Версия 2013.01

**Кат. № PF1061-K**

**Только для диагностики ин-витро**

**Тест-система для определения NTproBNP PATHFAST**

**(PATHFAST™ NTproBNP)**

**60 определений**

*Предназначение*

Тест-система для определения NTproBNP (PATHFAST NTproBNP) предназначена для ин-витро диагностики на анализаторе PATHFAST и служит для количественного определения концентрации N-терминального-про B-типа натрий-уретического пептида (NT-proBNP) в гепаринизированной или ЭДТА цельной крови и плазме. Результат анализа используется для помощи в диагностике и оценке тяжести застойной сердечной недостаточности (ХСН) и стратификации риска у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС).

*Описание*

B-тип натрийуретического пептида (BNP) – маленький пептид (32 аминокислотных остатка), секретируемый сердечными миоцитами для регуляции кровяного давления и баланса жидкости в организме. Его предшествующая форма ProBNP синтезируется левым желудочком сердца в виде одноцепочечного пептида из 108 аминокислот. Во время этого процесса ProBNP расщепляется на два фрагмента, которые выделяются в кровь в виде активного BNP, состоящего из 32 аминокислот (77-108) и N-терминального фрагмента из 76 аминокислот (1-76), который обозначается как NT-proBNP. Определение NT-proBNP помогает идентифицировать пациентов с дисфункцией левого желудочка. Изменения концентрации NT-proBNP могут использоваться для оценки эффективности лечения больных с дисфункцией левого желудочка.2-5

Тест-система для определения NTproBNP является анализом для измерения NT-proBNP в формате хемилюминесцентного иммуноферментного анализа (CLEIA). Все необходимые для проведения тестирования компоненты упакованы в одном картридже. После загрузки картриджа в диагностический анализатор PATHFAST количественный результат может быть получен через 17 минут.

*Состав набора*

1. Картриджи с реагентами: 60 картриджей (6 х 10 уп.).

Картридж с реагентами состоит из 16 лунок. Все лунки кроме лунки для пробы (№1) и счетной лунки (№10) запечатаны алюминиевой фольгой со штрих-кодом.. Каждая лунка картриджа заполнена реагентами для тестирования.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Лунки | Форма | Состав | Коли-чество | Источник |
| №2 | Жидкая | Щелочная фосфатаза,  конъюгированная с PoAb\* к NT-proBNP в  MOPS\*\* Буфере | 50 мкл | Микробная  Овечьи |
| №7 | Жидкая | PoAb к NT-proBNP на магнитных частицах в  MOPS Буфере | 50 мкл | Овечьи |
| №13 | Жидкая | Хемилюминесцентный субстрат CDP-Star® | 100 мкл |  |
| №11 | Жидкая | Буфер для разведения образцов в составе:  MOPS буфер | 25 мкл |  |
| №3, 4, 5 | Жидкая | Промывочный буфер в составе:  MOPS буфер с  Натрия азидом | 400 мкл  < 0,1% |  |

№№ 1, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 16 – пустые лунки

\*PoAb - поликлональные антитела

\*\*MOPS - 3-морфолинопропансульфоновая кислота

CDP-Star® - зарегистрированная торговая марка Applied Biosystems

2. Калибратор 1 (CAL-1) 1 флакон x 2,0 мл (жидкий)

3. Калибратор 2 (CAL-2) 2 флакона для 1,0 мл (лиофилизированный)

4. Разбавитель для калибратора 2 флакона x 1,0 мл (жидкий)

5. Карта эталонной калибровки (MC Entry Card) 1 штука

6. Инструкция 1 штука

7. Паспорт контрольных значений 1 штука

*Необходимые материалы и оборудование*

Анализатор PATHFASTTM и расходные материалы

NT-proBNP контроль – рекомендуется контрольный материал Bio-Rad Liquichek Cardiac Markers Plus Control LT, кат. №№ 146, 147 и148.

*Принцип анализа*

Процедура проведения анализа основана на методе хемилюминесцентного иммуноферментного анализа (CLEIA) с использованием технологии MAGTRATION®. В этой процедуре поликлональные антитела к NT-proBNP, связанные со щелочной фосфатазой и поликлональные антитела к NT-proBNP на магнитных частицах смешиваются с пробой. NT-proBNP пробы связывается с антителами к NT-proBNP, образуя иммунокомплекс с мечеными ферментом антителами и антителами на магнитных частицах. После удаления несвязавшегося материала к иммунному комплексу добавляется хемилюминесцентный субстрат. После короткой инкубации под воздействием ферментной реакции в смеси начинается люминесценция, интенсивность которой зависит от концентрации NT-proBNP в пробе. Расчет результата проводится по стандартной калибровочной кривой.

\*MAGTRATION® - технология разделения B/F (связанного/свободного материала) с промывкой магнитных частиц в наконечниках. Технология является зарегистрированной торговой маркой Precision System Science.

*Меры предосторожности*

Картриджи с реагентами:

1. Не использовать реагенты по окончании срока хранения.
2. Не использовать картриджи повторно, это одноразовые расходные материалы.
3. Не снимать алюминиевую фольгу с картриджа.
4. Держать картридж только за край и не касаться пальцами алюминиевого покрытия и черной счетной лунки.
5. Не пользоваться поврежденными картриджами.
6. Не использовать реагенты, хранившиеся при комнатной температуре.
7. Избегать попадания слюны в черную счетную лунку.
8. Избегать загрязнения реагентов и их экспозиции на прямом солнечном свету.
9. При некоторых условиях хранения и транспортировки может наблюдаться слипание алюминиевого покрытия картриджей. Если такое наблюдается, аккуратно разделите картриджи на столе.
10. Азид натрия, содержащийся в реагентах, может вступать в реакцию с медью и свинцом в водопроводных системах с образованием взрывоопасных солей. Содержание этого вещества в реагентах крайне мало, но, тем не менее, при утилизации азид-содержащих материалов, они должны смываться большим количеством воды.
11. Утилизировать отходы в соответствии с национальными правилами утилизации биологических отходов. Соблюдать общие меры предосторожности и обращаться со всеми компонентами как с потенциально инфекционными агентами.

*Условия хранения*

Хранить при +2 +8ºС. Не открывать картридж до использования.

*Срок хранения*

Срок хранения указан на картридже, коробках с картриджами и упаковке.

*Сбор проб*

1. Использовать цельную кровь или плазму, собранные стандартной процедурой в пробирки с натрия гепаринатом, лития гепаринатом или Na2-ЭДТА и К2-ЭДТА.
2. Пробы цельной крови должны быть проанализированы в течение 4 часов после сбора. Непосредственно перед внесением пробы цельной крови в лунку на картридже, следует осторожно смешать кровь в пробирке (не использовать вихревой смеситель вортекс). Немедленно после внесения пробы нужно загрузить картридж в прибор и начать тестирование.
3. Перед использованием пробы следует убедиться, что она не содержит фибриновых нитей и других нерастворимых частиц, в противном случае образец необходимо осветлить центрифугированием или фильтрацией.
4. Пробы плазмы можно хранить при температуре -20оС и ниже. Размороженные пробы не замораживать повторно.

*Стабильность проб*

ЭДТА и гепариновая плазма:

1. +15 – +25°C: 72 ч
2. +2 - +8°C: 6 дней
3. -20°C: 12 месяцев (однократная заморозка)

*Подготовка реагентов и проведение анализа*

*Подготовка реагентов*

1. Картридж с реагентами

Готов к использованию.

1. Калибратор 1 (CAL-1)

Готов к использованию.

Вскрытый флакон с калибратором может храниться до одного месяца плотно закрытым при +2 +8°C и ниже.

1. Калибратор 2 (CAL-2)

Восстановить каждый флакон калибратора 2 при помощи содержимого одного флакона разбавителя для калибратора. Оставить на столе на 10 минут при комнатной температуре для полного растворения. Восстановленный калибратор может храниться до 24 часов при +2 + 8°C и до 3 месяцев при–20°C и ниже.

Примечание:

1. Используйте одинаковые лоты калибратора 1, калибратора 2, разбавителя для калибратора и картриджей с реагентами. Никогда не смешивайте разные лоты реагентов.
2. Калибратор 2 содержит бычий сывороточный альбумин (БСА). Обращаться с осторожностью, избегать контакта с кожей.

*Установка основной калибровочной кривой*

1. Установка основной калибровочной кривой проводится каждый раз при начале использования нового лота реагентов.
2. Установка основной калибровочной кривой производится путем считывания карты эталонной калибровки (MS ENTRY CARD), вложенной в упаковку, с помощью ручного считывателя штрих-кодов для PATHFAST. Подробную процедуру см. в руководстве пользователя для прибора.

*Пользовательская калибровка*

Смотрите руководство пользователя для прибора PATHFAST.

1. Проведение пользовательской калибровки необходимо каждый раз при начале использования нового лота реагентов. Калибровка делается после установки основной калибровочной кривой по карте эталонной калибровки.
2. Пользовательскую калибровку необходимо обновлять каждые 4 недели после проведения первой калибровки (карта эталонной калибровки для этого не нужна).
3. Должны быть протестированы оба калибратора в дублях. Следовательно, для проведения калибровки требуются 4 картриджа, два для калибратора 1 и два для калибратора 2.
4. Установите реагентные картриджи в кассету для картриджей на приборе, потом внесите примерно по 100 мкл калибратора 1 и калибратора 2 в лунки для проб, установите в гнезда для наконечников на приборе новые наконечники напротив картриджей, опустите крышку и запустите прибор в режиме калибровки. Крышка автоматически заблокируется, и начнется тестирование. Через 17 мин результат будет выведен на дисплей и на печать. Подробности процедуры см. в руководстве пользователя для прибора.
5. Откройте крышку, удалите картриджи и наконечники в отходы.

*Контроль качества*

1. Контроль качества проводится после каждой калибровки для того, чтобы проверить калибровочные кривые и сохранить контрольные данные для контроля качества анализов. Контроль качества обязателен для гарантии точности результатов. После каждой калибровки, в каждой новой партии реагентов, или всякий раз, когда необходимо проверить точность результатов, нужно сравнить два уровня контрольных материалов с известными уровнями NT-proBNP.
2. Правила GLP (Надлежащей лабораторной практики) рекомендуют использование соответствующего контроля качества. Для контроля качества рекомендуется соблюдать положения федеральных, областных и местных правил. Если контроль не проводится надлежащим образом, не используйте результаты тестов. Повторите тест или обратитесь к вашему авторизованному дистрибьютору PATHFAST для технической поддержки.

*Процедура тестирования проб*

1. В качестве проб используйте гепаринизированную или ЭДТА цельную кровь или плазму.
2. Установите картридж с реагентами в кассету для картриджей на приборе, потом внесите примерно 100 мкл пробы в лунку для проб на картридже, установите в гнездо для наконечников на приборе новый наконечник напротив картриджа, опустите крышку и запустите прибор кнопкой «Start». Подробности процедуры см. в руководстве пользователя для прибора. Результат будет выведен на дисплей и на печать.
3. Откройте крышку, удалите картриджи и наконечники в отходы.

Примечания:

1. Если тестируется цельная кровь, непосредственно перед внесением пробы в лунку на картридже следует осторожно смешать кровь в пробирке (не использовать вихревой смеситель вортекс). Немедленно после внесения пробы нужно загрузить картридж в прибор и начать тестирование.
2. Если пробы начинают тестироваться после более чем 5-минутной выдержки после внесения в лунку для пробы, может быть получен заниженный результат из-за осаждения крови и завышенный результат в плазме из-за концентрирования.
3. При использовании цельной крови ввод значения гематокрита пробы является дополнительной опцией в PATHFAST. Подробности процедуры см. в руководстве пользователя для прибора.
4. Пробы с концентрацией NTproBNP >30 000 пг/мл следует развести физраствором и протестировать повторно для получения точного результата. При этом необходимо учитывать коэффициент разведения. Если такая точность не нужна, можно указать результат, как >30 000 пг/мл.

*Референтные уровни*

1. **Амбулаторные пациенты с подозрением с симптомами сердечной недостаточности**.

Рекомендованные в нескольких исследованиях cut off (пограничные) уровни <125 нг/мл исключают вентрикулярную дисфункцию у пациентов с подозрением на сердечную недостаточность (26).

1. **Пациенты с острой одышкой в отделении неотложной помощи**.

В международном исследовании на 1256 пациентах с острой одышкой в ОНТ четырех больниц был установлен пограничный уровень для NTproBNP в 300 нг/мл для исключения острой сердечной недостаточности в отделениях скорой помощи. Возрастные пограничные уровни исключения острой сердечной недостаточности для возрастных групп <50, 50 - 75 и> 75 лет были установлены в 450, 900 и 1800 нг/мл (27).

Референтные/ожидаемые уровни могут различаться в разных лабораториях и местностях в зависимости от различных факторов. Поэтому каждой лаборатории рекомендуется устанавливать собственные референтные уровни.

*Референтный интервал*

Был определен на 102 здоровых индивидах. Уровень составил 8,1-128,3 пг/мл в 95% доверительном интервале (в диапазоне от 2,5 до 97,5%).

*Связь с классификацией NYHA*

Образцы крови были получены от 72 пациентов с диагнозом хронической сердечной недостаточности (ХСН). Результаты исследования функциональных классов Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA) приведены ниже. Каждая лаборатория должна установить референтный диапазон для своей популяции пациентов. Кроме того, лаборатории должны быть осведомлены о текущей практике их учреждения для оценки ХСН.



*Специфические рабочие характеристики теста*

1. Диапазон результатов: 15-30 000 пг/мл.
2. Сравнение с другими методами (пробы плазмы)

y=1,01x + 2,6, r=0,99, n=795

(y - данный метод, x - Roche Elecsys® proBNP (Elecsys® - зарегистрированная торговая марка Roche Diagnostics GmbH.), n – количество испытаний).

1. Корреляция между результатами PATHFAST по цельной крови и плазме

y=1,04x + 2,9, r=0,991, n=48

(y – гепаринизированная цельная кровь, x - гепаринизированная плазма)

1. Стандартизация

Калибраторы для NTproBNP состоят из синтетического NT-pro BNP (1-76), поставляемого Roche Diagnostics GmbH.

1. Точность измерений

Воспроизводимость определялась с помощью настоящего метода на 3 контрольных материалах по следующему протоколу: каждый из трех проб плазмы исследовался в дублях в течение 20 случайных дней. Внутритестовые и общие стандартные отклонения рассчитывались по протоколу CLSI EP-5A. Были получены следующие результаты.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образец | Среднее (пг/мл) | Внутритестовая точность | | Межтестовая точность | |
| С.О. (пг/мл) | К.В. (%) | С.О. (пг/мл) | К.В. (%) |
| Контроль низкого уровня | 239 | 10,5 | 4,4 | 12,0 | 5,0 |
| Контроль среднего уровня | 2 388 | 97,0 | 4,1 | 110 | 4,6 |
| Контроль высокого уровня | 12 058 | 564 | 4,7 | 648 | 5,4 |

С.О. – стандартное отклонение, К.В. – коэффициент вариации.

1. Предел чувствительности: 15 пг/мл.

Установлен как концентрация нулевого калибратора плюс 2 стандартных отклонения выше среднего значения нулевого калибратора.

1. Аналитическая специфичность.

Следующие вещества не оказывают существенного перекрестного влияния (менее 1%) на результат анализа при указанных концентрациях.

ANP 28 (3,1 мкг/мл) NT-proANP 1-30 (3,5 мкг/мл)

BNP 32 (3,5 мкг/мл) NT-proANP 31-67 (1,0 нг/мл)

CNP 22 (2,2 мкг/мл) NT-proANP 79-98 (1,0 нг/мл)

Эндотелин (20 пг/мл)

*Возможные взаимодействия*

Как было обнаружено, следующие вещества в нижеуказанных концентрациях оказывали влияние менее 10% на результаты тестирования.

Свободный билирубин 60 мг/дл

Связанный билирубин 60 мг/дл

Триглицериды, липемия проб 1000 мг/дл

Гемоглобин (при гемолизе) 1400 мг/дл

Ревматоидный фактор 1500 МЕ/мл

*Ограничения процедуры*

1. Система оповещения об ошибках в приборе содержит кодовые обозначения ошибок для предупреждения персонала о неисправностях. Любой отчет об ошибке, содержащий такие коды, должен быть сохранен.
2. Пробы пациентов могут содержать гетерофильные антитела, которые могут вступать в иммунную реакцию и таким образом влиять на результаты, как завышая, так и занижая их. Этот тест был разработан так, чтобы минимизировать такие влияния. Тем не менее, полная защита от такого влияния не может быть гарантирована. Результат теста, не согласующийся с общей клинической картиной и анамнезом должен интерпретироваться с осторожностью.

*Ссылки*

1. 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.
2. Struthers AD. How to use natriuretic peptide levels for diagnosis and prognosis. The European Society of Cardiology. Eur Heart J 1999; 20: 1374-1375.
3. 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.
4. 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.
5. Darbar D, Davidson NC, Gillespire N, Choy A-MJ, Lang CC, Shyr Y, et al. Diagnostic value of B-type natriuretic peptide concentrations in patients with acute myocardial infarction. Amer J Cardiol 1996; 78: 284-287.
6. Fisher C et al. NT-proBNP predicts prognosis in patients with chronic heart failure. Heart 2003;89:879-81.
7. 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.
8. Remme WJ et al. The European Society of Cardiology Task Force Report: Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure. Eur Heart J 2001;22:1527-1560.
9. Varpula M et al. Predictive value of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in severe sepsis and septic shock. Crit Care Med 2007;35:1277-83ю
10. Omland T et al. Prognostic value of B-type natriuretic peptides in patients with stable coronary artery disease. J Am Coll Cardiol 2007;50:205-14.
11. März W et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide predicts total and cardiovascular mortality in individuals with or without stable coronary artery disease: The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study. Clin Chem 2007;53:1075-83.
12. Januzzi JL Jr et al. The N-terminal proBNP investigation of dyspnea in the emergency department (PRIDE) study. Am J Cardiol 2005;95:948—54.
13. Bayes-Genis A et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in the emergency diagnosis and in-hospital monitoring of patients with dyspnea and ventricular dysfunction. Eur J Heart Fail 2004;15:301-8.
14. Moeckel M et al. Role of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in risk stratification in patients presenting in the emergency room. Clin Chem 2005;51:1624-31.
15. Luchner A, Moeckel M, Spanuth E et al. NT-proBNP in the Management of Patients in the Medical Emergency Department (PROMPT): correlation with disease severity, utilization of hospital resources and prognosis in a large, prospective, randomized multicenter trial. Eur J Heart Fail 2011, accepted for publication.
16. Harney SM et al. Brain natriuretic peptide is a potentially useful screening tool for the detection of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2006;65:136.
17. Häupl T et al. N-terminal prohormone brain natriuretic peptide: a biomarker for detecting cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis. Ann Rheum Dis 2007;66:683-9.
18. Solus J et al. Amino-terminal fragment of the prohormone brain-type natriuretic peptide in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2008;58:2662-9.
19. Brune K et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations predict the risk of cardiovascualar adverse events from anti-inflammatory drugs: a pilot trial. Clin Chem 2008;54:1149-57.
20. Ruff CT et al. Evaluation of NT-proBNP and high sensitivity C-reactive protein for predicting cardiovascular risk in patients with arthritis taking longterm nonsteroidal antiiflammatory drugs. JRheumatol 2011;38:1071-78.
21. Van der Merwe D et al. Effect of different sample types and stability after blood collection of N-terminal pro-B type natriuretic peptide. Clin Chem 2004;50:779-80.
22. Downie PF et al. Assessment of the stability of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in vitro: implications for assessment of left ventricular dysfunction. Clin Sci 1999;97:255-8.
23. Dasgupta A et al. Stability of NT-proBNP in serum specimens collected with Becton Dickinson Vacutainer (SST) tubes (Technical Brief) Clin Chem 2003;49:958-60.
24. Gobinet-Georges A et al. Stability of brain natriuretic peptide in human whole blood and plasma. Clin Chem Lab Med 2000;38:519-23.
25. Müller Th et al. Long-term stability of endogenous B-type natriuretic peptide and amino terminal proBNP (NT-proBNP) in frozen plasma samples.Clin Chem Lab Med 2004;43:942-44.
26. Nielsen LS et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide for discriminating between cardiac and non-cardiac dyspnea. Eur heart J Fail 2004;6:63-70.
27. Januzzi JL et al. NT-proBNP testing for diagnosis and short-term prognosis in acute destabilized heart failure: an international pooled analysis of 1256 patients. The International Collaborative of NT-proBNP Study. Eur Heart J 2006;27:330-7.
28. Zaninotto M et al. PATHFAST NTproBNP ( N-terminal- pro B type natriuretic peptide) : a multicenter evaluation of a new point-of care assay. Clin Chem Lab Med 2010; 48:1029-1034.
29. Peetz D et al. Method comparison of cardiac marker assays on PATHFAST, StratusCS, Axsym, Immulite 2000, Triage, Elecsys and Cardiac reader. Clin Lab 2006;52:605-14.

***Символы***

|  |  |
| --- | --- |
|  | Соответствие европейским требованиям |
|  | Для ин-витро диагностики |
|  | Номер лота |
|  | Каталожный номер продукта |
|  | Производитель |
|  | Уполномоченный представитель |
|  | Содержимого достаточно для |
|  | Температурные ограничения |
|  | Срок хранения |
|  | Обратите внимание на справочную документацию |
|  | Следуйте инструкции |
|  | Калибратор 1 |
|  | Калибратор 2 |
|  | Разбавитель для калибратора |
|  | Карта эталонной калибровки |

**Производитель:** «ЛСИ Медиенс Корпорейшн», Япония.

13-4 Uchikanda 1-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8517, Japan

Tel: +81-3-6722-4170, Fax: +81-3-6722-4171

**Поставщик:** ЗАО «ДИАКОН»

142290 г.Пущино Московской обл., ул. Грузовая, 1а

Тел. +7 495-980-63-39, факс +7 495-980-66-79

Email: [sale@diakonlab.ru](mailto:sale@diakonlab.ru); [www.diakonlab.ru](http://www.diakonlab.ru)