

Immunoensayo

REF

CMH0202

100 pruebas

cTnI CLIA Micropartículas

Este ensayo se basa en un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (CLIA Micropartículas) para la determinación cuantitativa de la concentración de troponina cardiaca I (cTnI) en suero y plasma (heparina o citrato de sodio) humano.

Todas las marcas registradas son propiedad de sus respectivos dueños.

Clave para los símbolos gráficos utilizados

LOT

Código de lote



uso para



fabricante



Contenido suficiente para <n> pruebas

IVD

Dispositivo medico de diagnóstico *in vitro*



Limitación de temperatura

REF

Número de catálogo



Consulte instrucciones para uso



AUTOBIO DIAGNOSTICS CO., LTD
No.87 Jingbei Yi Road
National Eco & Tech Development Area
Zhengzhou
China
450016

IVD

Para asistencia técnica por favor contáctese con nosotros en

Ingles a: Email: customerservice@autobio.com.cn

Contáctese con los distribuidores locales para todas las preguntas relacionadas a los productos en su lenguaje local

Introducción

La troponina I cardíaca (cTnI) es una proteína contráctil presente exclusivamente en el músculo cardíaco^{1, 2}. Es una de las tres subunidades del complejo de troponina (I, T, C), que con la tropomiosina se une a la actina en el filamento delgado del miofibrilla. cTnI se encuentra como troponina I libre (TnI libre) y está complejada con troponina C (IC binaria), con troponina T (IT binaria) o con troponina C y troponina T (ITC ternaria). Su función fisiológica es inhibir la actividad ATPasa del complejo actina-miosina en ausencia de calcio y, por lo tanto, prevenir la contracción muscular³. cTnI se diferencia de otras troponinas debido a su extensión N-terminal de 26 aminoácidos. Esta extensión contiene dos serinas, residuos 23 y 24, que son fosforiladas por la proteína quinasa A en respuesta a la estimulación beta-adrenérgica e importantes para aumentar la respuesta inotrópica⁴. La fosforilación de cTnI cambia la conformación de la proteína y modifica su interacción con otras troponinas, así como la interacción con los anticuerpos anti-TnI. Estos cambios alteran la respuesta del miofilamento al calcio y son de interés para atacar la insuficiencia cardíaca. El monitoreo de múltiples reacciones del cTnI humano ha revelado que hay 14 sitios de fosforilación y el patrón de fosforilación observado en estos sitios se modifica en respuesta a la enfermedad⁵.

Los niveles de cTnI en el infarto agudo de miocardio (IAM) exhiben patrones de aumento y caída similares a los encontrados en CK-MB. Se ha recomendado la recolección de al menos tres muestras de sangre durante el período de clasificación temprana⁶. cTnI es 13 veces más abundante en el miocardio que en CK-MB y normalmente no circula en la sangre, por lo que la relación señal a ruido es más favorable para la detección de necrosis miocárdica⁷. Los datos acumulativos de varios estudios indican que los niveles de troponina I son detectables (valores citados anteriormente para muestras sin IAM) 3 a 6 horas después del inicio del dolor en el pecho. Los niveles de troponina I alcanzan su nivel máximo en aproximadamente 12 a 16 horas y pueden permanecer elevados durante 4 a 9 días después de la IAM. Estos mismos estudios observaron que el tiempo hasta la concentración máxima de cTnI ocurrió más tarde en pacientes que no recibieron terapia trombolítica⁸.

Principio de medición

Este ensayo se basa en el método de sándwich de un solo paso. La muestra, las micropartículas recubiertas con anticuerpo cTnI y el anti-cTnI marcado con enzimas se agregan al recipiente de reacción. Durante la incubación, el cTnI presente en la muestra se deja reaccionar simultáneamente con los dos anticuerpos, lo que resulta en el cTnI intercalado entre los anticuerpos recubiertos de micropartículas y los anticuerpos marcados con enzimas. Después del lavado, se genera un complejo entre la fase sólida, el cTnI dentro de la muestra y los anticuerpos ligados a enzimas por reacciones inmunológicas. Luego se agrega el sustrato quimioluminiscente y se cataliza por este complejo, lo que resulta en una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como RLU. La RLU es proporcional a la cantidad de cTnI en las muestras.

Materiales Provistos

1. Calibradores

6 viales liofilizados Calibrador A a F con las correspondientes concentraciones aproximadas de cTnI mostradas en la siguiente tabla. La matriz es el tampón Tris-NaCl que contiene caseína. Contiene conservante ProClin 300®.

Calibrador	Concentration cTnI (ng/ml)
A	0
B	0.3

C	1.2
D	5
E	25
F	100

Reconstituya cada calibrador liofilizado con 1,0 ml de agua destilada. Deje reposar el material reconstituido durante al menos 5 minutos. Luego invierte el calibrador para mezclarlo completamente.

2. Paquete de Reactivos

El paquete de reactivos provistos están listos para su uso.

● Solución de Micropartículas

1 vial que contiene 2,3 ml de micropartículas recubiertas con anti-cTnI monoclonal de ratón en PBS (solución salina tamponada con fosfato) que contiene caseína. Contiene conservante ProClin 300®.

● Conjugado de enzimas

1 vial que contiene 5,5 ml de anti-cTnI monoclonal de ratón marcado con rábano picante peroxidasa en un tampón MES que contiene proteínas de origen bovino. Contiene conservante ProClin300®.

Analizadores de ensayo en los que se puede utilizar el kit

● AutoLumo A2000 Plus

El inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (Micropartículas CLIA) está diseñado para su uso en Analizador de Ensayos, que es AutoLumo A2000 Plus.

Materiales Requeridos pero no Provistos

1. Analizador de ensayo
2. Recipiente(s) de reacción para muestra reactivo de reacción
3. Copa(s) de muestra o tubo(s) para contener muestra
4. Diluyente Universal
5. Sustrato Quimioluminiscente
6. Sistema de lavado para el lavado de la aguja de pipeteo.
7. Tampón de lavado utilizado en el procedimiento de lavado
8. Agua destilada o desionizada.

Trazabilidad Metrológica De Calibradores

El analito en estos calibradores cTnI es rastreado a los calibradores en funcionamiento del fabricante. El proceso de trazabilidad se basa en la norma EN ISO 17511. Los valores asignados se establecieron utilizando muestras representativas de este lote de calibradores y son específicos de las metodologías de ensayo de los reactivos. Los valores asignados por otras metodologías pueden ser diferentes. Tales diferencias, si están presentes, pueden ser causadas por un sesgo inter-método.

Advertencias y Precauciones

Información de salud y seguridad

Para los calibradores y el conjugado enzimático, que contienen 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-uno y 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, se aplican las siguientes declaraciones



- H315 Causa irritación de la piel.
- H319 Provoca irritación ocular grave.
- H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
- H412 Nocivo para la vida acuática con efectos de larga duración.
- P261 Evitar respirar polvo/humo/gas/niebla/vapores/spray.

GHS 07

Advertencia

P280 Usar guantes protectores/indumentaria de protección/protección ocular/protección facial.

P273 Evitar su liberación al medio ambiente.

P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS

OJOS Enjuague cuidadosamente con agua durante varios minutos. Qútese las lentes de contacto, si están presentes y son fáciles de hacer. Continuar enjuagando.

P321 Tratamiento específico (ver en esta etiqueta).

P501 Eliminar el contenido / el recipiente de acuerdo con las regulaciones locales / regionales / nacionales / internacionales.

1. Para uso profesional solamente.
2. Siga las instrucciones de uso con cuidado. La confiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si hay alguna desviación de las instrucciones en este manual de uso.
 3. Consulte la hoja de datos de seguridad del material y la etiqueta del producto para conocer los peligros químicos que pueden estar presentes en este ensayo.
4. Maneje los materiales y desechos potencialmente contaminados de manera segura de acuerdo con los requisitos locales.
5. **PRECAUCIÓN:** los calibradores contienen material de origen humano, que ha sido probado y no es reactivo para HBsAg, HIV-1 and HIV-2, HCV y sífilis. Se recomienda que todos los materiales de origen humano se consideren potencialmente infecciosos. Este ensayo contiene materiales de origen animal. Los componentes bovinos se originan en países donde no se ha notificado encefalopatía espongiforme (EEB).
6. Algunos reactivos que contienen ProClin 300® pueden causar sensibilización por contacto con la piel. Debe evitarse el contacto con la piel. Este material y su recipiente deben desecharse de forma segura. En caso de ingestión, consulte a un médico inmediatamente y muestre este envase o etiqueta.
7. No fume, beba, coma o use cosméticos en el área de trabajo.
8. Use ropa protectora y guantes desechables cuando trate con muestras y reactivos. Lavarse las manos luego de las operaciones.
9. Tenga cuidado al manipular muestras de pacientes para evitar contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas desechables o puntas de pipeta.
10. Conduzca el ensayo lejos de malas condiciones ambientales por ejemplo aire ambiente que contiene alta concentración de gas corrosivo, como ácido clorhídrico sódico, alcalino, acetaldehído, etc., o que contiene polvo.
11. No utilice reactivos más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
12. No mezcle ni use componentes de kits con diferentes códigos de lote.
13. Cuando almacene los calibradores, asegúrese de que los viales estén bien sellados.
14. Asegúrese de que las micropartículas estén resuspendidas antes de cargarse en el analizador.
15. Evite formación de espuma en todos los reactivos y tipos de muestras (muestras, calibradores y controles).
16. No sustituya ningún reactivo en este kit de otros fabricantes u otros lotes.
17. Cuando se observe cualquier daño al empaque protector o cualquier cambio en el rendimiento analítico no use el kit.

Almacenamiento

1. Almacenar el kit a 2-8 °C. No congelar. Evite la luz fuerte. Cuando se almacena según las indicaciones, todos los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad.

2. Refrigere el paquete de reactivos a 2-10 °C durante un mínimo de 2 horas antes de su uso.
3. Almacene el paquete de reactivos en posición vertical a 2-10 °C en el analizador. Pueden almacenarse en el analizador por un máximo de 28 días. Después de 28 días, el paquete de reactivos debe desecharse. Una vez que se retiran del analizador, guárdelos a 2-8 °C en posición vertical. Para los reactivos almacenados fuera del analizador, se recomienda que se almacenen en sus bandejas y cajas originales para garantizar que permanezcan en posición vertical.
4. Una vez que el paquete de reactivos está abierto, se puede almacenar a 2-8 °C durante 1 mes.

Muestra

1. Recolectar muestras de suero o plasma de acuerdo con las prácticas médicas correctas.
2. No utilice muestras inactivadas por calor. No use conservante de azida de sodio en las muestras.
3. No utilice muestras con contaminación microbiana obvia.
4. Los sedimentos y los sólidos suspendidos en las muestras pueden interferir con el resultado de la prueba, que debe eliminarse mediante centrifugación. Asegúrese de que haya tenido lugar la formación completa de coágulos en las muestras de suero antes de la centrifugación. Algunas muestras, especialmente las de pacientes que reciben terapia anticoagulante o trombolítica, pueden mostrar un aumento del tiempo de coagulación. Si la muestra se centrifuga antes de que se forme un coágulo completo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos. Asegúrese de que las muestras no estén descompuestas antes de usarlas.
5. Antes del envío, se recomienda retirar las muestras del coágulo, del separador de suero o de los glóbulos rojos.
6. El procesamiento insuficiente de la muestra o la interrupción de la muestra durante el transporte puede causar resultados deprimidos.
7. Evite muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
8. Tape y almacene las muestras a 18-25 °C durante no más de 8 horas, para un uso más prolongado, las muestras se deben tapar y almacenar de 2 a 8 °C hasta 48 horas. O bien, congele las muestras que deben almacenarse o transportarse durante más de 48 horas a -20°C. Evitar múltiples ciclos de congelación y descongelación. Mezcle bien las muestras descongeladas mediante vórtice de baja velocidad o invirtiendo 10 veces. Inspeccione visualmente las muestras, si observa estratificación o estratificación, continúe mezclando hasta que las muestras sean visiblemente homogéneas. Después de descongelar, llevar a temperatura ambiente y mezclar bien agitando suavemente.
9. Centrifugar las muestras descongeladas que contengan glóbulos rojos o material particulado, o que tengan una apariencia brumosa o turbia, etc. antes de su uso para garantizar la consistencia en los resultados.
10. Tenga en cuenta que los niveles de interferencia de fibrina pueden estar presentes en muestras que no tienen partículas visibles o evidentes.
11. Si no se puede verificar la recolección y preparación adecuadas de la muestra, o si las muestras se han alterado debido al transporte o manejo de la muestra, se recomienda un paso de centrifugación adicional. Las condiciones de centrifugación deben ser suficientes para eliminar las partículas.
Para obtener resultados óptimos, inspeccione todas las muestras para detectar burbujas. Eliminar las burbujas con una punta antes de su análisis. Use una nueva punta para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

Procedimiento de medición

1. Comprobar los materiales consumibles.
- Verifique que haya un volumen adecuado de materiales consumibles antes de realizar la prueba.
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
2. Cargar el kit
- Mezcle el contenido de los paquetes de reactivos nuevos (sin perforar) invirtiendo suavemente el paquete varias veces antes de

cargarlo en el analizador. Evitar la formación de espuma en todos los reactivos. No invierta los paquetes abiertos (perforados). Si es necesario, agite suavemente para mezclar horizontalmente después de la primera carga.

- Lea el código de barras en el paquete de reactivos automáticamente para obtener los parámetros requeridos para la prueba.
 - Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
 - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
3. Orden de pruebas
- Coloque los vasos o tubos de muestra en el porta muestras, 50 µl de muestras y calibradores para cada prueba. Pero teniendo en cuenta el contenedor de muestra y 150 µl de volúmenes muertos del sistema, que pueden consultarse en los manuales apropiados del analizador de ensayos para obtener el volumen mínimo de muestra requerido.
 - Cargue el soporte de muestra e ingrese la información de muestra en la interfaz del software del sistema.
 - Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba, el analizador automáticamente ejecuta las pruebas. Realiza las siguientes funciones:
 - Mueve la muestra al punto de ajuste.
 - Carga un recipiente de reacción en la ruta del proceso.
 - Aspira y transfiere la muestra al recipiente de reacción.
 - Agrega solución de micropartículas y conjugado enzimático al recipiente de reacción
 - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción.
 - Agrega Sustrato Quimioluminiscente
 - Mide la emisión de quimioluminiscencia para determinar la cantidad de cTnI en la muestra
 - Descarta el recipiente de reacción usado.
 - Calcula el resultado.
 - Consulte el manual de operación del analizador de ensayos.
4. Calibrar la curva
- El analizador puede leer el código de barras en el paquete de reactivos automáticamente para obtener los parámetros necesarios para la prueba.
 - Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
 - Transfiera los calibradores a los vasos o tubos de muestra y colóquelos en el soporte de muestra. Realizar la detección de duplicados en el sistema.
 - Cargue el soporte de muestra y la información de los calibradores de entrada en la interfaz del software del sistema.
 - Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba y generar la curva de calibración; se requiere una calibración cada 28 días.
 - Una vez que se acepta y almacena una curva de calibración, todas las muestras posteriores pueden analizarse sin más calibración a menos que:
 - Los controles están fuera de rango después de mediciones repetidas
 - Se utiliza un kit de reactivos y un sustrato quimioluminiscente con un nuevo código de lote.
 - Más allá de la fecha de vencimiento de una curva de calibración
 - Partes importantes del analizador son reemplazadas o reparadas.
 - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
5. Diluir la muestra

Las muestras con un valor de cTnI superior a 100 ng / ml pueden diluirse con el método de dilución automatizado. El Diluyente Universal se utiliza para diluir las muestras. Después de la dilución del analizador, el software automáticamente toma en cuenta la dilución al calcular la concentración de la muestra.

Resultados de medición

Los resultados de las pruebas de muestra son determinados

automáticamente por el software del sistema utilizando un método de reducción de datos de ajuste de curva logística de 4 parámetros. La cantidad de cTnI en las muestras se determina a partir de la producción de luz medida por medio de los datos de calibración almacenados. Los resultados de las pruebas de muestra se pueden revisar utilizando la computadora apropiada o imprimir. Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos para revisar los resultados de las muestras.

La unidad predeterminada para este ensayo es ng / ml.

Procedimiento de control

El requisito de control recomendado para este ensayo es comprar los materiales de control por separado y probarlos junto con las muestras dentro de la misma ejecución. El resultado es válido si los valores de control se encuentran dentro de los rangos de concentración impresos en las etiquetas. Cuando un valor de control está fuera del rango especificado, puede indicar un deterioro de los reactivos o errores en la técnica. Los resultados de las pruebas asociadas pueden ser inválidos y pueden requerir una nueva prueba. La recalibración del ensayo puede ser necesaria. Se recomienda que cada laboratorio establezca su rango aceptado para garantizar un rendimiento de prueba adecuado.

Limitaciones de procedimiento

1. Este ensayo pretende ser una ayuda para el diagnóstico clínico. Lleve a cabo este análisis junto con el examen clínico, el historial médico del paciente y los resultados de otras pruebas.
2. Los resultados negativos no pueden descartarse por completo la posibilidad de infarto de miocardio. Si los resultados son inconsistentes con la evidencia clínica, pruebas adicionales se sugiere confirmar el resultado.
3. Los anticuerpos heterofílicos en suero humano pueden reaccionar con inmunoglobulinas reactivas, lo que interfiere con los inmunoensayos in vitro. Los pacientes expuestos rutinariamente a animales o productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y se pueden observar valores anómalos. Se puede requerir información adicional para el diagnóstico. Este tipo de muestras no es adecuado para ser analizado por este ensayo.
4. Debido a la secreción pulsátil, las muestras obtenidas en el mismo día del mismo paciente pueden fluctuar ampliamente dentro del intervalo de referencia, reflejando una variación fisiológica en lugar de errores en la técnica o la metodología.
5. Este ensayo fue diseñado y validado para su uso con suero humano de pacientes individuales y muestras de donantes. Las muestras agrupadas no deben usarse ya que la precisión de los resultados de sus pruebas no se ha validado.
6. Esta prueba mide concentraciones dentro del rango de 0.1 a 1000 ng/ml. Si se esperan concentraciones de cTnI por encima del rango de medición, se recomienda diluir las muestras con Diluyente Universal, la dilución máxima es 1:9 de esta prueba, lo que permite que las muestras se cuantifiquen hasta aproximadamente 9000 ng/ml.

Intervalo de referencia biológica

El rango normal sugerido (intervalo de confianza del 95%) se obtuvo al analizar 354 muestras de sueros de examen físico de 186 hombres adultos normales y 168 mujeres adultas normales (sin enfermedad cardiovascular y entre los 19 y los 80 años). Los resultados se presentan en la siguiente tabla. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal, que puede ser exclusivo de la población a la que sirve, dependiendo de los factores geográficos, del paciente, de la dieta o ambientales.

Rango de resultados (ng/ml)	Muestra No. en el rango	Acumular No.	Proporción muestra (%)
0 ~ 0.01	342	342	96.6%
0.01~0.04	1	343	96.9%
0.04-0.07	1	344	97.2%
0.07~0.10	1	345	97.5%

0.10~0.13	4	349	98.6%
0.13~0.16	2	351	99.2%
>0.16	3	354	100.0%

Por lo tanto, el rango normal con un intervalo de confianza del 95% es de 0,11 ng / ml.

Características de rendimiento

1. Precisión de medida

Este ensayo está diseñado para tener una precisión dentro de la ejecución de <8%. Se ensayaron 2 controles internos (Q 1 y Q 2), utilizando 1 lote de reactivos, en réplicas de 10. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Controles Internos	Lote	n	Media	Precisión dentro de corrida	
				SD	%CV
Q 1	1	10	1.39	0.12	8.50
Q 2	1	10	7.85	0.29	3.74

Este ensayo está diseñado para tener una precisión entre ejecuciones de <15%. Se analizaron 2 controles internos (Q 1 y Q 2), utilizando 1 lote de reactivos, en réplicas de 10, una vez al día durante 3 días de prueba. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Controles internos	Lote	n	Media	Precisión entre corridas	
				SD	%CV
Q 1	1	30	1.41	0.12	8.27
Q 2	1	30	7.88	0.43	5.42

2. Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica, definida como la concentración correspondiente a las RLU medias de 10 repeticiones del calibrador A (calibrador cero) más 2 desviaciones estándar, es $\leq 0.1\text{ng / ml}$.

3. Especificidad Analítica

Reacción cruzada: se analizaron las siguientes sustancias y concentraciones y se encontró que la tasa de reacción cruzada es $\leq 0.05\%$ con la prueba;

Sustancias	Concentración
cTnC	1000ng/ml
cTnT	1000ng/ml
sTnI	1000ng/ml

Interferencia: este ensayo está diseñado para tener una interferencia aceptable con las sustancias enumeradas a continuación, en los niveles de concentración listados:

Interferentes	Concentración
Bilirrubina	40 mg/dl
Triglicéridos	3000 mg/dl
Hemoglobina	125 mg/dl

4. Precisión de la Medición por Correlación

Se realizó un estudio comparativo en el que las muestras se analizaron utilizando este ensayo y un ensayo de referencia cTnI. Los datos fueron analizados y se resumen en la siguiente tabla.

Método de correlación	Número de muestras	Intercepta	Inclinación	Coefficiente de correlación
Regresión lineal	275	0.0648	1.0201	0.9171

Literatura de Referencia

1. Wilkinson JM, Grand RJA. 1978. Comparison of amino acid sequence of troponin I from different striated muscles. Nature. 271: 31-35.

2. Wade R, Eddy R, Shows TB, Kedes L. 1990. cDNA sequence, tissue-specific expression and chromosomal mapping of the human slow-twitch skeletal muscle isoform of troponin I. Genomics. 7: 346-357.

3. Perry SV. 1979. The regulation of contractile activity in muscle. Biochem Soc Trans 7: 593-617.

4. Solaro RJ, Moir AJG, Perry SV. 1976. Phosphorylation of troponin I and the inotropic effect of adrenaline in the perfused rabbit heart. Nature 262: 615-616.

5. Zhang P, Kirk, JA, Ji W, dos Remedios CG, Kass DA, Van Eyk JE, Murphy AM. 2012. Multiple Reaction Monitoring to Identify Site-Specific Troponin I Phosphorylated Residues in the Failing Human Heart. Circulation 126: 1828-1837.

6. Wu HBA, Apple FS, Gibler B, Jesse RL et al.1999. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: Recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery disease. Clin. Chem; 45(7):1104-1121.

7. Adams JE, Schechtman KB, Landt Y, Ladenson JH, Jaffe AS. 1994. Comparable detection of acute myocardial infarction by creatine kinase MB isoenzyme and cardiac troponin I. Clin. Chem. 40:1291-1295.

8. Mair J, Morandell D, Genser N, Lechleitner P, Dienstl F, Puschendorf B. 1995. Equivalent early sensitivities of myoglobin, creatine kinase MB mass, creatine kinase isoform ratios, and cardiac troponins I and T for acute myocardial infarction. Clinical Chemistry; 41: 1266-1272.