

ENSAYO EN UN SÓLO PASO PARA USO CUALITATIVO EN DIAGNÓSTICOS IN VITRO

UTILIZACIÓN PREVISTA

La prueba de sangre total/suero de Troponin I es un inmunoensayo para una rápida detección cualitativa de la troponina cardíaca I (cTnI) en sangre total o suero humano a un nivel mínimo de 1,5 ng/ml. Esta prueba sirve de ayuda para el diagnóstico del infarto de miocardio en salas de urgencias, centros de asistencia y hospitales.

La prueba de Troponin I proporciona un resultado cualitativo en lugar de información acerca de un cambio en el nivel de cTnI con una sola prueba. Deberán realizarse pruebas en serie para determinar un cambio temporal en el nivel de cTnI. Si se desea, deberá utilizarse un método cuantitativo para determinar la concentración de cTnI. Deberán aplicarse la consideración clínica y el criterio profesional para tomar una decisión sobre el diagnóstico basándose en el resultado de esta prueba.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

En la última década se han utilizado diversos marcadores cardíacos para el diagnóstico de infartos agudos de miocardio (IAM) como, por ejemplo, la creatina quinasa (CK), la isoforma MB de creatina quinasa (CKMB), isoenzimas de lactato deshidrogenasa (LDH), mioglobina y troponinas cardíacas (cTn). Las troponinas cardíacas existen como complejo ternario con tres subunidades: Troponina cardíaca I (cTnI), T (cTnT) y C (cTnC). Las investigaciones muestran que tanto la cTnI como la cTnT son superiores a cualquiera de los otros marcadores cardíacos, debido a que muestran una sensibilidad mayor (>98% en la concentración máxima) y una especificidad (95-100%) para IAM por encima de otros marcadores tradicionales o incluso comparado con los criterios de la OMS.1-3

La cTnI se libera en la circulación de la sangre con unos niveles que superan el límite superior de referencia del período normal de 4 a 6 horas tras la aparición del IAM y alcanza el valor máximo tras un período de 12 a 24 horas. Este elevado nivel de cTnI permanece durante un máximo de 5 a 7 días. La pronta liberación y la larga duración de la cTnI hacen que la prueba resulte más adecuada para el diagnóstico del infarto de miocardio.^{3,5}

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

Este ensayo es un inmunoensayo de flujo lateral cromatográfico de doble anticuerpo. La tira reactiva del dispositivo consta de: 1) una almohadilla de conjugado de color burdeos con oro coloidal acoplado con anticuerpos anti-cTnI de ratón y 2) una membrana de nitrocelulosa con una línea de prueba (línea T) y una línea de control (línea C). La línea T está recubierta de anticuerpos anti-cTnI de ratón y la línea C, de anticuerpos antiratón de cabra. La almohadilla de muestras de la tira reactiva se trató previamente con anticuerpos antiglobulinos rojos humanos de ratón para tratar de separar los glóbulos rojos de las muestras de sangre.

Cuando la cTnI se encuentra presente en la muestra, la línea T se convertirá en una banda de color burdeos. Si la cTnI no se encuentra presente o se encuentra presente por debajo del nivel detectable, no se formará ninguna línea T. La línea C siempre deberá aparecer como una banda de color burdeos independientemente de la presencia de cTnI. Sirve como control cualitativo interno de la prueba para indicar que se ha aplicado un volumen suficiente de muestra y se ha producido el flujo de líquido.

MATERIAL INCLUIDO

- 25 dispositivos de pruebas en envoltorio individual, todos ellos provistos de una pipeta desechable.
- Un folleto de instrucciones (modo de empleo)

MATERIAL NECESARIO PERO NO INCLUIDO

- Controles : De cTnI positiva y cTnI negativa
- Recipientes de recogida de muestras
- Cronometro

ALMACENAMIENTO

- Temperatura de almacenamiento del kit de 15 a 30°C. **No congelar.** El contenido del kit permanece estable durante 2 años o hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta; lo que se produzca primero.
- La exposición del kit a temperaturas superiores a 30°C puede reducir la vida útil o dañar el dispositivo.

RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

1. Suero

- Siga los procedimientos estandar del laboratorio para la recogida de muestras de suero.
- Las muestras de suero pueden almacenarse a una temperatura de 9 a 30°C durante 8 horas, de 2 a 8°C durante una semana y a -20°C o menos para un almacenamiento prolongado. No se recomiendan para este ensayo muestras congeladas y descongeladas varias veces.
- Deberá extraerse por centrifugación cualquier sedimento presente en las muestras de suero. Evite el uso de muestras turbias, que pueden estar contaminadas por microorganismos.

2. Sangre Total

- Siga los procedimientos estandar del laboratorio para la recogida de muestras de sangre total. Recoja la sangre en un tubo que contenga citrato como anticoagulante.
- Se recomiendan muestras recientes, ya que las proteínas de la troponina cardíaca son inestables. La prueba de la muestra de sangre total deberá realizarse en un plazo de cuatro (4) horas. No congele las muestras de sangre total; de lo contrario, los glóbulos rojos se destruirán, lo cual puede causar la hemólisis. Si las muestras han de almacenarse, deberán extraerse los glóbulos rojos.
- Utilice la pipeta incluida para recoger la sangre y aplique cuatro gotas al orificio para la muestra del dispositivo.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Uso exclusivo para diagnóstico in vitro
- PRECAUCIÓN : Todos los productos de la sangre humana, incluidas las muestras de suero, deberán considerarse potencialmente infecciosos. Se recomienda que las muestras de reactivos y pacientes se manipulen de acuerdo con el Estándar de patógenos transmitidos por sangre⁶ de la OSHA (Administración de Salud y Seguridad laboral de EE.UU.) u otras directrices o normativas nacionales apropiadas sobre seguridad contra riesgos biológicos.^{6,8}
- No utilice el kit pasada la fecha de caducidad que aparece en el producto.

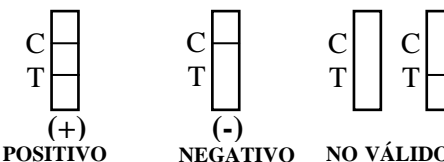
- El dispositivo deberá permanecer en el envoltorio cerrado herméticamente hasta el momento de su uso.
- Utilice guantes desechables durante la manipulación de muestras y lávese las manos a fondo el finalizar.
- Utilice puntas limpias individuales para las diferentes muestras. No succione con la pipeta en la boca.
- No fume, coma ni beba en áreas en las que se manipulen las muestras o los reactivos del kit.
- Respete los procedimientos establecidos para la eliminación adecuada de muestras y dispositivos de pruebas usados.

PROCEDIMIENTO

1. Las muestras refrigeradas u otro material de pruebas, incluidos los dispositivos, **deben dejarse que alcancen la temperatura ambiente antes de la prueba para evitar resultados no válidos.**
2. Extraiga el dispositivo del envoltorio y colóquelo en una superficie plana. Etiquete el dispositivo con una identificación de la muestra.
3. Vierta cuatro (4) gotas de sangre total o suero en el orificio para la muestra.
4. Al cabo de 5 minutos, deberán observarse resultados claramente positivos. Es posible que, para observar resultados ligeramente positivos, deba transcurrir más tiempo. Los resultados deberán leerse tras un intervalo de tiempo de 15 a 20 minutos.

NO INTERPRETE LOS RESULTADOS DESPUÉS DE 20 MINUTOS.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS



POSITIVO: Si aparecen tanto la línea C como la línea T, el resultado indicará que se ha detectado cTnI y, por lo tanto, será positivo.

Nota: Es posible que la intensidad del color de la línea C y la línea T no sea la misma.

Una línea T débil indica una muestra positivo por un escaso margen, a la que se deberá volver a realizar la prueba mediante un método alternativo para su confirmación

NEGATIVO: Si sólo aparece la línea C, la prueba indicará que no se ha detectado cTnI o que su nivel es inferior al nivel de detección, con lo que el resultado será negativo.

Cuando el resultado de la prueba es negativo o entra en conflicto con otros resultados, es imprescindible realizar una nueva prueba aproximadamente una hora más tarde. Si el segundo resultado es negativo y la última muestra se tomó más de 6 horas después de un caso sospechoso de IAM, lo más probable es que el paciente no haya sufrido un IAM.

NO VÁLIDO: Si no aparece ninguna línea de control al cabo de 5 minutos, los resultados deberán considerarse no válidos.

CONTROL DE CALIDAD

Funciones de control integradas

Esta prueba contiene una función de control de calidad, la línea C. La aparición de la línea C de color burdeos indica que se ha aplicado un volumen suficiente y se ha producido el flujo.

Control de calidad externo

Se recomiendan controles externos, positivos y negativos, para supervisar el rendimiento del ensayo. Los controles de calidad deberán ejecutarse cada dos meses, cuando se cambia el lote, o si el resultado es sospechoso.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La prueba proporciona un resultado de prueba cualitativo. El carácter cualitativo de este ensayo no proporciona información acerca de concentración real de troponina I en un momento determinado. La interpretación de los resultados de esta prueba deberá realizarse junto con otra información clínica de la que dispongan los médicos, haciendo uso del criterio profesional apropiado.
- Las muestras de suero humano que contengan valores excepcionalmente elevados de determinados anticuerpos, como anticuerpos humanos antiratón o anticuerpos humanos anticonojo (HAMA o HARA). La prueba se ha optimizado para reducir las interferencias de muestras que contengan HAMA. No obstante, no se puede garantizar la completa eliminación de estas interferencias de las muestras de todos los pacientes. Es posible que las muestras de pacientes contengan anticuerpos humanos antiratón (HAMA) que puedan proporcionar resultados falsamente altos o bajos con ensayos que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón.
- Las muestras de suero que muestren una lipemia flagrante, hemólisis evidente o turbidez no deberán utilizarse con esta prueba
- Los resultados de pruebas que sean incoherentes con los síntomas clínicos y el historial del paciente deberán interpretarse con precaución.

RESULTADOS PREVISTOS

La prueba está diseñada para producir un resultado positivo de la inexistencia de concentraciones de troponina cardíaca I inferiores a 1,5 ng/ml o 5 ng/ml de Troponina I de complejo ternario.

Se ha descubierto que el intervalo de tiempo necesario para que los niveles de troponina cardíaca I de la sangre alcancen el límite superior o normal es de 4 a 6 horas inmediatamente después de la aparición de síntomas, con una concentración máxima que se alcanza al cabo de 12 a 24 horas. El nivel de troponinas cardíacas I sigue siendo elevado durante un intervalo de 6 a 10 días en algunos casos. Por lo tanto, un resultado negativo en las primeras horas de la aparición de síntomas no descarta el infarto agudo de miocardio con seguridad. Si se sospecha de la existencia de IAM, deberá repetirse la prueba a intervalos apropiados.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

1. Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica de este dispositivo se determinó con 2 paneles: uno para muestras de suero y otro para muestras de sangre total. Cada uno constaba de 40 miembros distribuidos a partes iguales en 4 grupos, diez (10) muestras en cada grupo. Se vertió a los 4 grupos cTnI a cuatro niveles diferentes: 1,5; 1,3; 1,1 y 0,9 ng/ml, por separado.

En el panel de suero, este dispositivo detectó las 10 muestras a un nivel de 1,5 ng/ml como positivo; detectó 7 de 10 a 1,3 ng/ml, 5 de 10 a 1,1 ng/ml y 3 de 10 a 0,9 ng/ml. En el panel de sangre total, el dispositivo detectó las 10 muestras a un nivel de 1,5 ng/ml como positivo; detectó 6 de 10 a 1,3 ng/ml, 5 de 10 a 1,1 ng/ml y 3 de 10 a 0,9 ng/ml. Por lo tanto, la sensibilidad analítica del dispositivo es de 1,5 ng/ml de cTnI.

Panel de Suero		Muestra de Troponina I Concentración (ng/ml)			
		1,5	1,3	1,1	0,9
Resultado de la Prueba	Positivo (+)	10	7	5	3
	Negativo (-)	0	3	5	7
Total		10	10	10	10

Panel de Sangre Total		Muestra de Troponina I Concentración (ng/ml)			
		1,5	1,3	1,1	0,9
Resultado de la Prueba	Positivo (+)	10	6	5	3
	Negativo (-)	0	4	5	7
Total		10	10	10	10

2. Prueba de Aptitud de Precisión: Ensayos Interserie en Cuatro (4) Instalaciones de Ensayo Diferentes

Se proporcionó a tres laboratorios médicos (LM) y a un laboratorio médico de referencia dos paneles de muestras con vertidos de cTnI purificado. Un panel contenía ochenta (80) muestras de sangre total sin etiquetar y el otro ochenta (80) muestras de suero sin etiquetar. Las muestras de cada panel constaban de cuatro grupos distribuidos a partes iguales con cTnI en cuatro concentraciones diferentes: 0; 0,1; 1,5 y 10 ng/ml. Los resultados obtenidos con la prueba demostraron una coincidencia del 100% intraserie así como entre instalaciones en muestras de sangre total con el vertido y una coincidencia superior al 98% en muestras de suero con el vertido.

Panel de Sangre Total	Concentración de cTnI (ng/ml) y Resultado de la Prueba								Coincidencia Intraserie
	0		0,1		1,5		10		
	-	+	-	+	-	+	-	+	
Instalación I	20	0	20	0	0	20	0	20	100%
Instalación II	20	0	20	0	0	20	0	20	100%
Instalación III	20	0	20	0	0	20	0	20	100%
Instalación IV	20	0	20	0	0	20	0	20	100%
Coincidencia entre Instalaciones	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	

Panel de Suero	Concentración de cTnI (ng/ml) y Resultado de la Prueba								Coincidencia Intraserie
	0		0,1		1,5		10		
	-	+	-	+	-	+	-	+	
Instalación I	20	0	19	1	0	20	0	20	98,8%
Instalación II	20	0	20	0	0	20	0	20	100%
Instalación III	20	0	20	0	0	20	0	20	100%
Instalación IV	19	1	20	0	0	20	0	20	98,8%
Coincidencia entre Instalaciones	98,8%	98,8%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	

3. Interferencia y Reactividad Cruzada

Las siguientes sustancias que pueden interferir ni parecen interferir ni provocar ninguna reacción cruzada con determinaciones de troponina cardiaca I en la prueba hasta los niveles que se muestran a continuación.

Analito	Nivel de Prueba
Biotina	200 ng/ml
Bilirrubina	1 mg/ml
Hemoglobina	2 mg/ml
Troponina C de músculo esquelético de conejo	2,5 µg/ml
Troponina cardiaca T humana	2,5 µg/ml
Troponina T de músculo esquelético humanos	2,5 µg/ml
Troponina I de músculo esquelético humanos	2,5 µg/ml
Colesterol	8 mg/ml
Triglicérido	12,5 mg/ml

Las pruebas *in vitro* de los siguientes fármacos más utilizados no revelaron ninguna interferencia en el ámbito terapéutico normal:

Analito (10 µg/ml de Concentración Final)		
Acetaminofeno	Cloramfenicol	Nifedipino
Ácido acetilsalicílico	Cinarizina	Niastina
Adenina	Ciclofosfamida	Oxazepam
Allopurinol	Ciclosporina	Oxitetraciclina
Ambroxol	Digitonina	Propranolol
Ampicilina	Digoxina	Teofilina
Ácido ascórbico	Dopamina	L-Tiroxina
Atenolol	Eritromicina	Urea
Atropina	Ácido genticico	Ácido urico
Cafeína	Isoproterenol	
Captopril	Dinitrato de isosorbida	

4. Estudios de Recuperación

El suero humano normal se complementó con troponina cardiaca I humana para producir concentraciones de 0; 1,5 y 3 ng/ml. Se realizó la prueba a las muestras en 6 replicados. Como muestran los datos de la siguiente tabla, se observó una coincidencia del 100% entre los resultados esperados y los obtenidos en cada concentración de cTnI.

cTnI Añadida (ng/ml)	Resultado de la Prueba		Coincidencia con los Resultados Esperados
	Negativo	Positivo	
0	6	0	100%
1,5	0	6	100%
3	0	6	100%

5. Evaluación Clínica de Muestras

Se realizó la prueba de un total de 300 muestras de suero confirmadas clínicamente, 150 positivas y 150 negativas, con este dispositivo, el dispositivo de determinación y un ensayo cuantitativo de troponina I ELISA.

Los resultados a partir del dispositivo de determinación fueron que, de las 150 muestras positivas, 147 dieron resultado positivo, 1 ligeramente positivo y 2 negativo; y de las 150 muestras negativas, 144 dieron resultado negativo y 6 positivo.

Este dispositivo obtuvo resultados similares a los del dispositivo de determinación. De las 150 muestras positivas confirmadas, 147 dieron resultado positivo, 2 ligeramente positivo y 1 negativo; y de las 150 muestras negativas confirmadas, 144 dieron resultado negativo y 6 positivo.

La prueba ELISA detectó 149 muestras positivas de todas las muestras positivas y 146 negativas de todas las muestras negativas.

Los datos demostraron que este dispositivo tiene una sensibilidad del 99,3% y una especificidad del 96,0%, mientras que el dispositivo de determinación tenía una sensibilidad del 98,8% y una especificidad del 96,0%. La prueba ELISA produjo una sensibilidad del 99,3% y una especificidad del 97,3%.

Comparado con la prueba ELISA, la coincidencia fue de un 97,4% (149/153) para los resultados positivos y de un 95,9% (141/147) para los resultados negativos. La coincidencia general fue de un 96,7% (290/300).

Valores de Ensayo	Resultados de Ensayo ELISA				
	Positivo (≥1,5 ng/ml)	Negativo (<1,5 ng/ml)	Total	Coincidencia	
Prueba de TNI	Positivo	149	6	155	97,4%
	Negativo	4	141	145	95,9%
	Total	153	147	300	96,7%

REFERENCIAS

- Bodor GS. Cardiac Troponins: A Decade of Change in Cardiac Marker Testing. LabMedica International 2004; 21(2): 12-14.
- Bodor GS, Porter S, Landt Y, Ladenson JH. Development of monoclonal antibodies for an assay of cardiac troponin-I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. Clin Chem. 1992 Nov;38(11):2203-14.
- Adams JE 3rd, Sicard GA, Allen BT, Bridwell KH, Lenke LG, Dávila-Román VG, Bodor GS, Ladenson JH, Jaffe AS. Diagnosis of perioperative myocardial infarction with measurement of cardiac troponin I. N Engl J Med. 1994 Mar 10;330(10):670-4.
- Cummins B, Auckland ML, Cummins P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. Am Heart J. 1987 Jun;113(6):1333-44.
- Larue C, Calzolari C, Bertinchant JP, Leclercq F, Grolleau R, Pau B. Cardiac-specific immunoenzymometric assay of troponin I in the early phase of acute myocardial infarction. Clin Chem. 1993 Jun;39(6):972-9.
- U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR Part 1910.1030. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. Federal Register; 1991; 56(235): 64175.
- USA Center for Disease Control/National Institute of Health Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1984.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue: 1997 Approved Guideline. NCCLS Document M29-A.

15°C - 30°C	Limite temperatura		Data di scadenza AAAA-MM
	Numero di lotto		Dispositivo medico per diagnosi <i>in vitro</i>
	Produttore		Numero di catalogo
	Contenuto sufficiente per < n > test		Consultare istruzioni per l'uso
	Non riutilizzare		Marchio CE
	Attenzione, consultare documenti allegati		

ALFA SCIENTIFIC DESIGNS, INC.

POWAY, CA 92064 - USA

MADE IN USA

REF 8575SP

Obelis s.a

Avenue de Tervueren, 34, Bte 44

B-1040 Brussels

Tel.: +32.2.732.59.54

Fax: +32.2.732.60.03

Email: mail@obelis.net