



SRDEČNÍ TROPONIN I / (cTnI)

Zamýšlené použití

Test i-STAT® srdeční troponin I (cTnI) je *in vitro* diagnostický test pro kvantitativní měření srdečního troponinu I (cTnI) v plné krvi nebo plazmě. Měření srdečního troponinu I se používají při diagnostice a léčbě infarktu myokardu (MI) a jako pomůcka při stratifikaci rizik u pacientů s akutními koronárními syndromy s ohledem na jejich relativní riziko úmrtnosti.

Vysvětlení metody

Testovací kazeta i-STAT cTnI využívá metodu imunisorpční analýzy propojenou s enzymy na dvou místech, tzv. ELISA. Protilátky specifické pro lidský srdeční troponin I (cTnI) jsou umístěny na elektrochemickém snímači, který se nachází na silikonovém čipu. V jiném místě silikonového čipu je také usazen enzym konjugátu fosfatázy protilátky/alkalinu specifické pro samostatnou část molekuly cTnI. Vzorek plné krve nebo plazmy je uveden do kontaktu se snímači, což umožňuje rozpuštění konjugátu enzymu ve vzorku. cTnI ve vzorku bude označen alkalickou fosfatázou a je zachycen na povrchu elektrochemického snímače během přibližně sedmiminutového období inkubace. Vzorek i nadměrný konjugát enzymu jsou ze snímačů smyty. Tekutina pro smývání obsahuje substrát pro enzym alkalické fosfatázy. Tento enzym vázaný na složení protilátky/antigenu/protilátky štěpí substrát, čímž se uvolňuje elektrochemicky zjištělý produkt. Elektrochemický (amperometrický) snímač měří tento enzymatický produkt, který je úměrný koncentraci cTnI ve vzorku.

Obsah

Každá kazeta i-STAT cTnI má přívod pro vzorek, snímače ke zjišťování cTnI podle výše uvedeného popisu a veškeré nezbytné reagentie potřebné k provedení testu. Kazeta obsahuje pufr a konzervační prostředky. Seznam reaktivních složek je uveden dále:

Reaktivní složka	Biologický zdroj	Minimální množství
Konjugát protilátky / alkalického fosfátu	Kozí IgG : Hovězí střevo	0,003 µg
IgG	Kozí Ig G : Krysí IgG	8 µg : 8 µg
Aminofenyl fosfát sodíku	Není relevantní	0,9 mg
Heparin	Prasečí střevo	0,45 IU
IgM	Krysí IgM	0,3 µg

Metrologická sledovatelnost

Test systému i-STAT na srdeční troponin-I (cTnI) měří koncentraci srdečního troponinu-I v plazmě nebo plazmové frakci plné krve (v ng mL⁻¹) pro *in vitro* diagnostické použití. Hodnoty srdečního troponinu-I přidělené kontrolám a materiálům pro ověřování kalibrace systému i-STAT lze sledovat v rámci pracovního kalibrátoru i-STAT připraveného z lidského srdečního troponin-ITC komplexu (Hy-Test Ltd., Turku, Finsko, katalogové č. 8T62). Kontroly a materiály pro ověřování kalibrace systému i-STAT jsou validovány pouze pro používání se systémem i-STAT a přiřazené hodnoty nemusí být dosažitelné s ostatními metodami. Další informace týkající se metrologické sledovatelnosti vám poskytne společnost Abbott Point of Care Inc.

Vykazovatelný rozsah

Test i-STAT cTnI vykazuje 0,00 až 50,00 ng/mL (µg/L). Vzorky nad vykazovatelný rozsah budou mít na obrazovce analyzátoru hodnotu > 50,00 ng/mL. Výkonnostní charakteristiky měření i-STAT cTnI nebyly stanoveny pro hodnoty cTnI nad 35,00 ng/mL (µg/L).

Referenční rozsah

Vzorky plné krve a plazmy od 162 zjevně zdravých dárců byly chemicky analyzovány duplicitně pomocí tří různých šarží kazet i-STAT cTnI. Rozsah výsledků 0 až 97,5 % pokrýval 0,00 ng/mL (µg/L) až 0,03 ng/mL (µg/L). Rozsah výsledků 0 až 99 % pokrýval 0,00 ng/mL (µg/L) až 0,08 ng/mL (µg/L).

Poznámka: Každé zařízení by mělo stanovit vlastní referenční rozsah pomocí analýzy i-STAT cTnI.

Klinická významnost

Biochemické srdeční markery včetně cTnI jsou užitečné pro diagnostiku infarktu myokardu i stratifikaci rizik. To může pomoci s volbou terapeutických možností.

Pro optimální diagnostickou užitečnost by měl být pro srdeční tkáň specifický srdeční marker, měl by být rychle uvolněn do krevního toku s přímým poměrným vztahem mezi rozsahem myokardického poranění a měřené hladiny markeru a měl by být v krvi přítomen dostatečně dlouho, aby poskytoval přehledné okno diagnostického času.¹ Troponiny specifické pro srdeční oblast, troponin I (cTnI) a troponin T (cTnT) jsou považovány za biochemické markery první volby při hodnocení akutních koronárních syndromů (ACS) včetně ST-zvýšení infarktu myokardu ST-nevedoucím ke zvýšení infarktu myokardu a nestabilní anginy pectoris.^{2,3} Zvýšené hladiny troponinů specifických pro srdeční oblast nesou prognostické informace nad rámec těchto zjištění, které byly patrné z klinických příznaků a symptomů pacientů, ECG při prezentaci a předběžném testu cvičení před propuštěním.¹ Antman et al. uvádí, že u pacientů se zvýšenými hladinami cTnI docházelo ke statisticky významnému nárůstu mortality (p < 0,001).⁴ Ostatní studie ukazovaly zvýšení dalších nefatálních srdečních příhod jako nefatální MI, kongestivní selhání srdce a urgentní revaskularizace se zvýšenými hladinami cTnI.^{5,6,7}

Možnost měření cTnI při nízkých koncentracích nabízí možnost zvážit terapeutický zásah při jakémkoli zvýšení nad normální rozsah. Pacienti, kteří měli v EKG nulové zvýšení ST, ale měli i mírné zvýšení cTnI nebo cTnT, mohou mít z léčby určitými léky, jako například inhibitory GP IIb/IIIa nebo heparinem s nízkou molekulární hmotností větší prospěch.^{8,9,10}

Globální operační skupina se společným vedením Evropské kardiologické společnosti (ESC), Americké fakulty kardiologické nadace (ACCF), Americké srdeční asociace (AHA) a světové srdeční federace (WHF) upřesnily minulá kritéria infarktu myokardu s univerzální definicí infarktu myokardu, která podporuje používání cTnI jako upřednostňovaného biomarkeru pro myokardické poranění. Univerzální definice MI podle této operační skupiny je stanovena jako typický nárůst a postupný pokles srdečních biomarkerů (přednostně troponinu) s nejméně jednou hodnotou nad 99. percentilem horního referenčního limitu (URL) společně s prokázanou myokardickou ischemií s nejméně jedním z následujících symptomů: ischemické symptomy, patologické Q křivky na elektrokardiogramu (EKG), ischemické změny EKG nebo rentgenový důkaz o nových ztrátách životaschopného myokardu nebo nové regionální abnormalitě pohybu stěn.²

Zvýšená hodnota troponinu sama o sobě není dostačující k diagnostice infarktu myokardu. Místo toho by měla být použita klinická prezentace pacienta (anamnéza, fyzické vyšetření) a EKG v souvislosti s troponinem při diagnostickém posuzování podezření na infarkt myokardu.³ Doporučuje se využít sériový vzorkovací protokol pro usnadnění identifikace dočasných změn vlastností hladin troponinu u MI.^{2,3,11}

Protože cTnI není jednoznačně detekován komerčními chemickými analýzami vzorků od zdravých osob, je velmi pravděpodobné, že měření nad horní limit referenčního rozsahu budou spojována s ischemií či nekrózou;¹² tato pravděpodobnost roste s naměřenou koncentrací troponinu. Dle definice však výsledky nad referenční rozsah budou patrné u normální populace u běžných jednotlivců při absencí myokardické nekróze, tj. výsledek nad 99. percentilem nepotvrzují přítomnost troponinu s absolutní jistotou. Každá instituce by měla určit vlastní referenční rozsah a úroveň rozhodnutí podle konkrétní pacientské populace a klinické praxe.

Akutní poranění myokardu je dokázáno dočasnými změnami hladin troponinu, přičemž konzistentní zvyšování troponinu může indikovat jiné chronické stavy srdce či stavy, které se srdcem nesouvisí. Existuje spousta klinických podmínek, které mohou vést ke zvýšené hladině troponinu bez ischemického koronárního arteriálního onemocnění. Mezi tyto stavy patří přímé poranění, myokarditida, městnavé srdeční selhání, hypertrofie levé dutiny atd.^{13,14} Na tyto klinické stavy by měl být brán zřetel při interpretaci výsledků. Použití sériového vzorkování s konzistentní metodologií troponinu může identifikovat dočasné změny troponinu a poskytnout další informace, které mohou napomáhat při klinické diagnostice pacientů s výsledky na nízké hladině. V případě nekonzistentních klinických informací, nebo kde nejsou diagnostická kritéria plně uspokojena, by měla být rozpoznána možnost zkreslení výsledků – viz část Omezení testu.

Výkonnostní charakteristiky

Přesná data byla shromážděna na několika místech takto: Duplicitní hodnoty každé kontroly byly denně testovány po dobu 20 dní. Výsledkem bylo 40 replikátů. Průměrná statistika je uvedena dále.

Data porovnání metod byla shromážděna podle směrnice CLSI EP9-A2.¹⁵ Venózní vzorky krve byly odebrány do heparinizovaných evakuovaných zkumavek a analyzovány duplicitně na systému i-STAT. Část vzorku byla odstředěna a oddělená plazma byla analyzována v rámci komparativní metody do 1 hour (hodiny) od odběru.

Na prvním replikátu každého vzorku byla provedena analýza Demingovou regresí¹⁶. V tabulce porovnání metod označuje písmeno n počet vzorků v datové sadě, S_{xx} a S_{yy} jsou odhady nepřesnosti na základě duplikátů komparativní metody a metody i-STAT, v uvedeném pořadí. S_{y.x} je směrodatná chyba odhadu a r je korelační koeficient.*

Porovnání metod jsou mezi jednotlivými středisky různá, a to kvůli rozdílům v manipulaci se vzorkem, kalibraci komparativní metody a jiným odchylkám specifickým pro dané středisko.

Studie interference vycházely ze směrnice CLSI EP7.¹⁷

*Obvyklé varování v souvislosti s použitím regresní analýzy je zde shrnuto pro připomenutí. Pro analyt platí, „že pokud jsou data v úzkém rozsahu, je odhad parametrů regrese relativně nepřesný a může být zkreslený. Predikce na základě odhadů tak mohou být neplatné.“¹³ Korelační koeficient r může být použit jako vodítko k posouzení adekvátnosti rozsahu komparativních metod při překonávání problému. Rozsah dat lze považovat za adekvátní, pokud $r > 0,975$.

Přesná data (ng/mL)

Kontrola	Průměr	Směrodatná odchylka	% CV
Hladina 1	0,53	0,04	7,8
Hladina 2	2,17	0,18	8,5
Hladina 3	31,82	2,42	7,6

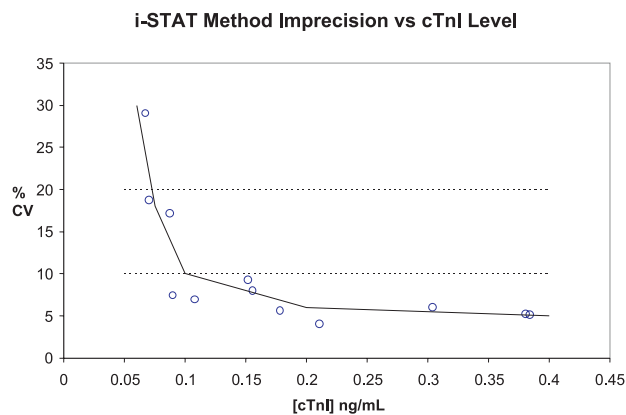
Porovnání metody (ng/mL)

	Dade Behring Stratus® CS
n	189
Sxx	0,28
Syy	0,31
Sklon	0,883
Int't	0,029
Sy.x	1,40
Xmin	0,00
Xmax	46,27
r	0,975

Analytická a funkční citlivost

Analytická citlivost metody cTnI je 0,02 ng/mL, což je nejnižší hladina cTnI, kterou lze odlišit od nuly. Analytická citlivost je definována jako koncentrace při dvou směrodatných odchylkách ze vzorku na 0,00 ng/mL.

Další vlastností analytického měření je funkční citlivost, která je definována jako hladina cTnI, při které metoda testování zobrazuje konkrétní procentuální koeficient odchylky (% CV). Odhady 20% a 10% funkční citlivosti metody cTnI byly určeny z měření plné krve. 20% a 10% funkční citlivost metody cTnI jsou 0,07 ng/mL a 0,10 ng/mL v uvedeném pořadí (viz následující graf)



Analytická specifická

Metoda cTnI je specifická pro srdeční troponin I. Byly testovány následující svalové proteiny a ukázalo se, že mají na naměřený cTnI bezvýznamný vliv.

Křížový reaktant	Koncentrace	Křížová reaktivita v procentech
Troponin C (srdeční)	1 000 ng/mL	< 0,002 %
Troponin T (srdeční)	1 000 ng/mL	0,65%
Troponin I (kosterní)	1 000 ng/mL	< 0,002 %
Troponin T (kosterní)	1 000 ng/mL	< 0,002 %

Obnovení

Linearita zředění testu i-STAT cTnI byla zkoumána pomocí vzorků heparinizované plné krve a plazmy od 3 nezávislých dárců. U každého dárce byly připraveny původní negativní vzorek cTnI a odstředěný vzorek cTnI. Při tomto procesu byly získány tři pozitivní vzorky cTnI plné krve, které byly následně duplicitně posouzeny v jednotlivých třech samostatných šaržích kazet i-STAT cTnI. Tyto vzorky plné krve byly následně zředěny pomocí rovnoměrného množství původní neodstředěné plné krve a společně posuzovány. Z těchto údajů plné krve bylo vypočteno obnovení cTnI.

Plazma odvozená z těchto tří dárců byla zkombinována do rovnoměrných mas ve všech možných kombinacích dvojic. Tyto kombinace pak byly společně posuzovány pro každou ze tří samostatných šarží kazet i-STAT cTnI. Obnovení cTnI pro každou dvojici bylo vypočteno zprůměrováním 6 výsledků. % obnovení uvádí následující tabulka.

Plná krev

Vzorek	Koncentrace	Zředěná koncentrace	% obnovení
A	2,05	1,04	101 %
B	6,31	3,14	100 %
C	27,04	14,05	104 %

Plazma

Vzorek	Koncentrace	Zředěná koncentrace	% obnovení
A	2,41	----	----
B	7,50	----	----
C	29,35	----	----
A+B	----	4,69	95 %
B+C	----	18,90	103 %
A+C	----	16,89	106 %

Omezení testů

Četnost potlačených výsledků je ovlivněna atmosférickým tlakem. Míra potlačení výsledků se může zvyšovat podle nadmořské výšky (nižší atmosférický tlak) a může být trvalá při testování ve více než 7500 stopách (2286 metrů) nad mořem. Tam, kde je nedostupnost výsledků nepřijatelná, doporučuje i-STAT alternativní testovací metodu.

Vzorky od pacientů, kteří byli v kontaktu se zvířaty nebo kteří postoupili léčebné nebo diagnostické procedury využívající imunoglobuliny nebo reagentie z nich odvozené, mohou obsahovat protilátky, např. HAMA nebo jiné heterofilní protilátky, které mohou narušovat imunologické testy a vést k chybným výsledkům.¹⁸⁻²⁴ Bylo vykááno generování potenciálně interferujících protilátek v reakci na bakteriální infekce.¹⁶ I když tento produkt obsahuje reagentie, které minimalizují vliv těchto interferujících látek a algoritmy kontroly kvality určené ke zjištění jejich dopadu, možnost interference způsobující chybné výsledky by měla být pečlivě posouzena v případech, kdy jsou klinické informace nekonzistentní. Výsledky hodnocení i-STAT cTnI by měly být zvažovány v kontextu celé dostupné klinické informace. Rozhodnutí o léčbě by neměla vycházet z jediného měření i-STAT.¹⁴

Srdeční troponin se nemusí objevit v oběhu po 4–6 hours (hodin) od vypuknutí symptomů MI. V důsledku toho je jeden negativní výsledek nedostačující k vyloučení MI. Použití sériového vzorkovacího protokolu je doporučovanou praxí.¹¹

Výsledky různých analýz troponinu nejsou obecně srovnatelné: cTnI a cTnT jsou různé molekuly a výsledky nelze zaměňovat ani porovnávat. Kromě toho může být pozorováno značné kolísání absolutních hodnot troponinu u daného patientského vzorku s využitím různých analytických metod.¹³

Částečně sražené vzorky mohou mít za následek zvýšené výsledky cTnI nad referenční rozsah i chyby v kódu kontroly kvality. Aby k tomu nedošlo, při odebírání vzorku plné krve do heparinizované zkumavky by měl být vzorek jemně nejméně 10krát promíchán, aby se zajistilo rovnoměrné rozmíchání heparinového antikoagulantu.

Hrubě hemolyzované vzorky mohou způsobit sníženou aktivitu alkalické fosfatázy, což vede ke snížené detekci cTnI, vyššímu prostředí chemické analýzy a kódů kontroly kvality.

Hematokrity v rozmezí 0–65 % PCV na výsledky nemají prokazatelně žádný vliv. Vzorky s hladinami hematokritu nad tento rozsah prokazovaly nárůst v nepřesnosti testu a kódech kontroly kvality.

Analyzátor musí být během testování umístěn na rovném povrchu s displejem směrem nahoru. Pohyb analyzátoru v průběhu testování může způsobit zvýšení četnosti potlačených výsledků nebo kódů kontroly kvality. Rovný povrch je rovněž vyžadován k provozu ručního zařízení v nabíječce / nástroji ke stažení.

Interferenční testování

Ukázalo se, že následující látky neměly žádný významný vliv (méně než 10 %) na metodu cTnI při přidání do plazmového fondu obsahujícího cca 2 ng/mL srdečního troponinu I v uvedených koncentracích:

Složka	Testovaná hladina ($\mu\text{mol/L}$, pokud není uvedeno jinak)
Acetaminophen	1 660
Allopurinol	294
Kyselina askorbová	227
Kyselina acetylsalicylová	3 330
Atenolol	37,6
Kofein	308
Kaptopril	23
Chloramphenikol	155
Diclofenac	169
Digoxin	6,15
Dopamin	5,87
Enalaprilat	0,86
Erythromycin	81,6
Furosemid	181
Heparin sodíku*	36 U/mL
Ibuprofen	2 425
Dinitrát isosorbidu	636
Methyldopa	71
Nikotin	6,2
Nifedipin	1,156
Phenytoin	198
Propranolol	7,71
Kyselina salicylová	4 340
Theophyllin	222
Verapamil	4,4
Warfarin	64,9

*Heparin v koncentraci 90 U/mL snižoval hladinu cTnI o přibližně 20 %.

References

1. Braunwald, E, *et al.* ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients with Unstable Angina). 2002. Available at: <http://content.onlinejacc.org/article.aspx?articleid=1130417>.
2. Thygesen K, Alpert JS, White HD, *et al.* Universal definition of myocardial infarction. *Circulation*. 2007; 116:2634-2653.
3. Anderson JL, Adams CD, Antman EM, *et al.* ACC/AHA 2007 Guidelines for the management of patients with unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction). *Circulation*. 2007;116:e148-e304.
4. Antman EM, Tanasijevic, MJ, Thompson B, *et al.* Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *NEJM* 1996, 335(18): 1342-1349.
5. Galvani M, Ottani F, Ferrini D, *et al.* Prognostic influence of elevated values of cardiac troponin I in patients with unstable angina. *Circulation* 1997, 95: 2053-2059.
6. Morrow DA, Rifai N, Tanasijevic MJ, *et al.* Clinical efficacy of three assays for cardiac troponin I for risk stratification in acute coronary syndromes: A thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) IIB substudy. *Clin Chem* 2000, 46(4): 453-460.
7. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, *et al.* Multimarker approach to risk stratification in non-ST-elevation acute coronary syndromes: Simultaneous assessment of troponin I, C-reactive protein, and B-type natriuretic peptide. *Circulation* 2002, 105: 1760-1763.
8. Cannon CP, Weintraub WS, Demopoulos LA, *et al.* Comparison of early invasive and conservative strategies in patients with unstable coronary syndromes treated with the glycoprotein IIb/IIIa inhibitor tirofiban. *NEJM* 2001, 344(25): 1879-1887.
9. Morrow DA, Antman EM, Tanasijevic MJ, *et al.* Cardiac troponin I for stratification of early outcomes and the efficacy of enoxaprin in unstable angina: A TIMI-IIB substudy. *JACC* 2000, 36: 1812-1817.
10. Hamm CW, Heeschen C, Goldmann B, *et al.* Benefit of abciximab in patients with refractory unstable angina in relation to serum troponin T levels (CAPTURE Study Investigators). *NEJM* 1999, 340: 1623-1629.
11. Babuin and Jaffe. Troponin: the biomarker of choice for the detection of cardiac injury. *Can. Med. Assoc. J.* 2005; 173:1191.
12. Hickman *et al.* Cardiac troponin may be released by ischemia alone, without necrosis. *Clin Chem Acta* 2010; 411: 318-323.
13. See "Troponin: What Laboratorians Should know to Manage Elevated Results" at <http://www.fda.gov/MedicalDevices/Safety/AlertsandNotices/TipsandArticlesonDeviceSafety/ucm109362.htm>.
14. Wu *et al.* NACB Standards of Laboratory Practice: Recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery disease. *Clin. Chem.* 1999; 45:1104.
15. CLSI. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Second Edition*. CLSI document EP9-A2 [ISBN 1-56238-472-4]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA 2002.
16. P.J. Cornbleet and N. Gochman, "Incorrect Least-Squares Regression Coefficients in Method-Comparison Analysis," *Clinical Chemistry* 25:3, 432 (1979).
17. CLSI. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline*. CLSI document EP7-A [ISBN 1-56238-480-5]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA 2002.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) *Immunoassay Interference by Endogenous Antibodies; Proposed Guideline*. CLSI document I/LA30-P (ISBN 1-56238-633-6) Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2007.

19. Bjerner et al. Immunometric Assay Interference: Incidence and Prevention. Clin. Chem. 2002; 48:613.
20. Kricka, Interferences in Immunoassays – Still a Threat. Clin. Chem. 2000; 46:1037.
21. Schroff et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. Cancer Res. 1985;45:879.
22. Primus et al. “Sandwich”-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. Clin Chem. 1988; 34:261.
23. Nahm et al. Heteroantibody: phantom of the immunoassay. Clin. Chem. 1990; 36:829.
24. Boscato et al. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin. Chem. 1988; 34:27.

i-STAT je registrovaná ochranná známka Abbott Group of Companies v různých jurisdikcích.



Abbott Point of Care Inc.
100 and 200 Abbott Park Road
Abbott Park, IL 60064 • USA



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



©2018 Abbott Point of Care Inc. Všechna práva vyhrazena. Vytlačeno v USA.