

# Analytical validation of a novel point-of-care immunoassay for canine N-terminal pro-brain natriuretic peptide analysis

개 N-terminal pro-brain natriuretic peptide 분석을 위한 새로운 point-of-care 면역검사의 분석적 검증

**Key Words** : biomarker, dog, ELISA, heart, overload, stretch

Kendal E. Harr<sup>1</sup>, Sonya G. Gordon<sup>2</sup>, Ryan D. Baumwart<sup>3</sup>, Ross Feldgreber<sup>4</sup>, Matthew R. Spiro<sup>5</sup>

<sup>1</sup>URIKA, LLC, Mukilteo, WA, USA <sup>2</sup>Department of Small Animal Clinical Science, College of Veterinary Medicine and Biomedical Science, Texas A&M University, College Station, TX, USA  
<sup>3</sup>Department of Veterinary Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Washington State University, Pullman, WA, USA <sup>4</sup>Blue Pearl Veterinary Partners, Northfield, IL, USA  
<sup>5</sup>Cottage Veterinary Hospital, Parker, CO, USA

## 서론

B-type natriuretic peptide (BNP)는 32-아미노산 심장 나트륨 펩타이드 호르몬으로 심근 스트레스나 부피 및 압력 증가로 인한 심장벽 스트레칭에 반응하여 심근세포 및 섬유아세포에 의해 순환계로 분비되며 심부전 시 생산량이 유의하게 상승한다. BNP는 prohormone인 proBNP로 분비된 후 생물학적 활성 호르몬인 BNP와 비활성 아미노 말단인 NT-proBNP (76 amino acids)로 분해되므로, 심근의 스트레스 또는 스트레칭의 정도를 평가하는데 둘 중 하나의 농도를 사용할 수 있다(Figure 1). 단, N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP)가 prohormone 과 BNP보다 안정성이 높고 반감기가 길기 때문에 더욱 유용한 진단 분석물질이다. 새로운 정량적 point-of-care (POC) 분석기를 통해 현장에서 NT-proBNP를 신속하게 측정할 수 있다면, 검사 전 오차를 최소화하고 변동성을 줄일 수 있다.

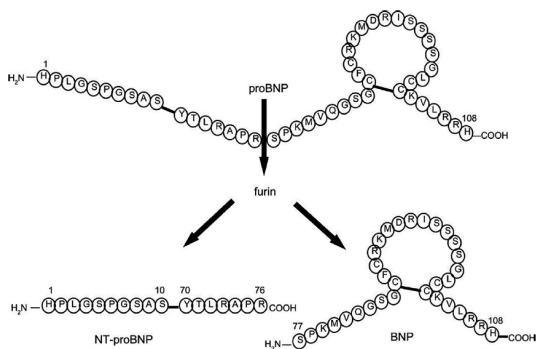


Figure 1. NT-proBNP 및 BNP의 생산

## 평가 목적

본 평가의 목적은 ASVCP(American Society of Veterinary Clinical Pathology) 및 CLIA(Clinical Laboratory Improvement Amendments) 규격에 따라, Vcheck Canine NT-proBNP 진단 검사를 분석적으로 검증하는 데 있다.

## 평가 방법

혈장 및 혈청 검체는 다양한 품종의 고객 소유 개로부터 수집되었으며, 심장 이상 그룹(n=81)과 건강한 대조군 그룹(n=225)으로 분류되었다. 정밀도, 정확도, 분석적 민감도, 특이도 및 기타 통계 분석이 수행되었다.

## 평가 결과

### 정밀도와 LOQ

정밀도는 농도에 따라 다양하였으며, 예상한 대로 가장 높은 농도에서 CV(변동계수) 값이 가장 낮았다(Table 1). 정밀도는 4000 pmol/L에서 9%, 600 pmol/L에서 20%로 허용 가능한 CV 값이 확인되었다. 정량하한치 (LOQ)는 반복측정평가의 결과를 바탕으로 650 pmol/L이었다.

Table 1. 검체 농도에 따른 Vcheck NT-proBNP의 정밀도

검체 농도 (pmol/L)	CV (%)
600	20
1900	12
4000	9

### 정확도

Vcheck assay와 Cardiopet(IDEXX)의 NT-proBNP의 측정값을 비교한 결과, 사전분석 인자가 통제되었을 때, 최소한의 bias와 우수한 상관관계가 확인되었다. 선형 방정식은  $y=0.9x+37$ , 95% 신뢰구간(CI)에서 기울기 0.75~1.05, 절편 -150~224이었다. 또한, 결정계수( $R^2$ )는 0.9이었다(Figure 2). 반면, 61개의 검체를 실제 임상 환경에서 처리하였을 때(제조사사의 권고사항에 따라 택배 배송 및 분석 진행),  $R^2$ 는 0.8로 감소하였으며, 상당히 다른 선형 방정식( $y=0.7x-52$ )이 생성되었다(Figure 3).

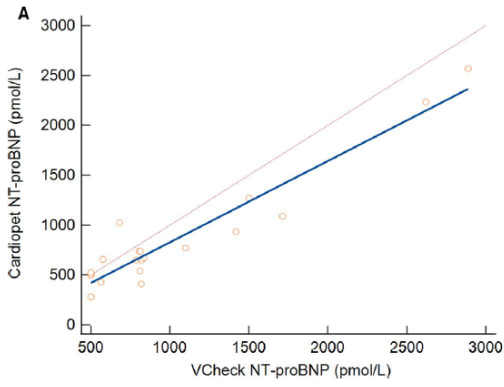


Figure 2. Vcheck와 Cardiopet NT-proBNP의 비교 평가 (직접 기기 간 비교)

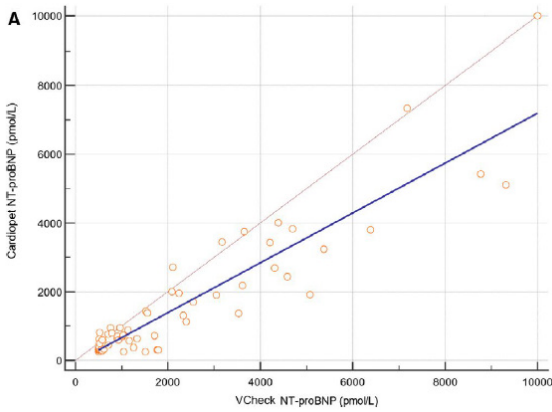


Figure 3. Vcheck와 Cardiopet NT-proBNP의 비교 평가 (실제 임상 환경)

### 사전분석 오류

현재 측정 방식을 냉장 및 상온에서 사용했을 때, NT-proBNP의 농도가 현저하게 분해되는 것으로 나타났으며, 이는 진단 및 예후에 관한 의사결정에 영향을 줄 수 있다. 10개 검체를 14시간 동안 4°C 보관하였을 때, 기존 평균 농도에서 약 20%의 손실이 확인되었으며, 손실 범위는 16~33%였다. 또한, 의도적으로 상온(20°C)에 밤새 방치한 후 다음 날 측정했을 때, 모든 검체의 농도가 최소한 50% 이상 손실된 것으로 나타났다.

### 간섭반응(분석적 특이도)

여러 농도를 가진 10개 검체에 hemoglobin(35 mg/dL) 및 Intralipid(1000 mg/dL)를 spiking하여 paired t-test를 사용하여 통계 분석하였을 때, 통계적으로 농도의 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다( $P > 0.05$ ).

### 정상 농도의 참조 범위

건강한 대조군 중 125마리의 성견(19개월령~노령) 및 36마리의 어린 개(0~18개월령)의 NT-proBNP 농도의 95% 분포 범위는 각각 1280 pmol/L 및 750 pmol/L의 상한선을 가지고 있었다(Figure 4A, 4B).

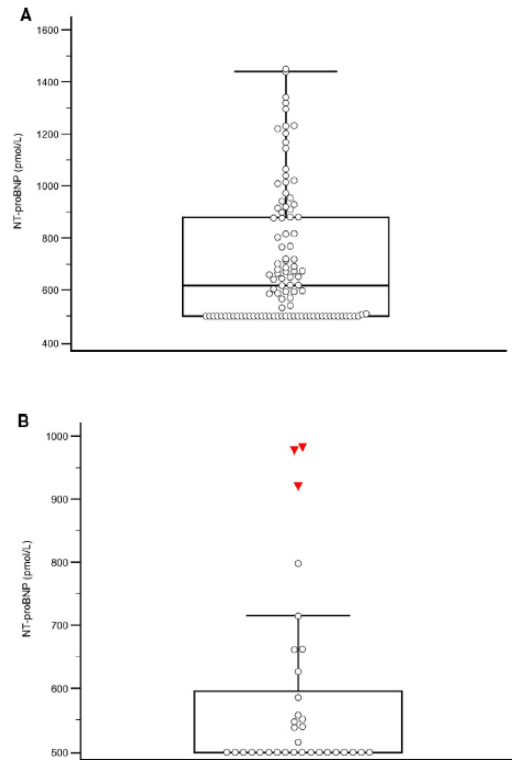


Figure 4. NT-proBNP 농도의 비모수 분포 (A. 성견, B. 어린 개)

### 결론

본 연구에서 Vcheck NT-proBNP 검사가 분석적으로 허용 가능한 결과를 제공하는 것으로 나타났다. 현장 진단검사를 통해 사전분석 오류와 관련된 변동성을 최소화하고 임상적으로 유용한 결과를 동시에 얻을 수 있다. 혈액 검체는 채취 후 즉시 원심분리되어야 하며, 2시간 이내에 측정 분석되어야 한다.

본 연구의 결과는 Vcheck 검사가 개 혈청의 NT-proBNP 측정을 위한 유효한 point-of-care (POC) 심장 바이오마커 검사임을 보여준다.