

TROPININ I-CHECK-1

Tropinino I imunochromatografinis greitis testas iš kraujo, serumo ar plazmos mėginių

1. Testo veikimo principas

Tropininas I (TnI) yra vienas iš plonų gijų, susijusių su raumenų baltymų reguliavimu (1). Jis yra užkoduotas trijų skirtingų genų, kurie yra skirtingai išreikšti įvairių raumenų audinių, darančių įtaką lėtoms – ir greitoms skeleto ir širdies TnI izoformoms (2).

Unikali cTnI amino rūgščių seka puikiai tinka ūminio miokardo infarkto (AMI) laboratoriniam nustatymui ir padeda susidaryti monokloniniams antikūnams, kurie kryžmiškai nereaguoja su skeleto raumenų troponiniais (3). Paskelbti įvairių grupių tyrimai parodė cTnI matavimo naudingumą AMI aptikimui (3, 4, 6, 7).

Tiek CK-MB, tiek cTnI buvo auštesni negu įprastinės ribos per 4-6 valandas po infarkto. Tipinės ribos, kaip nurodė Bedor ir kt. (3), yra 6,7 ng/ml CK-MB ir 3,1 ng/ml cTnI.

Taip pat, kiekviena ataskaita pateikia panašius laiko tarpus CK-MB ir cTnI piko reišmės: CK-MB pasiekė per 13-15 valandų, cTnI per 11-15 valandų. Tipiniai intervalai buvo 39–185 ng/ml CK-MB ir 18,5–188 ng/ml cTnI (5).

Tačiau po 36-48 valandų CK-MB lygis normalizuojasi, o cTnI lygis išlieka aukštas iki 6–10 dienų. cTnI lygis yra labai mažas normaliems sveikiems žmonėms ir nenustatomas pacientams, kuriems yra pažeidę skeleto raumenis. Todėl cTnI yra specifinis AMI diagnozės žymuo.

TROPONIN I-CHECK-1 yra greitas kokybinis tyrimas širdies troponino I nustatymui serume, plazmoje ar visuose kraujo mėginiuose. Šiuo metodu naudojamas unikalus monokloninių dažų konjugato ir polikloninių kietosios fazės antikūnų derinys, siekiant nustatyti troponiną tiriamuosiuose mėginiuose su dideliu jautrumo laipsniu. Kadangi tiriamasis mėginyas teka per absorbentą, antikūnų ir dažų konjugatas jungiasi su troponinu ir sudaro antikūnų-antigenų kompleksą. Šis kompleksas jungiasi prie anti-troponino antikūno reakcijos zonoje ir sukuria rožinės spalvos juostą, kai troponino koncentracija yra didesnė nei 1 ng/ml. Jei troponino koncentracija yra mažesnė nei 1 ng/ml, reakcijos zonoje linijos nėra. Reakcijos mišinys toliau teka pro absorbentą įtaisą per reaktyvią ir kontrolės zonas. Nesujungt konjugatai jungiasi prie kontrolinės zonos reagentų, gamindami rožinės spalvos juostą, įrodančią, kad reagentai veikia tinkamai.

2. Į rinkinio sudėtį įeinantys reagentai ir medžiagos

Kiekvienas rinkinys turi viską, ko reikia, kad galima būtų atlikti 10 arba 20 testų.

- 10/20 TROPONIN I-CHECK-1 testų
- 10/20 vienkartinį plastikinių pipetų
- 3ml/5ml skiediklio buteliuke
- 1/1 informacinis pakuotės lapelis
- Teigiama kontrolė (pasirinktinai): pasirinktinai galima užšaldyti prietaisą kaip teigiamą kontrolę (1 x 0,25 ml). Jį reikia ištirpinti 0,25 ml distiliuoto vandens ir gaunamas bandymo rezultatas yra lygiavertis teigiamiems mėginiams (t. y. rausva spalva) ir po paruošimo turi būti laikomas +2°C iki +8°C temperatūroje.

3. Laikymas ir stabilumas

1. Visi TROPONIN I-CHECK-1 rinkinio komponentai turi būti laikomi kambario temperatūroje (+4°C iki +30°C).

2. Negalima užšaldyti testo rinkinio.

3. TROPONIN I-CHECK-1 tyrimas yra tinkamas iki jo paskutinės galiojimo dienos, nurodytos ant pakuotės etiketės.

4. Įspėjimai

- Tik profesionaliai *in-vitro* diagnostikai.
- Elkitės su mėginiais taip, tarsi jie būtų užkrėsti. Baigus tyrimą, mėginius išmeskite po to, kai juos autoklavosite bent vieną valandą. Kitu atveju, prieš išmetant, juos galima laikyti 0,5–1% natrio hipochlorito tirpale vieną valandą.
- Tirdami mėginius, dėvėkite apsauginius drabužius, pavyzdžiui, laboratorinius chalatus arba vienkartinės pirštines.
- Nevalgykite, negerkite ir nerūkykite ėminių ir rinkinio reagentų naudojimo vietoje.
- Mėginių surinkimo ir bandymo metu venkite kontakto tarp rankų ir akių ar nosies.
- Nenaudokite testo, jei baigėsi tinkamumo naudoti terminas, nurodytas ant pakuotės etiketės.
- **Kai bandymas atliekamas su kraujo mėginiais, reikia naudoti tik šviežius mėginius (<4 valandų).**
- Nenaudokite testo, jeigu apsauginė plevėlė yra pažeista.

5. Ėminių ėmimas ir ruošimas

Serumas, plazma (citratas, EDTA arba heparinas) arba kapiliarinis kraujas

1. Mėginyas turi būti paimtas standartinėmis laboratorinėmis sąlygomis (aseptiškai, kad būtų išvengta hemolizės). Kiekvienas mėginyas turi būti laikomas potencialiai užkrečiančiu.
2. **Kapiliarinio kraujo mėginius reikia ištirti nedelsiant (<4 valandas).**
3. Jei bandymas atliekamas per 48 valandas po surinkimo, mėginyas turi būti laikomas šaldytuve (+2°C iki +8°C). Jei tyrimas atidedas daugiau nei 48 valandoms, mėginyas turi būti užšaldytas. Užšaldytas mėginyas turi būti visiškai atšildytas, kruopščiai sumaišomas ir prieš bandymą atneštas į kambario temperatūrą. Venkite pakartotinio užšaldymo ir atšildymo.

6. Testo procedūra

1) Mėginiai

1. Leiskite mėginiams ir TROPONIN I-CHECK-1 testo priemonėms prieš bandymą pabūti kambario temperatūroje.
2. Išimkite reakcijos prietaisą iš apsauginės pakuotės, ją praplėšdami.
3. Prietaiso etiketė su paciento vardu arba kontrolės numeriu.
4. Užpildykite serumo lašintuvą mėginiais (serumu, plazma ar kapiliariniu krauju) ir laikydami jį vertikaliai, įpilkite vieną lašą (25µl) serumo ar plazmos į mėginio šulinėlį. Jei naudojamas kapiliarinis kraujas, įpilkite 2 lašus (50µl) į mėginio šulinėlį ir prieš įmaišant skiediklį, palaukite, kol kapiliarinio kraujo mėginy bus visiškai absorbuotas.
5. Įpilkite tiksliai 5 pilnus lašus skiediklio (200µl) į mėginio šulinėlį su 2-3 sekundžių intervalu tarp kiekvieno lašelio.
6. Rezultatus perskaitykite praėjus nuo 15 iki 20 minučių po testo atlikimo.

2) Teigiama kontrolė

1. Išimkite testo prietaisą iš maišelio.
2. Ištirpinus, įpilkite 50µl teigiamos kontrolės į reakcijos įtaiso mėginio šulinėlį.
3. Naudojant lašintuvo buteliuką, į mėginio šulinį reikia įpilti tiksliai 5 pilnus skiediklio lašus,



TROPONIN I-CHECK-1

Tropinino I imunochromatografinis greitis testas iš kraujo, serumo ar plazmos mėginių

laikantis 2-3 sekundžių intervalo tarp 2 lašų.
4. Perskaitykite testo rezultatus po 15-20 minučių.

7. Rezultatų aiškinimas

Neigiamas
Išryškėja viena spalvota juostelė kontrolės zonoje.



Teigiamas
Išryškėja dvi aiškiai matomos juostelės, reiškiančios teigiamą rezultatą.



Nevertinamas: jeigu jokia juostelė neišryškėja, testas laikomas nevertinamu. Tokiu atveju rekomenduojama bandymą pakartoti arba gauti naują mėginį ir jį ištirti per 4 valandas.

8. Atlikimo charakteristikos

1) Analitinis jautrumas
Neigiami žmogaus serumai (išanalizuoti naudojant STRATUS-DADE analizatorių) buvo sujungti su cTnI arba kompleksškai (I.T.C.), arba išgryninti skirtingomis koncentracijomis. Rezultatai rodo, kad TROPONIN I-CHECK-1 gali specifiškai aptikti cTnI esant mažiausiai 1 ng/ml koncentracijai. Baltymas yra vienodai atpažintas arba troponino kompleksu (T.I.C., arba I.C.; T.I.C.: tretinis kompleksas cTnT, cTnI, TnC; I.C.: dvejetainis kompleksas cTnI, TnC) arba grunoje formoje (7).

2) Diagnostinis jautrumas ir specifiškumas
Tyrimas (1 lentelė) buvo atliktas naudojant 97 kapiliarinio kraujo mėginius, iš kurių serumas buvo ištirtas naudojant „MiniVIDAS“ analizatorių (BIOMERIEUX) arba DXI 800 analizatorių (BECKMANCOULTER).

TROPONIN I-CHECK-1 (kapiliarinis kraujas arba serumas)	Metodai			Viso
		+	-	
	+	70	0	70
	-	0	27	27
	Viso	70	27	97

Lentelė 1

Diagnostikos specifiškumas, jautrumas ir koreliacijos rezultatai apskaičiuojami taip, kaip parodyta žemiau.

Diagnostikos specifiškumas
 $\frac{27}{27} \times 100 = 100\%$

Diagnostikos jautrumas
 $\frac{70}{70} \times 100 = 100\%$

Bendra koreliacija
 $\frac{(27+70)}{(27+70)} \times 100 = 100\%$

Naudojant kapiliarinio kraujo mėginį, matricos poveikio nėra.

3) Analitinis specifiškumas

a) **Reumatoidinis veiksnys**
30 serumo mėginių, turinčių didelį reumatoidinio faktoriaus (RF) kiekį, buvo tiriami naudojant TROPONIN I-CHECK-1. Gauti rezultatai parodė, kad jokie teigiami RF serumai netrukė TROPONIN I-CHECK-1 testui. RF koncentracija iki 3,072 TV/ml

nerodo jokių trukdžių.
b) **CRP**
Jokių trukdžių nebuvo pastebėta su neigiamu serumu, turinčiu CRP koncentraciją iki 96 mg/ml.
c) **HAMA**
Teigiami 1 tipo (gali būti sveikoje populiacijoje) ir 2 tipo (kurie kartais pasireiškia pacientams, gydomiems monokloniniais antikūnais) HAMA mėginiai (žmogaus antikūnai, nukreipti prieš peles imunoglobuliną) nepaveikė TROPONIN I-CHECK-1 testo.
d) **Kryžminė reakcija**
Nebuvo pastebėtos kryžminės reakcijos su skeleto raumenų Troponinu I.

4) Trukdžiai

a) Hemoglobinas, bilirubinas, trigliceridai
Serumo mėginiai, ištirti naudojant BIOMERIEUX Minividas ir BECKMAN-COULTER DXI 800 metodus, buvo sujungti 5 g/l žmogaus hemoglobinu, 0,3 g/l bilirubinu (icterinio mėginio) arba 30 g/l trigliceridais. Šie mėginiai buvo lygiagrečiai išbandyti be papildomų medžiagų atliekant TROPONIN I-CHECK-1 testą. Gauti rezultatai pateikiami atitinkamai 2, 3 ir 4 lentelėse.

		TROPONIN I-CHECK-1	
Mėginiai titruojami taikant DXI 800 arba MINIVIDAS metodus		Nuoroda be hemoglobino	Su 5 g/l hemoglobino
Nr.	Titeris ng/ml (VEDALAB ribinė vertė)		
1 (Neigiamas)	0.003 (>1)	-	-
2 (Silpnas teigiamas)	1.7 (>1)	+	+
3 (Stiprus teigiamas)	7.56 (>1)	+	+

Lentelė 2

		TROPONIN I-CHECK-1	
Mėginiai titruojami taikant DXI 800 arba MINIVIDAS metodus		Nuoroda be hemoglobino	Su 0,3 g/l bilirubino
Nr.	Titeris ng/ml (VEDALAB ribinė vertė)		
1 (Neigiamas)	0.003 (>1)	-	-
2 (Silpnas teigiamas)	1.7 (>1)	+	+
3 (Stiprus teigiamas)	7.56 (>1)	+	+

Lentelė 3

TROPONIN I-CHECK-1

Tropinino I imunochromatografinis greitis testas iš kraujo, serumo ar plazmos mėginių

		TROPONIN I-CHECK-1	
Mėginiai titruojami taikant DXI 800 arba MINIVIDAS metodus		Nuoroda be hemoglobino	Su 30 g/l trigliceridų
Nr.	Titeris ng/ml (VEDALAB ribinė vertė)		
1 (Neigiamas)	0.003 (>1)	-	-
2 (Silpnas teigiamas)	1.7 (>1)	+	+
3 (Stiprus teigiamas)	7.56 (>1)	+	+

Lentelė 4

Rezultatai rodo, kad hemoglobinas, biliubinas ir trigliceridas netrukdo testui su koncentracijomis iki 5 g/l, 0,3 g/l ir 30g/l.

b) Antikoagulantai

Ištirti kapilairinio kraujo ir plazmos mėginiai su skirtingais antikoagulantais parodė, kad citratui, EDTA ir heparinui nėra matricos poveikio.

5) Kablo efektas

Troponino I komplekso ir išgrynintoje formoje iki 5 µg/ml kablo efektas nepastebėta.

6) Pakartotinumus viduje

Atliktas tyrimas, naudojant keturis (4) serumo mėginius (1 neigiamas ir 3 teigiami su skirtingu koncentracijos lygiu: 1.4, 1.6 ir 6.6 ng/ml) (kiekvienas po 10 pakartojimų), titruojant MiniVIDAS (BIOMERIEUX) ir DXI 800 (BECKMAN-COULTER) metodus. Visi mėginiai buvo 100% teisingai apibūdinti TROPONIN I-CHECK-1 testu.

7) Atkuriamumas daugeliu dalių

Tarp eigos tikslumo buvo nustatyta naudojant tuos pačius Troponino I mėginius trijose skirtingose reakcijos įtaisų partijose. Vėlgi, neigiamos ir teigiamos vertės buvo 100% nustatytos.

9. Apribojimai

- Kaip ir bet kokie diagnostinei procedūrai, gydytojas turi patvirtinti duomenis, gautus naudojant šį bandymą kitais klinikiniais metodais.
- TROPONIN I-CHECK-1 yra sukurtas taip, kad parodytų teigiamą rezultatą cTnI esant 1.0 ng/ml arba didesniai koncentracijai. Nustatyta, kad laikas, reikalingas kraujo cTnI lygiui pasiekti viršutinę normos ribą, yra 4-6 valandos nuo pradžios, o tam tikrais atvejais jis išlieka aukštas 6-10 dienų. Todėl neigiamas rezultatas per pirmąsias simptomų atsiradimo valandas nebūtinai nurodo ūminį miokardo infarktą. Jei įtariama, pakartokite bandymą atitinkamais intervalais.
- TROPONIN I-CHECK-1 pateikia tik kokybinius rezultatus.
- Naudojant kraujo mėginius, naudokite tik šviežius kapilairinio kraujo mėginius (<4 valandų).
- Aukšto RF (reumatoidinio faktoriaus) arba CRP (C reaktyvaus baltymo) koncentracijų atveju (aukštas kiekis rodo ūmines infekcijas), bandymas išimtiniais atvejais gali būti teigiamas.
- Jei vėluojama perskaityti rezultatus, t. y. praėjus daugiau

- nei 20-25 minutėms, testas taip pat gali rodyti teigiamus rezultatus.
- Testas skirtas pašalinti galimą žmogaus antikūnų sąveiką su pelių IgG (HAMA). Tačiau aukštas HAMA lygis gali parodyti klaidingus teigiamus rezultatus.

10. Literatūra

- Perry S.V. The regulation of contractile activity in muscle. Biochem Soc Trans 1979; 7: 593-617.
- Bucher E.A., Maisonnier P.C., Konieczny S.F., Emerson C.P. Jr. Expression of the Troponin complex genes: transcriptional coactivation during myoblast differentiation and independent control in heart and skeletal muscles. Mol Cell Biol 1988; 8 : 4134-42.
- Bodor G.S., Porter S., Landt Y., Ladenson J.H. Development of monoclonal antibodies for an assay of cardiac Troponin-I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. Clin Chem 1992; 38: 2203-14.
- Cummins B., Auckland M.L., Cummins P. Cardiac-specific Troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. Am Heart J 1987; 113 : 1333-44.
- Bodor G., Porter S., Ladenson J. Human cardiac Troponin I measurement in suspected myocardial infarction with a double monoclonal antibody sandwich ELISA. Clin. Chem. 1990, 36 (6) : 1103.
- Apple F.S., Wu A. Myocardial infarction redefined : role of cardiac troponin testing. Clinical Chemistry. Vol. 47 no.3. 2001.
- Bates K.J., Hall E.M. et al. Circulating Immunoreactive Cardiac Troponin Forms Determined by Gel Filtration Chromatography after Acute Myocardial Infarction. Clinical Chemistry. Vol. 56 no.6. 952-958.201

	Žr. naudojimo instrukcijas
	In-vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Temperatūros ribos
	Nenaudoti pakartotinai
	Gamintojas



Gamintojas VEDALAB - Prancūzija