República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) **PI 0405215-3 B1**

BRPI0405215B1

(22) Data do Depósito: 25/11/2004

(45) Data de Concessão: 02/08/2016

(54) Título: ELEMENTO DE TESTE NA FORMA DE UMA TIRA DE TESTE IMUNOCROMATOGRÁFICO E MÉTODO PARA DETECTAR O PEPTÍDEO NATRIURÉTICO PROCEREBRAL DE TERMINAL N

(51) Int.Cl.: G01N 33/531; G01N 33/553

(30) Prioridade Unionista: 28/11/2003 DE 103 55 731.8

(73) Titular(es): F. HOFFMANN-LA ROCHE AG

(72) Inventor(es): JUERGEN SPINKE, ALFONS NICHTL, VOLKER KLEMT, KLAUS HALLERMAYER, MICHAEL GROL, ANNELIESE BORGYA, ANDREAS GALLUSSER

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"ELEMENTO DE TESTE NA FORMA DE UMA TIRA DE TESTE IMUNOCROMATOGRÁFICO E MÉTODO PARA DETECTAR O PEPTÍDEO NATRIURÉTICO PROCEREBRAL DE TERMINAL N".**

A presente invenção refere-se a um teste analítico em sanduíche, particularmente um elemento de teste, e particularmente na forma de uma tira de teste imunocromatográfico, usando o princípio de sanduíche para determinar o peptídeo natriurético procerebral de terminal N (NT-proBNP).

NT-proBNP é um marcador muito promissor para o diagnóstico e controle de insuficiência cardíaca. Um retrospecto sobre insuficiência cardíaca e a importância de NT-proBNP como uma substância marcadora para isto pode ser encontrado no documento nº WO 00/45176, nas páginas 1 a 4, cujo conteúdo é aqui explicitamente incorporado como referência. Além disso, os documentos nºs US 5.786.163, US 6.461.828, US 6.117.644, EP 1 151 304, WO 02/083913 e o pedido de patente nº EP 03 010 591.0, datado de 5 de dezembro de 2003 (Klemt *et al.*) referem-se a NT-proBNP, anticorpos para ele e métodos de determinação.

Atualmente, o único teste de NT-proBNP disponível no mercado de diagnósticos *in vitro* é o teste de NT-proBNP Elecsys® completamente automatizado, da Roche Diagnostics, que baseia-se em uma reação em sanduíche com detecção de eletroquimioluminescência. Este teste é desenhado para ser usado em centrais de laboratórios grandes, e além disso, usado com reagentes líquidos que têm de ser dosados precisamente, requer um instrumento relativamente complexo para dosar os líquidos e para detectar o sinal de luminescência, a fim de conduzir o teste. Um teste simples de usar e rápido para NT-proBNP, o qual, caso necessário, possa ser avaliado visualmente sem um instrumento de avaliação, não está presentemente disponível no mercado.

Testes rápidos para substâncias imunologicamente detectáveis têm sido conhecidos há longo tempo para inúmeros parâmetros diferentes, como por exemplo, os descritos nos documentos nºs WO 97/06439, EP 0 291 194, US 5.591.645, US 4.861.711, US 5.141.850, US 6.506.612, US 5.458.852 e US 5.073.484. Nestes casos, os reagentes de detecção imuno-

lógica (essencialmente anticorpos ou antígenos marcados e não-marcados) são usualmente fornecidos na forma seca sobre um suporte que permite o transporte de uma amostra líquida (particularmente, fluidos corporais tais como sangue, soro, plasma, urina, saliva etc.) sobre ou dentro do suporte. Para este propósito, o suporte é, de preferência, ativo em capilares, como por exemplo,uma membrana ou um suporte de plástico dotado de canais capilares. Entre os versados, eles são freqüentemente referidos como tiras para testes imunocromatográficos ou dispositivos para testes.

Em pacientes com angústia respiratória aguda é vantajoso conduzir uma determinação de NT-proBNP tão rapidamente quanto possível, para excluir ou diagnosticar insuficiência cardíaca como uma causa da dispnéia, e para iniciar o tratamento adequado. Como o teste de NT-proBNP com Elecsys® somente pode ser conduzido em uma central de laboratório, é difícil determinar rapidamente NT-proBNP que não nos tempos rotineiros. Assim sendo, seria particularmente vantajoso para a sala de emergência se estivesse disponível um teste rápido que pudesse ser conduzido diretamente na sala de emergência em tempos que não os rotineiros. Este teste rápido deveria, entretanto, assegurar as mesmas faixas referenciais e cortes que o método referencial na central do laboratório (Elecsys® NT-proBNP), para permitir uma boa possibilidade de comparação dos resultados independentemente do tipo de teste que está realmente conduzido.

Os anticorpos policlonais (PAB) usados no teste Elecsys® NT-proBNP reconhecem uma fração muito especial de NT-proBNP (NT-proBNP "nativo"; vide pedido de patente nº EP 03 010 591.0, datado de 5 de dezembro de 2003, em nome de Klemt *et al.*; de acordo com este documento, o teste reconhece os epitopos de NT-proBNP que compreendem os aminoácidos 1-21 (AA 1-21) e 39-50 (AA 39-50)). Entretanto, resultou que esses anticorpos policlonais são inadequados para testes rápidos de NT-proBNP que usam marcadores particulados, tal como ouro coloidal, como um marcador, pois eles apresentam uma alta variabilidade indesejada na geração de sinais devido às interações físico-químicas com os componentes do teste rápido (tais como os materiais de suporte, matrizes etc.). Isto resulta em oscilações

consideráveis na qualidade do teste de lote para lote.

Assim sendo, o objeto da presente invenção foi eliminar as desvantagens das técnicas anteriores. Particularmente, o objetivo é fornecer um teste rápido para determinar NT-proBNP, que possa ser fabricado de forma reprodutível e tenha uma boa correlação com o método de laboratório.

Este objetivo é alcançado pela matéria em questão da invenção.

A invenção refere-se a um teste imunológico, particularmente na forma de um teste rápido, tal como um elemento de teste analítico, como caracterizado nas reivindicações independentes da patente. As modalidades preferidas estão descritas nas reivindicações dependentes.

A solução inventiva para produzir um teste imunológico em formato de sanduíche, e particularmente, um teste rápido que se correlaciona bem com o método referencial Elecsys®, usa uma combinação especial de anticorpos que compreendem pelo menos dois anticorpos para NT-proBNP, onde pelo menos um anticorpo é um anticorpo monoclonal (MAB). Outro anticorpo do teste em sanduíche de acordo com a invenção pode ser também um anticorpo monoclonal (MAB) ou um anticorpo policlonal (PAB). Nesta conexão, um desses anticorpos (abreviado AB) é direcionado pelo menos contra partes do epitopo de NT-proBNP, compreendendo os aminoácidos 38 a 50 (no texto que se segue também abreviado como AB (38-50) ou MAB (38-50) ou PAB (38-50)). Pelo menos um anticorpo adicional é direcionado pelo menos contra partes do epitopo de NT-proBNP, compreendendo os aminoácidos 1 a 37 ou 43 a 76 (no texto que se segue abreviado como AB (1-37) ou AB (43-76) ou MAB (1-37) ou MAB (43-76) ou PAB (1-37) ou PAB (43-76)). Os epitopos reconhecidos pelos anticorpos podem sobrepor-se ligeiramente, de preferência em menos do que 5 aminoácidos, e especialmente, de preferência, em menos do que 2 aminoácidos.

Prefere-se uma combinação de anticorpos que compreendem pelo menos um anticorpo policlonal (PAB) e um anticorpo monoclonal (MAB) (assim denominada combinação PAB/MAB) para NT-proBNP.

O termo PAB (X-Y), como utilizado neste pedido da patente, significa um anticorpo policlonal que é direcionado contra o epitopo de NT-

proBNP que compreende os aminoácidos X a Y. MAB (X-Y) é um anticorpo monoclonal correspondente. AB (X-Y) denota genericamente um anticorpo (como por exemplo, PAB ou MAB) que é direcionado contra o epitopo de NT-proBNP que compreende os aminoácidos X a Y.

MAB a.b.c (X-Y) é um anticorpo monoclonal direcionado contra o epitopo de NT-proBNP que compreende os aminoácidos X a Y, que é obtido a partir de uma linhagem de célula depositada, a.b.c.

Para garantir uma qualidade reprodutível do conjugado anticorpo-etiquetado, o MAB é, de preferência, imobilizado sobre uma etiqueta particulada, particularmente uma etiqueta de ouro.

Outras etiquetas apropriadas são, por exemplo, látices coloridos, outras etiquetas de sol metálico, etiquetas poliméricas ou nanocristais semicondutores (assim denominados pontos quânticos). O conjugado MAB-etiquetado é, de preferência, fornecido no dispositivo de teste rápido de tal modo que ele possa ser destacado dele pela amostra líquida, como por exemplo, impregnando materiais de suporte apropriados, tais como velos, membranas etc. Entretanto, é possível também adicionar o conjugado MAB-etiquetado como uma solução ao teste rápido.

O anticorpo policlonal (PAB) que é, de preferência, obtido imunizando animais, particularmente ovinos, caprinos ou leporídeos, é de preferência fornecido no teste rápido como um derivado de biotina e pode estar ligado a uma linhagem de detecção de avidina ou estreptavidina. Entretanto, é possível também imobilizar diretamente o PAB no dispositivo de teste rápido, como por exemplo, na forma de uma linhagem de detecção sobre uma membrana de cromatografia apropriada.

De acordo com a invenção, é possível também, embora seja menos preferido, usar o AB etiquetado, particularmente o MAB marcado, e o segundo anticorpo, particularmente o segundo MAB ou PAB, em solução ou em soluções para o teste rápido. Um parceiro ligante, que pode capturar o AB adequadamente etiquetado, é então localizado em uma zona de detecção no dispositivo do teste, e assim sendo, liga o complexo em sanduíche que compreende o primeiro anticorpo, o analisado e o segundo anticorpo, a

uma fase sólida do teste rápido.

O anticorpo monoclonal (MAB) usado, de acordo com a invenção, não precisa necessariamente reconhecer o epitopo (AA 1-21) que é detectado no sistema referencial (teste Elecsys®) para assegurar boa correlação com o teste referencial: as combinações de anticorpos mencionadas na reivindicação 1 e, particularmente, as combinações MAB/PAB MAB 17.3.1 (13-16/PAB (39-50) e MAB 18.4.34 (27-31)/PAB (39-50) correlacionam-se bem com o sistema referencial Elecsys® que usa anticorpos policlonais para os epitopos AA 1-21 e AA 39-50 de NT-proBNP (PAB (1-21) e PAB (39-50)).

Os anticorpos policlonais tais como PAB (1-21) e PAB (39-50) podem ser obtidos, caracterizado e identificados por métodos conhecidos pelos versados nas técnicas, especialmente em analogia com o Exemplo 2 do documento nº WO 00/45176.

Os anticorpos monoclonais tais como MAB (38-42) e MAB (44-50) podem ser obtidos, caracterizados e identificados por métodos conhecidos pelos versados nas técnicas, especialmente em analogia com o Exemplo 3 do documento nº WO 00/45176, ou o Exemplo 3 do pedido de patente nº EP 03 010 591.0, datado de 5 de dezembro de 2003 (Klemt *et al.*).

Os anticorpos são marcados, por exemplo, com ouro ou outras etiquetas, biotina, etc., por métodos conhecidos pelos versados nas técnicas (cf. também, Exemplo 2 do documento nº WO 00/45176, e Exemplo 2 do pedido de patente EP nº 03 010 591.0, datado de 5 de dezembro de 2003, em nome de Klemt *et al.*). A marcação com ouro está descrita detalhadamente, por exemplo, no documento nº EP-A 0 898 170.

Particularmente, os anticorpos monoclonais preferidos MAB 17.3.1 (13-16), MAB 16.1.39 (38-42), MAB 18.29.23 (64-67) e MAB 18.4.34 (27-31) podem ser obtidos de acordo com o Exemplo 3 do pedido de patente EP nº 03 010 591.0, datado de 5 de dezembro de 2003, em nome de Klemt *et al.* As linhagens de células correspondentes estão depositadas na "Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSZM)" (números de acesso do depositário e data do depósito: DSM ACC2591 (7 de

maio de 2003) para MAB 17.3.1 (13-16); DSM ACC2590 (7 de maio de 2003) para MAB 16.1.39 (38-42); DSM ACC2593 (7 de maio de 2003) para MAB 18.29.23 (64-67); e DSM ACC2592 (7 de maio de 2003) para MAB 18.4.34 (27-31).

A combinação de MAB 18.4.34 (27-31)/PAB (39-50) resulta em uma correlação relativamente boa com o teste referencial, assim como a combinação MAB 17.3.1 (13-16)/PAB (39-50) (vide também Exemplo 2).

Além disso, a combinação MAB 18.4.34 (27-31)/PAB (39-50) demonstrou ser particularmente vantajosa para o teste de acordo com a invenção: esta combinação permitiu que uma curva de função seja adaptada, o que é particularmente apropriado para testes rápidos (vide Exemplo 3). Em comparação, a combinação MAB 17.3.1 (13-16)/PAB (39-50) apresentou uma sensibilidade pior no teste.

A invenção é elucidada ainda mais, baseado nos exemplos e figuras que se seguem.

A Figura 1 ilustra um diagrama de uma modalidade preferida de um dispositivo de teste rápido, de acordo com a invenção, na forma de uma tira de teste imunocromatográfico.

A Figura 2 ilustra a correlação da combinação de anticorpos MAB 17.3.1 (13-16)/PAB (39-50) no formato de teste úmido Elecsys® com o método referencial Elecsys® PAB (1-21)/PAB (39-50).

A Figura 3 ilustra a correlação da combinação de anticorpos MAB 18.4.34 (27-31)/PAB (39-50) no formato de teste úmido Elecsys® com o método referencial Elecsys® PAB (1-21)/PAB (39-50).

A Figura 4 ilustra curvas de função de tiras de teste de NT-proBNP, de acordo com o Exemplo 1, com diferentes combinações de anticorpos.

A Figura 5 ilustra a combinação de uma tira de teste de NT-proBNP com a combinação de anticorpos: Au-MAB 18.4.34 (27-31)/Bi-PAB (39-50) para o kit do teste Elecsys® NT-proBNP.

Os números nas figuras denotam:

1 - zona de aplicação da amostra

2 - zona de separação de eritrócitos

3 - zona de detecção

4 - zona de sucção

5 - material de suporte

6 - matriz de aplicação da amostra ("velo de biotina" e "velo de ouro")

7 - matriz de separação de eritrócitos

8 - matriz de detecção

9 - zona de imobilização em forma de linha

10 - matriz de sucção

EXEMPLOS

1) Preparação do dispositivo de teste para determinar NT-proBNP a partir de sangue total (cf. Figura 1)

O dispositivo de teste (Figura 1) consiste em um material de suporte (5) sobre o qual uma zona de aplicação da amostra (1), uma zona de separação de eritrócitos (2), uma zona de detecção (3), e uma zona de sucção (4) são montadas. Uma matriz de aplicação da amostra (6), que sobrepõe-se parcialmente a uma zona de separação de eritrócitos (7), fica localizada na zona de aplicação da amostra (1). A matriz de separação de eritrócitos (7), por sua vez, sobrepõe-se ligeiramente à matriz de detecção (8) (zona de detecção), sobre a qual uma substância imobilizada é aplicada na forma de uma linhagem (9). Uma matriz de sucção (10) sobrepõe-se ligeiramente à matriz de detecção (8). Todos reagentes que são necessários para formar um complexo com o analisado a ser detectado são acomodados na matriz de aplicação da amostra (6). No presente caso, a zona de aplicação da amostra é composta de dois velos, um em cima do outro, onde o primeiro ("velo de ouro") é impregnado com um anticorpo marcado com ouro para NT-proBNP (MAB 18.4.34 (27-31)) e o segundo velo ("velo de biotina") contém um anticorpo biotinilado para NT-proBNP (PAB (39-50)). Uma linhagem (9) feita de estreptavidina é aplicada dentro da zona de detecção.

Uma folha de poliéster (Pütz) com 350 μm de espessura é usada com camada de suporte (5). Um velo de poliéster (Roche Diagnostics) com

360 μm de espessura é usado como "velo de ouro" ou "velo de biotina" da matriz de aplicação da amostra (6). Um velo de fibra de vidro (Roche Diagnostics") com 1,8 mm de espessura é usado como matriz de separação de eritrócitos (7). Uma membrana de nitrocelulose (Sartorius) com 140 μm de espessura é usada como matriz de sucção (8). Um velo de vidro (Roche Diagnosties) com 1,8mm de espessura é usado como matriz de sucção (10). Os componentes individuais (6, 7, 8, 10) são colados sobrepondo-se ligeiramente à camada de suporte (5) por meio de um adesivo termofundível, como ilustrado na Figura 1.

A formulação de impregnação dos "velos de ouro e biotina" é a seguinte:

"velo de biotina": Hepes 100 mM pH 7,4, 0,1% de Tween®, 20 μg/mL de PAB (39-50) biotinilado

"velo de ouro": Hepes 100 mM pH 7,4, conjugado de ouro e OD 4 MAB 18.4.34 (27-31)

2) Correlação da combinação epitopos/anticorpos MAB 17.3.1 (13-16)/PAB (39-50) e MAB 18.4.34 (27-31)/PAB (39-50) no formato Elecsys® para o kit de teste Elecsys® NT-proBNP (cf. Figuras 2 e 3)

A correlação das combinações MAB/PAB, MAB 17.3.1 (13-16)/PAB (39-50) e MAB 18.4.34 (27-31)/PAB (39-50) para o kit de teste Elecsys® (PAB (1-21)/PAB (30-50)) foi examinada em um imunoensaio de eletroquimioluminescência em um Elecsys® 2010 (Roche Diagnostics). Para isso, o PAB (39-50) foi usado como reagente de captura e os fragmentos biotinilado e rutenilado $F(ab')_2$ dos MABs foram usados como reagente de detecção. 20 μL de amostra ou material padrão foram, em cada caso, incubados com 75 μL dos dois reagentes de anticorpos por 9 minutos a 37 °C. Depois disso, 35 μL de partículas magnéticas de poliestireno revestidas com estreptavidina foram adicionados e incubou-se por mais 9 minutos à temperatura ambiente. O sinal de eletroluminescência de uma alíquota da solução de incubação foi medido rotineiramente no Elecsys® 2010 e convertido em um sinal de concentração por meio de uma curva-padrão.

Amostras clínicas de pacientes com insuficiência cardíaca foram

agora medidas com as duas variantes do teste de MAB/PAB e com o kit Elecsys®. Os resultados estão indicados nas Figuras 2 e 3. Uma correlação muito boa com o kit Elecsys® (r = 0,978 e r = 0,957) foi obtida com ambas variantes de MAB/PAB.

3) Curva de função de uma tira de teste de NT-proBNP com duas combinações diferentes de MAB/PAB

Uma tira de teste de NT-proBNP foi preparada de acordo com o Exemplo 1. A seguinte formulação de impregnação para os velos dos reagentes foi usada:

"velo de biotina": Hepes 100 mM pH 7,4, 0,1% de Tween®, 20 µg/mL de PAB (39-50) biotinilado

"velo de ouro": Hepes 100 mM pH 7,4, conjugado de ouro e OD 4 MAB 18.4.34 (27-31) ou MAB 17.3.1 (13-16)

Amostras de sangue heparinizado de doadores saudáveis foram puncionadas com soros contendo NT-proBNP de pacientes com insuficiência cardíaca, e fracionadas. 150 µL das amostras de sangue puncionado foram pipetados sobre tiras do teste e medidos em um CARDIAC Reader® (Roche Diagnostics). O tempo de reação depois da detecção da amostra foi de 12 minutos. Para determinar a concentração de NT-proBNP das amostras, o plasma foi centrifugado a partir de uma alíquota e medido com um kit Elecsys® NT-proBNP (Roche Diagnostics). As curvas de função obtidas desta maneira das duas variantes de tiras de teste, MAB 17.3.1 (13-16)/PAB (39-50) e MAB 18.4.34 (27-31)/PAB (39-50), estão ilustradas na Figura 4. A variante MAB 18.4.34 (27-31)/PAB (39-50) tem uma curva-padrão consideravelmente mais íngreme e é assim um teste mais sensível.

4) Correlação de uma tira de teste de NT-proBNP com a combinação AB: Au-MAB 18.4.34 (27-31)/Bi-PAB (39-50) com o kit de teste Elecsys® NT-proBNP

Soros contendo NT-proBNP de pacientes com insuficiência cardíaca foram adicionados amostras de sangue heparinizado de doadores saudáveis e fracionados. 150 µL destas amostras de sangue "puncionadas"

foram pipetados sobre as fitas do teste e medidos em um CARDIAC Reader® (Roche Diagnostics) de acordo com o método-padrão. O plasma foi centrifugado a partir da mesma amostra e medido com o kit Elecsys® NT-proBNP no sistema analítico Elecsys® 1010 (Roche Diagnostics). Sessenta amostras foram preparadas desta maneira e medidas com ambos sistemas. A Figura 5 ilustra os valores medidos para ambos sistemas. A correlação é muito boa a r = 0,95.

REIVINDICAÇÕES

1. Elemento de teste na forma de uma tira de teste imunocromatográfico usando o princípio de sanduíche para determinar o peptídeo natriurético procerebral de terminal N (NT-proBNP), caracterizado pelo fato de que compreende

um material de suporte (5)

uma zona de aplicação da amostra (1) para receber uma amostra líquida;

pelo menos dois anticorpos contra NT-proBNP em que um deste pelo menos dois anticorpos é um anticorpo monoclonal MAB 18.4.34 direcionado a pelo menos contra partes do epítopo de NT-proBNP compreendendo os aminoácidos 27 a 31,

e em que um destes pelo menos dois anticorpos é um anticorpo policlonal direcionado a pelo menos contra partes do epítopo de NT-proBNP compreendendo os aminoácidos 38 a 50,

e uma zona de detecção (3) em comunicação de fluido com a zona de aplicação da amostra (1) para ligar um complexo compreendendo NT-proBNP, o anticorpo monoclonal e o anticorpo policlonal.

2. Elemento de teste de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que um dos anticorpos está presente como um conjugado anticorpo-ouro.

3. Elemento de teste de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que um dos anticorpos está presente como um anticorpo látice colorido.

4. Elemento de teste de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que um dos anticorpos está presente como um anticorpo biotinilado.

5. Método para detectar o peptídeo natriurético procerebral de terminal N (NT-proBNP), caracterizado pelo fato de que compreende:

fornecer o dispositivo de teste imunológico como definido na reivindicação 1;

adicionar uma amostra biológica suspeita de conter NT-proBNP

ao dispositivo de teste; e

determinar a presença ou quantidade de NT-proBNP na amostra que se liga tanto ao anticorpo monoclonal quanto ao anticorpo policlonal.

Fig. 1

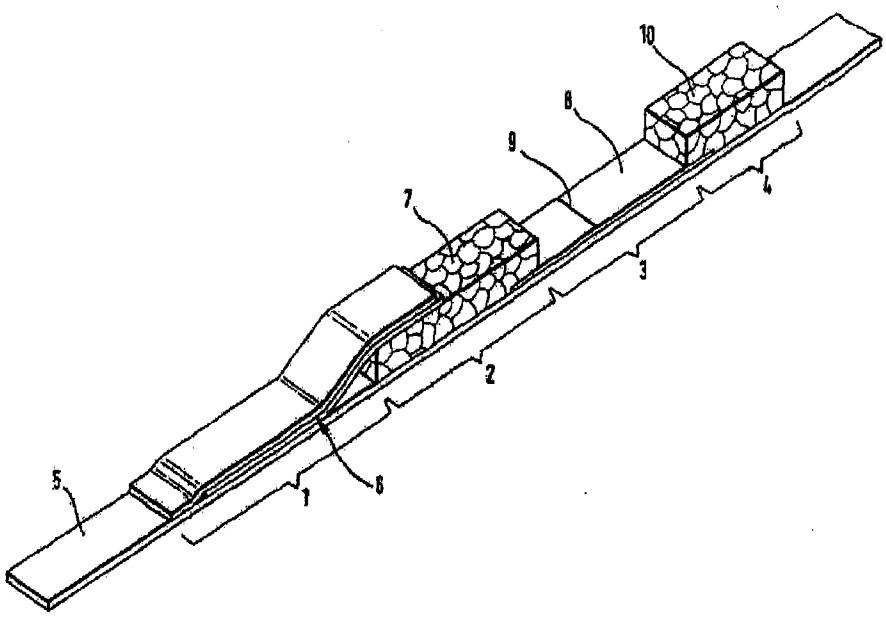


Fig. 2

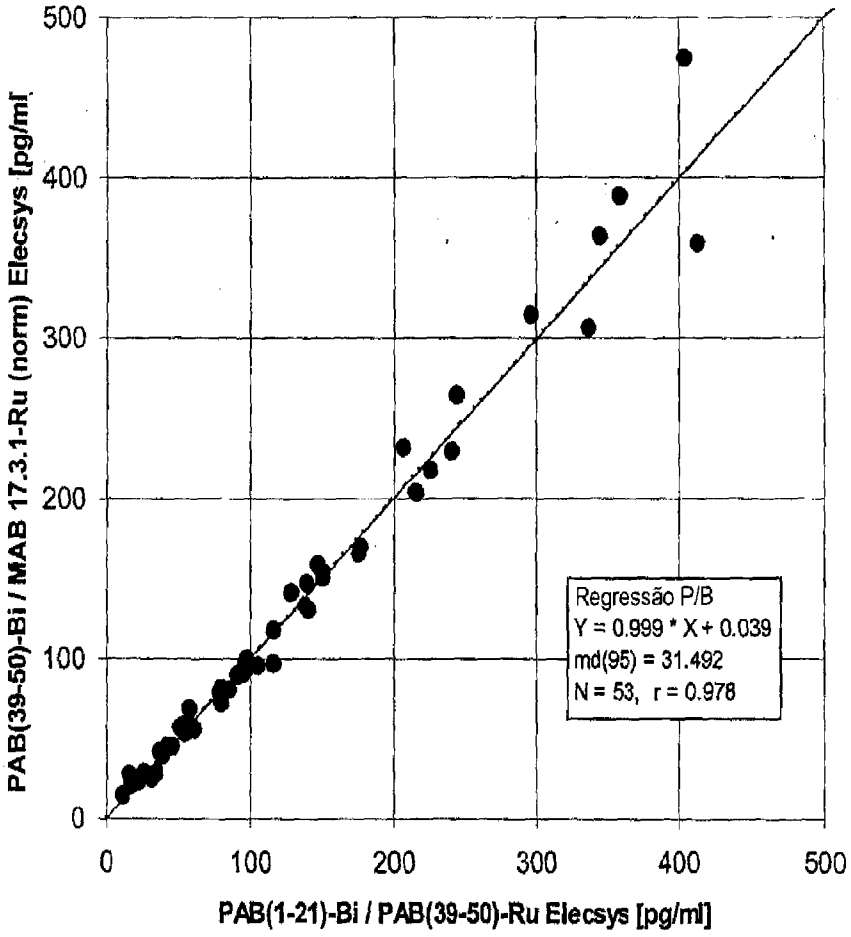

PAB(39-50)-Bi / MAB 17.3.1-Ru (norm) Elecsys [pg/ml]
PAB(1-21)-Bi / PAB(39-50)-Ru Elecsys [pg/ml]
0
100
200
300
400
500
Regressão P/B
Y = 0.999 * X + 0.039
md(95) = 31.492
N = 53, r = 0.978

Fig. 3

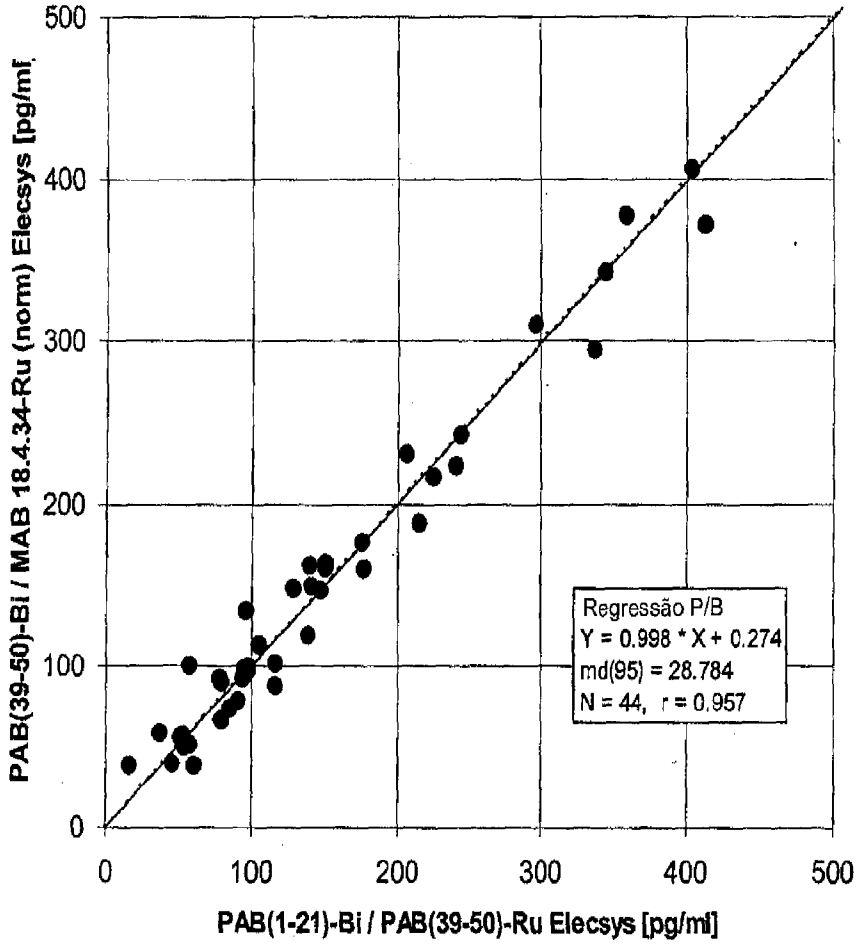

PAB(39-50)-Bi / MAB 18.4.34-Ru (norm) Elecsys [pg/ml]
PAB(1-21)-Bi / PAB(39-50)-Ru Elecsys [pg/ml]
0
100
200
300
400
500
Regressão P/B
Y = 0.998 * X + 0.274
md(95) = 28.784
N = 44, r = 0.957

Fig. 4

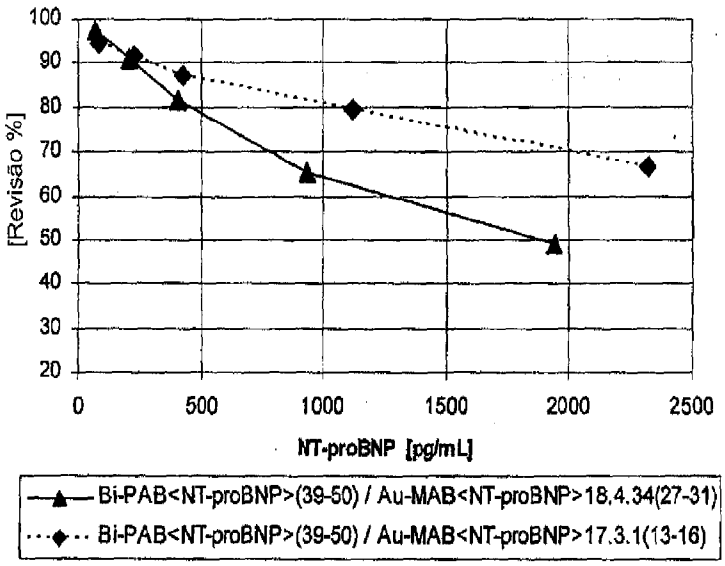
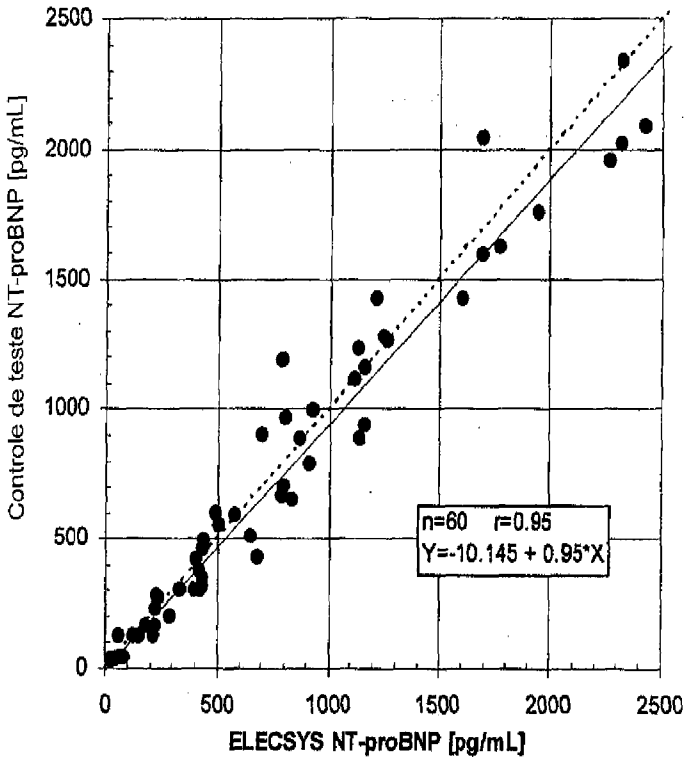

100
90
80
70
60
50
40
30
20
[Revisão %]
0
500
1000
1500
2000
2500
NT-proBNP [pg/mL]
Bi-PAB<NT-proBNP>(39-50) / Au-MAB<NT-proBNP>18.4.34(27-31)
Bi-PAB<NT-proBNP>(39-50) / Au-MAB<NT-proBNP>17.3.1(13-16)

Fig. 5


2500
2000
1500
1000
500
0
0
500
1000
1500
2000
2500
Controle de teste NT-proBNP [pg/mL]
ELECSYS NT-proBNP [pg/mL]
n=60 r=0.95
Y=-10.145 + 0.95*X

RESUMO

Patente de Invenção: **"ELEMENTO DE TESTE NA FORMA DE UMA TIRA DE TESTE IMUNOCROMATOGRÁFICO E MÉTODO PARA DETECTAR O PEPTÍDEO NATRIURÉTICO PROCEREBRAL DE TERMINAL N".**

A presente invenção refere-se a testes imunológicos rápidos para determinar o peptídeo natriurético procerebral de terminal N (NT-proBNP). O elemento de teste rápido pode estar presente como uma tira de teste imunocromatográfico compreendendo: material de suporte (5); zona de aplicação da amostra (1); pelo menos dois anticorpos contra NT-proBNP em que um deste pelo menos dois anticorpos é um anticorpo monoclonal MAB 18.4.34 direcionado a pelo menos contra partes do epítopo de NT-proBNP compreendendo os aminoácidos 27 a 31, e em que um destes pelo menos dois anticorpos é um anticorpo policlonal direcionado a pelo menos contra partes do epítopo de NT-proBNP compreendendo os aminoácidos 38 a 50, e uma zona de detecção (3) em comunicação de fluido com a zona de aplicação da amostra (1) para ligar um complexo compreendendo NT-proBNP, o anticorpo monoclonal e o anticorpo policlonal.

Ainda, é revelado um método para detectar o NT-proBNP compreendendo: fornecer o dispositivo de teste imunológico; adicionar uma amostra biológica suspeita de conter NT-proBNP ao dispositivo de teste; e determinar a presença ou quantidade de NT-proBNP na amostra que se liga tanto ao anticorpo monoclonal quanto ao anticorpo policlonal.