/L]
Creatinina	30 mg/dL [2652 µmol/L]
Ciclosporina A	4000 ng/mL [3.3 µmol/L]
Dextran75	2500 mg/dL [333 µmol/L]
Diazepam	2 mg/dL [70 µmol/L]
Diclofenaco	60 µg/mL [188.6 µmol/L]
Digitoxina	60 mg/mL [78.6 nmol/L]
Digoxina	5 ng/mL [6.4 nmol/L]
Diltiazem	120 µg/mL [266.1 µmol/L]
Dipiridamol	30 µg/mL [59.4 µmol/L]
Eritromicina	20 mg/dL [273 µmol/L]
Etanol	350 mg/dL [76 mmol/L]
Etosuximida	30 mg/dL [2125 µmol/L]
Furosemida	2 mg/dL [61 µmol/L]
Gentamicina	12 mg/dL [251 µmol/L]
Hemoglobina (monómero)	1000 mg/dL [0.62 mmol/L]
Heparina, sodio	8 IU/mL [8000 IU/L]
Hidralazina	20 µg/mL [101.7 µmol/L]
Hidroclorotiazida	20 µg/mL [67.2 µmol/L]
Ibuprofeno	40 mg/dL [1939 µmol/L]
Indometacina	16 µg/mL [36.9 µmol/L]
Dinitrato de isosorbida	6.0 mg/dL [254 µmol/L]
Lidocaína	6 mg/dL [256 µmol/L]
Lipemia (triglicéridos)	3000 mg/dL [33.9 mmol/L]
Lisinopril	16 µg/mL [36.2 µmol/L]
Cloruro de litio	3.5 mg/dL [5.07 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]
Nicotina	2 mg/dL [123 µmol/L]
Nifedipino	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 [25,000 IU/L]
Pentobarbital	10 mg/dL [442 µmol/L]
Fenobarbital	15 mg/dL [646 µmol/L]
Fenitoína	10 mg/dL [396 µmol/L]
Primidona	10 mg/dL [458 µmol/L]
Probenecid	200 µg/mL [700.9 µmol/L]
Propoxifeno	0.4 mg/dL [12 µmol/L]
Propranolol	0.15 mg/dL [5.1 µmol/L]
Proteína, albúmina de procedencia humana	6 g/dL [60 g/L]
Proteína, IgG de procedencia humana	6 g/dL [60 g/L]
Proteína, total alta	12 g/dL [120 g/L]
Proteína, total baja	3-4 g/dL [30 - 40 g/L]
Quinidina	20 µg/mL [61.6 µmol/L]
Factores reumatoides	500 IU/mL [500,000 IU/L]
Ácido salicílico	50 mg/dL [3.6 mmol/L]
Simvastatina	32 µg/mL [76.5 µmol/L]
Sulfametoxazol	320 µg/mL [1263.3 µmol/L]
Teofilina	25 mg/dL [1388 µmol/L]
Trimetoprim	64 µg/mL [220.7 µmol/L]
Urea	500 mg/dL [83.3 mmol/L]
Ácido úrico	20 mg/dL [1.2 mmol/L]
Ácido valproico	50 mg/dL [3467 µmol/L]
Verapamil	16 mg/dL [0.33 µmol/L]
Warfarina	4 µg/mL [13.0 µmol/L]

e. Sistema Internacional de Unidades (Unidades SI) entre corchetes

#### Procedimiento

##### Materiales proporcionados

Cartucho de reactivos PBNP Flex®, n° de cat. RF423

##### Materiales necesarios que no se suministran

Calibrador PBNP Dimension®, n° de cat. RC423

Cubiletes de Reacción, n° de cat. RXV1A

Solución de Lavado, n° de cat. RD701

Solución de Limpieza de la Cánula de Reactivo, n° de cat. RD702

Solución de Limpieza de la Cánula de Muestra, n° de cat. RD703

Diluyente de muestra, n° de cat. 791092901

Productos de control de calidad tales como:

Control MAS® Cardiolmmune® proBNP Liquid Assayed Cardiac Marker  
Control Bio-Rad Liquechek™ Cardiac Markers LT  
Control Audit™ MicroFD™ BNP

MAS® Cardiolmmune® son marcas comerciales registradas de Medical Analysis Systems, Inc. Camarillo, CA  
Liquechek™ es una marca comercial de Bio-Rad Laboratories, Irvine, California 92618

Audit™ y MicroFD™ son marcas comerciales de Audit™ MicroControls, Inc. Las Vegas, NV 89102

#### Proceso de análisis

El sistema Dimension® con módulo de inmunoensayo heterogéneo realiza automáticamente el muestreo, dispensación de reactivos, mezclado, procesado e impresión de resultados. Para obtener detalles sobre este proceso, consulte el manual del sistema Dimension®.

#### Condiciones del análisis

Cubete de reacción	Reacción	Blanco
Volumen de muestra:	50 µL	0 µL
Anticuerpo-CrO <sub>2</sub> :	25 µL	30 µL
Anticuerpo-ALP:	40 µL	30 µL
Temperatura	37 °C ± 1.0 °C	390 µL
Periodo de incubación	6.4 minutos	
<b>Cubeta</b>	<b>Reacción</b>	<b>Blanco</b>
Volumen transferido	40 µL	0 µL
Volumen de reactivo FADP	30 µL	30 µL
Volumen de reactivo APO	30 µL	30 µL
Volumen de diluyente	350 µL	390 µL
Temperatura	37 °C ± 0.1 °C	
Periodo de reacción	5.4 minutos	
Longitud de onda	510 y 700 nm	
Tipo de medición	Cinética bicromática	
Unidades	pg/mL	

#### Calibración

El procedimiento general de calibración se describe en el manual del sistema Dimension®. Para la calibración del método de PBNP deben considerarse los siguientes datos:

El PBNP requiere scalers de calibración específicos de lote. Consulte la etiqueta de la caja PBNP Flex®. Se deben introducir estos scalers en la pantalla de calibración antes de realizar la calibración. Si no se introducen estos scalers se obtendrán resultados inexactos.

Intervalo de ensayo	10 – 30000 pg/mL
Material de referencia:	Calibrador PBNP Dimension® (n° de cat. RC423)
Intervalo de calibración:	0-30,000 pg/mL
Niveles de calibración	0, 300, 1500, 12000, 30000 pg/mL
Esquema de calibración:	Cinco niveles. El nivel 1 se analiza por cuadruplicado. Los niveles 2, 3 y 5 se analizan por triplicado. El nivel 4 se analiza por duplicado. Asegúrese de que se dispensa suficiente muestra en cada copa para realizar el número de determinaciones de cada nivel durante la calibración.
Frecuencia de calibración:	Cada lote nuevo de reactivos Cada 30 días para el mismo lote
Coefficientes iniciales:	C <sub>0</sub> -2826.0 C <sub>1</sub> 16014.0 C <sub>2</sub> -2.2 C <sub>3</sub> 18293.0 C <sub>4</sub> 0.5
Factores de calibración:	Consulte la etiqueta de la caja. Se deben introducir los factores de lote Flex® específicos en la pantalla de calibración antes de realizar la calibración.

#### Control de calidad

Al menos una vez cada día que se utilice, analice dos niveles de un material de control de calidad con concentraciones conocidas de NT-proBNP. Los resultados de la prueba se consideran no válidos si se encuentran fuera de los límites aceptables establecidos por el laboratorio. Siga el procedimiento descrito en el manual de su sistema Dimension®.

Puede existir un mal funcionamiento del sistema si se obtiene la siguiente precisión en 5 pruebas:

Concentración	DE (desviación estándar)
150 pg/mL	>15 pg/mL
450 pg/mL	>45 pg/mL

#### Resultados

El sistema Dimension® calcula automáticamente las concentraciones de NT-proBNP en pg/mL mediante el esquema de cálculo que aparece en el manual del sistema Dimension®. Los resultados de este análisis deben interpretarse siempre conjuntamente con la historia clínica del paciente, la presentación clínica y otros hallazgos.

#### Limitaciones del procedimiento:

Resultados:	< 10.0 pg/mL se deben informar como "inferior a 10.0 pg/mL" en lugar del valor numérico.
Dilución manual:	>30000 pg/mL Los resultados que superen los 30000 pg/mL se deben repetir después de diluir la muestra con el nivel 1 de calibrador Dimension® PBNP o con diluyente de muestra Dimension® para obtener resultados que estén dentro de los límites del ensayo. Introducir el factor de dilución. Repetir el análisis. La lectura de resultados se corrige según la dilución.
Autodilución (AD):	La autodilución no se recomienda para este método.

Los ensayos inmunométricos de una sola etapa son susceptibles de presentar un «efecto prozona», en el que un exceso de antígeno impide la unión simultánea de los anticuerpos de captura y de detección en una única molécula de analito.<sup>20</sup> Se debe diluir y volver a analizar estas muestras antes de informar los resultados (consulte la información de dilución antes mencionada). El método de PBNP no muestra un efecto prozona por lo menos hasta 300000 pg/mL.

1st fold

2nd fold

12" @ 100%

Las concentraciones de péptidos natriuréticos pueden ser elevadas en pacientes con infarto agudo de miocardio, pacientes candidatos a diálisis renal y pacientes que han sido sometidos a diálisis renal.

Las muestras de pacientes pueden contener anticuerpos heterófilos que pueden reaccionar en los inmunoensayos y dar lugar a resultados falsamente elevados o reducidos. Este ensayo está diseñado para minimizar la interferencia de los anticuerpos heterófilos.<sup>21</sup>

El sistema de generación de informes del instrumento incluye mensajes de error que alertan al usuario de problemas específicos. Cualquier informe que contenga este tipo de mensajes de error deberá retenerse para su seguimiento. Consulte el manual del sistema Dimension®.

**Valores esperados:** Las siguientes tablas muestran las concentraciones de NT-proBNP en el grupo de referencia. Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo de referencia para el método de PBNP realizado en el sistema Dimension®. Los umbrales de decisión más adecuados de estas distribuciones son:

Pacientes < 75 años: 125 pg/mL

Pacientes ≥ 75 años: 450 pg/mL

#### Grupo de estudio de referencia

Se determinó la concentración de NT-proBNP en 308 individuos con insuficiencia cardíaca congestiva (163 mujeres y 145 hombres). Esta población incluía individuos aparentemente sanos e individuos con diabetes, hipertensión y enfermedades pulmonares. La siguiente tabla muestra las concentraciones de NT-proBNP en el grupo de referencia.

Todas	<55 años	55 - 64 años	65 - 74 años	≥ 75 años
Media	32.1	39.1	83.1	353.6
DE	38.2	46.2	54.6	775.8
Mediana	17.9	18.8	59.5	125.6
Percentil 95	81.9	163.1	202.6	1372.8
% < 125 pg/mL	97%	93%	88%	-
% < 450 pg/mL	-	-	-	83%
N	163	15	8	122

Hombres	<55 años	55 - 64 años	65 - 74 años	≥ 75 años
Media	29.7	37.9	76.0	414.3
DE	42.5	41.6	-	889.0
Mediana	13.4	13.4	76.0	111.8
Percentil 95	134.4	114.3	76.0	1475.7
% < 125 pg/mL	95%	100%	100%	-
% < 450 pg/mL	-	-	-	77%
N	76	6	1	62

Mujeres	<55 años	55 - 64 años	65 - 74 años	≥ 75 años
Media	34.2	39.9	84.1	291.0
DE	34.0	51.6	58.9	639.7
Mediana	23.7	18.8	59.5	131.3
Percentil 95	75.8	163.1	202.6	1080.7
% < 125 pg/mL	99%	89%	86%	-
% < 450 pg/mL	-	-	-	88%
N	87	9	7	60

#### Grupo de estudio de la enfermedad

Se tomaron muestras de sangre de 227 pacientes a los que se había diagnosticado insuficiencia cardíaca congestiva (ICC). La población incluía 69 mujeres y 158 hombres. A continuación se incluye la estadística descriptiva y las clases funcionales de la Asociación de cardiología de Nueva York (NYHA). Cada laboratorio debería establecer unos límites de referencia que representen a la población de pacientes que se va a evaluar. Además, los laboratorios deben tener en cuenta las prácticas actuales de su centro a la hora de evaluar la insuficiencia cardíaca congestiva.

#### Población con insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) - Todos

	<55 años	55 - 64 años	65 - 74 años	≥ 75 años
Media	2400.1	3120.7	4167.4	4579.3
DE	3855.9	8809.1	8550.7	8721.2
Mediana	660.5	533.3	1506.7	2513.4
Percentil 95	10961.2	16817.2	10889.3	11398.6
% > 125 pg/mL	79%	73%	90%	-
% > 450 pg/mL	-	-	-	91%
N	48	49	61	69

#### Población con insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) - Hombres

	<55 años	55 - 64 años	65 - 74 años	≥ 75 años
Media	2748.2	3475.1	4427.8	5773.0
DE	4179.3	10332.0	9669.3	10238.5
Mediana	1148.2	821.7	1273.4	3086.6
Percentil 95	12127.1	16817.2	10889.3	14118.8
% > 125 pg/mL	77%	84%	89%	-
% > 450 pg/mL	-	-	-	92%
N	34	32	45	47

#### Población con insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) - Mujeres

	<55 años	55 - 64 años	65 - 74 años	≥ 75 años
Media	1554.7	2453.7	3435.2	2028.9
DE	2886.2	5024.5	4175.0	2581.3
Mediana	257.8	492.9	1828.4	1077.1
Percentil 95	10961.2	20855.8	13287.1	8891.2
% > 125 pg/mL	86%	53%	94%	-
% > 450 pg/mL	-	-	-	91%
N	14	17	16	22

#### Población con insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) - Todos

Clase funcional de la NYHA	Todos ICC				
	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV	
Media	3693.0	1492.9	2124.5	5423.2	7134.5
DE	7911.8	2260.2	2946.1	10692.5	11900.1
Mediana	1422.0	659.2	1077.1	2636.5	2754.5
Percentil 5	59.3	47.9	29.4	117.4	76.4
Percentil 95	11398.6	5748.8	8344.4	13287.1	20855.8
% > punto de corte	85%	76%	83%	90%	90%
Mínimo	17.6	21.7	17.6	60.3	50.6
Máximo	70025.3	10613.6	16817.2	70025.3	63515.3
N	227	53	72	71	31

#### Población con insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) - Hombres

Clase funcional de la NYHA	Todos ICC				
	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV	
Media	4273.6	1706.9	2582.3	6273.3	9300.3
DE	9109.3	2242.9	3238.0	12099.8	15619.8
Mediana	1710.7	938.6	1273.4	3269.9	2717.1
Percentil 5	60.3	57.8	33.1	122.1	76.4
Percentil 95	13600.1	5748.8	8344.4	15686.3	63515.3
% > punto de corte	86%	81%	83%	93%	88%
Mínimo	21.7	21.7	27.3	60.3	76.4
Máximo	70025.3	10613.6	16817.2	70025.3	63515.3
N	158	41	48	53	16

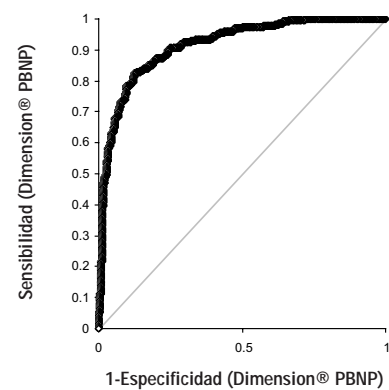
#### Población con insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) - Mujeres

Clase funcional de la NYHA	Todos ICC				
	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV	
Media	2363.5	761.6	1208.8	2920.1	4824.3
DE	3725.4	1301.7	2013.8	3749.6	5565.2
Mediana	933.5	232.6	550.2	1933.5	2754.5
Percentil 5	50.6	47.9	24.4	103.2	50.6
Percentil 95	10375.0	4723.5	2524.6	13287.1	20855.8
% > punto de corte	81%	58%	83%	83%	93%
Mínimo	17.6	47.9	17.6	103.2	50.6
Máximo	20855.8	4723.5	10029.4	13287.1	20855.8
N	69	12	24	18	15

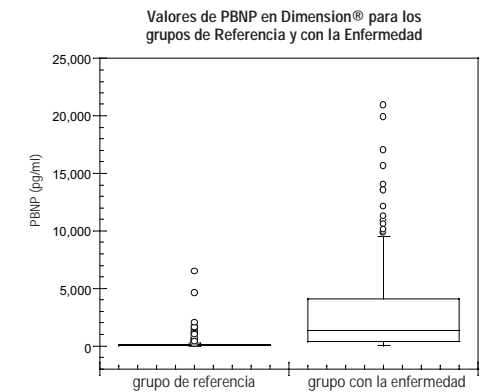
Estos resultados muestran que existe una relación entre la gravedad de los síntomas y signos clínicos de la insuficiencia cardíaca congestiva y la concentración media de NT-proBNP, lo que demuestra que se puede utilizar el método PBNP de Dimension® para ayudar en el diagnóstico de insuficiencias cardíacas congestivas sea cual sea su gravedad, incluidos los casos de pacientes asintomáticos.

#### Interpretación de los resultados

La curva ROC (Receiver Operator Characteristics) presenta la especificidad y sensibilidad clínicas con varios puntos de corte para los 227 pacientes diagnosticados con insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) y 308 individuos sin ICC. A continuación, se muestra la curva ROC del ensayo PBNP de Dimension®. El área bajo la curva ROC (AUC) con el ensayo PBNP de Dimension® es de 0.921 con un intervalo de confianza del 95% de 0.898 a 0.943.



A continuación se muestra un diagrama de caja y bigotes de la población del estudio clínico. Los umbrales clínicos recomendados son 125 pg/mL para pacientes menores de 75 años y 450 pg/mL para pacientes de 75 o más años. En el gráfico no se muestran tres muestras del grupo con la enfermedad cuyos valores estaban por encima de los límites del ensayo.



#### Sensibilidad y especificidad frente a edad y sexo

Las siguientes tablas muestran la sensibilidad y la especificidad clínicas del ensayo PBNP de Dimension® utilizando un punto de corte de 125 pg/mL para pacientes de menos de 75 años y un punto de corte de 450 pg/mL para pacientes de 75 o más años.

Hombres	<75 años		≥ 75 años	
	Sensibilidad	Intervalo de confianza del 95%	Especificidad	Intervalo de confianza del 95%
	84% (93/111)	77 - 91	92% (43/47)	84 - 99
	95% (79/83)	91 - 100	77% (48/62)	67 - 88

Mujeres	<75 años		≥ 75 años	
	Sensibilidad	Intervalo de confianza del 95%	Especificidad	Intervalo de confianza del 95%
	77% (36/47)	64 - 89	91% (20/22)	79 - 100
	97% (100/103)	94 - 100	88% (53/60)	80 - 96

## Análisis ROC por edad

Se realizó un análisis ROC por edad de los datos clínicos con el método ponderado descrito en Kondratovich (2002)<sup>22</sup>. El AUC resultante fue de 0.925 con un intervalo de confianza del 95% de 0.903 a 0.946.

## Características específicas de funcionamiento f

Material	Reproducibilidad g			Total	
	Media (pg/mL)	Intra-serie SD (pg/mL)	%CV	SD (pg/mL)	%CV
"Pool" de plasma humano 1	159.0	3.4	2.2	9.1	5.7
"Pools" de control de calidad internos					
"Pool" de plasma humano 1	449.5	8.1	1.8	16.6	3.7
"Pool" de plasma humano 2	956.7	15.3	1.6	34.9	3.6
Audit™ MicroFD™ BNP Control					
Nivel 1	175.5	2.0	1.1	6.8	3.8
Nivel 2	3733.8	71.8	1.9	115.9	3.1

f. Todas las pruebas de características específicas de funcionamiento se procesaron tras haber realizado las comprobaciones normales recomendadas de control de calidad del instrumento (consulte el manual del sistema Dimension®).

g. Las pruebas de reproducibilidad se realizaron siguiendo las directrices aprobadas del NCCLS para la evaluación por el usuario de las características de precisión de dispositivos de química clínica EP5-A, 1999. Las muestras de cada nivel se analizaron por duplicado una vez al día durante 20 días. Las desviaciones estándar intra serie y total se calcularon mediante el método de análisis de varianza.

## Correlación

Se llevó a cabo un estudio de comparación de métodos para demostrar la equivalencia de los ensayos PBNP de Dimension® y proBNP de Elecsys®. Las muestras para el estudio se obtuvieron de pacientes con ICC (n=224), pacientes con signos y síntomas que indicaban ICC (n=17), y pacientes seleccionados al azar sin historial diagnóstico médico conocido (n=111).

## Estadísticas de Regresión h,i,j

Método comparativo	Pendiente	Intersección pg/mL	Coefficiente de correlación	n
Elecsys® proBNP	0.90 (95% CI: 0.88 - 0.92)	-15.4 (95% CI: -25.0 - (-8.9))	0.985	352

h. La ecuación modelo para la estadística de regresión es: resultados del sistema Dimension® = [pendiente x (resultados del método comparativo)] + intersección.

i. El intervalo de valores de PBNP en el estudio de correlación fue de: 16.1 - 29,893.1 pg/mL.

j. Elecsys® Systems es una marca registrada de Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim. Distribuidor en EE.UU.: Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN 46250-0457 EE.UU.

## Sensibilidad funcional

La sensibilidad funcional del método PBNP de Dimension® es ≤ 30.0 pg/mL. La sensibilidad funcional es la concentración inferior de NT-proBNP que se puede medir con un coeficiente de variación total del 20%.

## Especificidad analítica

El método PBNP de Dimension® es específico para NT-proBNP y no muestra una reactividad cruzada significativa con las siguientes sustancias (probadas con concentraciones de NT-proBNP de aproximadamente 0 pg/mL y 125 pg/mL).

Sustancia	Concentración
ANP <sup>28</sup>	3.1 µg/mL
NT-proANP <sup>1-30</sup> (preproANP <sup>26-55</sup> )	3.5 µg/mL
NT-proANP <sup>31-67</sup> (preproANP <sup>56-92</sup> )	1.0 ng/mL
NT-proANP <sup>79-98</sup> (preproANP <sup>104-123</sup> )	1.0 ng/mL
BNP <sup>32</sup> (Natrecor®)	3.5 µg/mL
CNP <sup>22</sup>	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
Urodilatina	3.5 µg/mL
Arg-vasopresina	1.0 ng/mL

## Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica del método de PBNP es ≤ 10.0 pg/mL. Esta sensibilidad se define como la concentración a dos desviaciones estándar (N=20) por encima de una muestra desprovista de PBNP como el calibrador de PBNP Nivel 1 (0 pg/mL).

## Linealidad dilucional

Se diluyó una muestra de plasma de paciente con una concentración elevada de NT-proBNP en todo el intervalo del ensayo. Se diluyeron dos muestras de plasma adicionales linealmente para confirmar la exactitud dilucional en los valores bajos del intervalo del ensayo. Todas las muestras se diluyeron con pools de plasma de paciente con concentraciones bajas. En la siguiente tabla se resumen los resultados de estos estudios:

	Muestra A	Muestra B	Muestra C
Concentración inicial (pg/mL)	35979	4616	1037
Estadísticas de regresión			
Pendiente	0.954	0.990	1.030
Intersección	511.9	-8.5	-1.6
Coefficiente de correlación	0.999	1.000	0.999
N	6	6	6
% de recuperación			
Media	99.8	98.6	101.0
Intervalo	95.9-104.5	96.4-100.0	96.8-103.8

Fabricado bajo licencia de Roche Diagnostics.

Patente de EE.UU. 5786163 y equivalentes extranjeras

Solicitud de patente de EE.UU.: 09/890442 y equivalentes extranjeras

Clave de los Símbolos: Ver hoja adjunta.

## Bibliografía:

- 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.
- 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.
- de Bold AJ. Atrial natriuretic factor: A hormone produced by the heart. Science 1985; 230:767 - 770.
- Valli N, Gobinet A, Bordernave L. Review of 10 years of the clinical use of brain natriuretic peptide in cardiology. J Lab Clin Med 1999;134:437-444.
- de Bold AJ, Boerenstein HB, Vares AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial extracts in rats. Life Sci 1981;28:89-94.
- 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.
- Struthers AD. How to use natriuretic peptide levels for diagnosis and prognosis. The European Society of Cardiology. Eur Heart J 1999;20:1374-1375.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Fisher C et al. NT-proBNP predicts prognosis in patients with chronic heart failure. Heart 2003; 89:879-881.
- 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.
- Talwar S, Squire I, Downie P, Davies J, Ng LL. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and cardiostrophin 1 are raised in unstable angina. Heart 2000;84:421-424.
- 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.
- 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.
- 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.
- Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition, W.B Saunders Co. Philadelphia, PA 1999 pp. 42-72 (specimen collection).
- Elecsys® proBNP Assay Package Insert Sheet, Roche Diagnostics GmbH, December 2003.
- 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.
- Vaidya HC, Beatty BG. Eliminating interference from heterophilic antibodies in a two-site immunoassay for creatine kinase MB by using F(ab')<sub>2</sub> conjugate and polyclonal mouse IgG. Clin Chem 1992;38:1737-1742.
- Kondratovich, M (2002). Matched Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis and propensity scores. Proceedings of the 2002 Joint Statistical Meeting, Biopharmaceutical Section, New York, NY.

Dimension® y Flex® son marcas registradas de Dade Behring Inc., en la Oficina de Patentes y Marcas Registradas de los EEUU, en Alemania y muchos otros países.

Un asterisco (\*) indica una sección revisada.