

English

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac Troponin I/CK-MB/Myoglobin

For the Quantitative Determination of
Troponin I, CK-MB, Myoglobin in
Lithium Heparin Human Whole Blood and Plasma

Explanation of Symbols

	CE Mark of Conformity
	Manufacturer
	Catalog Number
	Expiry date/Use by
	Lot number
	<i>In Vitro Diagnostic</i> medical device
	Consult instructions for use
	Store between 2 °C and 8 °C
	European Authorized Representative
	Contains sufficient for <n> tests
	Do not reuse
	Serial Number
	Insert disc label side up



Nexus Dx, Inc.,
6759 Mesa Ridge Road
San Diego, California 92121 USA
Telephone: 1 (858) 410 4600
Fax: 1 (858) 410 4700



TheraGenesis GmbH
Bahnhofstrasse 5
55276 Oppenheim, Germany
Tel: +49 (0) 151 506 403 14



022-00065 REV B

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac

Troponin I/CK-MB/Myoglobin

For *In Vitro* Diagnostic Use

INTENDED USE

The IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac is a rapid point-of-care (POC) immunoassay for the *in vitro* quantitative determination of Cardiac Troponin I (cTnI), CK-MB and Myoglobin, in lithium heparin whole blood and plasma. This Test is intended for use in conjunction with the Nexus IB10 Analyzer and provides quantitative results in 20 minutes.

The IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac is designed for professional use only and may be used in hospital central laboratories and in alternate care settings such as emergency departments, critical care units, and other sites where near patient testing is practiced.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Acute coronary syndrome (ACS), including Coronary Heart Disease (CHD) and Angina Pectoris (AP), is the leading cause of morbidity and mortality among both men and women, affecting more than 16.0 million people in the United States. The presentation of ACS is varied, with acute myocardial infarction (AMI) being the most dramatic presentation. Symptoms of ACS may develop suddenly. In 2008, there were over 800,000 new AMIs in the US.¹ On an international basis, the World Health Organization (WHO) reports over 7.2 million deaths a year from CHD. Globally it is estimated that 17.3 million deaths were due to Cardiovascular Disease in 2008.² This includes death due to both CHD and stroke.

For over 30 years, the WHO has recommended that the diagnosis of AMI be guided by positive findings on at least two of the following three criteria: (1) patient history/physical examination; (2) electrocardiogram; (3) changes in blood levels of cardiac protein markers.³ While the original cardiac marker was defined as total enzymatic creatine kinase, today's markers, as measured by immunoassay, include Myoglobin (Myo), Creatine Kinase isoform MB (CK-MB) and the cardiac striated muscle protein, Troponin I (cTnI). Patient history and physical examination are critical, but often provide insufficient information to differentiate AMI from other cardiac abnormalities. In the absence of well defined electrocardiographic ST-segment elevations, measurements of cardiac protein markers are essential for the accurate diagnosis of ACS.⁴

Several studies have suggested that a panel of all three cardiac markers enhances the reliability of earlier identification and risk stratification of patients presenting with chest pain compared to a single marker alone.^{5,6} This is due to differences in the temporal pattern of release into the bloodstream of various cardiac biomarkers following myocyte injury or cell death.

MYOGLOBIN

Myoglobin (Myo) is an oxygen-binding heme protein with a molecular weight of 17,800 daltons, typically found in cardiac and skeletal tissues. The protein is localized in the cytosol of the cell and constitutes about 2% of the total muscle protein. Because of its relatively low molecular weight and high concentration, it is among the first proteins released into the systemic blood upon cardiac myocyte cellular necrosis (cell death).⁷ Myoglobin is found in the blood at an elevated concentration approximately 2-3 hours following cardiac myocyte injury or necrosis with levels peaking after 9-12 hours.⁸

CK-MB

In the cytoplasm, creatine kinase (CK) catalyzes the reversible phosphorylation of creatine with ATP. Systolic creatine kinase exists as a dimeric molecule formed from two types of single polypeptide subunits. These two subunits combine to form three different isoenzymes of creatine kinase: CK-MM, CK-BB and CK-MB. CK-MM is predominantly expressed in skeletal muscle tissue, while CK-MB isoenzyme is most abundant in cardiac muscle tissue. CK-MB is released into the blood stream upon damage or death of cardiac tissue.^{9,10} Its elevation is noted within 4 to 8 hours following cardiac injury, reaching maximum concentrations 12-24 hours after onset of symptoms. Like Myoglobin, CK-MB is not completely cardiac specific and is found in low concentrations in striated skeletal muscle and other tissue.

cTnI

Cardiac Troponin I (cTnI) is part of the troponin complex which, together with tropomyosin, forms the main component that regulates the Ca²⁺ sensitive ATP-ase activity of actomyosin in striated muscle (skeletal and cardiac). The troponin complex consists of three subunits, troponin T (TnT), troponin I (TnI), and troponin C (TnC). Each subunit has a distinct function with TnC as the site of Ca²⁺ binding, TnT the tropomyosin binding, and TnI as the inhibitory subunit.¹¹ Different isoforms of TnI exist in the skeletal and cardiac muscles (sTnI and cTnI, respectively) with distinct immunologic epitopes that allow the production of extremely specific cardiac TnI antibodies.¹²

cTnI determinations aid in the diagnosis of myocardial infarction (MI) and patients with non-ST-segment elevation (NSTEMI) acute coronary syndrome. Elevated cTnI levels in the NSTEMI ACS subpopulation correlate with the relative risk of mortality, MI or increased probability of ischemic events requiring urgent revascularization procedures.

Following myocyte necrosis, cTnI is released into the circulation with levels exceeding the upper reference limit of normal within 4-6 hours. Peak levels are reached after 12-24 hours.¹³ This release profile into the peripheral blood is similar to CK-MB. However, CK-MB levels return to normal values in about 72 hours, while levels of cTnI may remain elevated for 5-7 days.

TnI in Acute Coronary Syndrome

Since the introduction of the first commercial assays for Troponin I in 1996, numerous clinical studies have confirmed that cTnI is the biomarker of choice in identifying cardiac myocyte ischemia and necrosis.¹⁴ Even low levels of cTnI just above the 99th percentile of levels obtained from a normal reference population indicate increased risk. To assure that the test results are interpreted with as much accuracy as possible, consensus groups now unanimously recommend that chest pain patients with low level troponin values on presentation to medical personnel, especially in the absence of confirmatory ECG evidence, be tested 2 additional times during the subsequent 12-24 hour period to determine whether cTnI is indeed rising during the first 24 hours.^{4,15-17}

PRINCIPLE

The Nexus Dx immunochemistry system combines chemistry with microfluidics and centrifugal flow to rapidly prepare a cell free plasma from whole blood that can then be moved through a channel to rehydrate, solubilize and mix with freeze dried immunoconjugates. Using a combination of active flow and capillary action, the test sample is quantitatively measured in 20 minutes with an optical signal level proportional to the analyte(s) concentration.

After addition of the patient sample, the entire test is performed within the Nexus IB10 Analyzer which provides control of the temperature of the disc, as well as the analysis process sequence, centrifugal flow, mixing, incubation time, final signal measurement, quantitation and reporting of results.

The Test disc includes a positive internal control to ensure that the test has operated properly. Each lot is calibrated to ensure that lot-to-lot variability is minimized. Lot specific calibration along with additional information such as the lot expiration date is contained on a QR code label affixed to each disc. It is recommended that external controls be tested at appropriate time intervals to confirm that the system and test lot are performing within acceptable limits.

REAGENTS

The IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac contains all required reagents to evaluate the levels of cTnI, CK-MB and Myoglobin.

For the cTnI Test, reagents include: dye conjugated monoclonal anti-cTnI antibody, biotin conjugated polyclonal anti-cTnI antibodies and streptavidin immobilized at the detection area on the disc.

For the CK-MB Test, reagents include: dye conjugated monoclonal anti-CK-MB antibody, biotin conjugated goat polyclonal anti-CK-MM antibodies and streptavidin immobilized at the detection area on the disc.

For the Myoglobin Test, reagents include: dye conjugated monoclonal anti-myoglobin antibody, biotin conjugated polyclonal rabbit anti-myoglobin antibodies and streptavidin immobilized at the detection area on the disc.

MATERIALS PROVIDED

Each box contains the following:

- 10 IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac discs, each individually sealed in a foil pouch with a desiccant.
- 1 Instructions for Use (IFU).

MATERIALS/EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Nexus IB10 Analyzer - Model #BCA-IB10.
2. Commercially available Troponin I/CK-MB/Myoglobin controls for external Quality Control (QC). **Contact the Distributor in your area** for recommended external QC materials or related technical assistance.
3. Calibrated reusable fixed or variable volume pipette gun with high precision and accuracy capable of delivering 500 µL of whole blood or plasma.
4. Disposable pipette tips capable of accepting and delivering 500 µL of whole blood or plasma.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

- For *in vitro* diagnostic use only.
- Carefully follow the Instructions for Use.
- Prior to testing controls or patient samples, ensure that the Analyzer software is updated to the latest version. Refer to the Nexus IB10 manual for specific instructions.

- Wear disposable gloves while handling samples.
- Handle samples with care. Samples and used Test discs should be treated as potentially infectious and should be discarded as biohazardous material according to local regulations.
- Thoroughly wash hands following handling.
- The result obtained from the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac does not provide a definitive diagnosis and should be interpreted by a physician in conjunction with other appropriate test results according to current medical Guidelines and patient clinical findings.
- Keep the Test in the sealed pouch until ready for use.
- Do not use the Test if the pouch is damaged or the seal is broken.
- Do not use the Test after the expiration date printed on the pouch.
- Prior to use, place the unopened pouch at room temperature (19 to 25 °C/66 to 77 °F) for at least 15 minutes.
- Always pay attention to cleanliness when handling the Test. Avoid any contamination from fingerprints or foreign substances. Do not contaminate the sample channel inlet.
- Do not drop or damage the Test disc.
- The Test disc should be inserted, with the label side up, into the Nexus IB10 Analyzer tray immediately after injecting the sample into the disc.
- Do not turn the disc upside down.
- This is a quantitative test; therefore no visual interpretation of the results should be made.

STORAGE AND STABILITY

- Store the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac between 2 and 8 °C (35 to 46 °F) until the expiration date printed on the pouch is reached.
- The IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac in its sealed pouch is stable at 18 to 30 °C/64 to 86 °F for 30 days, provided the expiration date printed on the pouch is not exceeded.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

- The IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac is to be run using lithium heparin whole blood or plasma samples.
- As cardiac proteins are relatively unstable, it is recommended that samples be tested as soon as possible.
- Whole blood must be tested within 48 hours of collection.
- Whole blood and plasma samples can be transported and stored up to 48 hours at ambient temperature.
- Plasma samples should be kept frozen at -20 °C (- 4 °F) or lower if longer storage is required.
- Allow samples to equilibrate to room temperature (19 to 25 °C/66 to 77 °F) prior to testing.
- For serial testing of the same patient during the 0–12 hour triage period, the same sample type (whole blood or plasma) should be used.

PROCEDURE

Nexus IB10 Analyzer



Consult the Nexus IB10 Analyzer User Manual

For Analyzer installation, start up and complete instructions for use refer to the **Nexus IB10 Analyzer User Manual**. Operator must consult the User Manual prior to use to become familiar with the proper operation and quality control procedures.

PERFORMING SYSTEM CHECK AND DISC CALIBRATION

Each time the Nexus IB10 Analyzer is turned on, a Self Check is automatically performed. The QR code on each Test disc contains information for disc calibration which the Analyzer automatically reads when running a test.

RUNNING QC WITH EXTERNAL CONTROLS

The manufacturer recommends the use of commercially available Troponin I/CK-MB/Myoglobin controls (please refer to section **Materials/Equipment Required But Not Provided**). Ensure that the Troponin I/CK-MB/Myoglobin Controls are handled and prepared according to the corresponding Instructions for Use (IFU).

1. Remove an unopened Test pouch from refrigeration and place it at room temperature (19 to 25 °C/66 to 77 °F) for at least 15 minutes prior to testing.
2. Open the pouch and remove the Test disc.

3. Place the Test disc on a level surface.
 4. On the Nexus IB10 Analyzer press **New Analysis**.
 5. The Analyzer will perform a general system check.
 6. Enter the external control ID manually (up to 14 characters can be used for the ID) or enter the external control ID by using the barcode scanner.
 7. Mix the external quality control vial by gently inverting the vial several times before sampling.
 8. **Testing External Control Sample on the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.**
 - Using a precision pipette (fixed or adjusted to 500 µL) slowly draw the well mixed external quality control sample into the pipette tip.
 - Positioning the tapered pipette tip at a 45° angle, pierce the **X** on the red dot to expose the sample channel inlet.
 - Slowly express the external control sample into the inlet applying minimum, but continuous force, on the pipette plunger.
 - Express sample to the first stop on the pipette, at a rate that allows the fluid to fill the channel completely and eliminates any back pressure that could result in sample splatter or the introduction of air bubbles.
 - Press **OK** on the Nexus IB10 Analyzer display.
 - When the tray opens, insert the filled Test disc into the tray and press **Run**.
 - In 20 minutes, the Nexus IB10 Analyzer will display the results on the screen.
 - Results will print automatically (if selected during Set Up) or press **Print**.
 - When the test is complete, analyze and compare the result with the Expected Value reported in the external control IFU for the external control level as measured using the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.
 - Remove the Test disc and discard in appropriate receptacle.
 - If the external control result is outside the expected range, refer to the Quality Control section below.
- Note: If the test run is cancelled before a Test result is displayed, the Test disc cannot be reused and should be disposed of appropriately.*

TESTING PATIENT SAMPLES ON THE NEXUS IB10 ANALYZER

1. Remove an unopened Test pouch from refrigeration and place it at room temperature (19 to 25 °C/66 to 77 °F) for at least 15 minutes.
2. Open the pouch and remove the Test disc.
3. Place the Test disc on a level surface.
4. On the Nexus IB10 Analyzer press **New Analysis**.
5. The Analyzer will perform a general system check.
6. Enter the Patient ID manually (up to 14 characters can be used for the ID) or enter the Patient ID by using the barcode scanner.
7. Mix the whole blood patient sample tube by gently inverting the tube several times before testing.
8. **Testing Patient Samples on the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.**
 - Using a precision pipette (fixed or adjusted to 500 µL) slowly draw the well mixed patient sample into the pipette tip.
 - Positioning the tapered pipette tip at a 45° angle, pierce the **X** on the red dot to expose the sample channel inlet.
 - Slowly express the patient sample into the inlet applying minimum, but continuous force, on the pipette plunger.
 - Express sample to the first stop on the pipette, at a rate that allows the fluid to fill the channel completely and eliminates any back pressure that could result in sample splatter or the introduction of air bubbles.
 - Press **OK** on the Nexus IB10 Analyzer display.
 - When the tray opens, insert the filled Test disc into the tray and press **Run**.
 - In 20 minutes, the Nexus IB10 Analyzer will display the results on the screen.
 - Results will print automatically (if selected during Set Up) or press **Print**.
 - Remove the Test disc and discard in appropriate receptacle.

Note: If the test run is cancelled before a test result is displayed, the Test disc cannot be reused and should be disposed of appropriately.

Quality Control

EXTERNAL CONTROLS

Good laboratory practice includes the use of external controls to ensure proper test performance. It is recommended that prior to using a new lot of IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac the performance of the lot should be confirmed by testing with external controls (see section **Materials/Equipment Required But Not Provided**) to ensure the test will deliver the correct result. The frequency of quality control testing should be determined according to individual laboratory standard quality control procedures. Upon confirmation of the expected results, the Test discs are

ready for use with patient samples. Controls should also be used any time the validity of test results is questionable. If external controls do not perform as expected, do not use the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac and contact the Distributor in your area for Technical Assistance.

INTERNAL CONTROL

Each IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac has a built in positive procedural control. The Nexus IB10 Analyzer automatically determines the presence of this control thereby confirming that the test run has delivered a valid result. If the control does not form or if the Analyzer does not recognize it, the test result is considered "invalid" and the test must be repeated.

LIMITATIONS

The results of the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac should be used in conjunction with other available laboratory and clinical information. Universally accepted Good Clinical Practice Guidelines recommend collecting serial samples during the early triage period from 0 to > 12 hours.^{4,15-17}

Other substances and/or factors not listed, e.g. technical or procedural errors, may interfere with the test and cause inaccurate results.

Nexus Dx, Inc. offers products for their intended use. Refer to the specific product literature for the intended use statements for each product. Product claims are subject to change. Nexus Dx, Inc.'s expressed and implied warranties (inclusive of implied warranties of merchantability and fitness) are conditional upon adherence to, or observance of Nexus Dx, Inc. published directions with regard to the use of Nexus Dx, Inc. products. Under no circumstances will Nexus Dx, Inc. be liable for any indirect or consequential damages.

For Technical Assistance please contact your local Distributor.

Performance Characteristics

MEASURING RANGE

The IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac has been demonstrated to provide measurable results at Troponin I/CK-MB/Myoglobin levels of:

0.05 ng/mL - 30 ng/mL - cTnI
2.0 ng/mL - 60 ng/mL - CK-MB
30.0 ng/mL - 500 ng/mL - Myoglobin

ANALYTICAL SENSITIVITY

The LoD (Limit of Detection) for each analyte was determined according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Guideline EP17-A.¹⁸ The proportion of false positives (α) and false negatives (β) are less than 5%.

The LoD of the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac for each analyte is:

0.05 ng/mL - cTnI
2.0 ng/mL - CK-MB
30.0 ng/mL - Myoglobin

LoQ (Limit of Quantitation) is the lowest concentration that can be reproducibly measured with a total coefficient of variation of at most 15%.

For the 3 analytes LoQ was determined to be:

0.10 ng/mL - cTnI
3.0 ng/mL - CK-MB
50.0 ng/mL - Myoglobin

CROSS-REACTIVITY AND INTERFERING SUBSTANCES

Drugs

The following drugs were tested for potential interference in the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (Table 1). The list of drugs encompasses common prescription and over-the-counter medications, as well as those often prescribed in a cardiac patient population. The drugs were tested at concentrations recommended in the CLSI Approved Guideline EP7-A2 'Interference Testing in Clinical Chemistry,'¹⁹ or at least three times the highest concentration reported following a therapeutic dose. No significant interference with the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac measurement was observed for the drugs listed in the table below.

Table 1.

Drug	Drug	Drug
Acetaminophen	Captopril	Nifedipine
Acetylsalicylic acid (aspirin)	Digoxin	Phenytoin
Ampicillin	Dopamine	Theophylline
Ascorbic acid (vitamin C)	Erythromycin	Verapamil
Atenolol	Furosemide	
Caffeine	Methyl-DOPA	

PROTEINS, PEPTIDES AND ENDOGENOUS SUBSTANCES

The following proteins, peptides and endogenous substances were tested for potential cross-reactivity and interference in the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac at the maximum concentration of the substance indicated (Table 2). No substance demonstrated significant cross-reactivity or interference using the method provided in CLSI EP7-A2.

Table 2.

Substance	Maximum Concentration	
Proteins and Peptides		
Cardiac Troponin T	1000 ng/mL	
Cardiac Troponin C	1000 ng/mL	
Skeletal Troponin I	250 ng/mL	
CKMM	781 ng/mL	
CKBB	5000 ng/mL	
Endogenous substances		
Albumin	2.5 g/dL	
Hemoglobin	0.1 g/dL	
Rheumatoid Factor (RF)	203 IU/mL	
Creatinine	2 mg/dL	
Bilirubin	2.5 mg/dL	
Triglycerides	0.5 g/dL	
Urea	18 mg/dL	
Cholesterol	280 mg/dL	
Substance	Analyte	Maximum Concentration
Biotin	Myoglobin	400 ng/mL
	CK-MB	200 ng/mL

HOOK EFFECT

No high dose Hook Effect was observed for concentrations up to 500 ng/mL for cTnI, 200 ng/mL for CK-MB and 4000 ng/mL for Myoglobin.

PRECISION

The precision of the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac was determined using samples where cTnI, CK-MB and Myoglobin were added to normal human plasma at multiple concentrations (Table 3). The within-day and total precision were performed in two runs per day, in replicates of 4 per run at each concentration level over a 15 day period for a total number of repetitions of 120 at each concentration level. The within-run, total variances and coefficients of variation (CVs) were computed according to CLSI Guideline EP5-A2.²⁰

Table 3A.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Assay Precision for cTnI

Sample	Mean (ng/mL)	Within-Run Precision		Total Precision	
		Std. dev. (ng/mL)	CV%	Std. dev. (ng/mL)	CV%
1	0.46	0.06	12.6%	0.06	12.6%
2	0.95	0.11	12.0%	0.12	13.0%
3	4.43	0.41	9.4%	0.45	10.1%

Table 3B.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Assay Precision for CK-MB

Sample	Mean (ng/mL)	Within-Run Precision		Total Precision	
		Std. dev. (ng/mL)	CV%	Std. dev. (ng/mL)	CV%
1	7.13	0.64	9.0	0.73	10.3
2	13.33	1.49	11.2	1.53	11.5

Table 3C.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Assay Precision for Myoglobin

Sample	Mean (ng/mL)	Within-Run Precision		Total Precision	
		Std. dev. (ng/mL)	CV%	Std. dev.(ng/mL)	CV%
1	106.1	11.4	10.8	12.8	12.1
2	202.7	25.6	12.7	25.6	12.7

WHOLE BLOOD Vs. PLASMA COMPARISON

A comparison study was performed using lithium heparin whole blood and plasma samples. When performing a Passing-Bablok regression analysis comparing the whole blood (WB) concentrations versus the corresponding plasma concentrations from the same subject samples, the following relationship was determined:

$$\text{WB} = 1.00 \text{ Plasma (95\% C.I. = [0.93-1.07])} + 0.01 \text{ ng/mL - cTnI}$$

$$\text{WB} = 1.17 \text{ Plasma (95\% C.I. = [1.09-1.29])} - 0.19 \text{ ng/mL - CK-MB}$$

$$\text{WB} = 0.92 \text{ Plasma (95\% C.I. = [0.83-1.04])} + 0.00 \text{ ng/mL - Myoglobin}$$

Expected Values

UPPER REFERENCE LIMIT

From a population of 224 individuals, the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac was used to determine the concentration upper reference limits of cTnI, CK-MB and Myoglobin. This population included apparently healthy individuals. The upper reference limits for each analyte is:

0.10 ng/mL (99th reference percentile) - cTnI

8.58 ng/mL (95th reference percentile) - CK-MB

99.84 ng/mL (95th reference percentile) - Myoglobin

Each laboratory should establish a reference range that represents the patient population that is to be evaluated at their facility.

METHOD COMPARISON

An equivalence study was performed between the IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac using the Nexus IB10 Analyzer and the Ortho VITROS® Troponin I ES, Myoglobin and CK-MB Tests.

cTnI

A total of 253 samples were tested within a concentration range of cTnI of 0.05 ng/mL to 30 ng/mL. The Passing-Bablok regression was:

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (TnI)} = 0.80 \text{ (VITROS TnI ES)} + 0.00 \text{ ng/mL}$$

Correlation coefficient, $r = 0.92$

CK-MB

A total of 161 samples were tested within measuring range of CK-MB. The Passing-Bablok regression was:

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (CK-MB)} = 1.29 \text{ (VITROS CK-MB)} - 0.54 \text{ ng/mL}$$

Correlation coefficient, $r = 0.88$

MYOGLOBIN

A total of 117 samples were tested within measuring range of Myoglobin. The Passing-Bablok regression was:

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (Myo)} = 1.00 \text{ (VITROS MYOG)} - 5.1 \text{ ng/mL}$$

Correlation coefficient, $r = 0.90$

REFERENCES

1. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, on behalf of the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2012;125:e2-e220.
2. Cardiovascular Diseases, World Health Organization factsheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>
3. World Health Organization. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature. Nomenclature and criteria of diagnosis of ischemic heart disease. *Circulation* 1979;59:607-9.
4. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2525-38; *Circulation* 2007;116:2634-53; *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2173-95.
5. Newby LK, Storrow AB, Gibler B, et al. Bedside multimarker testing for risk stratification in chest pain patients – the chest pain evaluation by creatine kinase-MB, myoglobin and troponin I (CHECKMATE) study. *Circulation* 2001;103:1832-7.
6. Apple FS, Voss E, Lund L, et al. Cardiac troponin, CK-MB and myoglobin for the early detection of acute myocardial infarction and monitoring of reperfusion following thrombolytic therapy. *Clin Chim Acta* 1995;237:59-66.
7. Ohman EM, Casy C, Bengston JR, et al. Early detection of acute myocardial infarction: Additional diagnostic information from serum concentrations of myoglobin in patients without ST elevations. *Br Heart J* 1990;63:335-8.
8. Tucker JF, Collins RA, Anderson AJ, et al. Value of serial myoglobin levels in the early diagnosis of patients admitted for acute myocardial infarction. *Ann Emerg Med* 1994;24:704-8.
9. Cairns JA, Missirrli E, Walker WH. Usefulness of serial determinations of myoglobin and creatine kinase in serum compared for assessment of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1983;29:469-73.
10. Lott JA, Abbott LB. Creatine kinase isoenzymes. *Clin Lab Med* 1986;6:547-76.
11. Mehegan JP, Tobacman LS. Cooperative interaction between troponin molecules bound to the cardiac thin filament. *J Biol Chem* 1991;266:966-72.
12. Bodor GS, Porter S, Landt Y, Ladenson JH. Development of monoclonal antibody for an assay of cardiac troponin I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clin Chem* 1992;38:2203-14.
13. Adams JE, Bodor GS, Davila-Roman VG, et al. Cardiac troponin I: a marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993;88:101-6.
14. Heidenreich PA, Alloggiamento T, Melsop K, et al. The prognostic value of troponin in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome: a meta analysis. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:478-85.
15. Morrow DA, Rifai N, Tanasjevic MJ, et al. Clinical efficacy of three assays for cardiac troponin I for risk stratification in acute coronary syndromes - a TIMI 11b substudy. *Clin Chem* 2000;46:453-60.
16. Reichlin T, Irfan A, Twerenbold R, et al. Utility of absolute and relative changes in cardiac troponin concentrations in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation* 2011;124:136-45.
17. Jaffe AS, Apple FS, Morrow A, et al. Being rational about (im)precision: a statement from the biochemistry subcommittee of the Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology Foundation/ American Heart Association/World Heart Federation Task Force for the Definition of Myocardial Infarction. *Clin Chem* 2010;56:941-3.
18. Tholen DW, Linnet K, Kondratovich M, et al. NCCLS. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved

Guideline, NCCLS document EP17-A, Volume 24 Number 35, 2004.

19. McEnroe, RJ, Burnitt, MF, Powers, DM, et al. CLSI Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2, Volume 25 Number 27, 2005.
20. Tholen DW Kallner A, Kennedy JW, et al. NCCLS. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline-Second Edition. NCCLS document EP5-A2, Volume 25 Number 27, 2004.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac

Troponin I/CK-MB/Myoglobin

Für die quantitative Bestimmung von
Troponin I, CK-MB, Myoglobin in
Lithiumheparin von humanem Vollblut und Plasma

Erklärung der Symbole

	CE-Konformitätskennzeichnung
	Hersteller
	Katalognummer
	Ablaufdatum/Verwenden bis
	Chargennummer
	Medizinprodukt zur <i>In-vitro</i> -Diagnostik
	Gebrauchsanweisung lesen
	Bei 2 °C bis 8 °C lagern
	Autorisierte Vertreter in Europa
	Enthält ausreichend Material für <n>Tests
	Nicht wiederverwenden
	Seriennummer
	Mit Beschriftung nach oben einlegen

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac

Troponin I/CK-MB/Myoglobin

Zum Gebrauch als *In Vitro*-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK

Der IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac ist ein schneller patientennaher (POC) Immunoassay für die quantitative *In-vitro*-Bestimmung von kardialem Troponin I (cTnI), CK-MB und Myoglobin in Lithiumheparin von Vollblut und Plasma. Dieser Troponin I Test ist für den Gebrauch zusammen mit dem Nexus IB10 Analysegerät vorgesehen und liefert innerhalb von 20 Minuten quantitative Ergebnisse.

Der IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac ist ausschließlich für den professionellen Gebrauch vorgesehen und kann im Zentrallabor von Krankenhäusern und alternativen Einrichtungen, wie Notdienst, Intensivstationen und anderen Einrichtungen verwendet werden, bei denen ein patientennahe Tests durchgeführt werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG DES TESTS

Das akute Koronarsyndrom (AKS) einschließlich koronarer Herzerkrankung (HKE) und Angina Pectoris (AP) ist die Hauptursache für Morbidität und Mortalität bei Männern und Frauen, die in den USA mehr als 16,0 Mio. Menschen betrifft. Das Erscheinungsbild von AKS ist unterschiedlich, wobei der akute Myokardinfarkt (AMI) das dramatischste Erscheinungsbild ist. Symptome von AKS können sich plötzlich entwickeln. In 2008 traten in den USA mehr als 800.000 neue AMIs auf.¹ Auf internationaler Ebene meldet die Weltgesundheitsorganisation (WHO) über 7,2 Mio. Todesfälle pro Jahr durch HKE. Es wird geschätzt, dass in 2008 weltweit 17,3 Mio. Menschen aufgrund von Herz-Kreislauf-Erkrankungen starben.² Dies schließt Tote durch HKE und Schlaganfälle ein.

Seit über 30 Jahren empfiehlt die WHO, dass die Diagnose von AMI durch positive Befunde von mindestens zwei der folgenden drei Kriterien begleitet wird: (1) Patientenanamnese/physische Untersuchung; (2) Elektrokardiogramm; (3) Änderungen der Blutwerte des Herzproteinmarkers.³ Während der ursprüngliche Herzmarker als gesamtenzymatische Kreatinkinase definiert war, werden heutige Marker, wie sie vom Immunoassay gemessen werden, Myoglobin (Myo), Kreatinkinase-Isoform MB (CK-MB) und quergestreifter Herzmuskelprotein, Troponin I (cTnI) umfassen. Die Patientenanamnese und physische Untersuchung sind kritisch, liefern aber häufig keine ausreichenden Informationen, um AMI von anderen Herzanomalien zu unterscheiden. Sind keine gut definierten elektrokardiographischen ST-Segment-Erhöhungen vorhanden, sind Messungen der Herzproteinmarker unerlässlich für die genaue Diagnose von AKS.⁴

Mehrere Studien deuten darauf hin, dass ein Panel für alle drei Herzmarker die Zuverlässigkeit früherer Identifikationen und Risikostratifikation der Patienten-mit Brustschmerzen im Vergleich zu einem einzigen Marker verstärken.^{5,6} Dies liegt an der unterschiedlichen zeitlichen Musterfreigabe der verschiedenen Herzbiomarker nach einer Myozytverletzung oder Zelltod in den Blutkreislauf.

MYOGLOBIN

Myoglobin (Myo) ist ein sauerstoffbindendes Hämprotein mit einem Molekulargewicht von 17.800 Dalton, das typischerweise in Herz- und Skelettmuskelgewebe vorliegt. Das Protein befindet sich im Zytosol der Zelle und macht etwa 2 % des gesamten Muskelproteins aus. Aufgrund seines relativ niedrigen Molekulargewichts und hohen Konzentration ist es eines der ersten Proteine, die nach einer Herzmyocyt-Zellnekrose (Zelltod) in das systemische Blut freigegeben werden.⁷ Myoglobin findet sich nach einer Herzmyocytverletzung oder -nekrose etwa 2-3 Stunden in einer erhöhten Konzentration, die nach 9-12 Stunden ihren Höhepunkt erreicht.⁸

CK-MB

Im Zellplasma katalysiert Kreatinkinase (KK) die reversible Phosphorylierung von Kreatin mit ATP. Systolische Kreatinkinase besteht als dimerisches Molekül, das aus zwei Arten von einzelnen Polypeptid-Untereinheiten gebildet wird. Diese beiden Untereinheiten gruppieren sich, um drei verschiedene Isoenzyme der Kreatinkinase zu bilden. Das CK-MM-Isoenzym wird vorwiegend in Skelettmuskelgewebe exprimiert, während das CK-MB-Isoenzym am häufigsten in Herzmuskelgewebe vorliegt. CK-MB wird nach der Beschädigung oder dem Tod von Herzgewebe in den Blutstrom freigegeben.^{9,10} Dieser Anstieg wird 4 bis 8 Stunden nach einer Herzverletzung festgestellt und erreicht seine höchste Konzentration 12-24 Stunden nach dem Beginn der Symptome. Wie Myoglobin ist CK-MB bei nicht vollkommen herzspezifisch und wird in niedrigen Konzentrationen auch in quergestreiftem Skelettmuskel- und anderem Gewebe gefunden.

cTnI

Herz-Troponin I (cTnI) gehört zum Troponinkomplex, der gemeinsam mit Tropomyosin die Hauptkomponente bildet, welche die Aktivität der Ca^{2+} -sensitiven ATPase von Actomyosin in quergestreifter Muskulatur (Skelett und Herz) reguliert. Der Troponinkomplex besteht aus drei Untereinheiten, dem Troponin T (TnT), Troponin I (TnI) und Troponin C (TnC). Jede Untereinheit hat eine eindeutige Funktion mit TnC als Ort der Ca^{2+} -Bindung, TnT mit

der Tropomyosin-Bindung und cTnI als hemmende Untereinheit.¹¹ Es gibt unterschiedliche Isoformen von cTnI in den Skelett- und Herzmuskeln (sTnI und cTnI) mit eindeutigen immunologischen Epitopen, die die Produktion von extrem spezifischen Herz-cTnI-Antikörpern ermöglichen.¹²

cTnI-Bestimmungen helfen bei der Diagnose von Myokardinfarkten (MI) und von Patienten mit nicht-ST-Segmenterhöhung (NSTEMI) von akutem Koronarsyndrom. Erhöhte cTnI-Werte bei der NSTEMI AKS-Population stehen in Verbindung mit dem relativen Risiko für Mortalität, MI oder erhöhte Wahrscheinlichkeit von ischämischen Ereignissen, die dringende Revaskularisierungsverfahren erfordern.

Nach einer Myozytnekrose wird cTnI mit Pegeln in den Blutkreislauf abgegeben, die den oberen Referenzwert des Normalen innerhalb von 4-6 Stunden übersteigen. Spitzenwerte werden nach 12-24 Stunden erreicht.¹³ Dieses Freigabeprofil in das periphere Blut ähnelt dem von CK-MB. CK-MB-Werte fallen jedoch innerhalb von 72 Stunden auf Normalwerte zurück, während die cTnI-Werte 5-7 Tage erhöht bleiben können.

cTnI beim akuten Koronarsyndrom

Seit der Einführung der ersten käuflichen Assays auf Troponin I in 1996 haben zahlreiche klinische Studien gezeigt, dass cTnI der beste Biomarker zur Identifizierung von Herzmyozytischämie und Nekrose sind.¹⁴ Selbst niedrige Werte von cTnI knapp über dem 99. Perzentil von Werten, die bei einer normalen Referenzpopulation erhalten wurden, geben ein erhöhtes Risiko an. Um sicherzustellen, dass die Testergebnisse so genau wie möglich interpretiert werden, empfehlen Konsensusgruppen heute einstimmig, dass Patienten mit niedrigen Troponinwerten bei der Vorstellung, insbesondere wenn kein EKG-Beleg vorliegt, zwei weitere Male innerhalb der nächsten 12-24 Stunden getestet werden, um festzustellen, ob cTnI tatsächlich während der ersten 24 Stunden nach der Vorstellung des Patienten mit Symptomen von Brustschmerzen beim medizinischen Personal tatsächlich steigt.^{4,15-17}

PRINZIP

Das Nexus Dx Immunohistochemische System kombiniert Chemie mit Mikrofluidik und Zentrifugalfluss, um schnell ein zellenfreies Plasma aus Vollblut vorzubereiten, das dann durch einen Kanal zum Rehydrieren, löslich machen und Mischen mit gefriergetrockneten Immunkonjugaten geleitet werden kann. Mit einer Kombination aus aktivem Fluss und Kapillarfunktion wird die Testprobe innerhalb von 20 Minuten mit einem optischen Signalwert proportional zur Analytkonzentration gemessen.

Nach der Zugabe der Patientenprobe wird der Test im Nexus IB10 Analysegerät durchgeführt, das die Temperatur der Disk ebenso kontrolliert wie die Analyseprozesssequenz, Zentrifugalfluss, Mischung, Inkubationszeit, abschließende Signalmessung, Quantifizierung und Meldung der Ergebnisse. Die Testdisk umfasst eine interne Positivkontrolle, um sicherzustellen, dass der Test korrekt abgelaufen ist. Jede Charge ist kalibriert, um sicherzustellen, dass die Variabilität zwischen den Chargen zu minimieren. Chargenspezifische Kalibration zusammen mit zusätzlichen Informationen wie Ablaufdatum der Charge, ist auf einem QR-Codeetikett enthalten, das auf jeder Disk klebt. Externe Kontrollen sollten in angemessenen Zeitabständen durchgeführt werden, um zu gewährleisten, dass das System und die Testcharge sich in annehmbaren Wertebereichen bewegen.

REAGENZIEN

Der IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac enthält alle Reagenzien, um den Wert von cTnI, CK-MB und Myoglobin zu beurteilen.

Für den cTnI-Test umfassen die Reagenzien: farbstoff-konjugierter, monoklonaler Anti-cTnI-Antikörper, biotinkojuigte, polyklonale Anti-cTnI- Antikörper und Streptavidin, das im Erkennungsbereich auf der Disk immobilisiert ist.

Für den CK-MB-Test umfassen die Reagenzien: farbstoff-konjugierter, monoklonaler Anti-CK-MB-Antikörper, biotinkojuigte, polyklonale Anti-CK- MM-Antikörper der Ziege und Streptavidin, das im Erkennungsbereich auf der Disk immobilisiert ist.

Für den Myoglobintest umfassen die Reagenzien: farbstoff-konjugierter, monoklonaler Anti-Myoglobin-Antikörper, biotinkojuigte, polyklonale Anti-Myoglobin-Antikörper des Hasen und Streptavidin, das im Erkennungsbereich auf der Disk immobilisiert ist.

PACKUNGSHALT

Jede Box hat folgenden Inhalt:

- 10 IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac-Disks, jede einzeln versiegeln in einer Folientasche mit Trockenmittel.
- 1 Gebrauchsanweisung (IFU).

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN/GERÄTE

1. Nexus IB10 Analysegerät - Modell #BCA-IB10.
2. Handelsübliche Troponin I-/CK-MB-/Myoglobin-Kontrollen für externe Qualitätskontrolle (QC). **Wenden Sie sich an den Händler in Ihrem Bereich**, um empfohlene externe QC-Materialien oder damit verbundene technische Hilfe zu erhalten.
3. Kalibrierte wiederverwendbare feste oder variable Volumenpipettierhilfe mit hoher Präzision und Genauigkeit zur Abgabe von 500 µL Vollblut oder Plasma.
4. Einweg-Pipettenspitzen zur Aufnahme und Abgabe von 500 µL Vollblut oder Plasma.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

- Nur für die Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik.
- Gebrauchsanweisung genau beachten.
- Stellen Sie vor dem Testen von Kontrollen oder Patientenproben sicher, dass die Software des Analysegeräts auf die neueste Version aktualisiert ist. Genaue Anweisungen erhalten Sie im Handbuch des Nexus IB10.
- Einweghandschuhe beim Umgang mit Proben tragen.
- Proben vorsichtig behandeln. Proben und gebrauchte Testdisks sollten als potenziell infektiös behandelt und als biologisches Gefahrenmaterial gemäß örtlicher Vorschriften entsorgt werden.
- Waschen Sie nach der Handhabung Ihre Hände gründlich.
- Das Ergebnis, das über den IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac erhalten wird, stellt keine endgültige Diagnose dar und sollte von einem Arzt zusammen mit anderen passenden Ergebnissen gemäß der aktuellen medizinischen Richtlinien und der klinischen Befunde des Patienten interpretiert werden.
- Test im versiegelten Beutel lassen, bis er gebraucht wird.
- Den Test nicht verwenden, wenn der Beutel beschädigt oder die Versiegelung gebrochen ist.
- Den Test nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums verwenden, das auf den Beutel gedruckt ist.
- Vor Gebrauch den ungeöffneten Beutel mindestens 15 Minuten lang bei Raumtemperatur (19 bis 25 °C/66 bis 77 °F) hinlegen.
- Achten Sie beim Umgang mit dem Test immer auf Sauberkeit. Vermeiden Sie Kontamination durch Fingerabdrücke oder Fremdkörper. Den Probenkanaleingang nicht kontaminieren.
- Die Testdisk nicht fallen lassen oder beschädigen.
- Die Testdisk sollte sofort nach Injektion der Probe in die Disk mit der Beschriftung nach oben in den Schacht des Nexus IB10 Analysegeräts gelegt werden.
- Die Disk nicht herumdrehen.
- Dies ist ein quantitativer Test; aus diesem Grund sollte keine visuelle Interpretation der Ergebnisse durchgeführt werden.

LAGERUNG UND STABILITÄT

- Lagern Sie den IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac bei 2 bis 8 °C (35 bis 46 °F), bis das auf dem Beutel aufgedruckte Haltbarkeitsdatum abgelaufen ist.
- Der IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac ist in seinem versiegelten Beutel bei 18 bis 30 °C (64 bis 86 °F) für 30 Tage stabil, sofern das Haltbarkeitsdatum, das auf den Beutel gedruckt ist, nicht überschritten wird.

PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG

- Der IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac wird mit Lithiumheparin-Vollblut- oder Plasmaproben durchgeführt.
- Da Herzproteine relativ unstabil sind, wird empfohlen, Proben so bald wie möglich zu testen.
- Vollblut muss innerhalb von 48 Stunden nach Entnahme getestet werden.
- Vollblut- und Plasmaproben können bei Umgebungstemperatur transportiert und bis zu 48 Stunden gelagert werden.
- Plasmaproben sollten bei -20 °C (-4 °F) oder niedriger eingefroren werden, wenn eine längere Lagerung notwendig ist.
- Lassen Sie Proben vor dem Testen auf Raumtemperatur (19 bis 25 °C/66 bis 77 °F) aufwärmen.
- Bei Serientests des selben Patienten während der 0-12 stündigen Triageperiode sollte der gleiche Probentyp (Vollblut oder Plasma) verwendet werden.

VERFAHREN

Nexus IB10 Analysegerät

 Lesen Sie die Gebrauchsanweisung des Nexus IB10 Analysegeräts

Hinweise zu Installation, Einrichtung und die vollständige Gebrauchsanweisung finden Sie im **Benutzerhandbuch des Nexus IB10 Analysegeräts**. Der Bediener muss die Gebrauchsanweisung vor Gebrauch lesen, um sich mit dem korrekten Betrieb und den Qualitätskontrollverfahren vertraut zu machen.

DURCHFÜHRUNG VON SYSTEMPRÜFUNG UND DISKKALIBRIERUNG

Bei jedem Einschalten des Nexus IB10 Analysegeräts wird automatisch ein Selbsttest durchgeführt. Der QR-Code auf jeder Disk enthält Informationen für die Diskkalibrierung, die das Analysegerät automatisch ausliest, wenn ein Test durchgeführt wird.

DURCHFÜHREN VON QC MIT EXTERNEN KONTROLLEN

Der Hersteller empfiehlt den Gebrauch von handelsüblichen Troponin I-/CL-MB-/Myoglobin-Kontrollen (weitere Informationen im Abschnitt **Erforderliche, jedoch nicht bereitgestellt Materialien/Geräte**). Stellen Sie sicher, dass die Troponin I-/CK-MB-/Myoglobin-Kontrollen gemäß der entsprechenden Gebrauchsanweisung (IFU) gehandhabt und vorbereitet wird.

1. Nehmen Sie einen ungeöffneten Testbeutel aus dem Kühlgerät und legen Sie es mindestens 15 Minuten vor dem Test bei Raumtemperatur (19 bis 25 °C/66 bis 77 °F) hin.
2. Öffnen Sie den Beutel und entnehmen Sie die Testdisk.
3. Legen Sie die Testdisk auf eine gerade Oberfläche.
4. Drücken Sie auf dem Nexus IB10 Analysegerät auf **New Analysis** (Neue Analyse).
5. Das Analysegerät führt eine allgemeine Systemprüfung durch.
6. Geben Sie die externe Kontrollkennung manuell ein (bis zu 14 Zeichen können für die Kennung verwendet werden) oder geben Sie die externe Kontrollkennung mit dem Strichcodeleser ein.
7. Mischen Sie das externe Qualitätskontrollrörchen, indem Sie das Röhrchen vor der Probegewinnung mehrere Male vorsichtig umdrehen.
8. **Testen der externen Kontrollprobe auf dem IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.**
 - Ziehen Sie mit einer Präzisionspipette (fest oder auf 500 µl eingestellt) die gut gemischte externe Qualitätskontrollprobe in die Pipettenspitze.
 - Platzieren Sie die kegelförmige Pipettenspitze in einem Winkel von 45° und durchstechen Sie das X auf dem roten Punkt, um den Probenkanaleingang zu öffnen.
 - Exprimieren Sie langsam die externe Kontrollprobe in den Eingang und üben Sie dabei minimale, aber durchgehende Kraft auf den Pipettenkolben aus.
 - Drücken Sie die Probe bis zum ersten Stoppunkt auf der Pipette mit einer Flussrate, bei der die Flüssigkeit den Kanal vollständig füllen und jeden Gegendruck verdrängen kann, durch den die Probe verschüttet oder eine Luftblase eingeführt werden könnte.
 - Drücken Sie auf der Anzeige des Nexus IB10 Analysegeräts auf **OK**.
 - Wenn die Schublade sich öffnet, legen Sie die gefüllte Testdisk in die Schublade und drücken Sie auf **Run** (Start).
 - Nach 20 Minuten zeigt der Nexus IB10 Analysegerät die Ergebnisse auf dem Bildschirm an.
 - Ergebnisse werden automatisch ausgedruckt (wenn dies bei der Einrichtung so ausgewählt wurde) oder nach Drücken von **Print** (Drucken).
 - Wenn der Test abgeschlossen ist, analysieren und vergleichen Sie das Ergebnis mit dem Sollwert, der Gebrauchsanweisung der externen Kontrolle als externer Kontrollwert bei Messung mit dem IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac aufgeführt ist.
 - Nehmen Sie die Testdisk heraus und entsorgen Sie sie in einem passenden Sammelgefäß.
 - Wenn das externe Kontrollergebnis außerhalb des Sollbereichs liegt, lesen Sie den Abschnitt Qualitätskontrolle unten.
Hinweis: Wird der Testlauf abgebrochen, bevor ein Testergebnis angezeigt wird, kann die Testdisk nicht wiederverwendet werden und sollte angemessen entsorgt werden.

TESTEN VON PATIENTENPROBEN AUF DEM NEXUS IB10 ANALYSEGERÄT

1. Nehmen Sie einen ungeöffneten Testbeutel aus dem Kühlgerät und legen Sie ihn mindestens 15 Minuten vor dem Test bei Raumtemperatur (19 bis 25 °C/66 bis 77 °F) hin.
2. Öffnen Sie den Beutel und entnehmen Sie die Testdisk.
3. Legen Sie die Testdisk auf eine gerade Oberfläche.
4. Drücken Sie auf dem Nexus IB10 Analysegerät auf **New Analysis** (Neue Analyse).
5. Das Analysegerät führt eine allgemeine Systemprüfung durch.
6. Geben Sie die Patientenkennung manuell ein (bis zu 14 Zeichen können für die Kennung verwendet werden) oder geben Sie die Patientenkennung mit dem Strichcodeleser ein.
7. Vermischen Sie das Röhrchen mit der Vollblutprobe des Patienten, indem Sie das Röhrchen vor dem Test mehrere Male umdrehen.
8. **Testen von Patientenproben mit dem IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.**

- Ziehen Sie mit einer Präzisionspipette (fest oder festgestellt auf 500 µl) langsam die gut gemischte Patientenprobe in die Pipettenspitze.
- Platzieren Sie die kegelförmige Pipettenspitze in einem Winkel von 45° und durchstechen Sie das X auf dem roten Punkt, um den Probenkanaleingang zu öffnen.
- Exprimieren Sie langsam die Patientenprobe in den Eingang und üben Sie dabei minimale, aber durchgehende Kraft auf den Pipettenkolben aus.
- Drücken Sie die Probe bis zum ersten Stopppunkt auf der Pipette mit einer Flussrate, bei der die Flüssigkeit den Kanal vollständig füllen und jeden Gegendruck verdrängen kann, durch den die Probe verschüttet oder eine Luftblase eingeführt werden könnte.
- Drücken Sie auf der Anzeige des Nexus IB10 Analysegeräts auf **OK**.
- Wenn die Schublade sich öffnet, legen Sie die gefüllte Testdisk in die Schublade und drücken Sie auf **Run** (Start).
- Nach 20 Minuten zeigt der Nexus IB10 Analysegerät die Ergebnisse auf dem Bildschirm an.
- Ergebnisse werden automatisch ausgedruckt (wenn dies bei der Einrichtung so ausgewählt wurde) oder nach Drücken von **Print** (Drucken).
- Nehmen Sie die Testdisk heraus und entsorgen Sie sie in einem passenden Sammelgefäß.

Note: If the test run is cancelled before a test result is displayed, the Test disc cannot be reused and should be disposed of appropriately.

Qualitätskontrolle

EXTERNE KONTROLLEN

Gute Laborpraxis umfasst den Gebrauch von externen Kontrollen, um die korrekte Leistung des Tests zu gewährleisten. Vor Gebrauch einer neuen Charge mit den IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac sollte die Leistung der Charge mit externen Kontrollen geprüft werden (siehe Abschnitt **Erforderliche, jedoch nicht bereitgestellte Materialien/Geräte**), um sicherzustellen, dass der Test das korrekte Testergebnis liefert.

Die Häufigkeit der Qualitätskontrolltests sollte gemäß der üblichen Qualitätskontrollverfahren für jedes einzelne Labor bestimmt werden.

Nach Überprüfung der erwarteten Ergebnisse sind die Testdisks bereit für den Gebrauch mit Patientenproben. Kontrollen sollten immer durchgeführt werden, wenn die Testergebnisse fragwürdig sind. Wenn externe Kontrollen nicht die erwartete Leistung erbringen, verwenden Sie den IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac nicht und wenden Sie sich an den Händler in Ihrem Bereich, um technische Hilfe zu erhalten.

INTERNE KONTROLLE

Jeder IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac hat eine eingebaute positive Verfahrenskontrolle. Der Nexus IB10 Analysegerät bestimmt automatisch das Vorhandensein dieser Kontrolle und bestätigt so, dass der Testdurchlauf ein gültiges Ergebnis liefert. Wenn die Kontrolle nicht durchgeführt wird oder das Analysegerät sie nicht erkennt, wird das Testergebnis als „ungültig“ angesehen und der Test muss wiederholt werden.

BESCHRÄNKUNGEN

Die Ergebnisse des IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac sollten zusammen mit anderen verfügbaren Labor- und klinischen Informationen eingesetzt werden. Allgemein anerkannte gute klinische Praxisrichtlinien empfehlen die Entnahme von Serienproben während der ersten Triageperiode von 0 bis > 12 Stunden.^{4,15-17}

Andere nicht aufgeführte Substanzen und/oder Faktoren, z. B. technische oder verfahrensorientierte Fehler, können den Test stören und zu ungenauen Ergebnissen führen.

Nexus Dx, Inc. bietet Produkte für deren Verwendungszweck an. Informationen über den Verwendungszweck jedes Produkts finden Sie in der spezifischen Produktliteratur. Produkthaftungen können sich ändern. Die vertragliche und gesetzliche Gewährleistungen von Nexus Dx, Inc. (einschließlich gesetzlicher Gewährleistungen von Marktfähigkeit und Eignung) sind abhängig von Einhaltung oder Beachtung der veröffentlichten Anweisungen von Nexus Dx, Inc. in Bezug auf die Verwendung von Produkten von Nexus Dx, Inc. Unter keinen Umständen ist Nexus Dx, Inc. haftbar für indirekte oder Folgeschäden.

Für technische Hilfe wenden Sie sich an Ihren örtlichen Händler.

Leistungsmerkmale

MESSBEREICH

Der IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac hat gezeigt, dass er messbare Ergebnisse bei den folgenden Troponin I-/CK-MB-/Myoglobin-Werten liefert:

0,05 ng/ml - 30 ng/ml - cTnI

2,0 ng/ml - 60 ng/ml - CK-MB

30,0 ng/ml - 500 ng/ml - Myoglobin

ANALYSEEMPFINDLICHKEIT

Die NG (Nachweisgrenze) für jedes Analyt wurde gemäß der Richtlinie EP17-A des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) bestimmt.¹⁸ Der Anteil der falsch positiven (α) und falsch negativen (β) Ergebnisse liegt unter 5 %.

Die NG des IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac für jedes Analyt ist:

0,05 ng/ml - cTnI

2,0 ng/ml - CK-MB

30,0 ng/ml - Myoglobin

Die BG (Bestimmungsgrenze) ist die niedrigste Konzentration, die mit einem Gesamtkoeffizienten der Variation von höchstens 15% reproduzierbar gemessen werden kann. Für die 3 Analyte wurde die BG bestimmt als:

0,10 ng/ml - cTnI

3,0 ng/ml - CK-MB

50,0 ng/ml - Myoglobin

KREUZREAKTIVITÄT UND STÖRENDE SUBSTANZEN

Medikamente

Die folgenden Medikamente wurden auf mögliche Interferenzen im IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (Tabelle 1) getestet. Die Liste der Medikamente umfasst handelsübliche verschreibungspflichtige und frei verkäufliche Bestandteile, sowie Medikationen in einer Population mit Herzpatienten. Die Medikamente wurden bei Konzentrationen getestet, die in der von der CLSI genehmigten Richtlinie EP7-A2, Interference Testing in Clinical Chemistry¹⁹ empfohlen werden oder einer Konzentration, die mindestens drei Mal höher ist als eine therapeutische Dosis. Es wurde für die Medikamente in der unten aufgeführten Tabelle keine erhebliche Störung mit der Messung des IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac beobachtet.

Tabelle 1.

Medikament	Medikament	Medikament
Acetaminophen	Captopril	Nifedipin
Acetylsalicylsäure (Aspirin)	Digoxin	Phenytoin
Ampicillin	Dopamin	Theophyllin
Ascorbinsäure (Vitamin C)	Erythromycin	Verapamil
Atenolol	Furosemid	
Koffein	Methyl-DOPA	

PROTEINE, PEPTIDE UND ENDOGENE SUBSTANZEN

Die folgenden Proteine, Peptide und endogenen Substanzen wurden auf mögliche Kreuzreaktivität und Interferenzen im IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac bei maximaler Konzentration der angezeigten Substanzen (Tabelle 2) getestet. Keine Substanz zeigte erhebliche Kreuzreaktivität oder Interferenz, wenn die Methode verwendet wurde, die in CLSI EP7-A2 angegeben wird.

Tabelle 2.

Substanz	Maximale Konzentration
Proteine und Peptide	
Kardiales Troponin T	1000 ng/mL
Kardiales Troponin C	1000 ng/mL
Skelettales Troponin I	250 ng/mL
CKMM	781 ng/mL
CKBB	5000 ng/mL

Substanz		Maximale Konzentration
Endogene Substanzen		
Albumin		2,5 g/dL
Hämoglobin		0,1 g/dL
Rheumatoidefaktor (RF)		203 IU/mL
Creatinin		2 mg/dL
Bilirubin		2,5 mg/dL
Triglyzeride		0,5 g/dL
Urea		18 mg/dL
Cholesterin		280 mg/dL
Substanz	Analyt	Maximale Konzentration
Biotin	Myoglobin	400 ng/mL
	CK-MB	200 ng/mL

HOOK-EFFEKT

Es wurde kein Hook-Effekt bei hohen Dosen für Konzentrationen von bis zu 500 ng/ml für cTnI, 200 ng/ml für CK-MB und 4000 ng/ml für Myoglobin beobachtet.

PRÄZISION

Die Präzision des IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac wurde mit Proben bestimmt, bei denen cTnI, CK-MB und Myoglobin in verschiedenen Konzentrationen normalem humanem Plasma zugefügt wurden (Tabelle 3). Die Präzision innerhalb eines Tages und Gesamtpräzision wurde bei vier Wiederholungen pro Durchlauf für jede Konzentration für 15 Tage wurde mit einer Gesamtwiederholungszahl von 120 für jede Konzentration durchgeführt. Die Within-Run, Gesamtvarianzen und Varianzkoeffizienten (VKs) wurden gemäß CLSI-Richtlinie EP5-A2 berechnet.²⁰

Tabelle 3A.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Assaypräzision für cTnI

Probe	Mittel (ng/ml)	Within-Run-Präzision		Gesamtpräzision	
		Std.-abw. (ng/ml)	VK%	Std.-abw. (ng/ml)	VK%
1	0,46	0,06	12,6%	0,06	12,6%
2	0,95	0,11	12,0%	0,12	13,0%
3	4,43	0,41	9,4%	0,45	10,1%

Tabelle 3B.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Assaypräzision für CK-MB

Probe	Mittel (ng/ml)	Within-Run-Präzision		Gesamtpräzision	
		Std.-abw. (ng/ml)	VK%	Std.-abw. (ng/ml)	VK%
1	7,13	0,64	9,0	0,73	10,3
2	13,33	1,49	11,2	1,53	11,5

Tabelle 3C.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Assaypräzision für Myoglobin

Probe	Mittel (ng/ml)	Within-Run-Präzision		Gesamtpräzision	
		Std.-abw. (ng/ml)	VK%	Std.-abw. (ng/ml)	VK%
1	106,1	11,4	10,8	12,8	12,1
2	202,7	25,6	12,7	25,6	12,7

VOLLBLUT vs. PLASMAKORRELATION

Eine Vergleichsstudie wurde mit Vollblut- und Plasmaproben in Lithiumheparin durchgeführt. Wenn eine Passing-Bablok-Regressionsanalyse als Vergleich zwischen Vollblutkonzentrationen (VB) gegenüber den entsprechenden Plasmakonzentrationen von den gleichen Probandenproben durchgeführt wurde, wurde die folgende Beziehung festgelegt:

$$\text{VB} = 1,00 \text{ Plasma (95 \% C.I. = [0,93-1,07])} + 0,01 \text{ ng/ml} - c\text{TnI}$$

$$\text{VB} = 1,17 \text{ Plasma (95 \% C.I. = [1,09-1,29])} - 0,19 \text{ ng/ml} - \text{CK-MB}$$

$$\text{VB} = 0,92 \text{ Plasma (95 \% C.I. = [0,83-1,04])} + 0,00 \text{ ng/ml} - \text{Myoglobin}$$

SOLLWERTE

OBERE REFERENZGRENZE

Aus einer Population mit 224 Personen wurde der IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac verwendet, um die Konzentration der oberen Referenzgrenzen für cTnI, CK-MB und Myoglobin zu bestimmen. Diese Population umfasste offensichtlich gesunde Personen. Die oberen Referenzgrenzen für die einzelnen Analyte sind:

0,10 ng/ml (99. Referenzperzentil) - cTnI

8,58 ng/ml (95. Referenzperzentil) - CK-MB

99,84 ng/ml (95. Referenzperzentil) - Myoglobin

Jedes Labor sollte einen Referenzbereich festlegen, der die Patientenpopulation darstellt, die in ihrer Einrichtung beurteilt werden soll.

METHODENVERGLEICH

Eine Vergleichsstudie wurde zwischen dem IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac mit dem Nexus IB10 Analysegerät und den Ortho VITROS® Troponin I ES Myoglobin- und CK-MB-Tests durchgeführt.

cTnI

Insgesamt wurden 253 Proben innerhalb eines Konzentrationsbereichs von cTnI von 0,05 ng/ml bis 30 ng/ml getestet.

Die Passing-Bablok- Regression war:

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (TnI)} = 0,80 \text{ (VITROS TnI ES)} + 0,00 \text{ ng/ml}$$

Korrelationskoeffizient, $r = 0,92$

CK-MB

Insgesamt wurden 161 Proben im Messbereich von CK-MB getestet. Die Passing-Bablok-Regression war:

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (CK-MB)} = 1,29 \text{ (VITROS CK-MB)} - 0,54 \text{ ng/ml}$$

Korrelationskoeffizient, $r = 0,88$

MYOGLOBIN

Insgesamt wurden 117 Proben im Messbereich von Myoglobin getestet. Die Passing-Bablok-Regression war:

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (Myo)} = 1,00 \text{ (VITROS MYOG)} - 5,1 \text{ ng/ml}$$

Korrelationskoeffizient, $r = 0,90$

REFERENZEN

1. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, on behalf of the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2012;125:e2-e220.
2. Cardiovascular Diseases, World Health Organization factsheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>
3. World Health Organization. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature. Nomenclature and criteria of diagnosis of ischemic heart disease. *Circulation* 1979;59:607-9.
4. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2525-38; *Circulation* 2007;116:2634-53; *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2173-95.
5. Newby LK, Storrow AB, Gibler B, et al. Bedside multimarker testing for risk stratification in chest pain patients – the chest pain evaluation by creatine kinase-MB, myoglobin and troponin I (CHECKMATE) study. *Circulation* 2001;103:1832-7.
6. Apple FS, Voss E, Lund L, et al. Cardiac troponin, CK-MB and myoglobin for the early detection of acute myocardial infarction and monitoring of reperfusion following thrombolytic therapy. *Clin Chim Acta* 1995;237:59-66.
7. Ohman EM, Casy C, Bengtson JR, et al. Early detection of acute myocardial infarction: Additional diagnostic information from serum concentrations of myoglobin in patients without ST elevations. *Br Heart J* 1990;63:335-8.
8. Tucker JF, Collins RA, Anderson AJ, et al. Value of serial myoglobin levels in the early diagnosis of patients admitted for acute myocardial infarction. *Ann Emerg Med* 1994;24:704-8.
9. Cairns JA, Missirris E, Walker WH. Usefulness of serial determinations of myoglobin and creatine kinase in serum compared for assessment of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1983;29:469-73.
10. Lott JA, Abbott LB. Creatine kinase isoenzymes. *Clin Lab Med* 1986;6:547-76.
11. Mehegan JP, Tobacman LS. Cooperative interaction between troponin molecules bound to the cardiac thin filament. *J Biol Chem* 1991;266:966-72.
12. Bodor GS, Porter S, Landt Y, Ladenson JH. Development of monoclonal antibody for an assay of cardiac troponin I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clin Chem* 1992;38:2203-14.
13. Adams JE, Bodor GS, Davila-Roman VG, et al. Cardiac troponin I: a marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993;88:101-6.
14. Heidenreich PA, Alloggiamento T, Melsop K, et al. The prognostic value of troponin in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome: a meta analysis. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:478-85.
15. Morrow DA, Rifai N, Tanasjevic MJ, et al. Clinical efficacy of three assays for cardiac troponin I for risk stratification in acute coronary syndromes - a TIMI 11b substudy. *Clin Chem* 2000;46:453-60.
16. Reichlin T, Irfan A, Twerenbold R, et al. Utility of absolute and relative changes in cardiac troponin concentrations in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation* 2011;124:136-45.
17. Jaffe AS, Apple FS, Morrow A, et al. Being rational about (im)precision: a statement from the biochemistry subcommittee of the Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology Foundation/ American Heart Association/World Heart Federation Task Force for the Definition of Myocardial Infarction. *Clin Chem* 2010;56:941-3.
18. Tholen DW, Linnet K, Kondratovich M, et al. NCCLS. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline, NCCLS document EP17-A, Volume 24 Number 35, 2004.
19. McEnroe, RJ, Burnett, MF, Powers, DM, et al. CLSI Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2, Volume 25 Number 27, 2005.
20. Tholen DW, Kallner A, Kennedy JW, et al. NCCLS. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline-Second Edition. NCCLS document EP5-A2, Volume 25 Number 27, 2004.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac

Troponine I/CK-MB/Myoglobine

Pour déterminer la quantité de
troponine I, de CK/MB et de myoglobine dans le
sang total et le plasma traités à l'héparine-lithium

Signification des symboles

	Marque de conformité CE
	Fabricant
	Numéro de référence catalogue
	Date d'expiration/utiliser avant le
	Numéro de lot
	Dispositif médical de diagnostic <i>In Vitro</i>
	Consulter le mode d'emploi
	Conserver entre 2 °C et 8 °C
	Représentant européen agréé
	Contenu suffisant pour <n> tests
	Ne pas réutiliser
	Numéro de série
	Insérer le disque avec l'étiquette orientée vers le haut

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac

Troponine I/CK-MB/Myoglobine

Pour usage diagnostique *in vitro*

UTILISATION PRÉVUE

L'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac constitue un dosage immunologique hors laboratoire rapide pour la détermination quantitative *in vitro* de la troponine I cardiaque (cTnI), de la CK-MB et de la myoglobine dans le sang total et le plasma traités à l'héparine-lithium. Ce test est conçu pour être utilisé conjointement à l'analyseur Nexus IB10 et fournit des résultats quantitatifs en 20 minutes.

L'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac est destiné à un usage professionnel uniquement et peut être utilisé dans les laboratoires hospitaliers ainsi que dans d'autres établissements de santé tels que les services d'urgence, les unités de soins intensifs ainsi que dans tous les établissements de proximité où des tests sont réalisés.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

Le syndrome coronarien aigu (SCA), incluant la maladie coronarienne (MC) et l'angine de poitrine (AP), est la première cause de morbidité et de mortalité chez l'homme et la femme, touchant plus de 16 millions d'individus aux États-Unis. Le SCA se présente de manières variées, l'infarctus aigu du myocarde (IAM) étant la forme la plus grave. Les symptômes du SCA peuvent apparaître de façon soudaine. En 2008, plus de 800 000 nouveaux IAM ont été diagnostiqués aux États-Unis.¹ À l'échelle internationale, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) fait état de plus de 7,2 millions de décès par an de MC. On estime de manière globale que 17,3 millions de décès étaient dus aux maladies cardiovasculaires en 2008.² Ce dernier chiffre inclue les décès dus aux MC et aux AVC.

Pendant plus de 30 ans l'OMS a recommandé que le diagnostic de l'IAM soit guidé par les résultats positifs sur au moins deux des trois critères suivants : (1) antécédents/examen physique du patient ; (2) électrocardiogramme ; (3) modification des niveaux sanguins de marqueurs protéiques cardiaques.³ Alors que le marqueur cardiaque initial se limitait à la créatine kinase totale enzymatique, les marqueurs actuels, tels que mesurés par le dosage immunologique, comprennent la myoglobine (Myo), la créatine kinase isoforme MB (CK-MB) et la protéine du muscle strié cardiaque, la troponine I (cTnI). Les antécédents du patient et l'examen médical sont d'une grande importance mais fournissent souvent des informations insuffisantes pour différencier un IAM d'une autre anomalie cardiaque. En l'absence d'élévations du segment ST bien définies sur l'électrocardiogramme, la mesure des marqueurs protéiques cardiaques est essentielle pour poser un diagnostic précis de SCA.⁴

Plusieurs études suggèrent qu'un panel comprenant les trois marqueurs cardiaques renforce la fiabilité d'une détection plus rapide et de la stratification des risques chez les patients présentant des douleurs au niveau de la poitrine, par rapport à un marqueur unique.^{5,6} Ceci est dû au fait que les marqueurs biologiques variés sont libérés dans le flux sanguin à différents moments suite à la lésion ou à la mort cellulaire du myocyte.

MYOGLOBINE

La myoglobine (Myo) est une protéine hémique à affinité pour l'oxygène, dont le poids moléculaire est de 17 800 daltons et qui est présente de manière caractéristique dans les tissus cardiaques et osseux. Cette protéine se trouve dans le cytosol de la cellule et représente approximativement 2 % du total des protéines musculaires. En raison de son poids moléculaire relativement faible et de sa forte concentration, elle fait partie des premières protéines libérées dans la circulation systémique après la nécrose cellulaire du myocyte cardiaque (mort cellulaire).⁷ La myoglobine est présente dans le sang à une concentration élevée environ 2-3 heures suivant la lésion ou nécrose du myocyte cardiaque, avec des niveaux atteignant leur maximum après 9-12 heures.⁸

CK-MB

Dans le cytoplasme, la créatine kinase (CK) catalyse la phosphorylation réversible de la créatine par l'ATP. La créatine kinase systolique existe en tant que molécule dimère formée à partir de deux types de sous-unités à polypeptide unique. Ces deux sous-unités se combinent pour former trois différents isoenzymes de créatine kinase : CK-MM, CK-BB et CK-MB. L'isoenzyme CK-MM est exprimé de façon prédominante dans le tissu musculaire squelettique, tandis que l'isoenzyme CK-MB est plus abondant dans le tissu musculaire cardiaque. La CK-MB est libérée dans le flux sanguin suite à des lésions ou à la mort de tissus cardiaques.^{9,10} On observe son élévation dans les 4 à 8 heures suivant la lésion cardiaque, avec des concentrations maximales atteintes de 12 à 24 heures après l'apparition des symptômes. Tout comme la myoglobine, la CK-MB n'est pas entièrement spécifique au cœur et l'on trouve de basses concentrations de cet enzyme dans les muscles squelettiques striés et d'autres tissus.

cTnI

La troponine I cardiaque (cTnI) fait partie du complexe troponinique qui forme, avec la tropomyosine, le principal élément de régulation de l'activité ATPase sensible au Ca²⁺ exercée par l'actomyosine dans le muscle strié (squelettique et cardiaque). Le complexe troponinique se compose de trois éléments, la

troponine T (TnT), la troponine I (TnI), et la troponine C (TnC). Chaque élément exerce une fonction distincte, la TnC étant le site de liaison du Ca²⁺, la TnT constituant la liaison avec la tropomyosine et la TnI étant l'élément inhibiteur.¹¹ Il existe différents isoformes de la TnI dans les muscles cardiaque et squelettiques (sTnI and cTnI, respectivement) avec des épitopes immunologiques distincts permettant la production d'anticorps TnI cardiaques extrêmement spécifiques.¹²

Le dépistage de la cTnI permet de faciliter le diagnostic de l'infarctus du myocarde (IM) et des patients souffrant de syndromes coronariens aigus sans sus-décalage du segment ST (NSTEMI). Des niveaux élevés de cTnI dans la sous-population souffrant de SCA-NSTEMI coïncident avec le risque de mortalité correspondant, un IM ou une probabilité accrue d'évènements ischémiques, nécessitant des procédures de revascularisation en urgence.

Suite à la nécrose du myocyte, la cTnI est libérée dans la circulation à des niveaux dépassant la limite de référence supérieure normale dans les 4-6 heures. Les niveaux maximum sont atteints après 12-24 heures.¹³ Ce profil de libération dans la circulation périphérique est similaire à la CK-MB. Cependant, les concentrations de CK-MB retournent à des valeurs normales en 72 heures environ, alors que les concentrations de cTnI peuvent demeurer élevées pendant 5 à 7 jours.

Rôle de la cTnI dans le syndrome coronarien aigu

Depuis l'introduction du premier dosage commercial pour la troponine I en 1996, de nombreuses études cliniques ont confirmé que la cTnI est un biomarqueur de choix dans l'identification des ischémies et nécroses myocytaires.¹⁴ Même des concentrations faibles de cTnI, situées juste au-dessus du 99^{ème} percentile, obtenues chez une population normale de référence constituent un risque d'accident futur. Pour s'assurer que les résultats des test sont interprétés avec toute la précision nécessaire, les groupes de concertation recommandent maintenant, de façon unanime, que les patients souffrant de douleur au thorax et présentant des valeurs de concentration de troponine faibles au moment de leur prise en charge par le personnel médical, notamment en l'absence de preuve de confirmation par ECG, soient testés à 2 autres reprises pendant la période de 12 à 24 heures suivantes, afin de déterminer si la concentration de cTnI augmente au cours des premières 24 heures.^{4,15-17}

PRINCIPE

Le système d'immunochimie Nexus Dx combine la chimie avec la microfluidique et le débit centrifuge pour la préparation rapide d'un plasma acellulaire à partir de sang total qui peut alors être envoyé à travers un canal pour être réhydraté, solubilisé et mélangé à des immunoconjugués lyophilisés. En utilisant une combinaison de débit actif et d'action capillaire, le test est mesuré quantitativement en 20 minutes avec un niveau de signal optique proportionnel à la concentration d'analyte(s).

Une fois l'échantillon patient ajouté, le test est intégralement réalisé dans l'analyseur Nexus IB10 qui fournit un contrôle de la température du disque ainsi que la séquence du processus d'analyse, le débit centrifuge, le temps de mélange et d'incubation, la mesure de signal final, la quantification et le rapport des résultats. Le disque de test comprend un contrôle interne positif pour vérifier que le test s'est correctement déroulé. Chaque lot est calibré de manière à garantir la minimisation de la variabilité entre les lots. La calibration spécifique du lot et les informations supplémentaires telles que la date de péremption du lot se trouvent sur une étiquette avec un code QR apposée sur chaque disque. Il est recommandé de tester les contrôles externes en respectant des intervalles temporelles adéquates afin de confirmer que le système et le lot de test fonctionnent dans des limites acceptables.

RÉACTIFS

L'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac contient tous les réactifs requis afin d'évaluer les niveaux de cTnI, de CK-MB et de myoglobine.

Pour le test cTnI, les réactifs comprennent : un anticorps anti-cTnI monoclonal conjugué à un colorant, des anticorps anti-cTnI polyclonaux conjugués à de la biotine et de la streptavidine immobilisée sur la zone de détection du disque.

Pour le test CK-MB, les réactifs comprennent : un anticorps CK-MB monoclonal conjugué à un colorant, des anticorps anti-CK-MM polyclonaux de chèvre conjugués à de la biotine et de la streptavidine immobilisée sur la zone de détection du disque.

Pour le test myoglobine, les réactifs comprennent : un anticorps anti-myoglobine monoclonal conjugué à un colorant, des anticorps anti-myoglobine polyclonaux de lapin conjugués à de la biotine et de la streptavidine immobilisée sur la zone de détection du disque.

MATÉRIEL FOURNI

Chaque boîte contient les éléments suivants :

- 10 disques d'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac, chacun emballé dans un sachet en aluminium hermétique contenant un déshydratant.
- 1 Mode d'emploi.

ARTICLES/ÉQUIPEMENTS NÉCESSAIRES NON FOURNIS

1. Analyseur Nexus IB10 – Modèle n° BCA-IB10.
2. Contrôles Troponine I/CK-MB/Myoglobine pour contrôle de qualité (CQ) externe disponibles à l'achat. **Veuillez contacter le distributeur de votre région** pour les articles de CQ externe recommandés ou pour une assistance technique à ce sujet.
3. Auxiliaire de pipetage calibré réutilisable, à volume fixe ou variable de haute précision, capable de délivrer 500 µl de sang total ou de plasma.
4. Pointes de pipette jetables capables de contenir et de délivrer 500 µl de sang total ou de plasma.

PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

- Pour diagnostic *in vitro* uniquement.
- Respecter le mode d'emploi.
- Avant d'analyser les contrôles ou les échantillons patient, vérifier que la version du logiciel d'analyseur est la plus récente. Pour des consignes spécifiques, voir le manuel Nexus IB10.
- Porter des gants jetables lors de la manipulation des échantillons.
- Manipuler les échantillons avec soin. Les échantillons et les disques de test usagés doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être mis au rebut conformément aux réglementations locales en matière de matériaux comportant des risques biologiques.
- Se laver soigneusement les mains après la manipulation.
- Le résultat obtenu grâce à IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac ne constitue pas un diagnostic définitif et doit être interprété par un médecin conjointement à d'autres résultats de tests appropriés, conformément aux recommandations médicales en vigueur ainsi qu'aux observations cliniques faites sur le patient.
- Conserver le test dans son sachet hermétique jusqu'à son utilisation.
- Ne pas utiliser un test si le sachet est endommagé ou s'il n'est plus hermétique.
- Ne pas utiliser le test au-delà de la date d'expiration imprimée sur le sachet.
- Avant l'utilisation, placer le sachet encore fermé à température ambiante (entre 19° et 25° C/66° et 77° F) pendant au moins 15 minutes.
- Toujours faire attention à la propreté lors de la manipulation du test. Éviter toute contamination due aux empreintes de doigts ou à des substances étrangères. Ne pas contaminer le conduit d'entrée de l'échantillon.
- Ne pas faire tomber ou endommager le disque de test.
- Le disque de test doit être inséré, avec l'étiquette vers le haut, dans le plateau de l'analyseur Nexus IB10, immédiatement après avoir injecté l'échantillon dans le disque.
- Ne pas mettre le disque à l'envers.
- Il s'agit d'un test quantitatif, par conséquent aucune interprétation visuelle des résultats ne doit être réalisée.

CONSERVATION ET STABILITÉ

- Conserver l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac entre 2° et 8°C (35° et 46°F) jusqu'à la date de péremption imprimée sur le sachet.
- L'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac, emballé dans son sachet hermétique, est stable de 18°C à 30°C (64° à 86°F) pendant 30 jours, à condition que la date de péremption imprimée sur le sachet ne soit pas dépassée.

COLLECTE ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

- L'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac doit utiliser des échantillons de sang total et de plasma humain traités à l'héparine-lithium.
- Étant donné que les protéines cardiaques sont relativement instables, il est recommandé de tester les échantillons le plus rapidement possible.
- Le sang total doit être analysé dans les 48 heures qui suivent le prélèvement.
- Les échantillons de sang total et de plasma peuvent être transportés et conservés jusqu'à 48 heures à température ambiante.
- Les échantillons de plasma doivent être conservés congelés à -20°C (-4°F) ou à une température plus basse lorsqu'une conservation prolongée est nécessaire.
- Les échantillons doivent être ramenés à température ambiante (entre 19° et 25°C/66° et 77°F) avant le test.
- Pour les tests en série sur le même patient durant la période de triage, entre 0 et 12 heures, le même type d'échantillon (sang total ou plasma) doit être utilisé.

PROCÉDURE

Analyseur Nexus IB10

Consulter le mode d'emploi de l'analyseur Nexus IB10

Pour l'installation, le démarrage et toutes les instructions d'emploi de l'analyseur, consulter le **mode d'emploi de l'analyseur Nexus IB10**. L'opérateur doit consulter le mode d'emploi avant l'utilisation afin de se familiariser avec son fonctionnement et les procédures de contrôle de qualité.

VÉRIFICATION DU SYSTÈME ET CALIBRATION DU DISQUE

Chaque fois que l'analyseur Nexus IB10 est mis sous tension, une auto-vérification est automatiquement lancée. Le code QR apposé sur chaque disque contient des informations sur la calibration du disque qui sont automatiquement lues par l'analyseur lorsqu'il réalise le test.

EXÉCUTION DU CQ AVEC CONTRÔLES EXTERNES

Le fabricant recommande l'utilisation des contrôles Troponine I/CK-MB/Myoglobine disponibles à la vente (veuillez consulter la section **Articles/équipements nécessaires mais non fournis**). S'assurer que les contrôles Troponine I/CK-MB/Myoglobine sont bien manipulés et préparés conformément au mode d'emploi correspondant.

1. Retirer un sachet de test, toujours fermé, du réfrigérateur et le laisser à température ambiante (entre 19 ° et 25 °C/66 ° et 77 °F) pendant au moins 15 minutes avant le test.
2. Ouvrir le sachet et retirer le disque de test.
3. Poser le disque sur une surface plane.
4. Appuyer sur le bouton **New Analysis** (nouvelle analyse) situé sur l'analyseur Nexus IB10.
5. L'analyseur réalise alors une vérification générale du système.
6. Entrer manuellement l'identifiant du contrôle externe (l'identifiant peut contenir jusqu'à 14 caractères) ou entrer l'identifiant du contrôle externe en utilisant le scanner à code barre.
7. Mélanger le contenu du flacon du contrôle de qualité externe, en retournant le flacon plusieurs fois, délicatement vers le bas puis vers le haut, avant l'échantillonnage.
8. **Test de l'échantillon de contrôle externe sur l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.**
 - En utilisant une pipette de précision (à volume fixe ou réglé sur 500 µl) prélever délicatement l'échantillon de contrôle de qualité externe qui a été bien mélangé dans la pointe de pipette.
 - À l'aide de la pointe conique de la pipette orientée à 45 °, percer le X situé sur le point rouge pour ouvrir le canal d'entrée de l'échantillon.
 - Vider lentement l'échantillon de contrôle externe en exerçant une pression minimale mais continue sur le piston de la pipette.
 - Injecter l'échantillon jusqu'au premier arrêt de la pipette, à une vitesse qui permette au fluide de remplir complètement le canal et d'éliminer tout risque de contre-pression pouvant entraîner le rejet de l'échantillon ou l'introduction de bulles d'air.
 - Appuyer sur le bouton **OK** situé sur l'écran de l'analyseur Nexus IB10.
 - Lorsque le plateau s'ouvre, y insérer le disque de test contenant l'échantillon puis appuyer sur **Run** (exécuter).
 - 20 minutes après, les résultats s'affichent sur l'écran de l'analyseur Nexus IB10.
 - Les résultats s'impriment automatiquement (si cette fonction a été sélectionnée lors du paramétrage), autrement appuyer sur **Print** (imprimer).
 - Lorsque le test est terminé, analyser et comparer le résultat avec les valeurs attendues figurant dans le mode d'emploi du contrôle externe au paragraphe concernant la concentration du contrôle externe quand elle est mesurée par l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.
 - Retirer le disque de test et le jeter dans le conteneur approprié.
 - Si le résultat du contrôle externe est en dehors de la plage attendue, consulter le paragraphe Contrôle de Qualité ci-dessous.
Remarque : Si le test est annulé avant qu'un résultat de test ne s'affiche, ne pas réutiliser le disque de test et le mettre au rebut de façon appropriée.

TEST DES ÉCHANTILLONS PATIENTS SUR L'ANALYSEUR NEXUS IB10

1. Retirer un sachet de test, encore fermé, du réfrigérateur et le laisser à température ambiante (entre 19 ° et 25 °C/66 ° et 77 °F) pendant au moins 15 minutes.
2. Ouvrir le sachet et retirer le disque de test.

3. Poser le disque sur une surface plane.
 4. Appuyer sur le bouton **New Analysis** (nouvelle analyse) situé sur l'analyseur Nexus IB10.
 5. L'analyseur réalise alors une vérification générale du système.
 6. Saisir manuellement l'identifiant du patient (l'identifiant peut contenir jusqu'à 14 caractères) ou scanner l'identifiant du patient en utilisant le scanner à code barre.
 7. Avant le test, mélanger le tube d'échantillon de sang total du patient, en le reversant plusieurs fois délicatement de haut en bas.
- 8. Test des échantillons de patient sur l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.**
- En utilisant une pipette de précision (à volume fixe ou réglé sur 500 µl) prélever délicatement l'échantillon patient, bien mélangé, dans la pointe de pipette.
 - À l'aide de la pointe conique de la pipette orientée à 45 °, percer le X situé sur le point rouge pour ouvrir le canal d'entrée de l'échantillon.
 - Vider lentement l'échantillon du patient en exerçant une pression minimale mais continue sur le piston de la pipette.
 - Injecter l'échantillon jusqu'au premier arrêt de la pipette, à une vitesse qui permette au fluide de remplir complètement le canal et d'éliminer tout risque de contre-pression pouvant entraîner le rejet de l'échantillon ou l'introduction de bulles d'air.
 - Appuyer sur le bouton **OK** situé sur l'écran de l'analyseur Nexus IB10.
 - Lorsque le plateau s'ouvre, y insérer le disque de test contenant l'échantillon puis appuyer sur **Run** (exécuter).
 - 20 minutes après, les résultats s'affichent sur l'écran de l'analyseur Nexus IB10.
 - Les résultats s'impriment automatiquement (si cette fonction a été sélectionnée lors du paramétrage), autrement appuyer sur **Print** (imprimer).
 - Retirer le disque de test et le jeter dans le conteneur approprié.
- Remarque : Si le test est annulé avant qu'un résultat de test ne s'affiche, ne pas réutiliser le disque de test et le mettre au rebut de façon appropriée.*

Contrôle de qualité

CONTRÔLES EXTERNES

Les bonnes pratiques de laboratoire intègrent l'utilisation de contrôles externes afin de garantir l'efficacité du test. Avant l'utilisation d'un nouveau lot de l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac, il est recommandé de confirmer la performance du lot en le testant à l'aide de contrôles externes (voir la section **Articles/équipements nécessaires non fournis**) afin de s'assurer que le test fournira des résultats corrects. La fréquence des tests de contrôle de qualité doit être déterminée en fonction des procédures de contrôle de qualité standard propres au laboratoire. Une fois que les résultats attendus sont confirmés, les dispositifs de test sont prêts à être utilisés avec des échantillons patient. Les contrôles doivent également être utilisés chaque fois que la validité des résultats du test est incertaine. Si les contrôles externes ne donnent pas les résultats attendus, ne pas utiliser l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac et contacter le distributeur local pour une assistance technique.

CONTRÔLE INTERNE

Tous les IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac sont dotés d'un procédé de contrôle positif intégré. L'analyseur Nexus IB10 détecte automatiquement la présence de ce contrôle, confirmant ainsi que le test exécuté a fourni un résultat valide. Si le contrôle ne se forme pas ou s'il n'est pas reconnu par l'analyseur, le résultat du test est alors considéré comme « invalide » et le test doit être répété.

LIMITES

Les résultats de l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac doivent être utilisés conjointement aux autres informations disponibles, qu'elles proviennent d'examens cliniques ou d'autres analyses de laboratoire. Les recommandations de bonne pratique clinique universellement approuvées recommandent le prélèvement d'une série d'échantillons durant la période de triage précoce allant de 0 à > 12 heures.^{4,15-17}

D'autres substances et/ou facteurs ne faisant pas parti de la liste, comme par exemple des erreurs techniques ou procédurales, peuvent interférer avec le test et fausser les résultats.

Nexus Dx, Inc. fournit des produits dans le cadre de leur utilisation prévue. Consulter la littérature spécifique au produit pour une description de l'utilisation prévue relative au produit. La responsabilité liée au produit est soumise à des modifications. Les garanties explicites et implicites (y compris les garanties implicites de valeur marchande et d'adaptation) de Nexus Dx, Inc. sont soumises à la condition d'acceptation ou de respect des instructions publiées par Nexus Dx, Inc. concernant l'utilisation des produits de Nexus Dx, Inc. Nexus Dx, Inc. ne pourra être tenu responsable d'aucun dommage direct ou indirect, quelles que soient les circonstances.

Pour toute assistance technique, veuillez contacter le distributeur de votre région.

Caractéristiques de performance

PLAGE DE MESURE

Il a été démontré que l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac fournit des résultats mesurables à des niveaux de Troponine I/CK-MB/ Myoglobine de :

0,05 ng/mL - 30 ng/mL - cTnI

2,0 ng/mL - 60 ng/mL - CK-MB

30,0 ng/mL - 500 ng/mL - Myoglobine

SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

La LD (limite de détection) de chaque analyte a été déterminée conformément à la directive EP17-A du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).¹⁸ La proportion de faux positifs (α) et de faux négatifs (β) est inférieure 5 %.

La LD de l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac pour chaque analyte est de :

0,05 ng/mL - cTnI

2,0 ng/mL - CK-MB

30,0 ng/mL - Myoglobine

La LQ (limite de quantification) correspond à la concentration la plus basse pouvant être mesurée de façon reproductible avec un coefficient de variation de 15 % maximum. Pour les trois analytes, on a déterminé une LQ de :

0,10 ng/mL - cTnI

3,0 ng/mL - CK-MB

50,0 ng/mL - Myoglobine

RÉACTIVITÉ CROISÉE ET INTERFÉRENCE DE SUBSTANCES

Médicaments

Les médicaments suivants ont été testés pour évaluer les interférences potentielles qui pourraient survenir dans l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (tableau 1). La liste des médicaments englobe les médicaments sous ordonnance les plus courants et les produits délivrés sans ordonnance ainsi que les médicaments très souvent prescrits aux patients souffrant de troubles cardiaques. Les produits ont été testés aux concentrations recommandées dans la directive EP7-A2, « Interference Testing in Clinical Chemistry »¹⁹ approuvée par le CLSI ou à des concentrations au moins trois fois supérieures à la concentration prescrite d'un dosage thérapeutique. Aucune interférence significative avec les mesures de l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac n'a été observée pour les médicaments répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1.

Médicament	Médicament	Médicament
Paracétamol	Captopril	Nifédipine
Acide Acétylsalicylique	Digoxine	Phénytoïne
Ampicilline	Dopamine	Théophylline
Acide ascorbique (vitamine C)	Érythromycine	Vérapamil
Aténolol	Furosémide	
Caféine	Méthyldopa	

PROTÉINES, PEPTIDES ET SUBSTANCES ENDOGÈNES

Les protéines, peptides et substances endogènes suivants ont été testés pour une réactivité croisée et interférence potentielles dans le dispositif de l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac à la concentration maximale indiquée (tableau 2). Aucune substance n'a montré de réactivité croisée ou interférence importante avec l'emploi de la méthode fournie dans CLSI EP7-A2.

Tableau 2.

Substance	Concentration maximale	
Protéines et peptides		
Troponine T cardiaque	1000 ng/mL	
Troponine C cardiaque	1000 ng/mL	
Troponine I squelettique	250 ng/mL	
CKMM	781 ng/mL	
CKBB	5000 ng/mL	
Substances endogènes		
Albumine	2,5 g/dL	
Hémoglobine	0,1 g/dL	
Facteur rhumatoïde (FR)	203 IU/mL	
Créatinine	2 mg/dL	
Bilirubine	2,5 mg/dL	
Triglycérides	0,5 g/dL	
Urée	18 mg/dL	
Cholestérol	280 mg/dL	
Substance	Analyte	Concentration maximale
Biotine	Myoglobine	400 ng/mL
	CK-MB	200 ng/mL

EFFET CROCHET

Aucun effet crochet n'a observé pour des concentrations allant jusqu'à 500 ng/mL pour la cTnI, 200 ng/mL pour la CK-MB et 4000 ng/mL pour la myoglobine.

PRÉCISION

La précision de l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac a été déterminée en utilisant des échantillons auxquels ont été ajoutées de la cTnI, de la CK-MB et de la myoglobine à du plasma humain normal, à des concentrations multiples (tableau 3). La précision au cours d'une journée et la précision totale ont été calculées en deux séries de tests par jour, en répliques de 4 par série à chaque niveau de concentration sur une période de 15 jours, pour un nombre total de 120 répétitions à chaque niveau de concentration. Les résultats à l'intérieur d'une série, les variations et les coefficients de variation (CV) ont été calculés conformément à la directive EP5-A2 du CLSI.²⁰

Tableau 3A.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Test de précision pour la cTnI

Échantillon	Moyenne (ng/mL)	Précision de la série en cours		Précision totale	
		Écart type (ng/ml)	CV %	Écart type (ng/ml)	CV %
1	0,46	0,06	12,6 %	0,06	12,6 %
2	0,95	0,11	12,0 %	0,12	13,0 %
3	4,43	0,41	9,4 %	0,45	10,1 %

Tableau 3B.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Test de précision pour la CK-MB

Échantillon	Moyenne (ng/mL)	Précision de la série en cours		Précision totale	
		Écart type (ng/ml)	CV %	Écart type (ng/ml)	CV %
1	7,13	0,64	9,0	0,73	10,3
2	13,33	1,49	11,2	1,53	11,5

Tableau 3C.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Test de précision pour la myoglobine

Échantillon	Moyenne (ng/mL)	Précision de la série en cours		Précision totale	
		Écart type (ng/ml)	CV %	Écart type (ng/ml)	CV %
1	106,1	11,4	10,8	12,8	12,1
2	202,7	25,6	12,7	25,6	12,7

CORRÉLATION ENTRE SANG TOTAL ET PLASMA

Une étude comparative a été menée avec des échantillons de sang total et de plasma traités à l'héparine-lithium. Lors d'une analyse de régression Passing-Bablok comparant les concentrations du sang total (ST) et les concentrations correspondantes de plasma sur les échantillons d'un même sujet, la corrélation suivante a été déterminée :

$$ST = \text{Plasma } 1,00 (\text{IC à 95 \%} = [0,93-1,07]) + 0,01 \text{ ng/mL - cTnI}$$

$$ST = \text{Plasma } 1,17 (\text{IC à 95 \%} = [1,09-1,29]) - 0,19 \text{ ng/mL - CK-MB}$$

$$ST = \text{Plasma } 0,92 (\text{IC à 95 \%} = [0,83-1,04]) + 0,00 \text{ ng/mL - Myoglobine}$$

Valeurs attendues

LIMITE SUPÉRIEURE DE RÉFÉRENCE

l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac a été utilisé pour déterminer la concentration de cTnI, de CK-MB et de myoglobine à partir d'une population de 224 personnes. Cette population comprenait des personnes en apparente bonne santé. La limite supérieure de référence pour chaque analyte est de :

0,10 ng/mL (99^{ème} percentile de référence) - cTnI

8,58 ng/mL (95^{ème} percentile de référence) - CK-MB

99,84 ng/mL (95^{ème} percentile de référence) - Myoglobine

Chaque laboratoire doit établir sa propre plage de référence représentant la population du patient qui doit être évalué.

MÉTHODE DE COMPARAISON

Une étude d'équivalence a été réalisée pour comparer l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac en utilisant l'analyseur Nexus IB10 et les tests Ortho VITROS® troponine I ES, myoglobine et CK-MB.

cTnI

Un total de 253 échantillons ont été testés dans la plage allant de 0,05 à 30 ng/ml. La régression Passing-Bablok correspondait à :

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (TnI)} = 0,80 (\text{VITROS TnI ES}) + 0,00 \text{ ng/mL}$$

Coefficient de corrélation, $r = 0,92$

CK-MB

Un total de 161 échantillons ont été testés dans la plage de mesure de la CK-MB. La régression Passing-Bablok correspondait à :

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (CK-MB)} = 1,29 (\text{VITROS CK-MB}) - 0,54 \text{ ng/mL}$$

Coefficient de corrélation, $r = 0,88$

MYOGLOBINE

Un total de 117 échantillons ont été testés dans la plage de mesure de la myoglobine. La régression Passing-Bablok correspondait à :

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (Myo) = 1,00 (VITROS CK-MB) – 5,1 ng/mL

Coefficient de corrélation, $r = 0,90$

RÉFÉRENCES

1. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, on behalf of the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2012;125:e2-e220.
2. Cardiovascular Diseases, World Health Organization factsheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>
3. World Health Organization. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature. Nomenclature and criteria of diagnosis of ischemic heart disease. *Circulation* 1979;59:607-9.
4. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2525-38; *Circulation* 2007;116:2634-53; *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2173-95.
5. Newby LK, Storrow AB, Gibler B, et al. Bedside multimarker testing for risk stratification in chest pain patients – the chest pain evaluation by creatine kinase-MB, myoglobin and troponin I (CHECKMATE) study. *Circulation* 2001;103:1832-7.
6. Apple FS, Voss E, Lund L, et al. Cardiac troponin, CK-MB and myoglobin for the early detection of acute myocardial infarction and monitoring of reperfusion following thrombolytic therapy. *Clin Chim Acta* 1995;237:59-66.
7. Ohman EM, Casy C, Bengtson JR, et al. Early detection of acute myocardial infarction: Additional diagnostic information from serum concentrations of myoglobin in patients without ST elevations. *Br Heart J* 1990;63:335-8.
8. Tucker JF, Collins RA, Anderson AJ, et al. Value of serial myoglobin levels in the early diagnosis of patients admitted for acute myocardial infarction. *Ann Emerg Med* 1994;24:704-8.
9. Cairns JA, Missirrli E, Walker WH. Usefulness of serial determinations of myoglobin and creatine kinase in serum compared for assessment of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1983;29:469-73.
10. Lott JA, Abbott LB. Creatine kinase isoenzymes. *Clin Lab Med* 1986;6:547-76.
11. Mehegan JP, Tobacman LS. Cooperative interaction between troponin molecules bound to the cardiac thin filament. *J Biol Chem* 1991;266:966-72.
12. Bodor GS, Porter S, Landt Y, Ladenson JH. Development of monoclonal antibody for an assay of cardiac troponin I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clin Chem* 1992;38:2203-14.
13. Adams JE, Bodor GS, Davila-Roman VG, et al. Cardiac troponin I: a marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993;88:101-6.
14. Heidenreich PA, Alloggiamento T, Melsop K, et al. The prognostic value of troponin in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome: a meta analysis. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:478-85.
15. Morrow DA, Rifai N, Tanasjevic MJ, et al. Clinical efficacy of three assays for cardiac troponin I for risk stratification in acute coronary syndromes - a TIMI 11b substudy. *Clin Chem* 2000;46:453-60.
16. Reichlin T, Irfan A, Twerenbold R, et al. Utility of absolute and relative changes in cardiac troponin concentrations in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation* 2011;124:136-45.
17. Jaffe AS, Apple FS, Morrow A, et al. Being rational about (im)precision: a statement from the biochemistry subcommittee of the Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology Foundation/ American Heart Association/World Heart Federation Task Force for the Definition of Myocardial Infarction. *Clin Chem* 2010;56:941-3.
18. Tholen DW, Linnet K, Kondratovich M, et al. NCCLS. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline, NCCLS document EP17-A, Volume 24 Number 35, 2004.
19. McEnroe, RJ, Burnitt, MF, Powers, DM, et al. CLSI Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2, Volume 25 Number 27, 2005.
20. Tholen DW, Kallner A, Kennedy JW, et al. NCCLS. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline-Second Edition. NCCLS document EP5-A2, Volume 25 Number 27, 2004.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac Troponina I/CK-MB/Mioglobina

Per la determinazione quantitativa di
troponina I, CK-MB, mioglobina nel
sangue intero o nel plasma eparinato al litio

Legenda dei simboli

	Marchio di conformità CE
	Produttore
	Numero di catalogo
	Data di scadenza/Usare entro il
	Numero di lotto
	Presidio medico per uso diagnostico <i>in vitro</i>
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Conservare tra 2 e 8 °C
	Rappresentante autorizzato per l'Europa
	Contiene materiale sufficiente per <n> test
	Non riutilizzare
	Numero di serie
	Inserire il disco con l'etichetta rivolta verso l'alto.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac

Troponina I/CK-MB/Mioglobina

Per uso diagnostico *in vitro*

DESTINAZIONE D'USO

L'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac è un immunoassaggio rapido per diagnostica decentrata (POC) che consente la determinazione quantitativa *in vitro* della troponina cardiaca I (cTnI), della CK-MB e della mioglobina nel sangue intero e nel plasma eparinati al litio. Questo test è previsto per l'uso in combinazione con l'analizzatore Nexus IB10 e fornisce risultati quantitativi in 20 minuti.

L'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac è previsto esclusivamente per l'uso professionale e può essere usato in laboratori centrali ospedalieri e in altre strutture sanitarie quali reparti di pronto soccorso, unità di terapia intensiva e altri centri nei quali si eseguono analisi di diagnostica decentrata.

RIEPILOGO E PRESENTAZIONE DEL TEST

La sindrome coronarica acuta (ACS), comprese coronaropatia (CHD) e angina pectoris (AP), è la causa principale di morbilità e mortalità sia tra gli uomini che tra le donne, e colpisce oltre 16,0 milioni di persone negli Stati Uniti. La presentazione dell'ACS varia e il più drammatico dei sintomi è l'infarto miocardico acuto (IMA). I sintomi dell'ACS si possono sviluppare improvvisamente. Nel 2008, si sono verificati negli USA oltre 800.000 nuovi IMA.¹ A livello internazionale, secondo quanto segnalato dall'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) si sono verificati in un anno più di 7,2 milioni di decessi da CHD. A livello globale, si stima che nel 2008 17,3 milioni di decessi siano stati causati da malattia cardiovascolare.² Questi includono sia morti per CHD che per ictus.

Da oltre 30 anni, l'OMS consiglia che la diagnosi di IMA sia guidata da risultati positivi per almeno due dei tre criteri seguenti: (1) anamnesi/esame obiettivo del paziente; (2) elettrocardiogramma; (3) alterazioni nei livelli ematici dei marcatori cardiaci (proteine).³ Sebbene il marcitore cardiaco originale sia stato definito come la creatinchinasi enzimatica totale, i marcatori odierni, misurati dall'immunoassaggio, comprendono la mioglobina (Myo), la creatinfosfochinasi-MB (CK-MB) e la proteina del muscolo cardiaco striato, la troponina I (cTnI). L'anamnesi e l'esame obiettivo del paziente sono critici, ma spesso forniscono informazioni insufficienti a differenziare l'IMA da altre anomalie cardiache. In assenza di sopraslivellamenti del tratto ST ben definiti all'ECG, le misurazioni dei marcatori cardiaci sono essenziali per la diagnosi accurata di ACS.⁴

Diversi studi hanno suggerito che un pannello di tutti e tre i marcatori cardiaci, anziché uno solo, aumenta l'affidabilità di una identificazione più precoce e la stratificazione del rischio per pazienti che presentano dolore toracico.^{5,6} Ciò è dovuto alle differenze nello schema temporale del rilascio nel flusso sanguigno di vari biomarcatori cardiaci in seguito a lesioni dei miociti o morte cellulare.

MOGLOBINA

La mioglobina (Myo) è un'emoproteina legante ossigeno con peso molecolare di 17.800 dalton, che si ritrova tipicamente nei tessuti cardiaci e scheletrici. La proteina è localizzata nel citoplasma della cellula e costituisce circa il 2% della proteina totale del muscolo. Dato il peso molecolare relativamente basso e l'elevata concentrazione, è tra le prime proteine rilasciate nel sangue sistematico dopo la necrosi cellulare (morte cellulare) dei miociti cardiaci.⁷ La mioglobina si trova nel sangue a un'elevata concentrazione, all'incirca 2-3 ore dopo la lesione o la necrosi dei miociti cardiaci, con livelli che raggiungono il massimo dopo 9-12 ore.⁸

CK-MB

Nel citoplasma, la creatinchinasi (CK) catalizza la fosforilazione reversibile della creatina con ATP. La creatinchinasi sistolica esiste come molecola dimerica formata da due tipi di subunità di singoli polipeptidi. Queste due subunità si combinano per formare tre differenti isoenzimi della creatinchinasi: CK-MM, CK-BB e CK-MB. L'isoenzima CK-MM è espresso prevalentemente nel tessuto muscolo-scheletrico, mentre l'isoenzima CK-MB abbonda soprattutto nel tessuto muscolare cardiaco. L'isoenzima CK-MB viene rilasciato nel flusso sanguigno in seguito a danneggiamento o morte di tessuto cardiaco.^{9,10} Il suo sopraslivellamento viene osservato entro 4-8 ore dopo la lesione cardiaca e raggiunge le concentrazioni massime 12-24 ore dopo la comparsa dei sintomi. Al pari della mioglobina, l'isoenzima CK-MB non è specifico solo del tessuto cardiaco e si trova a concentrazioni basse nel muscolo scheletrico striato e in altri tessuti.

cTnI

La Troponina I (TnI) fa parte del complesso troponina che con la tropomiosina forma il componente principale del sistema di regolazione dell'attività dell'ATP-asi sensibile al Ca²⁺ dell'actomiosina nel muscolo striato (scheletrico e cardiaco). Il complesso troponina è costituito da tre subunità, troponina T (TnT), troponina I (TnI) e troponina C (TnC). Ciascuna subunità ha una funzione distinta con TnC come sito del legame con Ca²⁺, TnT del legame con la tropomiosina e TnI come subunità inibitoria.¹¹ Diverse isoforme di TnI esistono nel muscolo scheletrico e in quello cardiaco (rispettivamente sTnI e cTnI), con epitopi immunologici distinti che consentono la produzione di anticorpi cardiaci anti-TnI estremamente specifici.¹²

Le determinazioni cTnI sono di ausilio nella diagnosi dell'infarto miocardico (IM) e in pazienti con sindromi coronariche acute senza sopraslivellamento del tratto ST. Elevati livelli di cTnI nella sottopopolazione con NSTEMI-ACS sono correlati a un elevato rischio di mortalità, IM o maggiore probabilità di eventi ischemici che richiedono urgenti interventi di rivascolarizzazione.

Dopo la necrosi miocitaria, la cTnI viene rilasciata nella circolazione con livelli che superano il limite di riferimento superiore all'intervallo normale entro 4-6 ore. I livelli di picco vengono raggiunti dopo 12-24 ore.¹³ Questo profilo di rilascio nel sangue periferico è simile a CK-MB. Tuttavia, i livelli di CK-MB ritornano ai valori normali all'incirca dopo 72 ore, mentre i livelli di cTnI restano elevati per 5-7 giorni.

LA cTnI nella sindrome coronarica acuta

Sin dall'introduzione sul mercato dei primi saggi per la troponina I nel 1996, numerosi studi clinici hanno confermato che la cTnI è il marcatore biologico d'elezione per l'identificazione dell'ischemia e della necrosi miocitaria cardiaca.¹⁴ Anche livelli minimi di cTnI, appena sopra il 99° percentile dei livelli ottenuti da una popolazione normale di riferimento, sono indice di un maggiore rischio. Per garantire che i risultati del test siano interpretati con la massima precisione possibile, gruppi di consenso raccomandano ora unanimemente che i pazienti con dolore toracico e con bassi livelli di valori di troponina al momento dell'esame da parte del personale medico, soprattutto in assenza di ECG a conferma, siano sottoposti ad altri 2 test durante le successive 12-24 ore per determinare se il livello di cTnI sia in effetti aumentato durante le prime 24 ore.^{4,15-17}

PRINCIPIO

Il sistema di immunochimica Nexus Dx combina la chimica con la microfluidica e il flusso centrifugo per preparare rapidamente un plasma non contenente cellule, ottenuto da sangue intero, che possa successivamente essere fatto passare attraverso un canale per la reidratazione, la solubilizzazione e la miscelazione con immunoconjugati liofilizzati. Mediante una combinazione di flusso attivo e azione capillare, il test è pronto per essere misurato quantitativamente in 20 minuti con un livello di segnale ottico proporzionale alla concentrazione di analiti.

Dopo l'aggiunta del campione del paziente, l'intero test viene eseguito all'interno dell'analizzatore Nexus IB10 che controlla la temperatura del disco, nonché la sequenza del processo di analisi, il flusso centrifugo, la miscelazione, il tempo di incubazione, la misurazione del segnale finale, la quantitazione e la refertazione dei risultati. Il disco di test comprende anche un controllo interno positivo atto a garantire che il test abbia funzionato correttamente. Ogni lotto è calibrato per garantire che la variabilità da lotto a lotto sia ridotta al minimo. Informazioni relative alla calibrazione specifica del lotto e la data di scadenza sono contenute su un'etichetta con codice QR applicata su ciascun disco. Si consiglia, a determinati intervalli di tempo, di eseguire l'analisi di controlli esterni per confermare che il sistema e il lotto di test stiano funzionando entro limiti accettabili.

REAGENTI

L'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac contiene tutti i reagenti necessari per valutare i livelli di cTnI, CK-MB e mioglobina.

Per il test della cTnI, i reagenti includono: anticorpo monoclonale anti-cTnI coniugato a colorante, anticorpi polyclonali anti-cTnI coniugati a biotin e streptavidina immobilizzata presso l'area di rilevazione sul disco.

Per il test della CK-MB, i reagenti includono: anticorpo monoclonale anti-CK-MB coniugato a colorante, anticorpi polyclonali di capra anti-CK-MB coniugati a biotina e streptavidina immobilizzata presso l'area di rilevazione sul disco.

Per il test della mioglobina, i reagenti includono: anticorpo monoclonale anti-mioglobina coniugato a colorante, anticorpi polyclonali di coniglio anti-mioglobina coniugati a biotina e streptavidina immobilizzata presso l'area di rilevazione sul disco.

MATERIALI FORNITI

Ciascuna scatola contiene quanto segue:

- 10 dischi dell'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac, ciascuno confezionato singolarmente in un sacchetto di alluminio con sostanza igroscopica.
- 1 istruzioni per l'uso.

MATERIALI/APPARECCHIATURE OCCORRENTI MA NON FORNITI

1. Analizzatore Nexus IB10 - Modello n. BCA-IB10.
2. Controlli per troponina I/CK-MB/mioglobina disponibili in commercio per controllo di qualità (QC) esterno. **Contattare il distributore di zona** per i materiali consigliati per QC esterno o relativa assistenza tecnica.
3. Pistola di dosaggio a volume fisso o variabile calibrata riutilizzabile, a precisione e accuratezza elevate, in grado di erogare 500 µl di sangue intero o plasma.
4. Puntali per pipette monouso in grado di accettare ed erogare 500 µl di sangue intero o plasma.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Seguire attentamente le istruzioni per l'uso.
- Prima di analizzare i controlli o i campioni dei pazienti, assicurarsi che il software dell'analizzatore sia aggiornato alla versione più recente. Consultare il manuale Nexus IB10 per istruzioni specifiche.
- Indossare guanti monouso quando si manipolano i campioni.
- Manipolare i campioni con cautela. I campioni e i dischi di test usati devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo e smaltiti come materiali pericolosi sotto il profilo biologico, attenendosi alle normative locali.
- Lavarsi bene le mani dopo la manipolazione.
- Il risultato ottenuto dall'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac non fornisce una diagnosi definitiva e deve essere interpretato da un medico unitamente ad altri risultati di appositi test conformi alle linee guida mediche correnti e ai risultati clinici del paziente.
- Conservare il test nel sacchetto chiuso finché non si è pronti per usarlo.
- Non usare il test se il sacchetto è danneggiato o il sigillo è rotto.
- Non usare il test dopo la data di scadenza stampata sul sacchetto.
- Prima dell'uso, tenere il sacchetto chiuso a temperatura ambiente (19° - 25 °C/66° - 77 °F) per almeno 15 minuti.
- Prestare sempre attenzione alla pulizia quando si manipola il test. Evitare la contaminazione da impronte o sostanze estranee. Non contaminare l'ingresso del canale del campione.
- Non far cadere o danneggiare in altro modo il disco di test.
- Il disco di test deve essere inserito nel vassoio dell'analizzatore Nexus IB10 con l'etichetta rivolta verso l'alto immediatamente dopo l'iniezione del campione nel disco.
- Non capovolgere il disco.
- Questo è un test quantitativo; quindi, non si deve effettuare alcuna interpretazione visiva dei risultati.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac a temperature comprese tra 2° e 8 °C (35° - 46 °F) fino alla data di scadenza stampata sul sacchetto.
- L'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac nel sacchetto sigillato è stabile a temperature comprese tra 18° e 30 °C/64° - 86 °F per 30 giorni, purché non sia stata superata la data di scadenza stampata sul sacchetto.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

- L'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac è destinato all'uso con campioni di sangue intero e plasma eparinati al litio.
- Poiché le proteine cardiache sono relativamente instabili, si raccomanda di analizzare i campioni quanto prima possibile.
- I campioni di sangue devono essere analizzati entro 48 ore dal prelievo.
- I campioni di sangue intero e plasma possono essere trasportati e conservati fino a 48 ore a temperatura ambiente.
- I campioni di plasma devono essere conservati congelati a -20 °C (-4 °F) o temperature inferiori se si richiede una conservazione prolungata.
- Attendere che i campioni raggiungano la temperatura ambiente (19° - 25 °C/66° - 77 °F) prima dell'analisi.
- Per test seriali dello stesso paziente durante il periodo triage di 0–12 ore, occorre usare lo stesso tipo di campione (sangue intero o plasma).

PROCEDURA

Analizzatore Nexus IB10

Consultare il manuale d'uso dell'analizzatore Nexus IB10

Per l'installazione, l'avvio e l'uso dell'analizzatore consultare il **manuale d'uso dell'analizzatore Nexus IB10**. L'operatore deve consultare il manuale d'uso prima di usare lo strumento per acquisire dimestichezza con il corretto funzionamento e le procedure di controllo della qualità.

CONTROLLO DEL SISTEMA E CALIBRAZIONE DEI DISCHI

Ogni volta che si accende l'analizzatore Nexus IB10, viene eseguita automaticamente un'autodiagnosi. Il codice QR su ciascun disco di test contiene le informazioni per la calibrazione del disco, che l'analizzatore legge automaticamente quando esegue un test.

ESECUZIONE DEL QC CON CONTROLLI ESTERNI

Il produttore raccomanda di usare i controlli per troponina I disponibili in commercio (consultare la sezione **Materiali/apparecchiature occorrenti ma non forniti**). I controlli per troponina/CK-MB/mioglobina devono essere manipolati e preparati secondo le corrispondenti istruzioni per l'uso.

1. Togliere dal frigorifero il sacchetto chiuso e tenerlo a temperatura ambiente (19° - 25 °C/66° - 77 °F) per almeno 15 minuti prima dell'analisi.
2. Aprire il sacchetto ed estrarre il disco di test.
3. Collocare il disco di test su una superficie piana.
4. Sull'analizzatore Nexus IB10 premere **New Analysis** (Nuova analisi).
5. L'analizzatore esegue un controllo generale del sistema.
6. Immettere manualmente l'ID del controllo esterno (per l'ID si possono usare massimo 14 caratteri) o immettere l'ID del controllo esterno mediante un lettore di codici a barre.
7. Miscelare la fiala del controllo di qualità esterno capovolgendola con delicatezza diverse volte prima del campionamento.

8. Analisi del campione di controllo esterno con IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.

- Con una pipetta di precisione (fissa o regolata a 500 µl) aspirare lentamente il campione di controllo di qualità esterno ben miscelato nel puntale della pipetta.
- Con la punta della pipetta affusolata a un'angolazione di 45°, forare in corrispondenza della **X** sul punto rosso per esporre l'ingresso del canale del campione.
- Spingere lentamente il campione del controllo esterno nell'ingresso esercitando una pressione minima, ma continua, sul pistone della pipetta.
- Spingere il campione fino al primo arresto sulla pipetta, a una velocità che consenta al fluido di riempire completamente il canale ed eliminare eventuale contropressione che potrebbe causare la fuoriuscita di campione o la formazione di bolle d'aria.
- Premere **OK** sul display dell'analizzatore Nexus IB10.
- Quando il vassoio si apre, inserirvi il disco di test con il campione e premere **Run** (Esegui).
- Dopo 20 minuti, l'analizzatore Nexus IB10 visualizzerà i risultati sullo schermo.
- I risultati vengono stampati automaticamente (se selezionato durante l'impostazione), in caso contrario premere **Print** (Stampa).
- Al termine del test, analizzare e confrontare il risultato con il valore atteso riportato nelle istruzioni per l'uso del controllo esterno per il livello del controllo esterno misurato usando l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.
- Rimuovere il disco di test e gettarlo nell'apposito contenitore.
- Se il risultato del controllo esterno non rientra nell'intervallo atteso, consultare la sezione Controllo di qualità in basso.

Nota: se l'esecuzione del test viene annullata prima della visualizzazione del risultato, il disco di test non può essere riutilizzato e deve essere smaltito nel modo opportuno.

ANALISI DEI CAMPIONI DEL PAZIENTE SULL'ANALIZZATORE NEXUS IB10

1. Togliere dal frigorifero un sacchetto chiuso e tenerlo a temperatura ambiente (19° - 25 °C/66° - 77 °F) per almeno 15 minuti.
2. Aprire il sacchetto ed estrarre il disco di test.
3. Collocare il disco di test su una superficie piana.
4. Sull'analizzatore Nexus IB10 premere **New Analysis** (Nuova analisi).
5. L'analizzatore esegue un controllo generale del sistema.
6. Immettere manualmente l'ID paziente (per l'ID si possono usare massimo 14 caratteri) o immettere l'ID paziente mediante il lettore di codici a barre.
7. Prima dell'analisi, miscelare la provetta con il campione di sangue intero del paziente capovolgendola con delicatezza più volte.

8. Analisi dei campioni del paziente con IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.

- Con una pipetta di precisione (fissa o regolata a 500 µl) aspirare lentamente il campione del paziente ben miscelato nel puntale della pipetta.
- Con la punta della pipetta affusolata a un'angolazione di 45°, forare in corrispondenza della **X** sul punto rosso per esporre l'ingresso del canale del campione.
- Spingere lentamente il campione del paziente nell'ingresso esercitando una pressione minima, ma continua, sul pistone della pipetta.
- Spingere il campione fino al primo arresto sulla pipetta, a una velocità che consenta al fluido di riempire completamente il canale

ed elimini una eventuale contropressione che potrebbe causare la fuoriuscita di campione o la formazione di bolle d'aria.

- Premere **OK** sul display dell'analizzatore Nexus IB10.
- Quando il vassoio si apre, inserirvi il disco di test con il campione e premere **Run** (Esegui).
- Dopo 20 minuti, l'analizzatore Nexus IB10 visualizzerà i risultati sullo schermo.
- I risultati vengono stampati automaticamente (se selezionato durante l'impostazione), in caso contrario premere **Print** (Stampa).
- Rimuovere il disco di test e gettarlo nell'apposito contenitore.

Nota: se l'esecuzione del test viene annullata prima della visualizzazione del risultato, il disco di test non può essere riutilizzato e deve essere smaltito nel modo opportuno.

Controllo di qualità

CONTROLLI ESTERNI

La buona pratica di laboratorio prevede l'uso di controlli esterni atti a garantire il corretto funzionamento del disco di test. Prima di usare un nuovo lotto di IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac, si consiglia di confermare il funzionamento del lotto effettuando l'analisi con controlli esterni (consultare la sezione **Materiali/apparecchiature occorrenti ma non forniti**) per assicurarsi che il test produrrà il risultato corretto. La frequenza dei test di controllo di qualità deve essere determinata in base alle procedure di controllo di qualità standard dei singoli laboratori. Alla conferma dei risultati attesi, i dischi di test sono pronti per l'uso con i campioni del paziente. I controlli devono essere usati, inoltre, ogni qual volta si abbiano dubbi sulla validità dei risultati del test. Se i controlli esterni non funzionano come previsto, non usare l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac e contattare il distributore di zona per assistenza tecnica.

CONTROLLO INTERNO

Ogni IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac contiene un controllo procedurale positivo. L'analizzatore Nexus IB10 determina automaticamente la presenza di questo controllo confermando che l'analisi ha prodotto un risultato valido. Se il controllo non si forma o se l'analizzatore non lo riconosce, il risultato del test viene considerato "non valido" e occorre ripetere il test.

LIMITAZIONI

I risultati dell'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac devono essere usati in combinazione con altre informazioni cliniche e di laboratorio. Le linee guida in materia di buone pratiche cliniche universalmente accettate consigliano di prelevare campioni seriali all'inizio del periodo triage da 0 a > 12 ore.^{4,15-17}

Altre sostanze e/o altri fattori non riportati, ad es. errori tecnici o procedurali, possono interferire con il test e causare risultati non accurati.

Nexus Dx, Inc. offre prodotti idonei per l'uso previsto. Consultare la letteratura specifica, relativa al prodotto, contenente le dichiarazioni sulla destinazione d'uso di ciascun prodotto. Le dichiarazioni sul prodotto sono soggette a modifiche. Le garanzie espresse e tacite di Nexus Dx, Inc. (comprese le garanzie tacite di commerciabilità e idoneità) sono soggette al rispetto, o all'osservanza, delle istruzioni pubblicate da Nexus Dx, Inc. in relazione all'uso dei prodotti Nexus Dx, Inc. In nessun caso Nexus Dx, Inc. si riterrà responsabile per danni indiretti o consequenziali.

Per assistenza tecnica, contattare il distributore di zona.

Caratteristiche prestazionali

INTERVALLO DI MISURAZIONE

È stato dimostrato che l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac fornisce risultati misurabili a livelli di troponina I/CK-MB/mioglobina pari a:

0,05 ng/ml - 30 ng/ml - cTnI

2,0 ng/ml - 60 ng/ml - CK-MB

30,0 ng/ml - 500 ng/ml - Mioglobina

SENSIBILITÀ ANALITICA

Il LoD (Limite di rilevazione) per ciascun analita è stato determinato secondo le linee guida del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP17-A.¹⁸ La proporzione di falsi positivi (α) e di falsi negativi (β) è inferiore al 5%.

Il LoD dell'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac per ciascun analita è:

0,05 ng/ml - cTnI

2,0 ng/ml - CK-MB

30,0 ng/ml - Mioglobina

Il limite di quantitazione (LoQ) è la concentrazione minima che può essere misurata in modo riproducibile con un coefficiente totale di variazione pari a massimo il 15%. Per i 3 analiti, è stato determinato che il LoQ è il seguente:

0,10 ng/ml - cTnI

3,0 ng/ml - CK-MB

50,0 ng/ml - Mioglobina

CROSS-REATTIVITÀ E SOSTANZE INTERFERENTI

Farmaci

Sono stati analizzati i seguenti farmaci per verificare la potenziale interferenza nell'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (Tabella 1). L'elenco di farmaci comprende comuni medicinali che richiedono la prescrizione e da banco, nonché farmaci prescritti spesso in una popolazione di pazienti cardiaci. I farmaci sono stati analizzati a concentrazioni raccomandate nelle linee guida EP7-A2 approvate da CLSI 'Interference Testing in Clinical Chemistry,'¹⁹ o a concentrazioni almeno tre volte superiori alla concentrazione massima riportata dopo un dosaggio terapeutico. Non sono state osservate interferenze significative con la misurazione dell'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac per i farmaci riportati nella tabella sottostante.

Tabella 1.

Farmaco	Farmaco	Farmaco
Acetaminofene	Captopril	Nifedipina
Acido acetilsalicilico (aspirina)	Digossina	Fenitoina
Ampicillina	Dopamina	Teofillina
Acido ascorbico (vitamina C)	Eritromicina	Verapamil
Atenololo	Furosemide	
Caffeina	Metil-DOPA	

PROTEINE, PEPTIDI E SOSTANZE ENDOGENE

Sono state analizzate le seguenti proteine, peptidi e sostanze endogene per verificare l'interferenza e la cross-reattività potenziali nell'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac alla concentrazione massima della sostanza indicata (Tabella 2). Nessuna sostanza ha dimostrato significativa cross-reattività o interferenza con il metodo fornito in CLSI EP7-A2.

Tabella 2.

Sostanza	Concentrazione massima
Proteine e peptidi	
Troponina cardiaca T	1000 ng/mL
Troponina cardiaca C	1000 ng/mL
Troponina scheletrica I	250 ng/mL
CK-MM	781 ng/mL
CK-BB	5000 ng/mL
Sostanze endogene	
Albumina	2,5 g/dL
Emoglobina	0,1 g/dL
Fattore reumatoide (FR)	203 IU/mL
Creatinina	2 mg/dL
Bilirubina	2,5 mg/dL
Trigliceridi	0,5 g/dL

Sostanza		Concentrazione massima
Urea		18 mg/dL
Colesterolo		280 mg/dL
Sostanza	Analita	Concentrazione massima
	Mioglobina	400 ng/mL
Biotina	CK-MB	200 ng/mL

EFFETTO GANCIO

Non è stato osservato effetto gancio per concentrazioni fino a 500 ng/ml per cTnI, 200 ng/ml per CK-MB e 4000 ng/ml per mioglobina.

PRECISIONE

La precisione dell'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac è stata determinata utilizzando campioni nei quali cTnI, CK-MB e mioglobina sono state aggiunte a plasma umano normale a diverse concentrazioni (Tabella 3). La precisione nel corso della giornata e totale è stata ottenuta in due analisi al giorno, in replicati di 4 per ciascuna analisi a ciascun livello di concentrazione nell'arco di un periodo di 15 giorni per un numero totale di 120 ripetizioni a ciascun livello di concentrazione. I valori intra-analisi, la varianza totale e i coefficienti di variazione (CV) sono stati calcolati secondo le linee guida EP5-A2 di CLSI.²⁰

Tabella 3A.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Precisione del saggio per cTnI

Campione	Media (ng/ml)	Precisione intra-analisi		Precisione totale	
		Dev. standard (ng/ml)	CV (%)	Dev. standard (ng/ml)	CV (%)
1	0,46	0,06	12,6%	0,06	12,6%
2	0,95	0,11	12,0%	0,12	13,0%
3	4,43	0,41	9,4%	0,45	10,1%

Tabella 3B.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Precisione del saggio per CK-MB

Campione	Media (ng/ml)	Precisione intra-analisi		Precisione totale	
		Dev. standard (ng/ml)	CV (%)	Dev. standard (ng/ml)	CV (%)
1	7,13	0,64	9,0	0,73	10,3
2	13,33	1,49	11,2	1,53	11,5

Tabella 3C.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Precisione del saggio per mioglobina

Campione	Media (ng/ml)	Precisione intra-analisi		Precisione totale	
		Dev. standard (ng/ml)	CV (%)	Dev. standard (ng/ml)	CV (%)
1	106,1	11,4	10,8	12,8	12,1
2	202,7	25,6	12,7	25,6	12,7

CORRELAZIONE TRA SANGUE INTERO E PLASMA

È stato condotto uno studio di confronto nel corso del quale sono stati utilizzati campioni di sangue intero e plasma eparinati al litio. Durante la conduzione di un'analisi della regressione Passing-Bablok volta a confrontare le concentrazioni di sangue intero rispetto alle corrispondenti concentrazioni di plasma dei campioni dello stesso paziente, è stata determinata la seguente relazione:

$$\text{SANGUE INTERO} = 1,00 \text{ Plasma (IC del 95\% = [0,93-1,07])} + 0,01 \text{ ng/ml - cTnI}$$

$$\text{SANGUE INTERO} = 1,17 \text{ Plasma (IC del 95\% = [1,09-1,29])} - 0,19 \text{ ng/ml - CK-MB}$$

$$\text{SANGUE INTERO} = 0,92 \text{ Plasma (IC del 95\% = [0,83-1,04])} + 0,00 \text{ ng/ml - Mioglobina}$$

VALORI ATTESI

LIMITE DI RIFERIMENTO SUPERIORE

In una popolazione di 224 individui, IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac è stato usato per determinare i limiti di riferimento superiori della concentrazione di cTnI, CK-MB e mioglobina. Questa popolazione comprendeva individui apparentemente sani. Il limite di riferimento superiore per ciascun analita è il seguente:

0,10 ng/ml (99° percentile di riferimento) - cTnI

8,58 ng/ml (95° percentile di riferimento) - CK-MB

99,84 ng/ml (95° percentile di riferimento) - Mioglobina

Ogni laboratorio deve stabilire un intervallo di riferimento che rappresenta la popolazione di pazienti da sottoporre a valutazione presso la propria struttura.

CONFRONTO TRA METODI

È stato condotto uno studio di equivalenza tra l'IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac con l'utilizzo dell'analizzatore Nexus IB10 e i test di troponina I ES, mioglobina e CK-MB Ortho VITROS®.

cTnI

Sono stati analizzati complessivamente 253 campioni entro un intervallo di concentrazione di cTnI compreso tra 0,05 ng/ml e 30 ng/ml.

La regressione di Passing-Bablok è stata:

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (TnI)} = 0,80 \text{ (VITROS TnI ES)} + 0,00 \text{ ng/ml}$$

Coefficiente di correlazione, $r = 0,92$

CK-MB

Sono stati analizzati complessivamente 161 campioni entro l'intervallo di misurazione di CK-MB. La regressione di Passing-Bablok è stata:

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (CK-MB)} = 1,29 \text{ (VITROS CK-MB)} - 0,54 \text{ ng/ml}$$

Coefficiente di correlazione, $r = 0,88$

MIOGLOBINA

Sono stati analizzati complessivamente 117 campioni entro l'intervallo di misurazione della mioglobina. La regressione di Passing-Bablok è stata:

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (Myo)} = 1,00 \text{ (VITROS MYOG)} - 5,1 \text{ ng/ml}$$

Coefficiente di correlazione, $r = 0,90$

BIBLIOGRAFIA

1. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, on behalf of the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association. Circulation 2012;125:e2-e220.
2. Cardiovascular Diseases, World Health Organization factsheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>
3. World Health Organization. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature. Nomenclature and criteria of diagnosis of ischemic heart disease. Circulation 1979;59:607-9.
4. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. Eur Heart J 2007;28:2525-38; Circulation 2007;116:2634-53; J Am Coll Cardiol 2007;50:2173-95.
5. Newby LK, Storrow AB, Gibler B, et al. Bedside multimarker testing for risk stratification in chest pain patients – the chest pain evaluation by

- creatine kinase-MB, myoglobin and troponin I (CHECKMATE) study. *Circulation* 2001;103:1832-7.
- 6. Apple FS, Voss E, Lund L, et al. Cardiac troponin, CK-MB and myoglobin for the early detection of acute myocardial infarction and monitoring of reperfusion following thrombolytic therapy. *Clin Chim Acta* 1995;237:59-66.
 - 7. Ohman EM, Casy C, Bengston JR, et al. Early detection of acute myocardial infarction: Additional diagnostic information from serum concentrations of myoglobin in patients without ST elevations. *Br Heart J* 1990;63:335-8.
 - 8. Tucker JF, Collins RA, Anderson AJ, et al. Value of serial myoglobin levels in the early diagnosis of patients admitted for acute myocardial infarction. *Ann Emerg Med* 1994;24:704-8.
 - 9. Cairns JA, Missirrli E, Walker WH. Usefulness of serial determinations of myoglobin and creatine kinase in serum compared for assessment of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1983;29:469-73.
 - 10. Lott JA, Abbott LB. Creatine kinase isoenzymes. *Clin Lab Med* 1986;6:547-76.
 - 11. Mehegan JP, Tobacman LS. Cooperative interaction between troponin molecules bound to the cardiac thin filament. *J Biol Chem* 1991;266:966-72.
 - 12. Bodor GS, Porter S, Landt Y, Ladenson JH. Development of monoclonal antibody for an assay of cardiac troponin I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clin Chem* 1992;38:2203-14.
 - 13. Adams JE, Bodor GS, Davila-Roman VG, et al. Cardiac troponin I: a marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993;88:101-6.
 - 14. Heidenreich PA, Alloggiamento T, Melsop K, et al. The prognostic value of troponin in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome: a meta analysis. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:478-85.
 - 15. Morrow DA, Rifai N, Tanasjevic MJ, et al. Clinical efficacy of three assays for cardiac troponin I for risk stratification in acute coronary syndromes - a TIMI 11b substudy. *Clin Chem* 2000;46:453-60.
 - 16. Reichlin T, Irfan A, Twerenbold R, et al. Utility of absolute and relative changes in cardiac troponin concentrations in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation* 2011;124:136-45.
 - 17. Jaffe AS, Apple FS, Morrow A, et al. Being rational about (im)precision: a statement from the biochemistry subcommittee of the Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology Foundation/ American Heart Association/World Heart Federation Task Force for the Definition of Myocardial Infarction. *Clin Chem* 2010;56:941-3.
 - 18. Tholen DW, Linnet K, Kondratovich M, et al. NCCLS. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline, NCCLS document EP17-A, Volume 24 Number 35, 2004.
 - 19. McEnroe, RJ, Burnett, MF, Powers, DM, et al. CLSI Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2, Volume 25 Number 27, 2005.
 - 20. Tholen DW, Kallner A, Kennedy JW, et al. NCCLS. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline-Second Edition. NCCLS document EP5-A2, Volume 25 Number 27, 2004.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac Troponina I/CK-MB/Mioglobina

Para a determinação quantitativa de
Troponina I, CK-MB, Mioglobina em
sangue total e plasma humano com heparina de lítio

Explicação dos símbolos

	Marca de conformidade CE
	Fabricante
	Número de catálogo
	Data de validade/Utilizar até
	Número do lote
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>In Vitro</i>
	Consultar as instruções de utilização
	Conservar entre os 2 °C e os 8 °C
	Representante europeu autorizado
	Contém o suficiente para <n> testes
	Não reutilizar
	Número de série
	Introduzir a etiqueta do disco virada para cima

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac

Troponina I/CK-MB/Mioglobina

Para utilização no diagnóstico *In Vitro*

USO PREVISTO

O IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac é um imunoensaio médico para a determinação quantitativa *in vitro* de Troponina I cardíaca (cTnI), CK-MB e Mioglobina em sangue total e plasma com heparina de lítio. Este Teste destina-se a ser utilizado em conjunto com o Analisador Nexus IB10 e fornece resultados quantitativos em 20 minutos.

O IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac destina-se apenas a utilização profissional e pode ser utilizado em laboratórios centrais hospitalares e em outros locais de cuidados de saúde alternativos, como em serviços de urgência, unidades de cuidados críticos e outros locais onde são praticados testes em doentes.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

A síndrome coronária aguda (SCA), incluindo a doença coronária (DC) e Angina Pectoris (AP), é a principal causa de morbidade e mortalidade entre homens e mulheres, afectando mais de 16,0 milhões de pessoas nos Estados Unidos. A apresentação de SCA é variada, em que o enfarte agudo do miocárdio (EAM) é a apresentação mais dramática. Os sintomas de SCA podem desenvolver-se repentinamente. Em 2008, havia mais de 800.000 novos casos de EAM nos EUA.¹ A nível internacional, a Organização Mundial de Saúde (OMS) comunica mais de 7,2 milhões de mortes por ano devido a DC. Globalmente, estima-se que 17,3 milhões de mortes se deveram a Doença Cardiovascular em 2008.² Isto inclui morte devida a DC e AVC.

Durante mais de 30 anos, a OMS recomendou que o diagnóstico de EAM fosse orientado por resultados positivos em, pelo menos, dois dos três seguintes critérios: (1) historial do doente/exame físico; (2) electrocardiograma; (3) alterações nos níveis sanguíneos dos marcadores de proteínas cardíacas.³ Embora o marcador cardíaco original tenha sido definido como creatina quinase enzimática total, os marcadores da actualidade, conforme medidos através de imunoensaio, incluem a Mioglobina (Mio), isoforma MB de creatina quinase (CK-MB) e a proteína do músculo estriado cardíaco, Troponina I (cTnI). O historial do doente e o exame físico são essenciais, mas, frequentemente, fornece informações insuficientes para diferenciar o EAM de outras anomalias cardíacas. Na ausência de elevações do segmento ST electrocardiográficas bem definidas, as medições dos marcadores de proteínas cardíacas são essenciais para o diagnóstico exacto de SCA.⁴

Vários estudos sugeriram que um painel dos três marcadores cardíacos aumenta a fiabilidade da identificação precoce e estratificação de riscos dos doentes que apresentam dores no peito em comparação com um único marcador.^{5,6} Isto deve-se às diferenças no padrão temporal da libertação para a corrente sanguínea de vários marcadores cardíacos após uma lesão no miócito ou morte celular.

MOGLOBINA

A Mioglobina (Mio) é uma proteína heme de ligação do oxigénio com um peso molecular de 17.800 dalton, normalmente encontrada em tecidos cardíacos e esqueléticos. A proteína está localizada no citosol da célula e constitui cerca de 2% da proteína muscular total. Devido ao seu peso molecular relativamente baixo e elevada concentração, é uma das primeiras proteínas libertadas para o sangue sistémico após necrose celular do miócito cardíaco (morte celular).⁷ A Mioglobina é encontrada no sangue a uma concentração elevada aproximadamente 2-3 horas após uma lesão do miócito cardíaco ou necrose com níveis máximos após 9-12 horas.⁸

CK-MB

No citoplasma, a creatina quinase (CK) catalisa a fosforilação da criatina com ATP. A creatina quinase sistólica existe como uma molécula dimérica formada a partir de dois tipos de subunidades polipeptídicas únicas. Estas duas subunidades combinam-se para formar três isoenzimas diferentes de creatina quinase: CK-MM, CK-BB e CK-MB. A CK-MM é expressa predominantemente no tecido do músculo esquelético, enquanto a isoenzima CK-MB é mais abundante no tecido do músculo cardíaco. A CK-MB é libertada para a corrente sanguínea após lesões ou morte do tecido cardíaco.^{9,10} A sua elevação é observada entre 4 a 8 horas após uma lesão cardíaca, atingindo as concentrações máximas entre 12-24 horas após o início dos sintomas. Tal como a Mioglobina, a CK-MB não é completamente específica ao músculo cardíaco e é encontrada em baixas concentrações no músculo esquelético estriado e em outros tecidos.

cTnI

A Troponina cardíaca I (cTnI) faz parte do complexo de troponina que, em conjunto com a tropomiosina, forma o principal componente que regula a actividade ATP-ase sensível a Ca²⁺ da actomiosina no músculo estriado (esquelético e cardíaco). O complexo de troponina é composto por três subunidades, a troponina T (TnT), a troponina I (TnI) e a troponina C (TnC). Cada subunidade tem uma função distinta com a TnC como o local de ligação de Ca²⁺, a TnT como a ligação de tropomiosina e a TnI como a subunidade inibitória.¹¹ Diferentes isoformas de TnI existem nos músculos esqueléticos e cardíacos (sTnI e cTnI, respectivamente) com epitópos imunológicos distintos que permitem a produção de anticorpos TnI cardíacos extremamente específicos.¹²

As determinações de cTnI ajudam no diagnóstico de enfarte do miocárdio (EM) e doentes com síndrome coronária aguda (SCA) com a elevação de um segmento diferente do ST (NSTEMI). Níveis de cTnI elevados na subpopulação com SCA NSTEMI estão relacionados com o risco relativo de mortalidade, EM ou aumento da probabilidade de eventos isquémicos, necessitando de procedimentos de revascularização urgentes.

Após a necrose do miócito, a cTnI é libertada para a circulação com níveis superiores ao limite superior de referência normal em 4-6 horas. Os níveis máximos são atingidos após 12-24 horas.¹³ Este perfil de libertação para o sangue periférico é semelhante ao da CK-MB. No entanto, os níveis de CK-MB regressam aos valores normais em cerca de 72 horas, enquanto os níveis de cTnI podem permanecer elevados durante 5-7 dias.

cTnI em síndrome coronária aguda

Desde a introdução dos primeiros ensaios comerciais para a Troponina I em 1996, numerosos estudos clínicos confirmaram que a cTnI é biomarcador de eleição na identificação de isquemia do miócito cardíaco e necrose.¹⁴ Mesmo os níveis baixos de cTnI imediatamente acima do percentil 99 dos níveis obtidos numa população de referência normal indicam um risco acrescido. Para garantir que os resultados dos testes são interpretados com a maior exactidão possível, grupos consensuais agora recomendam unanimemente que os doentes com valores de troponina de nível reduzido aquando da apresentação, especialmente na ausência de provas de ECG confirmatórias, deverão ser testados 2 vezes adicionais durante o período subsequente de 12-24 horas para determinar se o cTnI está realmente a aumentar durante as primeiras 24 horas.^{4,15-17}

PRINCÍPIO

O sistema de imuno-química Nexus Dx combina a química com microfluidicos e o fluxo centrífugo para preparar rapidamente plasma isento de células de sangue total que pode depois ser movido através de um canal para reidratar, solubilizar e misturar com imunoconjungados desidratados e congelados. Utilizando uma combinação de fluxo activo e ação capilar, a amostra de teste está pronta para ser medida quantitativamente em 20 minutos com um nível de sinal óptico proporcional à concentração de analito.

Após a adição da amostra do doente, todo o teste é realizado no Analisador Nexus IB10 que fornece o controlo da temperatura do disco, bem como a sequência do processo de análise, o fluxo centrífugo, a mistura, o tempo de incubação, a medição do sinal final, a quantificação e a comunicação dos resultados. O disco de Teste inclui um controlo interno positivo para garantir que o teste funcionou correctamente. Cada lote é calibrado para garantir que a variabilidade de lote para lote é minimizada. A calibração específica do lote, em conjunto com as informações adicionais, tais como a data de validade do lote, está incluída numa etiqueta com código QR que é fixada a cada disco. É recomendável que os controlos externos sejam igualmente testados em intervalos de tempo apropriados para confirmar que o sistema e o lote de teste está dentro dos limites aceitáveis.

REAGENTES

O IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac contém todos os reagentes necessários para avaliar os níveis de cTnI, CK-MB e Mioglobina.

Para o Teste de cTnI, os reagentes incluem: anticorpo anti-cTnI monoclonal conjugado com corante, anticorpos anti-cTnI policlonais conjugados com biotina e estreptavidina imobilizada na área de detecção no disco.

Para o Teste de CK-MB, os reagentes incluem: anticorpo anti-CK-MB monoclonal conjugado com corante, anticorpos anti-CK-MM policlonais de caprino conjugados com biotina e estreptavidina imobilizada na área de detecção no disco.

Para o Teste de Mioglobina, os reagentes incluem: anticorpo anti-mioglobina monoclonal conjugado com corante, anticorpos anti-mioglobina de coelho policlonais conjugados com biotina e estreptavidina imobilizada na área de detecção no disco.

MATERIAIS FORNECIDOS

Cada embalagem contém o seguinte:

- 10 discos de IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac, cada um selado individualmente numa bolsa de alumínio com um dessecante.
- 1 Instruções de utilização (IU).

MATERIAIS/EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

1. Analisador Nexus IB10 - Modelo #BCA-IB10.
2. Controlos de Troponina I/CK-MB/Mioglobina disponíveis comercialmente para o Controlo de Qualidade (CQ) externo. **Contacte o Distribuidor na sua área para** obter informações sobre os materiais de CQ externos recomendados ou para obter assistência técnica relacionada.
3. Pistola de pipetas com volume variável ou fixo reutilizável e calibrada com uma elevada precisão e exactidão capaz de distribuir 500 µl de sangue total ou plasma.
4. Pontas de pipetas descartáveis capazes de aceitar e distribuir 500 µl de sangue total ou plasma.

PRECAUÇÕES E AVISOS

- Apenas para utilização no diagnóstico *in vitro*.
- Seguir cuidadosamente as Instruções de utilização.
- Antes de testar os controlos ou amostras de doentes, certifique-se de que o software do Analisador está actualizado com a última versão. Consultar o manual do Nexus IB10 para obter instruções específicas.
- Usar luvas descartáveis enquanto manusear as amostras.
- Manusear as amostras com cuidado. As amostras e os discos de Teste usados devem ser tratados como potencialmente infecciosos e devem ser eliminados como materiais biologicamente perigosos em conformidade com os regulamentos locais.
- Lavar bem as mãos após o manuseamento.
- O resultado obtido a partir do IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac não fornece um diagnóstico definitivo e deve ser interpretado por um médico em conjunto com outros resultados de testes apropriados de acordo com as orientações médicas actuais e os resultados clínicos do doente.
- Manter o Teste na bolsa selada até ao momento da utilização.
- Não utilizar o Teste se a bolsa estiver danificada ou o selo estiver quebrado.
- Não utilizar o Teste após a data de validade impressa na bolsa.
- Antes da utilização, colocar a bolsa fechada à temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) durante, pelo menos, 15 minutos.
- Prestar sempre atenção ao estado de limpeza quando manusear o Teste. Evitar qualquer contaminação das pontas dos dedos ou substâncias externas. Não contaminar a entrada do canal da amostra.
- Não deixar cair nem danificar o disco de Teste.
- O disco de Teste deve ser introduzido, com o lado da etiqueta para cima, no tabuleiro do Analisador Nexus IB10 imediatamente após a injeção da amostra no disco.
- Não virar o disco ao contrário.
- Este é um teste quantitativo, por isso, não deve ser efectuada qualquer interpretação visual dos resultados.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

- Armazenar o IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac entre 2 e 8 °C (35 a 46 °F) até se atingir a data de validade impressa na bolsa.
- O IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac na sua bolsa selada é estável entre 18 a 30 °C/64 a 86 °F durante 30 dias, considerando que a data de validade impressa na bolsa não seja ultrapassada.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

- O IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac deve ser efectuado utilizando amostras de sangue total ou plasma com heparina de lítio.
- Uma vez que as proteínas cardíacas são relativamente instáveis, é recomendável que as amostras sejam testadas o mais rapidamente possível.
- O sangue total deve ser testado num prazo de 48 horas após a colheita.
- As amostras de sangue total e plasma podem ser transportadas e armazenadas até 48 horas à temperatura ambiente.
- As amostras de plasma devem ser mantidas congeladas a -20 °C (- 4 °F) ou a uma temperatura inferior, se for necessário armazenar durante mais tempo.
- Permitir que as amostras atinjam a temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) antes da execução do teste.
- Para a realização de testes em série do mesmo doente durante o período de triagem de 0-12 horas, deve ser utilizado o mesmo tipo de amostras (sangue total ou plasma).

PROCEDIMENTO

Analisador Nexus IB10

Consultar o Manual do utilizador do Analisador Nexus IB10

Para obter dados sobre a instalação e o arranque do Analisador, bem como instruções de utilização completas, consultar o **Manual do utilizador do Analisador Nexus IB10**. O operador tem de consultar o Manual do utilizador antes de utilizar o analisador para se familiarizar com os procedimentos de operação e de controlo de qualidade apropriados.

REALIZAR A VERIFICAÇÃO DO SISTEMA E A CALIBRAÇÃO DO DISCO

Sempre que o Analisador Nexus IB10 é ligado, é realizada automaticamente uma Verificação automática. O código QR em cada disco de Teste contém informações para a calibração do disco, que o Analisador lê automaticamente quando executa um teste.

EXECUTAR O CQ COM CONTROLOS EXTERNOS

O fabricante recomenda a utilização de controlos de Troponina I/CK-MB/Mioglobina disponíveis comercialmente (consultar a secção **Materiais/equipamentos necessários mas não fornecidos**). Garantir que os Controlos de Troponina I/CK-MB/Mioglobina são manuseados e preparados em conformidade com as Instruções de utilização (IU) do controlo externo correspondente.

1. Retirar uma bolsa e Teste fechada do sistema de refrigeração e colocá-la à temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) durante, pelo menos, 15 minutos antes da realização do teste.
2. Abrir a bolsa e retirar o disco de Teste.
3. Colocar o disco de Teste numa superfície plana.
4. No Analisador Nexus IB10, premir **New Analysis** (Nova análise).
5. O Analisador efectua uma verificação geral do sistema.
6. Introduzir a ID de controlo externo manualmente (podem ser utilizados até 14 caracteres para a ID) ou introduzir a ID de controlo externo ao utilizar o leitor de código de barras.
7. Misturar o frasco de controlo de qualidade externo ao inverter suavemente o frasco várias vezes antes da amostragem.
- 8. Testar amostras de controlo externo no IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.**
 - Utilizando uma pipeta de precisão (fixada ou ajustada em 500 µl) administrar lentamente a amostra de controlo de qualidade externo bem misturada na ponta da pipeta.
 - Posicionando a ponta da pipeta afunilada a um ângulo de 45°, perfurar o X no ponto vermelho para expor a entrada do canal da amostra.
 - Administrar lentamente a amostra de controlo externa na entrada aplicando uma força mínima mas contínua sobre o êmbolo da pipeta.
 - Administrar a amostra na primeira paragem na pipeta a uma velocidade que permita que o fluido encha completamente o canal e elimine qualquer pressão de retorno que poderia resultar na produção de salpicos de amostra ou na introdução de bolhas de ar.
 - Premir **OK** no visor do Analisador Nexus IB10.
 - Quando o tabuleiro se abrir, introduzir o Disco de teste cheio no tabuleiro e premir **Run** (Executar).
 - Em 20 minutos, o Analisador Nexus IB10 irá apresentar os resultados no ecrã.
 - Os resultados serão impressos automaticamente (se seleccionado durante a Configuração) ou premir **Print** (Imprimir).
 - Quando o teste estiver concluído, deverá analisar e comparar o resultado com o Valor esperado nas Instruções de utilização do controlo externo para o nível de controlo externo, conforme medido utilizando o IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.
 - Retirar o disco de Teste e eliminar num receptáculo apropriado.
 - Se o resultado do controlo externo estiver fora do intervalo esperado, consultar a Secção Controlo de qualidade abaixo.
Nota: se o teste for cancelado antes de ser apresentado o resultado de um Teste, não é possível reutilizar o disco de Teste e deverá ser devidamente eliminado.

TESTAR AMOSTRAS DE DOENTES NO ANALISADOR NEXUS IB10

1. Retirar uma bolsa de Teste fechada do sistema de refrigeração e colocá-la à temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) durante, pelo menos, 15 minutos.
2. Abrir a bolsa e retirar o disco de Teste.
3. Colocar o disco de Teste numa superfície plana.
4. No Analisador Nexus IB10, premir **New Analysis** (Nova análise).
5. O Analisador efectua uma verificação geral do sistema.
6. Introduzir a ID de doente manualmente (podem ser utilizados até 14 caracteres para a ID) ou introduzir a ID de doente ao utilizar o leitor de código de barras.
7. Misturar o tubo de amostra do doente de sangue total ao inverter suavemente o tubo várias vezes antes da realização do teste.
- 8. Testar amostras de doentes no IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.**
 - Utilizando uma pipeta de precisão (fixada ou ajustada em 500 µl), administrar lentamente a amostra do doente bem misturada

na ponta da pipeta.

- Posicionando a ponta da pipeta afunilada a um ângulo de 45°, perfurar o X no ponto vermelho para expor a entrada do canal da amostra.
- Administrar lentamente a amostra do doente na entrada aplicando uma força mínima mas contínua sobre o êmbolo da pipeta.
- Administrar a amostra na primeira paragem na pipeta a uma velocidade que permita que o fluido encha completamente o canal e elimine qualquer pressão de retorno que poderia resultar na produção de salpicos de amostra ou na introdução de bolhas de ar.
- Premir **OK** no visor do Analisador Nexus IB10.
- Quando o tabuleiro se abrir, introduzir o Disco de teste cheio no tabuleiro e premir **Run** (Executar).
- Em 20 minutos, o Analisador Nexus IB10 irá apresentar os resultados no ecrã.
- Os resultados serão impressos automaticamente (se seleccionado durante a Configuração) ou premir **Print** (Imprimir).
- Retirar o disco de Teste e eliminar num receptáculo apropriado.

Nota: se o teste for cancelado antes de ser apresentado o resultado de um teste, não é possível reutilizar o disco de Teste e deverá ser devidamente eliminado.

Controlo de qualidade

CONTROLOS EXTERNOS

Uma boa prática laboratorial inclui a utilização de controlos externos para garantir a execução adequada do teste. É recomendável que antes de utilizar um novo lote de IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac, a execução do lote seja confirmada ao testar com controlos externos (consultar a secção **Materiais/equipamentos necessários mas não fornecidos**) para garantir que o teste apresenta o resultado correcto. A frequência dos testes de controlo de qualidade deve ser determinada em conformidade com os procedimentos individuais de controlo de qualidade padrão do laboratório. Após a confirmação dos resultados esperados, os discos de Teste estão prontos para utilizar com as amostras de doentes.

Os controlos devem igualmente ser utilizados sempre que a validade dos resultados dos testes for questionável. Se os controlos externos não tiverem o desempenho esperado, não utilizar o IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac e contactar o Distribuidor na sua área para obter Assistência técnica.

CONTROLO INTERNO

Cada IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac apresenta um controlo de procedimento interno incorporado. O Analisador Nexus IB10 determina automaticamente a presença desta linha de controlo confirmando, assim, que a execução do teste apresentou um resultado válido. Se o controlo não se formar ou não for reconhecido pelo Analisador, o resultado de teste é considerado "inválido" e é necessário repetir o teste.

LIMITAÇÕES

Os resultados do IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac devem ser utilizados em conjunto com outras informações laboratoriais e clínicas disponíveis. As directrizes aceites universalmente referentes a uma Boa prática clínica recomendam a colheita de amostras em série durante o período de triagem precoce de 0 a > 12 horas.^{4,15-17}

Outras substâncias e/ou factores não listados, por exemplo, erros técnicos ou referentes aos procedimentos, podem interferir com o teste e causar resultados imprecisos.

A Nexus Dx, Inc. disponibiliza os produtos para o seu uso previsto. Consultar o manual do produto específico para observar as declarações de utilização prevista para cada produto. As afirmações sobre os produtos estão sujeitas a alteração. As garantias expressas e implícitas da Nexus Dx, Inc. (incluindo as garantias implícitas de comercialização e adequação) dependem do cumprimento ou observância das direcções publicadas da Nexus Dx, Inc. em relação à utilização dos produtos da Nexus Dx, Inc. Em nenhuma circunstância, será a Nexus Dx, Inc. responsável por quaisquer danos indirectos ou consequenciais.

Para obter Assistência técnica, consultar o seu Distribuidor local.

Características de desempenho

INTERVALO DE MEDAÇÃO

O IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac demonstrou fornecer resultados mensuráveis em níveis de Troponina I/CK-MB/Mioglobina de:

0,05 ng/ml - 30 ng/ml - cTnI

2,0 ng/ml - 60 ng/ml - CK-MB

30,0 ng/ml - 500 ng/ml - Mioglobina

SENSIBILIDADE ANALÍTICA

O limite de detecção para cada analito foi determinado de acordo com a Directriz EP17-A do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).¹⁸

A proporção de falsos positivos (α) e falsos negativos (β) é inferior a 5%.

O limite de detecção do IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac para cada analito é de:

0,05 ng/mL - cTnI

2,0 ng/mL - CK-MB

30,0 ng/ml - Mioglobina

O limite de quantificação é a concentração mais baixa que pode ser medida de forma reproduzível com um coeficiente de variação total de no máximo 15%. Para os 3 analitos, determinou-se que o limite de quantificação é de:

0,10 ng/mL - cTnI

3,0 ng/mL - CK-MB

50,0 ng/ml - Mioglobina

REACTIVIDADE CRUZADA E SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

Fármacos

Os fármacos que se seguiram foram testados quanto à sua potencial interferência no IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (Tabela 1). A lista de fármacos inclui os medicamentos prescritos e de receita livre mais comuns, bem como os medicamentos prescritos frequentemente numa população de doentes cardíacos. Os fármacos foram testados em concentrações recomendadas na Directriz EP7-A2 aprovada do CLSI 'Interference Testing in Clinical Chemistry'¹⁹, ou, pelo menos, três vezes a concentração mais elevada após uma dose terapêutica. Não foi observada qualquer interferência significativa com a medição do IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac para os fármacos listados na tabela abaixo.

Tabela 1.

Fármaco	Fármaco	Fármaco
Acetaminofeno	Captopril	Nifedipina
Ácido acetilsalicílico (aspirina)	Digoxina	Fenitoína
Ampicilina	Dopamina	Teofilina
Ácido ascórbico (vitamina C)	Eritromicina	Verapamil
Atenolol	Furosemida	
Cafeína	Metildopa	

PROTEÍNAS, PÉPTIDOS E SUBSTÂNCIAS ENDÓGENAS

As seguintes proteínas, péptidos e substâncias endógenas foram testados quanto à potencial reactividade cruzada e interferência no IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac na concentração máxima da substância indicada (Tabela 2). Nenhuma substância demonstrou uma reactividade cruzada ou interferência significativa utilizando o método fornecido na directriz EP7-A2 do CLSI.

Tabela 2.

Substância	Concentração máxima
Proteínas e péptidos	
Troponina cardíaca T	1000 ng/mL
Troponina cardíaca C	1000 ng/mL
Troponina esquelética I	250 ng/mL
CKMM	781 ng/mL
CKBB	5000 ng/mL

Substância		Concentração máxima
Substâncias endógenas		
Albumina		2,5 g/dL
Hemoglobina		0,1 g/dL
Factor reumatóide (RF)		203 IU/mL
Creatinina		2 mg/dL
Bilirrubina		2,5 mg/dL
Triglicéridos		0,5 g/dL
Ureia		18 mg/dL
Colesterol		280 mg/dL
Substância	Analito	Concentração máxima
Biotina	Mioglobina	400 ng/mL
	CK-MB	200 ng/mL

EFEITO DE PROZONA

Não foi observado qualquer efeito prozona em dose elevada para concentrações até 500 ng/ml para cTnI, 200 ng/ml para CK-MB e 4000 ng/ml para Mioglobina.

PRECISÃO

A precisão do IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac foi determinada utilizando amostras onde cTnI, CK-MB e Mioglobina foram adicionados ao plasma humano normal em várias concentrações (Tabela 3). A precisão intra-dias e a precisão total foram realizadas em duas execuções por dia, em réplicas de 4 por execução em cada nível de concentração ao longo de um período de 15 dias para um número total de repetições de 120 em cada nível de concentração. A variância intra-execução, a variância total e os coeficientes de variação (CVs) foram calculados em conformidade com a Directriz EP5-A2 do CLSI.²⁰

Tabela 3A.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Precisão do ensaio para cTnI

Amostra	Média (ng/ml)	Precisão intra-execução		Precisão total	
		Desvio padrão (ng/ml)	CV%	Desvio padrão (ng/ml)	CV%
1	0,46	0,06	12,6%	0,06	12,6%
2	0,95	0,11	12,0%	0,12	13,0%
3	4,43	0,41	9,4%	0,45	10,1%

Tabela 3B.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Precisão do ensaio para CK-MB

Amostra	Média (ng/ml)	Precisão intra-execução		Precisão total	
		Desvio padrão (ng/ml)	CV%	Desvio padrão (ng/ml)	CV%
1	7,13	0,64	9,0	0,73	10,3
2	13,33	1,49	11,2	1,53	11,5

Tabela 3C.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Precisão do ensaio para Mioglobina

Amostra	Média (ng/ml)	Precisão intra-execução		Precisão total	
		Desvio padrão (ng/ml)	CV%	Desvio padrão (ng/ml)	CV%
1	106,1	11,4	10,8	12,8	12,1
2	202,7	25,6	12,7	25,6	12,7

CORRELAÇÃO ENTRE SANGUE TOTAL vs. PLASMA

Foi efectuado um estudo de comparação utilizando amostras de sangue total e plasma com heparina de lítio. Quando se realiza uma análise de regressão de Passing-Bablok comparando as concentrações de sangue total em relação às concentrações de plasma correspondentes a partir das mesmas amostras do doente, determinou-se a seguinte relação:

$$\text{Sangue total} = 1,00 \text{ Plasma (95% C.I. = [0,93-1,07])} + 0,01 \text{ ng/ml - cTnI}$$

$$\text{Sangue total} = 1,17 \text{ Plasma (95% C.I. = [1,09-1,29])} - 0,19 \text{ ng/ml - CK-MB}$$

$$\text{Sangue total} = 0,92 \text{ Plasma (95% C.I. = [0,83-1,04])} + 0,00 \text{ ng/ml - Mioglobina}$$

Valores esperados

LIMITE DE REFERÊNCIA SUPERIOR

Numa população de 224 indivíduos, o IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac foi utilizado para determinar os limites de referência superiores de concentração de cTnI, CK-MB e Mioglobina. Esta população incluiu indivíduos aparentemente saudáveis. Os limites de referência superiores para cada analito é de:

0,10 ng/ml (percentil de referência 99) - cTnI

8,58 ng/ml (percentil de referência 95) - CK-MB

99,84 ng/ml (percentil de referência 95) - Mioglobina

Cada laboratório deve estabelecer um intervalo de referência que represente a população de doentes que se pretende avaliar nos respectivos laboratórios.

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS

Foi efectuado um estudo de equivalência entre o IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac utilizando o Analisador Nexus IB10 e os Testes ES de Troponina I, Mioglobina e CK-MB Ortho VITROS®.

cTnI

Um total de 253 amostras foi testado dentro de um intervalo de concentração de cTnI de 0,05 ng/ml a 30 ng/ml. A regressão de Passing-Bablok foi:

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (TnI)} = 0,80 \text{ (VITROS TnI ES)} + 0,00 \text{ ng/ml}$$

Coeficiente de correlação, $r = 0,92$

CK-MB

Um total de 161 amostras foi testado dentro do intervalo de medição de CK-MB. A regressão de Passing-Bablok foi:

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (CK-MB)} = 1,29 \text{ (VITROS CK-MB)} - 0,54 \text{ ng/ml}$$

Coeficiente de correlação, $r = 0,88$

MIOGLOBINA

Um total de 117 amostras foi testado dentro do intervalo de medição de Mioglobina. A regressão de Passing-Bablok foi:

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (Mio)} = 1,00 \text{ (VITROS MIOG)} - 5,1 \text{ ng/ml}$$

Coeficiente de correlação, $r = 0,90$

REFERÊNCIAS

1. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, on behalf of the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2012;125:e2-e220.
2. Cardiovascular Diseases, World Health Organization factsheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>
3. World Health Organization. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature. Nomenclature and criteria of diagnosis of ischemic heart disease. *Circulation* 1979;59:607-9.
4. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2525-38; *Circulation* 2007;116:2634-53; *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2173-95.
5. Newby LK, Storrow AB, Gibler B, et al. Bedside multimarker testing for risk stratification in chest pain patients – the chest pain evaluation by creatine kinase-MB, myoglobin and troponin I (CHECKMATE) study. *Circulation* 2001;103:1832-7.
6. Apple FS, Voss E, Lund L, et al. Cardiac troponin, CK-MB and myoglobin for the early detection of acute myocardial infarction and monitoring of reperfusion following thrombolytic therapy. *Clin Chim Acta* 1995;237:59-66.
7. Ohman EM, Casy C, Bengtson JR, et al. Early detection of acute myocardial infarction: Additional diagnostic information from serum concentrations of myoglobin in patients without ST elevations. *Br Heart J* 1990;63:335-8.
8. Tucker JF, Collins RA, Anderson AJ, et al. Value of serial myoglobin levels in the early diagnosis of patients admitted for acute myocardial infarction. *Ann Emerg Med* 1994;24:704-8.
9. Cairns JA, Missirris E, Walker WH. Usefulness of serial determinations of myoglobin and creatine kinase in serum compared for assessment of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1983;29:469-73.
10. Lott JA, Abbott LB. Creatine kinase isoenzymes. *Clin Lab Med* 1986;6:547-76.
11. Mehegan JP, Tobacman LS. Cooperative interaction between troponin molecules bound to the cardiac thin filament. *J Biol Chem* 1991;266:966-72.
12. Bodor GS, Porter S, Landt Y, Ladenson JH. Development of monoclonal antibody for an assay of cardiac troponin I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clin Chem* 1992;38:2203-14.
13. Adams JE, Bodor GS, Davila-Roman VG, et al. Cardiac troponin I: a marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993;88:101-6.
14. Heidenreich PA, Alloggiamento T, Melsop K, et al. The prognostic value of troponin in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome: a meta analysis. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:478-85.
15. Morrow DA, Rifai N, Tanasjevic MJ, et al. Clinical efficacy of three assays for cardiac troponin I for risk stratification in acute coronary syndromes - a TIMI 11b substudy. *Clin Chem* 2000;46:453-60.
16. Reichlin T, Irfan A, Twerenbold R, et al. Utility of absolute and relative changes in cardiac troponin concentrations in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation* 2011;124:136-45.
17. Jaffe AS, Apple FS, Morrow A, et al. Being rational about (im)precision: a statement from the biochemistry subcommittee of the Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology Foundation/ American Heart Association/World Heart Federation Task Force for the Definition of Myocardial Infarction. *Clin Chem* 2010;56:941-3.
18. Tholen DW, Linnet K, Kondratovich M, et al. NCCLS. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline, NCCLS document EP17-A, Volume 24 Number 35, 2004.
19. McEnroe, RJ, Burnett, MF, Powers, DM, et al. CLSI Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2, Volume 25 Number 27, 2005.
20. Tholen DW, Kallner A, Kennedy JW, et al. NCCLS. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline-Second Edition. NCCLS document EP5-A2, Volume 25 Number 27, 2004.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac

Troponina I/CK-MB/Mioglobina

Para la determinación cuantitativa de
la troponina I, CK-MB, mioglobina en
sangre total y plasma humano con heparinade litio

Explicación de los símbolos

	Marcado CE de conformidad
	Fabricante
	Número de catálogo
	Fecha de caducidad / Usar antes de
	Número de lote
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Consulte las instrucciones de uso
	Conservar entre 2 °C y 8 °C
	Representante europeo autorizado
	Contenido suficiente para <n> pruebas
	No volver a usar
	Número de serie
	Insertar el lado del disco con la etiqueta hacia arriba.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac

Troponina I/CK-MB/Mioglobina

Para uso diagnóstico *in vitro*

USO ESPECÍFICO

El IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac es un inmunoensayo rápido realizado en el centro de atención médica (CAM) para la determinación cuantitativa *in vitro* de troponina I cardíaca (cTnI), CK-MB y mioglobina en sangre total y plasma heparinizados con litio. Esta prueba está destinada para su uso en conjunción con el analizador Nexus IB10 y proporciona resultados cuantitativos en 20 minutos.

El IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac está diseñado para uso profesional y solo puede ser utilizada en los laboratorios centrales de los hospitales y en los centros de atención alternativos, tales como los servicios de urgencias, unidades de cuidados intensivos y demás lugares donde se practiquen pruebas a la cabecera del paciente.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El síndrome coronario agudo (SCA), incluyendo la enfermedad coronaria (EC) y la angina de pecho (AP), es la principal causa de morbilidad y mortalidad entre los hombres y las mujeres, afectando a más de 16,0 millones de personas en los Estados Unidos. El cuadro clínico del SCA es variado, aunque a menudo el más dramático suele ser el infarto agudo de miocardio (IAM). Los síntomas del SCA pueden evolucionar súbitamente. En 2008, hubo más de 800.000 nuevos casos de IAM en EE. UU.¹ A nivel internacional, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta más de 7,2 millones de muertes al año por enfermedades del corazón. A nivel mundial se estima que se produjeron 17,3 millones de muertes a causa de enfermedades cardiovasculares en 2008.² Esta cifra incluye muertes por enfermedades del corazón y por derrame cerebral.

Durante más de 30 años, la OMS ha recomendado que el diagnóstico del IAM se guíe por los resultados positivos en al menos dos de los tres criterios siguientes: (1) historial médico/examen físico del paciente, (2) electrocardiograma, (3) cambios en los niveles sanguíneos de marcadores de proteínas cardíacas.³ Aunque el marcador cardíaco inicial se definió como la creatina quinasa enzimática total, los marcadores actuales medidos por inmunoensayo, incluyen mioglobina (mio), isoforma de creatina quinasa MB (CK-MB) y proteína del músculo cardíaco estriado, troponina I (cTnI). El historial médico y el examen físico del paciente son fundamentales, pero a menudo proporcionan información insuficiente para diferenciar el IAM de otras anomalías cardíacas. En ausencia de elevaciones electrocardiográficas del segmento ST bien definidas, las mediciones de marcadores de proteínas cardíacas son esenciales para el diagnóstico preciso del SCA.⁴

Varios estudios han sugerido que un panel de los tres marcadores cardíacos mejora la fiabilidad de la identificación precoz y la estratificación de riesgos de los pacientes con dolor torácico, en comparación con la utilización de un solo marcador.^{5,6} Esto es debido a las diferencias en el patrón temporal de la liberación en el torrente sanguíneo de diversos biomarcadores cardíacos después de una muerte celular o lesión de miocitos.

MOGLOBINA

La mioglobina (Mio) es una proteína con un grupo hemo que permite la unión del oxígeno, con un peso molecular de 17.800 Da y que, por lo general, se encuentra en los tejidos cardíaco y esquelético. La proteína se localiza en el citosol de la célula y constituye aproximadamente el 2% de las proteínas totales del músculo. Debido a su peso molecular relativamente bajo y a su alta concentración, se encuentra entre las primeras proteínas liberadas a la sangre sistémica al producirse la necrosis celular de miocitos cardíacos (muerte celular).⁷ La mioglobina se detecta en la sangre en una concentración elevada, aproximadamente 2-3 horas tras la necrosis o lesión de los miocitos cardíacos, presentando niveles pico tras 9-12 horas.⁸

CK-MB

En el citoplasma, la creatina quinasa (CK) cataliza la fosforilación reversible de la creatina con ATP. La creatina quinasa sistólica existe en forma de una molécula dimérica formada por dos tipos de subunidades de un solo polipéptido. Estas dos subunidades se combinan para formar tres isoenzimas diferentes de creatina quinasa: CK-MM, CK-BB y CK-MB. La isoenzima CK-MM se expresa predominantemente en el tejido del músculo esquelético, mientras que la isoenzima CK-MB es más abundante en el tejido del músculo cardíaco. La CK-MB se libera en el torrente sanguíneo al producirse una lesión o la muerte del tejido cardíaco.^{9,10} Su elevación se observa dentro de un período de 4 a 8 horas tras la lesión cardíaca, alcanzando concentraciones máximas a las 12-24 horas tras la aparición de los síntomas. Al igual que la mioglobina, la CK-MB no es exclusiva al tejido cardíaco y se encuentra en bajas concentraciones en el músculo estriado esquelético y en otros tejidos.

cTnI

La troponina I (cTnI) forma parte del complejo de la troponina que, junto con la tropomiosina, constituye el componente principal que regula la actividad de la ATPasa sensible al Ca²⁺ de la actomiosina en el músculo estriado (esquelético y cardíaco). El complejo de la troponina se compone

de tres subunidades: troponina T (TnT), troponina I (TnI) y troponina C (TnC). Cada subunidad tiene una función distinta: la TnC es el lugar de unión del Ca²⁺, la TnT permite la unión de la tropomiosina, y la TnI es la subunidad inhibidora.¹¹ Existen diferentes isoformas de TnI en los músculos esqueléticos y cardíacos (sTnI y cTnI, respectivamente) con epítopenos inmunológicos distintos que permiten la producción de anticuerpos cardíacos TnI extremadamente específicos.¹²

Las determinaciones de la cTnI sirven de ayuda en el diagnóstico del infarto de miocardio (IM) y de los pacientes con síndrome coronarios agudo (SCA) sin elevación del segmento ST (IMSEST). Los niveles elevados de cTnI en la subpoblación con SCA IMSEST están correlacionados con el riesgo relativo de mortalidad, infarto de miocardio o una mayor probabilidad de episodios isquémicos, que requieren la aplicación de intervenciones de revascularización de urgencia.

Tras la necrosis de miocitos, se libera cTnI en el torrente sanguíneo, llegando a niveles que exceden el límite de referencia superior con respecto al nivel normal, tras 4-6 horas. Los niveles pico se alcanza después de 12-24 horas.¹³ Este perfil de liberación en la sangre periférica es similar al de CK-MB. Sin embargo, los niveles de CK-MB vuelven a los valores normales tras aproximadamente 72 horas, mientras que los niveles de cTnI pueden permanecer elevados durante 5-7 días.

La cTnI en el síndrome coronario agudo

Desde la introducción de los primeros ensayos comerciales para la troponina I en 1996, numerosos estudios clínicos han confirmado que la cTnI es el biomarcador preferente en la identificación de la isquemia y la necrosis de los miocitos cardíacos.¹⁴ La presencia de incluso niveles bajos de cTnI justo por encima del percentil 99 de los niveles obtenidos en una población de referencia normal indican un mayor riesgo. Para asegurar que los resultados de las pruebas sean interpretados con la mayor precisión posible, los grupos de consenso recomiendan ahora unánimemente que los pacientes con bajos niveles de troponina en el momento de la presentación, especialmente en ausencia de pruebas confirmatorias, se sometan a la prueba 2 veces más durante el período subsiguiente de 12-24 horas para determinar si el nivel de cTnI sube durante las primeras 24 horas en el momento de la presentación del paciente con síntomas de dolor en el pecho ante el personal médico.^{4,15-17}

PRINCIPIO

El disco de inmunoquímica de Nexus Dx combina la química con la microfluídica y el flujo centrífugo para preparar rápidamente un plasma libre de células a partir de sangre total, que posteriormente se puede movilizar a través de un canal para rehidratar, solubilizar y mezclar con inmunoconjungados liofilizados. Utilizando una combinación de flujo activo y la acción capilar, la muestra de la prueba está lista para ser medida cuantitativamente en 20 minutos con un nivel de señal óptica proporcional a la concentración del (de los) analito(s).

Después de la adición de la muestra del paciente, la totalidad de la prueba se realiza en el analizador Nexus IB10, el cual proporciona control de la temperatura del disco, así como la secuencia del proceso de análisis, flujo centrífugo, mezcla, tiempo de incubación, medición de la señal final, cuantificación y producción de informes de los resultados. El disco de prueba incluye un control positivo interno para asegurar que la prueba ha funcionado correctamente. Cada lote está calibrado para garantizar que el nivel de variaciones entre lotes se reduzca al mínimo. La información específica sobre la calibración de los lotes, además de información adicional como la fecha de vencimiento de cada lote está incluida en una etiqueta de código QR colocada en cada disco. Se recomienda probar los controles externos a intervalos de tiempo apropiados para confirmar que el rendimiento del sistema y del lote de la prueba está dentro de límites aceptables.

REACTIVOS

El IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac contiene todos los reactivos necesarios para evaluar los niveles de cTnI, CK-MB y mioglobina.

Para la Prueba de cTnI, los reactivos incluyen: anticuerpo anti-cTnI monoclonal conjugado con colorante, anticuerpos anti-cTnI policlonales conjugados con biotina y estreptavidina inmovilizada en la zona de detección del disco.

Para la Prueba de CK-MB, los reactivos incluyen: anticuerpo anti-CK-MB monoclonal conjugado con colorante, anticuerpos anti-CK-MM policlonales caprinos conjugados con biotina y estreptavidina inmovilizada en la zona de detección del disco.

Para la Prueba de mioglobina, los reactivos incluyen: anticuerpo anti-mioglobina monoclonal conjugado con colorante, anticuerpos anti-mioglobina policlonales de conejo conjugados con biotina y estreptavidina inmovilizada en la zona de detección del disco.

MATERIALES PROVISTOS

Cada caja contiene lo siguiente:

- 10 discos de IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac, cada uno sellado individualmente en una bolsa de aluminio con un desecante.
- 1 Instrucciones de uso (IFU).

MATERIALES Y EQUIPOS NECESARIOS, PERO NO INCLUIDOS

1. Analizador Nexus IB10 - Modelo #BCA-IB10.
2. Controles de troponina I/CK-MB/mioglobina disponibles en el mercado para el control de calidad (QC) externo. **Póngase en contacto con el distribuidor en su área** para obtener materiales recomendados de control de calidad externo o asistencia técnica relacionada.
3. Pistola de pipeta calibrada reutilizable de volumen fijo o variable, de alta precisión y exactitud, capaz de suministrar 500 µL de sangre total o de plasma.
4. Puntas de pipeta desechables capaces de recibir y suministrar 500 uL de sangre total o de plasma.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- Exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*.
- Siga cuidadosamente las instrucciones de uso.
- Antes de analizar los controles o las muestras de paciente, asegúrese de que el software del analizador está actualizado con la última versión. Consulte el manual de Nexus IB10 para ver las instrucciones específicas.
- Use guantes desechables durante la manipulación de muestras.
- Manipule con cuidado las muestras. Las muestras y los discos de prueba usados deben ser tratados como objetos potencialmente infecciosos y deben ser desechados como material de riesgo biológico, de acuerdo a las regulaciones locales.
- Lávese bien las manos después de la manipulación.
- El resultado obtenido del IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac no proporciona un diagnóstico definitivo y debe ser interpretado por un médico, en conjunto con otras pruebas de laboratorio pertinentes, de conformidad con las recomendaciones médicas actuales y con los datos clínicos del paciente.
- Mantenga la prueba en la bolsa sellada hasta que esté listo para su uso.
- No utilice la prueba si la bolsa está dañada o si el sello está roto.
- No utilice la prueba después de la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
- Antes de usarla, ponga la bolsa sin abrir a temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) durante al menos 15 minutos.
- Siempre preste atención a la limpieza durante el manejo de la prueba. Evite toda contaminación de huellas digitales y sustancias extrañas. No contamine el canal de entrada de la muestra.
- No deje caer ni dañe el disco de prueba.
- El disco de prueba debe ser insertado con el lado de la etiqueta hacia arriba en la bandeja del analizador Nexus IB10 inmediatamente después de inyectar la muestra en el disco.
- No le dé la vuelta al disco.
- Esta es una prueba cuantitativa; por consiguiente, no debe realizarse ninguna interpretación visual de los resultados.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

- Guarde el IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac a una temperatura entre 2 y 8 °C (35 a 46 °F) hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
- El IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac en su bolsa sellada es estable a una temperatura de 18 a 30 °C/64 a 86 °F durante 30 días, siempre y cuando no se supere la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

- El IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac debe realizarse usando muestras de sangre total o plasma heparinizadas con litio.
- Dado que las proteínas cardíacas son relativamente inestables, se recomienda realizar la prueba de las muestras frescas tan pronto como sea posible.
- La sangre total debe analizarse dentro de las 48 horas posteriores a su recolección.
- Las muestras de sangre y de plasma pueden transportarse y almacenarse hasta un máximo de 48 horas a temperatura ambiente.
- Las muestras de plasma deben mantenerse congeladas a -20 °C (-4 °F) o a una temperatura inferior si se requiere más tiempo de almacenamiento.
- Espere hasta que las muestras alcancen la temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) antes de realizar la prueba.
- Para realizar pruebas en serie del mismo paciente durante el período de evaluación de 0-12 horas, se debe utilizar el mismo tipo de muestra (sangre total o plasma).

PROCEDIMIENTO

Analizador Nexus IB10

Consulte el manual del usuario del analizador Nexus IB10

Para obtener las instrucciones completas sobre la instalación, la puesta en marcha y uso del analizador, consulte el **manual del usuario del analizador Nexus IB10**. El operador debe consultar el manual del usuario antes de su uso para familiarizarse con el funcionamiento y los procedimientos de control de calidad adecuados.

COMPROBACIÓN DEL SISTEMA Y CALIBRACIÓN DEL DISCO

Cada vez que se enciende el analizador Nexus IB10, se realiza automáticamente un autochequeo. El código QR en cada disco de prueba contiene información para la calibración del disco que el analizador lee automáticamente cuando se ejecuta una prueba.

EJECUCIÓN DE CONTROL DE CALIDAD CON CONTROLES EXTERNOS

El fabricante recomienda el uso de controles de troponina I/CK-MB/mioglobina disponibles en el mercado (por favor consulte la sección de **Materiales y equipos necesarios, pero no incluidos**). Asegúrese de que los controles de troponina I/CK-MB/mioglobina sean manipulados y preparados de acuerdo con las instrucciones de uso (IFU) correspondientes.

1. Saque una bolsa de prueba cerrada de la cámara de refrigeración y póngala a temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) durante al menos 15 minutos antes de realizar la prueba.
2. Abra la bolsa y saque el disco de prueba.
3. Coloque el disco de prueba sobre una superficie plana.
4. Pulse **New Analysis** (Nuevo análisis) en el analizador Nexus IB10.
5. El analizador llevará a cabo una comprobación general del sistema.
6. Introduzca el ID de control externo de forma manual (se puede utilizar hasta 14 caracteres para la identificación) o introduzca el ID de control externo mediante el uso del escáner de código de barras.
7. Mezcle el vial de control de calidad externo dándole la vuelta varias veces antes de analizar la muestra.
8. **Análisis de la muestra de control externo con el IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.**
 - Usando una pipeta de precisión (fija o ajustada a 500 µL), extraiga lentamente una muestra bien mezclada de control de calidad externo, al interior de la punta de la pipeta.
 - Usando la punta de pipeta cónica, perfore la X en el punto rojo para exponer el canal de entrada de la muestra.
 - Exprima lentamente la muestra de control externo al interior de la entrada, aplicando una fuerza mínima pero continua sobre el émbolo de la pipeta.
 - Exprima la muestra al primer tope de la pipeta, a una velocidad que permita que el fluido llene completamente el canal y elimine cualquier presión de retorno que pudiera causar salpicaduras de la muestra o la introducción de burbujas de aire.
 - Pulse **OK** (Aceptar) en la pantalla del analizador Nexus IB10.
 - Cuando se abra la bandeja, inserte el disco de prueba cargado en la bandeja y pulse **Run** (Ejecutar).
 - En 20 minutos, el analizador Nexus IB10 mostrará los resultados en la pantalla.
 - Los resultados se imprimirán automáticamente (si se selecciona esta opción durante el proceso de configuración) o pulsando **Print** (Imprimir).
 - Cuando se complete la prueba, analice y compare el resultado con el valor esperado indicado en las instrucciones de uso del control externo correspondientes al nivel de control externo medido por medio del disco del IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.
 - Retire y deseche el disco de prueba en un recipiente apropiado.
 - Si el resultado del control externo está fuera del rango esperado, consulte la sección de Control de calidad a continuación.
Nota: Si la prueba se cancela antes de que genere un resultado, el disco de prueba no puede ser reutilizado y debe ser desecharlo apropiadamente.

ANÁLISIS DE MUESTRAS DE PACIENTES EN EL ANALIZADOR NEXUS IB10

1. Saque una bolsa de prueba cerrada de la cámara refrigeración y póngala a temperatura ambiente (19 a 25 °C/66 a 77 °F) durante al menos 15 minutos antes de realizar la prueba.
2. Abra la bolsa y saque el disco de prueba.

3. Coloque el disco de prueba sobre una superficie plana.
 4. Pulse **New Analysis** (Nuevo análisis) en el analizador Nexus IB10.
 5. El analizador llevará a cabo una comprobación general del sistema.
 6. Introduzca el ID del paciente de forma manual (se puede utilizar hasta 14 caracteres para la identificación) o introduzca el ID del paciente mediante el uso del escáner de código de barras.
 7. Mezcle el tubo de la muestra de sangre total del paciente invirtiendo el tubo suavemente varias veces antes de realizar la prueba.
- 8. Análisis de muestras de pacientes con el IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.**
- Usando una pipeta de precisión (fija o ajustada a 500 µL), extraiga lentamente una muestra bien mezclada del paciente, al interior de la punta de la pipeta.
 - Usando la punta de pipeta cónica, perfore la **X** en el punto rojo para exponer el canal de entrada de la muestra.
 - Exprima lentamente la muestra del paciente al interior de la entrada, aplicando una fuerza mínima pero continua sobre el émbolo de la pipeta.
 - Exprima la muestra al primer tope de la pipeta, a una velocidad que permita que el fluido llene completamente el canal y elimine cualquier presión de retorno que pudiera causar salpicaduras de la muestra o la introducción de burbujas de aire.
 - Pulse **OK** (Aceptar) en la pantalla del analizador Nexus IB10.
 - Cuando se abra la bandeja, inserte el disco de prueba cargado en la bandeja y pulse **Run** (Ejecutar).
 - En 20 minutos, el analizador Nexus IB10 mostrará los resultados en la pantalla.
 - Los resultados se imprimirán automáticamente (si se selecciona esta opción durante el proceso de configuración) o pulsando **Print** (Imprimir).
 - Retire y deseche el disco de prueba en un recipiente apropiado.
- Nota: Si la prueba se cancela antes de que genere un resultado, el disco de prueba no puede ser reutilizado y debe ser desecharlo apropiadamente.*

Control de calidad

CONTROLES EXTERNOS

Los principios de prácticas correctas de laboratorio incluyen el uso de controles externos para garantizar el rendimiento adecuado del disco de prueba. Antes de utilizar un nuevo lote de IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac, se recomienda confirmar el rendimiento del lote mediante controles externos (véase la sección **Materiales y equipos necesarios, pero no incluidos**) para asegurarse de que la prueba producirá el resultado correcto. La frecuencia de las pruebas de control de calidad debe determinarse de acuerdo a los distintos procedimientos estándar de control de calidad de laboratorio. Tras la confirmación de los resultados esperados, los discos de la prueba están listos para ser usados con muestras de pacientes. Si los controles externos no funcionan según lo esperado, no utilice el IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac y póngase en contacto con el distribuidor en su área para recibir asistencia técnica.

CONTROL INTERNO

Cada IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac cuenta con un control de procedimiento positivo integrado. El analizador Nexus IB10 determina automáticamente la presencia de esta línea de control, lo que confirma que la ejecución de la prueba ha dado un resultado válido. Si la línea de control no se forma o no es reconocida por el analizador, el resultado de la prueba se considera "no válido" y deberá repetirse.

LIMITACIONES

Los resultados del IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac se deben utilizar en conjunción con el resto de información de laboratorio y clínica disponible. Las directrices universalmente aceptadas de prácticas clínicas correctas recomiendan la recogida de muestras en serie durante el período de evaluación inicial de 0 a 12 horas.^{4,15-17}

Otras sustancias y/o factores no mencionados como, por ejemplo, errores técnicos o de procedimiento, pueden interferir con el ensayo y producir resultados inexactos.

Nexus Dx, Inc. ofrece productos para su uso previsto. Consulte la documentación del producto específico sobre las normas de uso previsto para cada producto. Las características atribuidas al producto están sujetas a cambios. Las garantías explícitas e implícitas de Nexus Dx, Inc. (incluyendo las garantías implícitas de comerciabilidad y adecuación) están condicionadas al cumplimiento de las instrucciones publicadas por Nexus Dx, Inc. en relación con el uso de productos Nexus Dx, Inc. En ningún caso, Nexus Dx, Inc. será responsable por daños indirectos o consecuentes.

Para obtener asistencia técnica póngase en contacto con su distribuidor local.

Características de rendimiento

RANGO DE MEDICIÓN

Se ha demostrado que el IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac proporciona resultados medibles a niveles de troponina I/CK-MB/ mioglobina de:

0,05 ng/ml - 30 ng/ml - cTnI

2,0 ng/ml - 60 ng/ml - CK-MB

30,0 ng/ml - 500 ng/ml - Mioglobina

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El LoD (límite de detección) para cada analito se determina de acuerdo a la directriz EP17-A del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).¹⁸

La proporción de falsos positivos (α) y falsos negativos (β) es menos del 5%.

El LoD del IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac para cada analito es:

0,05 ng/ml - cTnI

2,0 ng/ml - CK-MB

30,0 ng/ml - Mioglobina

El LoQ (límite de cuantificación) es la concentración más baja que puede medirse de forma reproducible con un coeficiente de variación total máximo del 15%. Se determinó que el LoQ de los 3 analitos es:

0,10 ng/ml - cTnI

3,0 ng/ml - CK-MB

50,0 ng/ml - Mioglobina

REACTIVIDAD CRUZADA Y SUSTANCIAS INTERFERENTES

Fármacos

Se analizaron los siguientes fármacos para determinar su posible interferencia con el IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (Tabla 1). La lista de fármacos incluye compuestos comunes recetados y de venta libre, así como medicamentos prescritos con frecuencia para una población de pacientes cardíacos. Los fármacos fueron analizados en concentraciones recomendadas por la directriz EP7-A, aprobada por el CLSI 'Pruebas de interferencia en química clínica'¹⁹ o en concentraciones de al menos tres veces la concentración más elevada hallada después de una dosis terapéutica. No se observó una interferencia significativa en la medición del IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac con respecto a los fármacos incluidos en la tabla siguiente.

Tabla 1.

Fármaco	Fármaco	Fármaco
Paracetamol	Captopril	Nifedipina
Ácido acetilsalicílico (aspirina)	Digoxina	Fenitoína
Ampicilina	Dopamina	Teofilina
Ácido ascórbico (vitamina C)	Eritromicina	Verapamilo
Atenolol	Furosemida	
Cafeína	Metildopa	

PROTEÍNAS, PÉPTIDOS Y SUSTANCIAS ENDÓGENAS

Se analizaron las siguientes proteínas, péptidos y sustancias endógenas para determinar su posible reactividad cruzada e interferencia con el IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac a la concentración máxima de la sustancia indicada (Tabla 2). Ninguna sustancia presentó un nivel significativo de reactividad cruzada o interferencia, utilizando el método proporcionado por la directriz EP7-A2, del CLSI.

Tabla 2.

Sustancia		Concentración máxima
Proteínas y péptidos		
Troponina cardíaca T		1000 ng/mL
Troponina cardíaca C		1000 ng/mL
Troponina esquelética I		250 ng/mL
CKMM		781 ng/mL
CKBB		5000 ng/mL
Sustancias endógenas		
Albúmina		2,5 g/dL
Hemoglobina		0,1 g/dL
Factor reumatoide (FR)		203 IU/mL
Creatinina		2 mg/dL
Bilirrubina		2,5 mg/dL
Triglicéridos		0,5 g/dL
Urea		18 mg/dL
Colesterol		280 mg/dL
Sustancia	Analito	Concentración máxima
Biotina	Mioglobina	400 ng/mL
	CK-MB	200 ng/mL

EFFECTO DE GANCHO

No se observó un efecto de gancho de dosis alta para concentraciones de hasta 500 ng/ml de cTnI, 200 ng/ml de CK-MB y 4000 ng/ml de mioglobina.

PRECISIÓN

La precisión del IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac se determinó utilizando muestras en las que se añadió cTnI, CK-MB y mioglobina al plasma humano normal a concentraciones múltiples (Tabla 3). El nivel de precisión perteneciente a un mismo día y el nivel de precisión total se determinó realizando dos pruebas al día, en réplicas de 4 por prueba en cada nivel de concentración, durante un período de 15 días para un número total de 120 repeticiones en cada nivel de concentración. Los valores perteneciente a cada prueba, las variaciones totales y los coeficientes de variación (CV), se calcularon de acuerdo a la directriz EP5-A2 del CLSI.²⁰

Tabla 3A.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Precisión del ensayo para cTnI

Muestra	Media (ng/ml)	Precisión de los valores perteneciente a cada prueba		Precisión total	
		Desv. estándar (ng/ml)	CV (%)	Desv. estándar (ng/ml)	CV (%)
1	0,46	0,06	12,6%	0,06	12,6%
2	0,95	0,11	12,0%	0,12	13,0%
3	4,43	0,41	9,4%	0,45	10,1%

Tabla 3B.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Precisión del ensayo para CK-MB

Muestra	Media (ng/ml)	Precisión de los valores perteneciente a cada prueba		Precisión total	
		Desv. estándar (ng/ml)	CV (%)	Desv. estándar (ng/ml)	CV (%)
1	7,13	0,64	9,0	0,73	10,3
2	13,33	1,49	11,2	1,53	11,5

Tabla 3C.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac - Precisión del ensayo para mioglobina

Muestra	Media (ng/ml)	Precisión de los valores perteneciente a cada prueba		Precisión total	
		Desv. estándar (ng/ml)	CV (%)	Desv. estándar (ng/ml)	CV (%)
1	106,1	11,4	10,8	12,8	12,1
2	202,7	25,6	12,7	25,6	12,7

CORRELACIÓN ENTRE SANGRE TOTAL Y PLASMA

Se realizó un estudio de comparación usando muestras de sangre total y plasma con heparina de litio. Al realizar un análisis de regresión de Passing-Bablok para comparar las concentraciones de sangre total (ST) con las concentraciones de plasma correspondientes pertenecientes a las muestras de un mismo sujeto, se determinó la siguiente relación:

$$ST = 1,00 \text{ Plasma (95% C.I. = [0,93-1,07])} + 0,01 \text{ ng/ml - cTnI}$$

$$ST = 1,17 \text{ Plasma (95% C.I. = [1,09-1,29])} - 0,19 \text{ ng/ml - CK-MB}$$

$$ST = 0,92 \text{ Plasma (95% C.I. = [0,83-1,04])} + 0,00 \text{ ng/ml - Mioglobina}$$

Valores esperados

LÍMITE SUPERIOR DE REFERENCIA

Se utilizó el IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac en una población de 224 individuos para determinar los límites de concentración superiores de referencia de cTnI, CK-MB y mioglobina. Esta población incluyó a individuos aparentemente sanos. Los límites superiores de referencia para cada analito son:

0,10 ng/ml (percentil 99 de referencia) - cTnI

8,58 ng/ml (percentil 95 de referencia) - CK-MB

99,84 ng/ml (percentil 95 de referencia) - Mioglobina

Cada laboratorio debe establecer un rango de referencia que represente la población de pacientes que se va a evaluar en sus instalaciones.

COMPARACIÓN DE MÉTODOS

Se realizó un estudio de equivalencia entre el IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac usando el analizador Nexus IB10, y las pruebas Ortho VITROS® de troponina I ES, mioglobina y CK-MB.

cTnI

Se analizaron total de 253 muestras dentro de un intervalo de concentración de cTnI de 0,05 ng/ml a 30 ng/ml. La regresión de Passing-Bablok fue:

$$\text{IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (TnI)} = 0,80 (\text{VITROS TnI ES}) + 0,00 \text{ ng/ml}$$

Coeficiente de correlación, $r = 0,92$

CK-MB

Se analizaron total de 161 muestras dentro de un intervalo de concentración de CK-MB. La regresión de Passing-Bablok fue:

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (CK-MB) = 1,29 (VITROS CK-MB) – 0,54 ng/ml

Coeficiente de correlación, $r = 0,88$

MIOGLOBINA

Se analizaron total de 117 muestras dentro de un intervalo de concentración de mioglobina. La regresión de Passing-Bablok fue:

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (Mio) = 1,00 (VITROS MYOG) – 5,1 ng/ml

Coeficiente de correlación, $r = 0,90$

BIBLIOGRAFÍA

1. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, on behalf of the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2012;125:e2-e220.
2. Cardiovascular Diseases, World Health Organization factsheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>
3. World Health Organization. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature. Nomenclature and criteria of diagnosis of ischemic heart disease. *Circulation* 1979;59:607-9.
4. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2525-38; *Circulation* 2007;116:2634-53; *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2173-95.
5. Newby LK, Storrow AB, Gibler B, et al. Bedside multimarker testing for risk stratification in chest pain patients – the chest pain evaluation by creatine kinase-MB, myoglobin and troponin I (CHECKMATE) study. *Circulation* 2001;103:1832-7.
6. Apple FS, Voss E, Lund L, et al. Cardiac troponin, CK-MB and myoglobin for the early detection of acute myocardial infarction and monitoring of reperfusion following thrombolytic therapy. *Clin Chim Acta* 1995;237:59-66.
7. Ohman EM, Casy C, Bengston JR, et al. Early detection of acute myocardial infarction: Additional diagnostic information from serum concentrations of myoglobin in patients without ST elevations. *Br Heart J* 1990;63:335-8.
8. Tucker JF, Collins RA, Anderson AJ, et al. Value of serial myoglobin levels in the early diagnosis of patients admitted for acute myocardial infarction. *Ann Emerg Med* 1994;24:704-8.
9. Cairns JA, Missirris E, Walker WH. Usefulness of serial determinations of myoglobin and creatine kinase in serum compared for assessment of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1983;29:469-73.
10. Lott JA, Abbott LB. Creatine kinase isoenzymes. *Clin Lab Med* 1986;6:547-76.
11. Mehegan JP, Tobacman LS. Cooperative interaction between troponin molecules bound to the cardiac thin filament. *J Biol Chem* 1991;266:966-72.
12. Bodor GS, Porter S, Landt Y, Ladenson JH. Development of monoclonal antibody for an assay of cardiac troponin I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clin Chem* 1992;38:2203-14.
13. Adams JE, Bodor GS, Davila-Roman VG, et al. Cardiac troponin I: a marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993;88:101-6.
14. Heidenreich PA, Alloggiamento T, Melsop K, et al. The prognostic value of troponin in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome: a meta analysis. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:478-85.
15. Morrow DA, Rifai N, Tanasjevic MJ, et al. Clinical efficacy of three assays for cardiac troponin I for risk stratification in acute coronary syndromes - a TIMI 11b substudy. *Clin Chem* 2000;46:453-60.
16. Reichlin T, Irfan A, Twerenbold R, et al. Utility of absolute and relative changes in cardiac troponin concentrations in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation* 2011;124:136-45.
17. Jaffe AS, Apple FS, Morrow A, et al. Being rational about (im)precision: a statement from the biochemistry subcommittee of the Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology Foundation/ American Heart Association/World Heart Federation Task Force for the Definition of Myocardial Infarction. *Clin Chem* 2010;56:941-3.
18. Tholen DW, Linnet K, Kondratovich M, et al. NCCLS. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline, NCCLS document EP17-A, Volume 24 Number 35, 2004.
19. McEnroe, RJ, Burnett, MF, Powers, DM, et al. CLSI Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2, Volume 25 Number 27, 2005.
20. Tholen DW, Kallner A, Kennedy JW, et al. NCCLS. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline-Second Edition. NCCLS document EP5-A2, Volume 25 Number 27, 2004.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac Troponin I/CK-MB/Myoglobin

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της
τροπονίνης I, της CK-MB, της μυοσφαιρίνης σε
ανθρώπινο ολικό αίμα και πλάσμα με ηπαρίνη λιθίου

Επεξήγηση συμβόλων

	Σήμανση συμμόρφωσης CE
	Παρασκευαστής
	Αριθμός καταλόγου
	Ημερομηνία λήξης/Χρήση έως
	Αριθμός παρτίδας
	Ιατρική συσκευή για διαγνώσεις <i>in vitro</i>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Φυλάσσετε σε θερμοκρασία μεταξύ 2°C και 8°C.
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρώπη
	Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> δοκιμασίες
	Να μην επαναχρησιμοποιείται
	Αριθμός σειράς
	Τοποθέτηση με την ετικέτα του δίσκου προς τα επάνω

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac

Tropionin I/CK-MB/Myoglobin

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η δοκιμασία IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac είναι μια ταχεία ανοσολογική δοκιμασία σημείου φροντίδας (POC) για τον *in vitro* ποσοτικό προσδιορισμό της καρδιακής τροπονίνης I (cTnI), CK-MB και μυοσφαιρίνης σε ολικό αίμα και πλάσμα με ηπαρίνη λιθίου. Η παρούσα δοκιμασία προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με τον αναλυτή Nexus IB10 και παρέχει ποσοτικά αποτελέσματα σε 20 λεπτά.

Η δοκιμασία IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac προορίζεται αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση και μπορεί να χρησιμοποιείται στα κεντρικά εργαστήρια των νοσοκομείων, καθώς επίσης και σε μονάδες εναλλακτικής φροντίδας, όπως είναι τα τμήματα επειγόντων περιστατικών, οι μονάδες εντατικής θεραπείας και άλλοι χώροι στους οποίους διενεργούνται δοκιμασίες πλησίον του ασθενούς.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

Το οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (ΟΣΣ), συμπεριλαμβανομένης της στεφανιαίας καρδιακής νόσου (ΣΚΝ) και της στηθάγχης, είναι η κύρια αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας μεταξύ των ανδρών και των γυναικών και επηρεάζει πάνω από 16 εκατομμύρια ανθρώπους στις Ηνωμένες Πολιτείες. Η κλινική εικόνα του ΟΣΣ ποικιλλεί, με το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (ΟΕΜ) να είναι η πιο δραματική εκδοχή της. Τα συμπτώματα του ΟΣΣ ενδέχεται να παρουσιαστούν ξαφνικά. Το 2008, υπήρχαν πάνω από 800.000 νέα OEM στις ΗΠΑ.¹ Σε διεθνές επίπεδο, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) αναφέρει πάνω από 7,2 εκατομμύρια θανάτους τον χρόνο από ΣΚΝ. Παγκοσμίως, εκτιμάται ότι 17,3 εκατομμύρια θάνατοι οφείλονται σε καρδιαγγειακά νοσήματα το 2008.² Σε αυτούς τηριαμβάνονται θάνατοι που οφείλονται τόσο λόγω ΣΚΝ όσο λόγω εγκεφαλικού επεισοδίου.

Για πάνω από 30 χρόνια, ο ΠΟΥ συνιστά η διάγνωση του OEM να προσδιορίζεται από τα θετικά ευρήματα σε τουλάχιστον δύο από τα ακόλουθα τρία κριτήρια: 1) ιστορικό ασθενούς / φυσική εξέταση, 2) ηλεκτροκαρδιογράφημα, 3) αλλαγές των δεικτών καρδιακών πρωτεΐνων στα επίπεδα αίματος.³ Ενώ ο αρχικός καρδιακός δείκτης ορίστηκε ως ολική ενζυματική κινάση κρεατίνης, οι σημερινοί δείκτες, όπως μετριούνται με ανοσοδοκιμασία, περιλαμβάνουν τη μυοσφαιρίνη (Myo), την ισομορφή κινάσης της κρεατίνης MB (CK-MB) και την πρωτεΐνη του γραμμωτού μυ της καρδιάς, την τροπονίνη I (cTnI). Το ιστορικό του ασθενούς και η φυσική εξέταση είναι ζωτικής σημασίας, αλλά συχνά παρέχουν ανεπαρκείς πληροφορίες ως προς τη διαφοροποίηση του OEM από άλλες καρδιακές ανωμαλίες. Ελλείψει καλά καθορισμένων ηλεκτροκαρδιογραφικών ανασπάσεων του διαστήματος ST, οι μετρήσεις των δεικτών καρδιακών πρωτεΐνων είναι ζωτικής σημασίας για την ακριβή διάγνωση του ΟΣΣ.⁴

Αρκετές μελέτες έχουν καταδείξει ότι μια συνδυαστική εξέταση και των τριών καρδιακών δεικτών ενισχύει την αξιοπιστία της προγενέστερης αναγνώρισης και διαστρωμάτωσης κινδύνου των ασθενών που εμφανίζουν θωρακικό άλγος σε σύγκριση με την αξιολόγηση μόνο ενός δείκτη.^{5,6} Αυτό οφείλεται σε διαφορές στο χρονικό μοτίβο αποδέσμευσης στην κυκλοφορία του αίματος των διαφόρων καρδιακών βιοδεικτών μετά τον τραυματισμό των μυοκυττάρων ή τον κυτταρικό θάνατο.

ΜΥΟΣΦΑΙΡΙΝΗ

Η μυοσφαιρίνη (Myo) είναι μια πρωτεΐνη αίματος που δεσμεύει οξυγόνο με μοριακό βάρος 17.800 dalton, η οποία κατά κανόνα βρίσκεται στους καρδιακούς και σκελετικούς ιστούς. Η πρωτεΐνη εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου και αποτελεί περίπου το 2% της συνολικής μυϊκής πρωτεΐνης. Λόγω του σχετικά χαμηλού μοριακού βάρους και της υψηλής συγκέντρωσής της, είναι μεταξύ των πρώτων πρωτεΐνων που αποδέσμευνται στο συστημικό αίμα μετά τη νέκρωση των μυοκυττάρων της καρδιάς (κυτταρικός θάνατος).⁷ Η μυοσφαιρίνη έχει αυξημένη συγκέντρωση στο αίμα περίπου 2-3 ώρες μετά από τον τραυματισμό ή τη νέκρωση των μυοκυττάρων της καρδιάς με τα επίπεδα να κορυφώνονται μετά από 9-12 ώρες.⁸

CK-MB

Στο κυτταρόπλασμα, η κινάση της κρεατίνης (CK) καταλύει την αναστρέψιμη φωσφορυλώση της κρεατίνης με ATP. Η συστολική κινάση της κρεατίνης υφίσταται ως διμερές μόριο που σχηματίζεται από δύο τύπους υπομονάδων ενός πολυπεπτίδου. Αυτές οι δύο υπομονάδες συνδυάζονται για να σχηματίσουν τρία διαφορετικά ισοένζυμα της κινάσης της κρεατίνης: CK-MM, CK-BB και CK-MB. Η CK-MM εκφράζεται κυρίως στον σκελετικό μυϊκό ιστό, ενώ το ισοένζυμο CK-MB βρίσκεται σε μεγαλύτερη αφθονία στον μυϊκό ιστό της καρδιάς. Η CK-MB αποδέσμευται στην κυκλοφορία του αίματος κατά τη βλάβη ή τον θάνατο του ιστού της καρδιάς.^{9,10} Η αύξηση της σημειώνεται μέσα σε 4 έως 8 ώρες μετά από τον τραυματισμό της καρδιάς, επιτυγχάνοντας μεγιστες συγκεντρώσεις 12-24 ώρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων. Όπως και η μυοσφαιρίνη, η CK-MB δεν είναι εντελώς καρδιοειδική και βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο γραμμωτό σκελετικό μυ και άλλους ιστούς.

cTnI

Η καρδιακή τροπονίνη I (cTnI) είναι μέρος του συμπλέγματος τροπονίνης και, μαζί με την τροπομυοσίνη, σχηματίζει το κύριο συστατικό που ρυθμίζει την ευαίσθητη σε Ca^{2+} δραστηριότητα ATP-άσης της ακτομυοσίνης στους γραμμωτούς μύες (σκελετικούς και καρδιακούς). Το σύμπλεγμα τροπονίνης αποτελείται από τρεις υπομονάδες, την τροπονίνη T (TnT), την τροπονίνη I (TnI) και την τροπονίνη C (TnC). Κάθε υπομονάδα έχει μια ξεχωριστή λειτουργία

με την TnC ως τόπο δέσμευσης του Ca^{2+} , την TnT ως τόπο δέσμευσης της τροπομυοσίνης και την TnI ως ανασταλτική υπομονάδα.¹¹ Διαφορετικές ισομορφές της TnI βρίσκονται στους σκελετικούς και καρδιακούς μυς (sTnI και cTnI, αντίστοιχα) με διακριτά ανοσολογικά επίτοπα που επιτρέπουν την παραγωγή εξαιρετικά ειδικών καρδιακών αντισωμάτων TnI.¹²

Οι προσδιορισμοί cTnI βροθούν στη διάγνωση του εμφράγματος του μυοκαρδίου (EM) και τους ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (ΟΣΣ) χωρίς ανάσπαση του διαστήματος ST (NSTEMI). Τα αυξημένα επίπεδα cTnI στον υποπληθυσμό ΟΣΣ NSTEMI συσχετίζονται με τον σχετικό κίνδυνο θνησιμότητας, το EM ή αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης ισχαιμικών επεισοδίων που απαιτούν επείγουσες διαδικασίες επαναγγείωσης.

Μετά τη νέκρωση των μυοκυττάρων, η cTnI αποδεσμεύεται εντός της κυκλοφορίας με επίπεδα που υπερβαίνουν το ανώτερο όριο αναφοράς του φυσιολογικού εντός 4-6 ωρών. Τα μέγιστα επίπεδα επιτυγχάνονται μετά από 12-24 ώρες.¹³ Αυτό το προφίλ αποδέσμευσης μέσα στο περιφερικό αίμα είναι παρόμοιο με εκείνο της CK-MB. Ωστόσο, τα επίπεδα της CK-MB επανέρχονται στις φυσιολογικές τιμές σε περίπου 72 ώρες, ενώ τα επίπεδα της cTnI ενδέχεται να παραμένουν αυξημένα για 5-7 ημέρες.

TnI στο οξύ στεφανιαίο σύνδρομο

Από την εισαγωγή των πρώτων εμπορικών δοκιμασιών για την τροπονίνη I το 1996, πολυάριθμες κλινικές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει ότι η cTnI είναι ο βιοδείκτης επιλογής για τον προσδιορισμό ισχαιμίας και νέκρωσης των μυοκυττάρων της καρδιάς.¹⁴ Ακόμα και χαμηλά επίπεδα cTnI ακριβώς πάνω από το 990 εκατοστημόριο των επιπέδων που λαμβάνονται από ένα φυσιολογικό πληθυσμό αναφοράς υποδεικνύουν αυξημένο κίνδυνο. Για να διασφαλιστεί ότι τα αποτελέσματα των εξετάσεων ερμηνεύονται με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια, οι ομάδες συναίνεσης προτείνουν πλέον ομόφωνα οι ασθενείς με θωρακικό άλγος και χαμηλές τιμές τροπονίνης κατά την παρουσίασή τους σε ιατρικό προσωπικό, ιδιαίτερα εν τη απουσία επιβεβαιωτικών δεδομένων ΗΚΓ, να υποβάλλονται σε εξετάσεις 2 επιπλέον φορές κατά τη διάρκεια των επόμενων 12-24 ωρών για να διαπιστωθεί αν όντως αυξάνεται η cTnI κατά τη διάρκεια των πρώτων 24 ωρών.^{4,15-17}

ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Το σύστημα ανοσοχημείας Nexus Dx συνδυάζει τη χημεία με τη μικρορρευστονική και τη φυγοκεντρική ροή για την ταχεία προετοιμασία πλάσματος χωρίς κύτταρα από το ολικό αίμα που μπορεί στη συνέχεια να μετακινηθεί μέσω ενός καναλιού για να επανυδατωθεί, να διαλυτοποιηθεί και να αναμειχθεί με λυσιφιλιωμένα ανοσοσυμπλέγματα. Χρησιμοποιώντας συνδυασμό ενεργού ροής και τριχοειδούς δράσης, το δείγμα δοκιμής μετριέται ποσοτικά σε 20 λεπτά με στάθμη οπτικού σήματος ανάλογη προς τη συγκέντρωση του αναλύτη/των αναλυτών.

Μετά την προσθήκη του δείγματος ασθενούς, πραγματοποιείται ολόκληρη η δοκιμασία εντός του αναλυτή Nexus IB10, ο οποίος παρέχει τον έλεγχο της θερμοκρασίας του δίσκου, καθώς και της ακολουθίας της διαδικασίας ανάλυσης, της φυγοκεντρικής ροής, της ανάμειξης, του χρόνου επώασης, της τελικής μέτρησης σήματος, της ποσοτικοποίησης και της αναφοράς των αποτελεσμάτων. Ο δίσκος δοκιμής περιλαμβάνει έναν θετικό εσωτερικό μάρτυρα για να εξασφαλίζεται ότι η δοκιμασία έχει λειτουργήσει σωστά. Κάθε παρτίδα βαθμονομείται για να εξασφαλιστεί η ελαχιστοποίηση της μεταβλητότητας από παρτίδα σε παρτίδα. Η ειδική για την κάθε παρτίδα βαθμονόμηση, μαζί με πρόσθετες πληροφορίες όπως η ημερομηνία λήξης παρτίδας, περιέχονται σε μια ετικέτα κώδικα QR που είναι επικολλημένη σε κάθε δίσκο. Συνιστάται οι εξωτερικοί μάρτυρες να δοκιμάζονται σε κατάλληλα χρονικά διαστήματα για να επιβεβαιώνεται ότι η απόδοση του συστήματος και της παρτίδας δοκιμασίας είναι εντός των αποδεκτών ορίων.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Η IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac περιέχει όλα τα απαιτούμενα αντιδραστήρια για την αξιολόγηση των επιπέδων cTnI, CK-MB και μυοσφαιρίνης.

Για τη δοκιμασία cTnI, τα αντιδραστήρια περιλαμβάνουν: συζευγμένο με χρωστικές ουσίες μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-cTnI, συζευγμένα με βιοτίνη πολυκλωνικά αντισώματα αντι-cTnI και στρεπταβιδίνη ακινητοποιημένη στην περιοχή ανίχνευσης επί του δίσκου.

Για τη δοκιμασία CK-MB, τα αντιδραστήρια περιλαμβάνουν: συζευγμένο με χρωστικές ουσίες μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-CK-MB, συζευγμένα με βιοτίνη πολυκλωνικά αντισώματα κατσίκας αντι-CK-MM και στρεπταβιδίνη ακινητοποιημένη στην περιοχή ανίχνευσης επί του δίσκου.

Για τη δοκιμασία της μυοσφαιρίνης, τα αντιδραστήρια περιλαμβάνουν: συζευγμένο με χρωστικές ουσίες μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-μυοσφαιρίνης, συζευγμένα με βιοτίνη πολυκλωνικά αντισώματα κουνελιού αντι-μυοσφαιρίνης και στρεπταβιδίνη ακινητοποιημένη στην περιοχή ανίχνευσης επί του δίσκου.

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Κάθε κουτί περιέχει τα ακόλουθα:

- 10 δίσκους IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac, ο καθένας ατομικά σφραγισμένος σε μια θήκη αλουμινίου με αποξηραντικό.
- 1 Οδηγίες χρήσης.

ΥΛΙΚΑ/ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΆΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

1. Αναλυτής Nexus IB10 - Μοντέλο #BCA-IB10
2. Διαθέσιμοι στο εμπόριο μάρτυρες τροπονίνης I/CK-MB/μυοσφαιρίνης για εξωτερικό έλεγχο ποιότητας (QC). **Επικοινωνήστε με το τοπικό εμπορικό αντιπρόσωπο** για τα συνιστώμενα υλικά εξωτερικού ελέγχου ποιότητας ή σχετική τεχνική βοήθεια.
3. Πιστόλι πιπέτας βαθμονομημένο, επαναχρησιμοποιήσιμο, σταθερού ή μεταβλητού όγκου με υψηλή ακρίβεια και ορθότητα, ικανό να παρέχει 500 μL ολικού αίματος ή πλάσματος.
4. Ρύγχη πιπετών μίας χρήσης ικανά να δέχονται και να παρέχουν 500 μL ολικού αίματος ή πλάσματος.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

- Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
- Ακολουθήστε προσεκτικά τις οδηγίες χρήσης.
- Πριν από τη δοκιμασία μαρτύρων ή δειγμάτων ασθενών, βεβαιωθείτε ότι το λογισμικό του αναλυτή είναι ενημερωμένο με την τελευταία έκδοση. Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο Nexus IB10 για συγκεκριμένες οδηγίες.
- Φοράτε γάντια μίας χρήσης όταν χειρίζεστε δείγματα.
- Να χειρίζεστε τα δείγματα με προσοχή. Δείγματα και μεταχειρισμένοι δίσκοι δοκιμής θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικά μολυσματικά και πρέπει να απορρίπτονται ως βιολογικά επικίνδυνο υλικό σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς.
- Πλύνετε σχολαστικά τα χέρια μετά τον χειρισμό.
- Το αποτέλεσμα που προκύπτει από τη δοκιμασία IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac δεν παρέχει οριστική διάγνωση και πρέπει να ερμηνεύεται από ιατρό σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα άλλων κατάλληλων εξετάσεων και σύμφωνα με τις τρέχουσες ιατρικές κατευθυντήριες γραμμές και τα κλινικά ευρήματα του ασθενούς.
- Φυλάξτε τη δοκιμασία στη σφραγισμένη θήκη μέχρι να είναι έτοιμη για χρήση.
- Μη χρησιμοποιείτε τη δοκιμασία εάν η θήκη έχει ζημιά ή το πώμα έχει σπάσει.
- Μη χρησιμοποιείτε τη δοκιμασία μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη θήκη.
- Πριν από τη χρήση, τοποθετήστε την κλειστή θήκη σε θερμοκρασία δωματίου (19 έως 25 °C/66 έως 77 °F) για τουλάχιστον 15 λεπτά.
- Πάντοτε, να δίνετε προσοχή στην καθαριότητα κατά το χειρισμό της δοκιμασίας. Αποφύγετε οποιαδήποτε μόλυνση από δακτυλικά αποτυπώματα ή ξένες ουσίες. Μη μολύνετε το σημείο εισόδου του καναλιού δείγματος.
- Μη ρίχνετε ή καταστρέφετε τον δίσκο δοκιμασίας.
- Ο δίσκος δοκιμασίας πρέπει να τοποθετηθεί με την πλευρά της ετικέτας προς τα επάνω, στη θήκη δίσκου του αναλυτή Nexus IB10 αμέσως μετά την έγχυση του δείγματος μέσα στον δίσκο.
- Μην αναποδογυρίζετε τον δίσκο.
- Η παρούσα δοκιμασία είναι ποσοτική. Ως εκ τούτου, δεν πρέπει να γίνεται οπτική ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

- Αποθηκεύστε την IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac μεταξύ 2 και 8 °C (35 έως 46 °F) μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται πάνω στη θήκη.
- Η δοκιμασία IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac στη σφραγισμένη θήκη της είναι σταθερή στους 18 έως 30 °C/64 έως 86 °F για 30 ημέρες, αρκεί να μην έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη θήκη.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΕΤΟΙΜΑΣΙΑ

- Η IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac προορίζεται για χρήση με δείγματα ολικού αίματος ή πλάσματος με ηπαρίνη λιθίου.
- Καθώς οι καρδιακές πρωτεΐνες είναι σχετικά ασταθείς, συνιστάται η υποβολή των δειγμάτων στη δοκιμασία το συντομότερο δυνατόν.
- Το ολικό αίμα πρέπει να υποβάλλεται στη δοκιμασία εντός 48 ωρών από τη συλλογή του.
- Τα δείγματα ολικού αίματος και πλάσματος μπορούν να μεταφερθούν και να αποθηκευτούν έως και 48 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- Τα δείγματα πλάσματος πρέπει να διατηρούνται σε κατάψυξη στους -20 °C (-4 °F) ή χαμηλότερη θερμοκρασία, εάν απαιτείται μεγαλύτερη διάρκεια αποθήκευσης.
- Αφήστε τα δείγματα να ισορροπήσουν σε θερμοκρασία δωματίου (19 έως 25 °C/66 έως 77 °F) πριν από τη δοκιμασία.
- Για διαδοχικές δοκιμασίες του ίδιου ασθενούς κατά τη διάρκεια της περιόδου διαλογής 0-12 ωρών, θα πρέπει να χρησιμοποιείται ο ίδιος τύπος δείγματος (ολικό αίμα ή πλάσμα).

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Αναλύτης Nexus IB10

Συμβουλευτείτε το εγχειρίδιο χρήσης του αναλυτή Nexus IB10

Για την εγκατάσταση του αναλυτή, την εκκίνηση και πλήρεις οδηγίες χρήσης ανατρέξτε στην ενότητα **Εγχειρίδιο χρήσης αναλυτή Nexus IB10**. Ο χειριστής πρέπει να ανατρέξει στο εγχειρίδιο χρήσης πριν από τη χρήση για να εξοικειωθεί με τις κατάλληλες διαδικασίες λειτουργίας και ελέγχου ποιότητας.

ΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΡΥΘΜΙΣΗΣ ΔΙΣΚΟΥ

Κάθε φορά που ενεργοποιείται ο αναλυτής Nexus IB10, διενεργείται αυτόματα αυτοέλεγχος. Ο κωδικός QR σε κάθε δίσκο δοκιμασίας περιέχει πληροφορίες για τη βαθμονόμηση του δίσκου που ο αναλυτής διαβάζει αυτόματα κατά την εκτέλεση μιας δοκιμασίας.

ΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΥΣ ΜΑΡΤΥΡΕΣ

Ο κατασκευαστής συνιστά τη χρήση των διαθέσιμων στο εμπόριο μαρτύρων τροπονίνης I/CK-MB/μυοσφαιρίνης (ανατρέξτε στην ενότητα **Υλικά/εξοπλισμός που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται**). Βεβαιωθείτε ότι ο χειρισμός και η προετοιμασία των μαρτύρων τροπονίνης I/CK-MB/μυοσφαιρίνης γίνεται σύμφωνα με τις αντίστοιχες οδηγίες χρήσης.

1. Βγάλτε μια κλειστή θήκη δοκιμασίας από το ψυγείο και τοποθετήστε τη σε θερμοκρασία δωματίου (19 έως 25 °C/66 έως 77 °F) για τουλάχιστον 15 λεπτά πριν από τη δοκιμασία.
2. Ανοίξτε τη θήκη και αφαιρέστε τον δίσκο δοκιμασίας.
3. Τοποθετήστε τον δίσκο δοκιμασίας πάνω σε μια επίπεδη επιφάνεια.
4. Στον αναλυτή Nexus IB10 πατήστε **New Analysis** (Νέα Ανάλυση).
5. Ο αναλυτής θα εκτελέσει ένα γενικό έλεγχο του συστήματος.
6. Πληκτρολογήστε το αναγνωριστικό εξωτερικού μάρτυρα (έως 14 χαρακτήρες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το αναγνωριστικό) ή εισαγάγετε το αναγνωριστικό εξωτερικού μάρτυρα χρησιμοποιώντας τον σαρωτή γραμμοκώδικα.
7. Αναμείξτε το φιαλίδιο εξωτερικού μάρτυρα έλεγχου ποιότητας αναστρέφοντας απαλά το φιαλίδιο αρκετές φορές πριν από τη δειγματοληψία.
8. **Δοκιμασία δείγματος εξωτερικού μάρτυρα στην IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.**
 - Χρησιμοποιώντας μια πιπέτα ακριβείας (σταθερή ή ρυθμισμένη στα 500 µL) ανασύρατε αργά το καλά αναμεμειγμένο δείγμα εξωτερικού μάρτυρα έλεγχου ποιότητας μέσα στο ρύγχος της πιπέτας.
 - Τοποθετώντας το κωνικό ρύγχος της πιπέτας σε γωνία 45°, τρυπήστε το **X** στην κόκκινη κουκκίδα για να αποκαλύψετε το σημείο εισόδου του καναλιού δείγματος.
 - Αντλήστε σιγά σιγά το δείγμα εξωτερικού μάρτυρα μέσα στο στόμιο εφαρμόζοντας ελάχιστη αλλά συνεχόμενη δύναμη επί του εμβόλου της πιπέτας.
 - Αντλήστε το δείγμα μέχρι το πρώτο στοπ της πιπέτας, με ρυθμό που να επιτρέπει το υγρό να γεμίσει πλήρως το κανάλι και να εξαλείψει οποιαδήποτε πίεση επιστροφής θα μπορούσε να οδηγήσει σε πιτσίλισμα του δείγματος ή εισαγωγή φυσαλίδων αέρα.
 - Πατήστε **OK** στην οθόνη του αναλυτή Nexus IB10.
 - Όταν ανοίξει η θήκη του δίσκου, τοποθετήστε τον γεμάτο δίσκο δοκιμασίας στη θήκη και πατήστε **Run** (Εκτέλεση).
 - Σε 20 λεπτά, ο αναλυτής Nexus IB10 θα εμφανίσει τα αποτελέσματα στην οθόνη.
 - Τα αποτελέσματα θα εκτυπωθούν αυτόματα (αν έχετε προβεί σε αυτή την επιλογή κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης) διαφορετικά πατήστε **Print** (Εκτύπωση).
 - Όταν ολοκληρωθεί η δοκιμασία, αναλύστε και συγκρίνετε το αποτέλεσμα με την αναμενόμενη τιμή που αναφέρθηκε στις οδηγίες χρήσης του εξωτερικού μάρτυρα για το επίπεδο εξωτερικού μάρτυρα όπως μετρήθηκε χρησιμοποιώντας την IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.
 - Αφαιρέστε τον δίσκο δοκιμασίας και απορρίψτε τον στο κατάλληλο δοχείο.
 - Αν το αποτέλεσμα εξωτερικού μάρτυρα είναι εκτός του αναμενόμενου εύρους, ανατρέξτε στην ενότητα Ελέγχου ποιότητας παρακάτω. **Σημείωση:** Εάν η δοκιμαστική λειτουργία ακυρωθεί πριν εμφανιστεί το αποτέλεσμα της δοκιμασίας, ο δίσκος της δοκιμασίας δεν μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί και θα πρέπει να απορριφθεί καταλλήλως.

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΣΤΟΝ ΑΝΑΛΥΤΗ NEXUS IB10

1. Βγάλτε μια κλειστή θήκη δοκιμασίας από το ψυγείο και τοποθετήστε τη σε θερμοκρασία δωματίου (19 έως 25 °C/66 έως 77 °F) για τουλάχιστον 15 λεπτά.
 2. Ανοίξτε τη θήκη και αφαιρέστε τον δίσκο δοκιμασίας.
 3. Τοποθετήστε τον δίσκο δοκιμασίας πάνω σε μια επίπεδη επιφάνεια.
 4. Στον αναλυτή Nexus IB10 πατήστε **New Analysis** (Νέα Ανάλυση).
 5. Ο αναλυτής θα εκτελέσει ένα γενικό έλεγχο του συστήματος.
 6. Πληκτρολογήστε το αναγνωριστικό ασθενούς (έως 14 χαρακτήρες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το αναγνωριστικό) ή εισαγάγετε το αναγνωριστικό ασθενούς χρησιμοποιώντας τον σαρωτή γραμμοκώδικα.
 7. Αναμείξτε το δείγμα ασθενούς ολικού αίματος αναστρέφοντας απαλά τον σωλήνα αρκετές φορές πριν από τη δοκιμασία.
 8. **Δοκιμασία δειγμάτων ασθενών στην IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac.**
 - Χρησιμοποιώντας μια πιπέτα ακριβείας (σταθερή ή ρυθμισμένη στα 500 µL) ανασύρατε αργά το καλά αναμεμειγμένο δείγμα ασθενούς μέσα στο ρύγχος της πιπέτας.
 - Τοποθετώντας το κωνικό ρύγχος της πιπέτας σε γωνία 45°, τρυπήστε το **X** στην κόκκινη κουκκίδα για να αποκαλύψετε το σημείο εισόδου του καναλιού δείγματος.
 - Αντλήστε σιγά σιγά το δείγμα ασθενούς μέσα στο στόμιο εφαρμόζοντας ελάχιστη αλλά συνεχόμενη δύναμη επί του εμβόλου της πιπέτας.
 - Αντλήστε το δείγμα μέχρι το πρώτο στοπ της πιπέτας, με ρυθμό που να επιτρέπει το υγρό να γεμίσει πλήρως το κανάλι και να εξαλείψει οποιαδήποτε πίεση επιστροφής θα μπορούσε να οδηγήσει σε πιτσίλισμα του δείγματος ή εισαγωγή φυσαλίδων αέρα.
 - Πατήστε **OK** στην οθόνη του αναλυτή Nexus IB10.
 - Όταν ανοίξει η θήκη του δίσκου, τοποθετήστε τον γεμάτο δίσκο δοκιμασίας στη θήκη και πατήστε **Run** (Εκτέλεση).
 - Σε 20 λεπτά, ο αναλυτής Nexus IB10 θα εμφανίσει τα αποτελέσματα στην οθόνη.
 - Τα αποτελέσματα θα εκτυπωθούν αυτόμata (αν έχετε προβεί σε αυτή την επιλογή κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης) διαφορετικά πατήστε **Print** (Εκτύπωση).
 - Αφαιρέστε τον δίσκο δοκιμασίας και απορρίψτε τον στο κατάλληλο δοχείο.
- Σημείωση:** Εάν η δοκιμαστική λειτουργία ακυρωθεί πριν εμφανιστεί το αποτέλεσμα της δοκιμασίας, ο δίσκος της δοκιμασίας δεν μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί και θα πρέπει να απορριφθεί καταλλήλως.

Έλεγχος ποιότητας

ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΙ ΜΑΡΤΥΡΕΣ

Η ορθή εργαστηριακή πρακτική περιλαμβάνει τη χρήση των εξωτερικών μαρτύρων για να διασφαλιστεί η ορθή απόδοση της δοκιμασίας. Συνιστάται πριν από τη χρήση μιας νέας παρτίδας IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac να επιβεβαιώνεται η απόδοση της παρτίδας πραγματοποιώντας δοκιμασία με εξωτερικούς μάρτυρες (βλέπε ενότητα **Υλικά/εξοπλισμός που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται**) για να εξασφαλιστεί ότι η δοκιμασία θα δώσει το σωστό αποτέλεσμα. Η συχνότητα των δοκιμών ελέγχου ποιότητας θα πρέπει να καθορίζεται σύμφωνα με τις διαδικασίες ελέγχου ποιότητας του εκάστοτε εργαστηρίου. Μετά την επιβεβαίωση των αναμενόμενων αποτελέσμάτων, οι δίσκοι δοκιμασίας είναι έτοιμοι για χρήση με δείγματα ασθενών. Οι μάρτυρες πρέπει επίσης να χρησιμοποιούνται κάθε φορά που η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων των δοκιμασιών είναι υπό αμφισβήτηση. Αν οι εξωτερικοί μάρτυρες δεν αποδίδουν τα αναμενόμενα, μη χρησιμοποιείτε την IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac και επικοινωνήστε με τον τοπικό εμπορικό αντιπρόσωπο για τεχνική βοήθεια.

ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ

Κάθε IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac έχει ενσωματωμένο θετικό διαδικαστικό μάρτυρα. Ο αναλυτής Nexus IB10 προσδιορίζει αυτόμata την παρουσία αυτού του μάρτυρα, επιβεβαιώνοντας κατ' αυτόν τον τρόπο ότι η δοκιμαστική λειτουργία απέδωσε ένα έγκυρο αποτέλεσμα. Αν ο μάρτυρας δεν σχηματιστεί ή αν δεν τον αναγνωρίζει ο αναλυτής, το αποτέλεσμα της δοκιμασίας θεωρείται «άκυρο» και η δοκιμασία πρέπει να επαναλαμβάνεται.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Τα αποτελέσματα της IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλα διαθέσιμα εργαστηριακά και κλινικά δεδομένα. Οι καθολικά αποδεκτές κατευθυντήριες γραμμές καλής κλινικής πρακτικής συνιστούν τη συλλογή σειριακών δειγμάτων κατά την πρώιμη περίοδο διαλογής από 0 έως > 12 ώρες.^{4,15-17}

Άλλες ουσίες ή/και παράγοντες που δεν αναφέρονται, π.χ. διαδικαστικά ή τεχνικά σφάλματα, ενδέχεται να παρεμποδίσουν τη δοκιμασία και να

οδηγήσουν σε ανακριβή αποτελέσματα.

H Nexus Dx, Inc. προσφέρει προϊόντα για την προβλεπόμενη χρήση τους. Ανατρέξτε στο πληροφοριακό υλικό του συγκεκριμένου προϊόντος για τις δηλώσεις προβλεπόμενης χρήσης για κάθε προϊόν. Οι αξιώσεις του προϊόντος υπόκεινται σε αλλαγές. Οι ρητές και σιωπηρές εγγυήσεις της Nexus Dx, Inc (συμπεριλαμβανομένων των σιωπηρών εγγυήσεων εμπορευσιμότητας και καταλληλότητας) εξαρτώνται από την πιστή τήρηση των δημοσιευμένων οδηγιών της Nexus Dx, Inc. σχετικά με τη χρήση των προϊόντων της Nexus Dx Inc. H Nexus Dx, Inc. δεν φέρει ευθύνη σε καμία περίπτωση για οποιαδήποτε έμμεση ή αποθετική ζημία.

Για τεχνική βοήθεια, παρακαλούμε επικοινωνήστε με τον τοπικό εμπορικό αντιπρόσωπο.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

ΕΥΡΟΣ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

Η IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac έχει αποδειχθεί ότι παρέχει μετρήσιμα αποτελέσματα σε επίπεδα τροπονίνης I/CK-MB/μυοσφαιρίνης:

0,05 ng/mL – 30 ng/mL – cTnI

2,0 ng/mL – 60 ng/mL – CK-MB

30,0 ng/mL – 500 ng/mL – μυοσφαιρίνη

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

Το όριο ανίχνευσης «LoD» για κάθε αναλυόμενη ουσία προσδιορίστηκε σύμφωνα με την κατευθυντήρια γραμμή EP17-A του Ινστιτούτου Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων (Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI)¹⁸. Το ποσοστό των ψευδοθετικών (α) και ψευδοαρνητικών (β) αποτελεσμάτων είναι μικρότερο από 5%.

Το όριο ανίχνευσης (LoD) του IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac για κάθε αναλύτη είναι:

0,05 ng/mL – cTnI

2,0 ng/mL – CK-MB

30,0 ng/mL – μυοσφαιρίνη

Το όριο ποσοτικοποίησης «LoQ» είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση που μπορεί να μετρηθεί αναπαραγώγιμα με συνολικό συντελεστή διακύμανσης το πολύ 15%. Για τους 3 αναλύτες το όριο ποσοτικοποίησης «LoQ» προσδιορίστηκε ως:

0,10 ng/mL – cTnI

3,0 ng/mL – CK-MB

50,0 ng/mL – μυοσφαιρίνη

ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΟΥΣΙΕΣ ΠΑΡΕΜΒΟΛΗΣ

Φάρμακα

Τα ακόλουθα φάρμακα δοκιμάστηκαν για πιθανή παρεμβολή στην IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (Πίνακας 1). Ο κατάλογος των φαρμάκων περιλαμβάνει κοινά συνταγογραφούμενα και μη συνταγογραφούμενα φάρμακα, καθώς και εκείνα που συνταγογραφούνται συχνά σε καρδιοπαθείς. Τα φάρμακα δοκιμάστηκαν σε συγκεντρώσεις που συνιστώνται στην εγκεκριμένη κατευθυντήρια γραμμή EP7-A2 «Έλεγχος παρεμβολών στην Κλινική Χημεία»¹⁹ του CLSI ή τουλάχιστον τρεις φορές την υψηλότερη συγκέντρωση που αναφέρθηκε μετά από μια θεραπευτική δόση. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική παρεμβολή για τις μετρήσιες IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac για τα φάρμακα που αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 1.

Φάρμακο	Φάρμακο	Φάρμακο
Ακεταμινοφαίνη	Καπτοπρίλη	Νιφεδιπίνη
Ακετυλοσαλικυλικό οξύ (ασπιρίνη)	Διγοξίνη	Φαινυτοϊνη
Άμπικιλίνη	Ντοπαμίνη	Θεοφυλλίνη
Ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C)	Ερυθρομυκίνη	Βεραπαμίλη
Ατενολόλη	Φουροσεμίδη	
Καφεΐνη	Μεθυλυντόπα	

ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ, ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΟΥΣΙΕΣ

Οι ακόλουθες πρωτεΐνες, πεπτίδια και ενδογενείς ουσίες δοκιμάστηκαν για πιθανή διασταυρούμενη αντιδραστικότητα και παρεμβολή στην IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac στη μέγιστη συγκέντρωση της υποδεικνυόμενης ουσίας (Πίνακας 2). Καμία ουσία δεν επέδειξε σημαντική διασταυρούμενη αντιδραστικότητα ή παρεμβολή χρησιμοποιώντας τη μέθοδο που προβλέπεται στο CLSI EP7-A2.

Πίνακας 2.

Ουσία	Μέγιστη συγκέντρωση	
Πρωτεΐνες και πεπτίδια		
Καρδιακή τροπονίνη T	1000 ng/mL	
Καρδιακή τροπονίνη C	1000 ng/mL	
Σκελετική τροπονίνη I	250 ng/mL	
CKMM	781 ng/mL	
CKBB	5000 ng/mL	
Ενδογενείς ουσίες		
Λευκωματίνη	2,5 g/dL	
Αιμοσφαιρίνη	0,1 g/dL	
Ρευματοειδής παράγοντας (ΡΠ)	203 IU/mL	
Κρεατινίνη	2 mg/dL	
Χολερυθρίνη	2,5 mg/dL	
Τριγλυκερίδια	0,5 g/dL	
Ουρία	18 mg/dL	
Χοληστερίνη	280 mg/dL	
Ουσία	Αναλύτης	Μέγιστη συγκέντρωση
Βιοτίνη	Μυοσφαιρίνη	400 ng/mL
	CK-MB	200 ng/mL

ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΑΓΚΙΣΤΡΟΥ

Δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο αγκίστρου υψηλής δόσης για τις συγκεντρώσεις έως και 500 ng/mL για cTnI, 200 ng/mL για CK-MB και 4000 ng/mL για μυοσφαιρίνη.

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια της δοκιμασίας IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας δείγματα όπου cTnI, CK-MB και μυοσφαιρίνη προστέθηκαν σε φυσιολογικό ανθρώπινο πλάσμα σε πολλαπλές συγκεντρώσεις (Πίνακας 3). Οι μετρήσεις μέσα στην ίδια ημέρα και οι μετρήσεις ολικής ακρίβειας διεξήχθησαν σε δύο κύκλους ανά ημέρα, σε επαναλήψεις των 4 ανά κύκλο σε κάθε επίπεδο συγκέντρωσης κατά τη διάρκεια μιας περιόδου 15 ημερών για έναν συνολικό αριθμό 120 επαναλήψεων για κάθε επίπεδο συγκέντρωσης. Οι διακυμάνσεις και συντελεστές διακύμανσης (CV) ενός κύκλου συνολικά υπολογίστηκαν σύμφωνα με την κατευθυντήρια γραμμή CLSI EP5-A2.²⁰

Πίνακας 3A.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac – Ακρίβεια δοκιμασίας για cTnI

Δείγμα	Μέσος όρος (ng/mL)	Ακρίβεια στο πλαίσιο ενός κύκλου		Ολική ακρίβεια	
		Τυπική απόκλιση (ng/mL)	Συντελεστής διακύμανσης (%)	Τυπική απόκλιση (ng/mL)	Συντελεστής διακύμανσης (%)
1	0,46	0,06	12,6%	0,06	12,6%

Δείγμα	Μέσος όρος (ng/mL)	Ακρίβεια στο πλαίσιο ενός κύκλου		Ολική ακρίβεια	
		Τυπική απόκλιση (ng/mL)	Συντελεστής διακύμανσης (%)	Τυπική απόκλιση (ng/mL)	Συντελεστής διακύμανσης (%)
2	0,95	0,11	12,0%	0,12	13,0%
3	4,43	0,41	9,4%	0,45	10,1%

Πίνακας 3Β.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac – Ακρίβεια δοκιμασίας για CK-MB

Δείγμα	Μέσος όρος (ng/mL)	Ακρίβεια στο πλαίσιο ενός κύκλου		Ολική ακρίβεια	
		Τυπική απόκλιση (ng/mL)	Συντελεστής διακύμανσης (%)	Τυπική απόκλιση (ng/mL)	Συντελεστής διακύμανσης (%)
1	7,13	0,64	9,0	0,73	10,3
2	13,33	1,49	11,2	1,53	11,5

Πίνακας 3Γ.

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac – Ακρίβεια δοκιμασίας για μυοσφαιρίνη

Δείγμα	Μέσος όρος (ng/mL)	Ακρίβεια στο πλαίσιο ενός κύκλου		Ολική ακρίβεια	
		Τυπική απόκλιση (ng/mL)	Συντελεστής διακύμανσης (%)	Τυπική απόκλιση (ng/mL)	Συντελεστής διακύμανσης (%)
1	106,1	11,4	10,8	12,8	12,1
2	202,7	25,6	12,7	25,6	12,7

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΟΛΟΚΛΗΡΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΕΝΑΝΤΙ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

Διεξήθη συγκριτική μελέτη χρησιμοποιώντας δείγματα ολικού αίματος και πλάσματος με ηπαρίνη λιθίου. Κατά την πραγματοποίηση ανάλυσης παλινδρόμησης Passing-Bablok για τη σύγκριση των συγκεντρώσεων στο ολικό αίμα (OA) έναντι των αντίστοιχων συγκεντρώσεων στο πλάσμα από δείγματα ίδιου ατόμου, προσδιορίστηκε η ακόλουθη σχέση:

$$OA = 1,00 \text{ πλάσμα} (95\% \text{ C.I.} = [0,93-1,07]) + 0,01 \text{ ng/mL - cTnI}$$

$$OA = 1,17 \text{ πλάσμα} (95\% \text{ C.I.} = [1,09-1,29]) - 0,19 \text{ ng/mL - CK-MB}$$

$$OA = 0,92 \text{ πλάσμα} (95\% \text{ C.I.} = [0,83-1,04]) + 0,00 \text{ ng/mL - μυοσφαιρίνη}$$

Αναμενόμενες τιμές

ΑΝΩ ΟΡΙΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Από έναν πληθυσμό 224 ατόμων, χρησιμοποιήθηκε η IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac για τον προσδιορισμό των άνω ορίων αναφοράς συγκέντρωσης των cTnI, CK-MB και μυοσφαιρίνης. Ο εν λόγω πληθυσμός περιελάμβανε φαινομενικά υγιή άτομα. Το άνω ορία αναφοράς για κάθε αναλυτή είναι:

0,10 ng/mL (99^o εκατοστημόριο αναφοράς) – cTnI

8,58 ng/mL (95^o εκατοστημόριο αναφοράς) – CK-MB

99,84 ng/mL (95^o εκατοστημόριο αναφοράς) – μυοσφαιρίνη

Κάθε εργαστήριο πρέπει να καθορίσει ένα εύρος αναφοράς που αντιπροσωπεύει τον πληθυσμό ασθενών που πρόκειται να αξιολογηθεί στις εγκαταστάσεις του.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ

Διενεργήθηκε μελέτη ισοδυναμίας μεταξύ της δοκιμασίας IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac, χρησιμοποιώντας τον αναλυτή Nexus IB10, και των δοκιμασιών Ortho VITROS® Troponin I ES, μυοσφαιρίνης και CK-MB.

cTnI

Ελέγχθηκε ένα σύνολο 253 δειγμάτων εντός εύρους συγκέντρωσης της cTnI από 0,05 ng/mL έως 30 ng/mL. Η παλινδρόμηση Passing-Bablok ήταν:

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (TnI) = 0,80 (VITROS TnI ES) + 0,00 ng/mL

Συντελεστής συσχέτισης, r = 0,92

CK-MB

Ελέγχθηκε ένα σύνολο 161 δειγμάτων εντός εύρους μέτρησης της CK-MB. Η παλινδρόμηση Passing-Bablok ήταν:

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (CK-MB) = 1,29 (VITROS CK-MB) – 0,54 ng/mL

Συντελεστής συσχέτισης, r = 0,88

ΜΥΟΣΦΑΙΡΙΝΗ

Ελέγχθηκε ένα σύνολο 117 δειγμάτων εντός εύρους μέτρησης της μυοσφαιρίνης. Η παλινδρόμηση Passing-Bablok ήταν:

IB10 sphingotest® 3-in-1 Cardiac (Myo) = 1,00 (VITROS MYOG) – 5,1 ng/mL

Συντελεστής συσχέτισης, r = 0,90

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, on behalf of the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2012;125:e2-e220.
2. Cardiovascular Diseases, World Health Organization factsheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>
3. World Health Organization. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature. Nomenclature and criteria of diagnosis of ischemic heart disease. *Circulation* 1979;59:607-9.
4. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2525-38; *Circulation* 2007;116:2634-53; *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2173-95.
5. Newby LK, Storrow AB, Gibler B, et al. Bedside multimarker testing for risk stratification in chest pain patients – the chest pain evaluation by creatine kinase-MB, myoglobin and troponin I (CHECKMATE) study. *Circulation* 2001;103:1832-7.
6. Apple FS, Voss E, Lund L, et al. Cardiac troponin, CK-MB and myoglobin for the early detection of acute myocardial infarction and monitoring of reperfusion following thrombolytic therapy. *Clin Chim Acta* 1995;237:59-66.
7. Ohman EM, Casy C, Bengtson JR, et al. Early detection of acute myocardial infarction: Additional diagnostic information from serum concentrations of myoglobin in patients without ST elevations. *Br Heart J* 1990;63:335-8.
8. Tucker JF, Collins RA, Anderson AJ, et al. Value of serial myoglobin levels in the early diagnosis of patients admitted for acute myocardial infarction. *Ann Emerg Med* 1994;24:704-8.
9. Cairns JA, Missirlis E, Walker WH. Usefulness of serial determinations of myoglobin and creatine kinase in serum compared for assessment of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1983;29:469-73.
10. Lott JA, Abbott LB. Creatine kinase isoenzymes. *Clin Lab Med* 1986;6:547-76.
11. Mehegan JP, Tobacman LS. Cooperative interaction between troponin molecules bound to the cardiac thin filament. *J Biol Chem* 1991;266:966-72.
12. Bodor GS, Porter S, Landt Y, Ladenson JH. Development of monoclonal antibody for an assay of cardiac troponin I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clin Chem* 1992;38:2203-14.
13. Adams JE, Bodor GS, Davila-Roman VG, et al. Cardiac troponin I: a marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993;88:101-6.
14. Heidenreich PA, Alloggiamento T, Melsop K, et al. The prognostic value of troponin in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome: a meta analysis. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:478-85.
15. Morrow DA, Rifai N, Tanasjevic MJ, et al. Clinical efficacy of three assays for cardiac troponin I for risk stratification in acute coronary syndromes - a TIMI 11b substudy. *Clin Chem* 2000;46:453-60.
16. Reichlin T, Irfan A, Twerenbold R, et al. Utility of absolute and relative changes in cardiac troponin concentrations in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation* 2011;124:136-45.
17. Jaffe AS, Apple FS, Morrow A, et al. Being rational about (im)precision: a statement from the biochemistry subcommittee of the Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology Foundation/ American Heart Association/World Heart Federation Task Force for the Definition of Myocardial Infarction. *Clin Chem* 2010;56:941-3.

18. Tholen DW, Linnet K, Kondratovich M, et al. NCCLS. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline, NCCLS document EP17-A, Volume 24 Number 35, 2004.
19. McEnroe, RJ, Burnitt, MF, Powers, DM, et al. CLSI Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2, Volume 25 Number 27, 2005.
20. Tholen DW Kallner A, Kennedy JW, et al. NCCLS. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline-Second Edition. NCCLS document EP5-A2, Volume 25 Number 27, 2004.