REF: P 5803

Troponin I Test

Testkassetten für den qualitativen Nachweis von Troponin I

1. Verwendungszweck

Der **Troponin I Test** ist ein einstufiger Membran-Immunoassay für den schnellen, qualitativen Nachweis von menschlichem Herztroponin I aus Vollblut, Serum oder Plasma und ist ein Hilfsmittel in der Diagnose eines Myokardinfarkts (MI).

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Das kardiale Troponin I (cTnI) ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von 22,5 kDa, welches im Herzmuskel gefunden wird.[1] Troponin I ist ein Baustein eines Gefüges, das außerdem aus Troponin T und Troponin C besteht. Zusammen mit Tropomyosin bildet dieses Gefüge den Hauptbestandteil, der die kalziumempfindliche ATPase Actomyosinaktivität in quer gestreiften Skelett- und Herzmuskeln reguliert.[2] Nach Auftreten einer Herzschädigung wird 4 – 6 Stunden nach Einsetzen des Schmerzes Troponin I im Blut freigesetzt. Die Freisetzung von kardialem TnI ähnelt der des CK-MB; aber während CK-MB nach 72 Stunden auf das normale Niveau zurückkehrt, bleibt Troponin I über 6 – 10 Tage hinweg erhöht und bietet somit ein größeres Zeitfenster für den Nachweis einer Herzschädigung. Die hohe Spezifität der cTnI Messungen zum Nachweis einer myokardialen Schädigung wurde bei operativen Eingriffen, nach Marathonläufen und stumpfen Thoraxtraumata (blunt chest trauma) demonstriert.[3] Ausschüttungen von cTnI konnten auch bei anderen Leiden als dem akuten Myokardinfarkt (AMI) dokumentiert werden wie bei instabiler Angina, Stauungsinsuffizienz und Ischämieschäden aufgrund einer Bypassoperation der Koronararterien[4]. Wegen seiner hohen Spezifität und Empfindlichkeit im myokardischen Gewebe ist Troponin I in letzter Zeit zum bevorzugten Biomarker für Myokardinfarkt geworden[5].

Der **Troponin I Test** ist ein einfacher Schnelltest, mit dem durch eine Kombination von Partikel-konjugierten cTnI-spezifischen Antikörpern und Fängerreagenzien selektiv cTnI in Vollblut, Serum oder Plasma nachgewiesen werden kann. **Die Nachweisgrenze liegt bei 1 ng/ml**.

3. Testprinzip

Der **Troponin I Test** ist ein Immunotest, der qualitativ cTnI im Vollblut, Serum oder Plasma nachweist. Die Membran ist im Bereich der Testlinie mit Fängerreagens beschichtet. Während des Testablaufs reagiert das in der Vollblut-, Serum- oder Plasmaproben enthaltene cTnI mit den zwei spezifischen anti-cTnI Antikörpern des Tests, von denen einer die Bindung an das Fängerreagens vermittelt und der andere farbmarkiert ist.

Durch Kapillarkraft läuft das Gemisch über die Membran. In der Testlinienregion wird der cTnI-Antikörperkomplex von dem immobilisierten Fängerreagens abgefangen, so dass eine rote Linie erscheint. Diese zeigt ein positives Ergebnis an. Wenn die Probe kein cTnI enthält, erscheint in der Testregion keine Linie und weist damit auf ein negatives Ergebnis hin.

Weiterhin muss im Kontrolllinienbereich (C) des Tests immer eine rote Linie erscheinen, die unabhängig von der cTnI-Konzentration im Probenmaterial gebildet wird. Sie dient als Funktionskontrolle und zeigt an, dass eine ausreichende Probenmenge verwendet wurde und dass die Flüssigkeit die Membran vollständig durchdrungen hat.

4. Bestandteile der Testpackung

- 10 Troponin I Testkassetten
- 10 Einwegpipetten (im Beutel enthalten)
- 10 heparinisierte Kapillarröhrchen
- 1 Tropffläschchen mit Puffer
- 1 Packungsbeilage

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Röhrchen für die Blutabnahme
- Zentrifuge (nur für Plasma/Serum)
- Lanzetten (nur für Vollblut aus dem Fingereinstich)
- Abgabekolben (nur für Vollblut aus dem Fingereinstich)
- Stoppuhr

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Lagern Sie den Test wie verpackt im versiegelten Beutel gekühlt oder bei Raumtemperatur (2–30°C). So bleibt der Test bis zu dem auf dem versiegelten Beutel aufgedruckten Haltbarkeitsdatum stabil. Die Testkassette muss bis zum Gebrauch im versiegelten Beutel verbleiben.

- Test nicht einfrieren!
- Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden!

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für die professionelle *in-vitro*-Diagnostik.
- Nach dem Verfallsdatum nicht mehr benutzen.
- Der Test sollte bis zum Gebrauch in dem versiegelten Beutel bleiben.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit den Proben oder Tests umgegangen wird.
- Benutzen Sie den Test nicht, wenn der Beutel beschädigt ist.
- Der gebrauchte Test sollte sachgemäß entsprechend der Vorschriften entsorgt werden.
- Feuchtigkeit und erhöhte Temperatur können die Ergebnisse negativ beeinflussen.
- Proben sind als potentiell infektiöses Material zu betrachten und daher mit entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln. Tragen Sie Schutzkleidung wie Laborkittel, Einweghandschuhe oder Schutzbrille, wenn Proben getestet werden.

8. Probennahme, -vorbereitung und Lagerung

Der **Troponin I** Test kann mit Vollblut (venös oder aus Fingereinstich), Serum oder Plasma durchgeführt werden.

Probennahme

Entnahme von Vollblut aus der Fingerkuppe mittels Kapillarröhrchen:

1. Waschen Sie die Hand des Patienten mit Seife und warmem Wasser oder säubern Sie die Einstichstelle großzügig mit einem Alkoholtuch.
2. Massieren Sie die Hand in Richtung der Kuppe des Mittel- oder Ringfingers ohne dabei den Einstichpunkt zu berühren.
3. Stechen Sie mit einer sterilen Lanzette in die Fingerkuppe. Wischen Sie bitte den ersten Blutstropfen ab.
4. Reiben Sie die Hand vom Handgelenk zur Handfläche und zum Finger und bilden Sie einen runden Tropfen auf dem Einstichpunkt.
5. Entnehmen Sie eine Blutprobe mit der Kapillare, bis sie sich vollständig gefüllt hat. Vermeiden Sie Lufteinschlüsse.
6. Stülpen Sie einen Abgabekolben über das obere Ende der Kapillare und drücken Sie dann den Abgabekolben, um die Blutprobe in das Probenfeld (S) der Testkassette zu träufeln.

Probenlagerung und -transport

- Trennen Sie Serum oder Plasma so schnell wie möglich vom Blut, um die Hämolyse zu vermeiden.
- Es kann auch EDTA-Blut zur direkten Testung verwendet werden.
- Es kann sowohl Heparin-Blut wie auch EDTA- oder Citrat-Blut zur Plasmagewinnung benutzt werden.
- Verwenden Sie nur klare und nicht hämolysierte Proben.
- Die Testdurchführung sollte unverzüglich nach der Probenentnahme durchgeführt werden. Bewahren Sie Proben nicht zu lange bei Raumtemperatur auf. Serum und Plasma können bei 2-8°C bis zu 3 Tage aufbewahrt werden. Für eine längere Lagerung sollten die Proben bei unter -20°C aufbewahrt werden. Venöses Vollblut sollte bei 2-8°C aufbewahrt werden, wenn der Test innerhalb von 2 Tagen nach Probenentnahme durchgeführt wird. Vollblutproben nicht einfrieren! Vollblut aus der Fingerkuppe sollte unverzüglich getestet werden.
- Bringen Sie die Proben vor Testdurchführung auf Raumtemperatur. Gefrorene Proben müssen vor Testdurchführung vollständig aufgetaut und gut gemixt werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden.
- Wenn Proben versendet werden sollen, sollten diese gemäß lokaler Verordnungen für ätiologische Mittel verpackt werden.

9. Testdurchführung

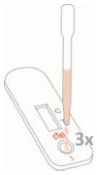
I. Vorbereitung

1. Vor Testbeginn die Troponin I Testkassette und Probe auf Raumtemperatur (15 – 30°C) bringen.
2. Nehmen Sie den Troponin I Test aus dem versiegelten Beutel und benutzen Sie ihn so bald wie möglich. Die besten Ergebnisse werden erreicht, wenn der Test innerhalb einer Stunde durchgeführt wird. Legen Sie den Troponin I Test auf eine saubere und ebene Oberfläche.

II. Durchführung des Tests

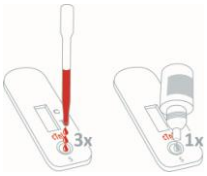
1.a Serum- oder Plasmaproben

Halten Sie die Einwegpipette senkrecht und geben Sie **3 Tropfen Serum oder Plasma** (ca. 100 – 120 µL) in die runde Probenöffnung (S) des **Troponin I Tests**.



1.b Venöses Vollblut

Halten Sie die Einwegpipette senkrecht und geben Sie **3 Tropfen Vollblut** (ca. 100 – 120 µL) in die runde Probenöffnung (S) des **Troponin I Tests.** Fügen Sie **1 Tropfen Puffer** hinzu.



1.c <u>Vollblut aus Fingereinstich</u>

Geben Sie 5 Tropfen Vollblut aus dem Kapillarröhrchen (ca. 100 – 120 µL) in die runde Probenöffnung (S) des Troponin I Tests. Fügen Sie **1 Tropfen Puffer** hinzu.

2. Starten sie die Stoppuhr. Warten Sie darauf, dass die rote(n) Linie(n) erscheint bzw. erscheinen. Lesen Sie das Ergebnis **nach 15 Minuten** ab. Bitte bestätigen Sie **negative Testergebnisse nach 20 Minuten**. Nach mehr als 20 Minuten sollten keine Ergebnisse mehr abgelesen werden.

10. Testauswertung

Positiv

Zwei erkennbare Linien werden sichtbar. Eine rote oder rötliche Linie liegt im Kontrollbereich (C) und eine weitere im Testbereich (T). Auch die leichteste erkennbare T-Linie muss als positives Ergebnis gedeutet werden.

Negativ

Nur eine rote Linie wird im Kontrollbereich (C) sichtbar. Keine sichtbare rote oder rötliche Linie im Testlinienbereich (T). Bitte bestätigen Sie negative Testergebnisse nach 20 Minuten.

Ungültig

Die Kontrolllinie (C) wird nicht ausgebildet.

In diesem Fall ist das Ergebnis ungültig, selbst wenn die Testergebnislinie sichtbar ist. Abweichungen von der korrekten Testdurchführung oder ein zu geringes

Probevolumen können die Ursache hierfür sein. Überprüfen Sie noch einmal die Testdurchführung auf mögliche Fehler und wiederholen Sie die Untersuchung mit einem neuen Test. Taucht das Problem erneut auf, setzen Sie sich bitte mit uns in Verbindung.

***HINWEIS:** Der Farbton der roten Linie im Testbereich (T) hängt von der cTnI-Konzentration im Probenmaterial ab. Auch schwach rötliche Testergebnislinien sollten als positives Ergebnis interpretiert werden.

11. Qualitätskontrolle

Der **Troponin I Test** beinhaltet eine interne Funktionskontrolle (Kontrolllinie), die anzeigt, ob eine ausreichende Probenmenge aufgetragen bzw. die Chromatographie beendet wurde. Kontrollstandards sind im Lieferumfang des **Troponin I Tests** nicht enthalten. Dennoch ist es zu empfehlen, dass im Rahmen einer guten Laborpraxis Positiv- und Negativkontrollen untersucht werden, um die Testdurchführung und die korrekte Testleistung zu überprüfen.

12. Grenzen des Tests

- Der **Troponin I Test** ist ausschließlich als *in-vitro*-Diagnostikum für die professionelle Anwendung einsetzbar. Er sollte ausschließlich für den Nachweis von Troponin I in Vollblut-, Serum- oder Plasmaproben benutzt werden. Der **Troponin I Test** erlaubt lediglich einen rein qualitativen Nachweis von cTnI; quantitative Angaben können mit diesem Test nicht gemacht werden.
- Der **Troponin I Test** zeigt nur die Anwesenheit von cTnI in der untersuchten Probe an und sollte nicht als einziges Kriterium für die Diagnose eines Myokardinfarkts herangezogen werden.
- Falls die klinische Symptomatik trotz eines negativen Testergebnisses andauert, sollten in jedem Fall weitere klinische Untersuchungen vorgenommen werden. Die Nachweisgrenze des Tests liegt bei 1,0 ng cTnI/ml Probenmaterial. Auch bei einem negativen Testergebnis kann das Vorhandensein von cTnI nicht völlig ausgeschlossen werden, da die Proteinkonzentration unterhalb der Nachweisgrenze liegen kann. Bitte beachten sie, dass der cTnI-Anstieg in der Regel erst einige Stunden nach Einsetzen des Schmerzes stattfindet. Wird zu früh getestet, kann die cTnI-Konzentration noch zu gering sein, um vom Test verlässlich erfasst zu werden. Ein negatives Ergebnis schließt zu keiner Zeit die Möglichkeit eines stattgefundenen Myokardinfarkts aus.
- Aufgrund der Heterogenität kommerziell erwerblicher Standardmaterialien kann die Sensitivität des Assays mit unterschiedlichen Standards leicht variieren. Eine Sensitivität von 1 ng/ml wird jedoch immer erreicht. Konzentrationen unterhalb von 0,5 ng/ml werden von dem Test nicht mehr detektiert.
- Wie bei allen diagnostischen Tests, müssen alle Ergebnisse zusammen mit anderen klinischen Informationen, die dem Arzt zur Verfügung stehen, ausgewertet werden. *Ein negatives Ergebnis schließt zu keiner Zeit die Möglichkeit eines stattgefundenen Myokardinfarkts aus.*
- Proben, die außergewöhnlich hohe Konzentrationen heterophiler Antikörper oder rheumatischer Faktoren (RF) enthalten, können das Ergebnis beeinflussen. Selbst wenn die Testergebnisse positiv ausfallen, sollte eine weiterführende Beurteilung mit anderen Informationen, die dem Arzt zur Verfügung stehen, durchgeführt werden.
- In seltenen Fällen können Autoantikörper im Blut des Patienten die Antigen-Antikörper Reaktion im Test verhindern, indem Bindungsstellen blockiert werden. Dies kann zu falsch negativen Testergebnissen führen. Bitte beachten Sie, dass diese Problematik generell bei allen Testmethoden auftreten kann, bei denen der Nachweis eines Proteins über eine Antikörperreaktion erfolgt.
- Hochviskose Vollblutproben oder Vollblutproben, die länger als zwei Tage gelagert wurden, können zu ungültigen Testergebnissen führen. Ist dies der Fall, sollte der Test mit einer Serum- oder Plasmaprobe des gleichen Patienten wiederholt werden.

13. Leistungsmerkmale des Tests

Analytische Sensitivität

Die Nachweisgrenze des Tests liegt bei 1,0 ng cTnI/ml. Zur regelmäßigen Überprüfung der Mindestsensitivitäten kommen die Standardmaterialien von Hytest (free cTnI) zur Anwendung. Bitte beachten Sie, dass aufgrund der Heterogenität kommerziell erhältlicher Standardmaterialien die Sensitivität des Tests bei Verwendung unterschiedlicher Standards leicht variieren kann.

In einer Vergleichsstudie mit einem führenden, für den Verkauf in der EU zugelassenen Membrantest eines andern Herstellers zeigten die Laboruntersuchungen eine >99% Übereinstimmung des untersuchten Probematerials. Proben ohne cTnI wurden übereinstimmend als negativ beurteilt. Proben mit cTnI-Konzentrationen oberhalb der Nachweisgrenze erzielten übereinstimmend positive Testergebnisse mit beiden Tests.

Inter- und Intra-Chargen-Prüfung

Die Intra bzw. Interchargenvarianz des Tests wurde ermittelt, indem für drei unabhängige Chargen cTnI-Konzentrationen von 0 ng/ml, 5 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml und 40 ng/ml in einer 10-fach Bestimmung untersucht wurden. Die Proben wurden in >99% der Fälle korrekt identifiziert.

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit des Tests wurde ermittelt, indem 3 unabhängige Tests mit denselben fünf Proben untersucht wurden: 0 ng/ml, 5 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml und 40 ng/ml cTnI. Drei verschiedene Chargen des **Troponin I Tests**

wurden über einen Zeitraum von 3 Monaten unter Verwendung dieser Proben getestet. Die Proben wurden in >99% der Fälle korrekt identifiziert.

Kreuzreaktionen

Seren, die bekannte Mengen cTnI-Antigen enthalten, wurden mit 10.000 ng/ml Skeletttroponin I, 2.000 ng/ml Troponin T und 20.000 ng/ml cardiales Tropomyosin getestet. Es wurde keine Kreuzreaktivität festgestellt. Dies zeigt, dass der **Troponin I Test** eine hohe Spezifität für kardiales Troponin I (cTnI) aufweist.

Für Proben, die 110 µg/ml menschliches Albumin, 6 mg/ml Bilirubin, 10 mg/ml Hämoglobin, 5 mg/ml Cholesterin und 15 mg/ml Triglyzeride enthielten, wurde kein Einfluss auf die Generierung des Testergebnisses beobachtet.

Die folgenden Medikamente wurden ebenfalls unter Verwendung des **Troponin I Tests** getestet. Bei Konzentrationen von 50 µg/ml kam es zu keiner Beeinträchtigung des Testergebnisses.

Acetaminophen	Captopril	Flunarizin Hydrochlorid	Oxazepam
Acetylsalicylsäure	Chloramphenicol	Furosemid	Pentoxifyllin
Anisodamine	Chlordiazepoxid	Hydrochlorothiazid	Phenobarbital
Ascorbinsäure	Cilazapril	Isosorbid Mononitrat	Chinin
Atenolol	Diclofenac	Labetalol	Ramipril
Atorvastatin Calcium	Digoxin	Metoprolol Tartrat	DL-Tyrosin
Koffein	Erythromycin	Moracizin Hydrochlorid	Trimethoprim
Bisoprololfumarat	Felodipin	Nifedipin	Verapamil

14. Referenzen

1. Adams, et al. *Biochemical markers of myocardial injury*, Immunoassay Circulation 88: 750-763 (1993).
2. Mehegan JP, Tobacman LS, *Cooperative interaction between troponin molecules bound to the cardiac thin filament*. J. Biol. Chem. 266:966 (1991)
3. Adams, et al. *Diagnosis of Perioperative myocardial infarction with measurements of cardiac troponin* I. N.Eng.J. Med 330:670 (1994).
4. Hossein-Nia M, et al. *Cardiac troponin / release in heart transplantation*. Ann.Thorac. Surg. 61 : 227 (1996).
5. Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology: J.Am. Coll. Cardio., 36(3), Myocardial Infarction Redefined, 2000.

CE	CE Konformitätszeichen
	Gebrauchsanweisung beachten
IVD	In-vitro-Diagnostika
	Temperaturbegrenzung
LOT	Chargenbezeichnung
	Nicht zur Wiederverwendung
	Verwendbar bis
REF	Bestellnummer
	Hersteller
Σ	Ausreichend für <n> Ansätze

Rev. 1, 2016-11-04 TG