



TROPONINA CARDIACA I / (cTnI)

Uso previsto

i-STAT® cardiac troponin I (cTnI) è un test *in vitro* per la misurazione della troponina cardiaca I (cTnI) in campioni di sangue intero o plasma. La misurazione della troponina cardiaca I viene utilizzata nella diagnosi e nel trattamento dell'infarto miocardico e come ausilio per la stratificazione del rischio relativo di mortalità nei pazienti affetti da sindrome coronarica acuta.

Spiegazione del metodo

La cartuccia per il test i-STAT cTnI utilizza il metodo di un test di immunoassorbimento enzimatico su due punti (ELISA). Gli anticorpi specifici per la troponina cardiaca umana I (cTnI) si trovano su un sensore elettrochimico collocato su un chip di silicio. In un altro punto del chip di silicio del sensore si trova un coniugato enzimatico anticorpo/fosfatasi alcalina, specifico per una porzione separata della molecola di cTnI. Il campione di sangue intero o plasma viene portato a contatto con i sensori che consentono al coniugato con l'enzima di sciogliersi nel campione. La cTnI nel campione viene marcata con fosfatasi alcalina e catturata sulla superficie del sensore elettrochimico durante un periodo di incubazione di circa sette minuti. Il campione, così come il coniugato con l'enzima in eccesso, vengono sciacquati via dai sensori. Nel fluido di lavaggio vi è un substrato per la fosfatasi alcalina. L'enzima legato al sandwich anticorpo-antigene-anticorpo scinde il substrato rilasciando un prodotto rilevabile elettrochimicamente. Il sensore elettrochimico (amperometrico) misura questo prodotto enzimatico proporzionale alla concentrazione di cTnI nel campione.

Contenuto

Ogni cartuccia i-STAT cTnI è munita di un'apertura di ingresso del campione, di sensori per la rilevazione della cTnI come descritto sopra, nonché di tutti i reagenti necessari per eseguire il test. La cartuccia contiene un tampone e dei conservanti. Di seguito è riportato un elenco di ingredienti reattivi:

Ingrediente reattivo	Origine biologica	Quantità minima
Coniugato anticorpo/fosfatasi alcalina	IgG caprine : intestino bovino	0,003 µg
IgG	IgG caprine : IgG murine	8µg : 8 µg
Sodio amminofenil fosfato	Non applicabile	0,9 mg
Eparina	Intestino suino	0,45 IU
IgM	IgM murine	0,3 µg

Tracciabilità metrologica

L'analisi della troponina cardiaca I (cTnI) del sistema i-STAT misura la concentrazione di troponina cardiaca I nel plasma o nella frazione plasmatica del sangue intero (in ng mL⁻¹) per l'uso diagnostico *in vitro*. I valori della troponina cardiaca I assegnati alle soluzioni di controllo ed ai materiali di verifica della calibrazione del sistema i-STAT sono tracciabili e conformi alla soluzione di calibrazione i-STAT preparata utilizzando il complesso di troponina cardiaca ITC umana (Hy-Test Ltd., Turku, Finlandia, catalogo n. 8T62). Le soluzioni di controllo e i materiali di verifica della calibrazione del sistema i-STAT sono validati per l'uso esclusivamente con il sistema i-STAT e, pertanto, i valori assegnati non possono essere utilizzati in sostituzione di quelli ottenuti con altri metodi. Ulteriori informazioni sulla tracciabilità metrologica possono essere richieste direttamente a Abbott Point of Care Inc.

Range riportabile

Il test i-STAT cTnI darà come risultato un valore compreso fra 0,00 e 50,00 ng/mL (µg/L). Per i campioni con valori superiori al range di valori riportabili verrà visualizzato "> 50.00 ng/mL" sul display dell'analizzatore. La validità del test i-STAT cTnI non è stata valutata per valori cTnI superiori a 35,00 ng/mL (µg/L).

Range di riferimento

Campioni di sangue intero e plasma provenienti da 162 donatori apparentemente sani sono stati analizzati in duplicato, utilizzando tre diversi lotti di cartucce i-STAT cTnI. Il range compreso fra lo 0 e il 97,5% dei risultati variava fra 0,00 ng/mL (µg/L) e 0,03 ng/mL (µg/L). Il range compreso fra lo 0 e il 99% dei risultati variava fra 0,00 ng/mL (µg/L) e 0,08 ng/mL (µg/L).

Nota: ogni laboratorio deve stabilire il proprio range di riferimento per l'uso del test i-STAT cTnI.

Importanza clinica

I marcatori biochimici cardiaci, compresa la cTnI, sono utili sia per la diagnosi dell'infarto miocardico sia per la stratificazione del rischio, che può servire da guida per la scelta delle opzioni terapeutiche.

Per essere utile ai fini diagnostici, un marcatore cardiaco deve essere specifico per il tessuto cardiaco, deve essere rilasciato velocemente in circolo con un rapporto direttamente proporzionale fra la gravità della lesione miocardica e il livello di misurazione del marcatore, e deve permanere nel sangue per un periodo di tempo sufficientemente lungo da offrire un comodo periodo di finestra diagnostica.¹ Le troponine cardiache specifiche, la troponina I (cTnI) e la troponina T (cTnT) sono considerate i biomarcatori cardiaci di elezione nella valutazione delle sindromi coronariche acute (ACS), compresi l'infarto miocardico con sopraslivellamento del segmento ST, l'infarto miocardico senza sopraslivellamento del segmento ST e l'angina instabile.^{2,3} Livelli elevati di troponine cardiache specifiche forniscono informazioni prognostiche che vanno oltre quelle fornite dai segni e dai sintomi clinici del paziente, dall'ECG alla presentazione e dal test di esercizio pre-dimissione.¹ Antman, et al., hanno riferito che i pazienti con elevati livelli di cTnI presentavano un aumento statisticamente significativo della mortalità (p< 0,001).⁴ Altri studi hanno evidenziato aumenti per altri eventi cardiaci non fatali, come l'IM non fatale, lo scompenso cardiaco congestizio e la rivascolarizzazione urgente con livelli di cTnI crescenti.^{5,6,7}

La possibilità di misurare la cTnI a basse concentrazioni consente di prendere in considerazione l'intervento terapeutico per qualsiasi aumento al di sopra del range normale. I pazienti che non presentano sopraslivellamento del segmento ST all'ECG, ma che presentano un aumento seppur leggero della cTnI o della cTnT, possono trarre maggior beneficio dal trattamento con farmaci specifici, quali gli inibitori GP IIb/IIIa o l'eparina a basso peso molecolare.^{8,9,10}

Una Task Force globale sotto la guida congiunta della European Society of Cardiology (ESC), dell'American College of Cardiology Foundation (ACCF), dell'American Heart Association (AHA) e della World Heart Federation (WHF) ha ridefinito i criteri esistenti dell'infarto miocardico e ha elaborato una definizione universale di infarto miocardico che predilige l'uso della cTnI quale marcatore biologico delle lesioni miocardiche. La definizione universale dell'infarto miocardico, secondo la task force, prevede un aumento tipico e una diminuzione graduale dei biomarcatori cardiaci (preferibilmente troponina) con almeno un valore al di sopra del 99esimo percentile del limite di riferimento superiore (URL), unitamente a evidenza di ischemia miocardica con almeno uno dei seguenti eventi: sintomi ischemici, onde Q patologiche evidenziate dall'elettrocardiogramma (ECG), alterazioni ischemiche dell'ECG o riscontro con tecniche di imaging di una nuova perdita di miocardio vitale o di nuove alterazioni della cinesio parietale regionale.² Un valore elevato di troponina da solo non è sufficiente per la diagnosi dell'infarto miocardico. È piuttosto necessario fare riferimento alla presentazione clinica del paziente (anamnesi, esame obiettivo) e all'ECG, unitamente ai valori di troponina, per la valutazione diagnostica del sospetto infarto miocardico.³ L'uso di un protocollo di campionamento seriale è una prassi consigliata per facilitare l'identificazione delle variazioni temporali nei livelli di troponina caratteristiche dell'infarto miocardico.^{2,3,11}

Poiché nei campioni delle persone sane la cTnI non viene rilevata in modo inequivocabile con i dosaggi in commercio, le misurazioni oltre il limite superiore del range di riferimento sono associabili con molta probabilità all'ischemia o alla necrosi;¹² la probabilità aumenta parallelamente alla concentrazione di troponina misurata. Per definizione, in una normale popolazione di individui sani possono comunque verificarsi risultati oltre il range di riferimento anche in assenza di necrosi miocardica, quindi un risultato oltre il 99esimo percentile non conferma con assoluta certezza la presenza di troponina. Ogni laboratorio deve determinare il range di riferimento e i livelli decisionali appropriati, correlati alla specifica popolazione di pazienti e alla prassi clinica.

Le lesioni miocardiche acute sono evidenziate da variazioni temporali dei livelli di troponina, mentre un livello costantemente alto della troponina può indicare altre condizioni cardiache o non cardiache croniche. Esistono molte condizioni cliniche che possono condurre a un livello elevato di troponina senza cardiopatia coronarica ischemica. Tali condizioni includono il trauma da contusione, la miocardite, lo scompenso cardiaco congestizio, l'ipertrofia del ventricolo sinistro, ecc.^{13,14} Queste condizioni cliniche vanno valutate nell'interpretazione dei risultati. L'uso del campionamento seriale con lo stesso metodo di rilevazione delle concentrazioni di troponina consente di individuare le variazioni temporali dei livelli di troponina e fornisce informazioni supplementari che possono corroborare la diagnosi clinica per i pazienti con risultati bassi. In caso di incoerenze nelle informazioni cliniche o laddove i criteri diagnostici non siano completamente soddisfatti, deve essere riconosciuta la possibilità di risultati alterati - vedere Limiti del test.

Caratteristiche

I dati di precisione sono stati raccolti in centri diversi secondo le seguenti modalità: i duplicati di ogni controllo sono stati analizzati quotidianamente per un periodo di 20 giorni, per un totale di 40 replicati. Di seguito sono riportati i dati statistici medi.

I dati di confronto metodologico sono stati raccolti usando le linee guida CLSI EP9-A2.¹⁵ Campioni di sangue venoso sono stati raccolti in provette eparinizzate a vuoto ed analizzati in doppio con il sistema i-STAT. Una parte del campione è stata centrifugata e il plasma così isolato è stato analizzato in doppio con il metodo di confronto entro 1 ora dal prelievo.

L'analisi di regressione di Deming¹⁶ è stata eseguita sul primo replicato di ogni campione. Nella tabella del confronto metodologico, n corrisponde al numero di campioni nel primo gruppo di dati, S_{xx} ed S_{yy} si riferiscono alle stime di imprecisione basate sui duplicati rispettivamente del metodo comparativo e del metodo i-STAT. $S_{y.x}$ è l'errore standard della stima ed r è il coefficiente di correlazione.*

Il confronto metodologico varia da centro a centro, a seconda delle differenze di manipolazione dei campioni, della calibrazione del metodo di confronto e di altre variabili specifiche del centro.

Gli studi sulle interferenze sono stati eseguiti in base alle linee guida CLSI EP7.¹⁷

*Si riassume di seguito come promemoria l'usuale avvertimento relativo all'impiego dell'analisi di regressione. Per ogni analita, "se i dati vengono raccolti su un range limitato, la stima dei parametri di regressione è relativamente imprecisa e può essere soggetta a errore. Quindi le previsioni ricavate dalle stime possono non essere valide".¹³ Il coefficiente di correlazione, r , può essere utilizzato come guida per la valutazione dell'adeguatezza del range del metodo di confronto nel superare il problema. Orientativamente il range di dati può essere considerato adeguato se $r > 0,975$.

Dati di precisione (ng/mL)

Controllo	Media	DS	CV%
Livello 1	0,53	0,04	7,8
Livello 2	2,17	0,18	8,5
Livello 3	31,82	2,42	7,6

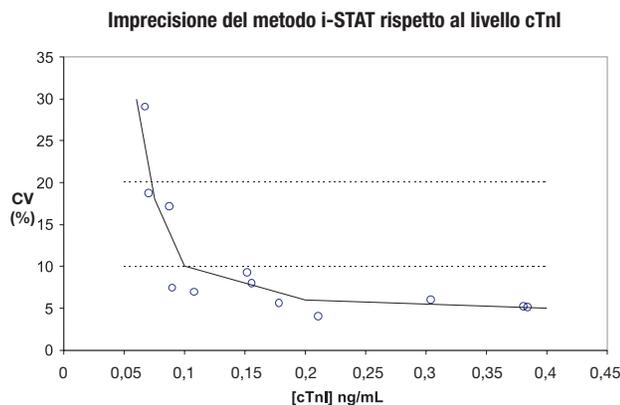
Confronto metodologico (ng/mL)

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

Sensibilità analitiche e funzionali

La sensibilità analitica del metodo cTnI è di 0,02 ng/mL, il livello di cTnI più basso che si riesce a distinguere dallo zero. La sensibilità analitica viene definita come la concentrazione a due deviazioni standard da un campione a 0,00 ng/mL.

Un'altra caratteristica di una misurazione analitica è la sensibilità funzionale, che viene definita come il livello di cTnI con cui il metodo analitico visualizza un particolare coefficiente di variazione percentuale (CV%). Stime della sensibilità funzionale del 20% e del 10% per il metodo cTnI sono state determinate dalle misurazioni effettuate su sangue intero. Le sensibilità funzionali del 20% e del 10% per il metodo cTnI sono, rispettivamente, 0,07 ng/mL e 0,10 ng/mL (cfr. grafico in basso).



Specificità analitica

Il metodo cTnI è specifico per la troponina cardiaca I. Le seguenti proteine muscolari sono state sottoposte a test e ne è emerso che non influiscono in modo significativo sulla cTnI misurata.

Sostanza a reattività crociata	Concentrazione	Reattività crociata percentuale
Troponina C (cardiaca)	1000 ng/mL	<0,002%
Troponina T (cardiaca)	1000 ng/mL	0,65%
Troponina I (scheletrica)	1000 ng/mL	<0,002%
Troponina T (scheletrica)	1000 ng/mL	<0,002%

Recupero

La linearità delle diluizioni del test i-STAT cTnI è stata studiata utilizzando campioni eparinizzati di sangue intero e plasma provenienti da 3 donatori separati. Per ogni donatore, sono stati preparati il campione originale con cTnI negativa e un campione arricchito con cTnI. Questo processo ha prodotto tre campioni di sangue intero con cTnI positiva, successivamente sottoposti a test in doppio per ognuno dei tre lotti di cartucce i-STAT cTnI separati. Questi campioni di sangue intero sono stati poi diluiti utilizzando una massa uguale al sangue intero originale non arricchito e sottoposti a test in doppio. Dai dati di questo sangue intero è stato calcolato il recupero di cTnI.

Il plasma proveniente da questi tre donatori è stato unito in masse uguali e in tutte le combinazioni in coppia. Queste combinazioni sono state poi sottoposte a test in doppio per ognuno dei tre lotti di cartucce i-STAT cTnI separati. Il recupero di cTnI per ogni coppia è stato calcolato utilizzando la media dei 6 risultati. Le percentuali di recupero sono elencate nella tabella che segue.

Sangue intero

Campione	Concentrazione	Concentrazione diluita	Recupero %
A	2,05	1,04	101%
B	6,31	3,14	100%
C	27,04	14,05	104%

Plasma

Campione	Concentrazione	Concentrazione diluita	Recupero %
A	2,41	-----	-----
B	7,50	-----	-----
C	29,35	-----	-----
A+B	-----	4,69	95%
B+C	-----	18,90	103%
A+C	-----	16,89	106%

Limiti del test

La frequenza di risultati eliminati è influenzata dalla pressione atmosferica. La percentuale di risultati eliminati può aumentare ad altitudini elevate (pressione barometrica bassa) e può diventare persistente qualora l'analisi venga effettuata oltre i 2286 metri sopra il livello del mare. Nel caso in cui la mancata disponibilità dei risultati sia inaccettabile, i-STAT raccomanda di avvalersi di un metodo analitico alternativo.

I campioni di pazienti che sono stati esposti ad animali o sottoposti a procedure terapeutiche o diagnostiche a base di immunoglobuline o reagenti derivati da immunoglobuline possono contenere anticorpi, per esempio HAMA o altri anticorpi eterofili, che possono interferire con le analisi immunologiche e produrre risultati erronei.¹⁸⁻²⁴ È stata segnalata la generazione di anticorpi in grado di causare interferenze, in risposta alle infezioni batteriche.¹⁶ Anche se questo prodotto contiene reagenti che minimizzano l'effetto di questi interferenti e algoritmi QC progettati per rilevarne gli effetti, nei casi di incoerenza con le informazioni cliniche va valutata con attenzione la possibilità di interferenze che possano dare origine a risultati erronei. I risultati delle analisi cTnI ottenuti con i-STAT devono essere valutati nel contesto globale delle informazioni cliniche disponibili. Le decisioni mediche non devono essere basate su un'unica misurazione i-STAT.¹⁴

È possibile che la troponina cardiaca non entri in circolazione per 4-6 ore dall'inizio dei sintomi di IM. Di conseguenza, un unico risultato negativo è insufficiente per escludere l'IM. L'uso di un protocollo di campionamento seriale è una prassi consigliata.¹¹

I risultati dei diversi dosaggi per la troponina non sono in genere confrontabili: la CTnI e la CTnT sono molecole diverse e i risultati non sono intercambiabili né confrontabili. È altresì possibile osservare variazioni significative dei valori assoluti di troponina per un dato campione del paziente analizzato con diversi metodi.¹³

Campioni parzialmente coagulati possono generare risultati elevati di cTnI al di sopra del range di riferimento, nonché errori nei codici di controllo della qualità. Per evitare che ciò accada, dopo aver iniettato il campione di sangue intero in una provetta di raccolta eparinizzata, capovolgere delicatamente il campione almeno 10 volte, per garantire la miscelazione uniforme dell'eparina utilizzata come anticoagulante.

I campioni fortemente emolizzati possono provocare una riduzione dell'attività della fosfatasi alcalina, riducendo così il rilevamento di cTnI, aumentando il livello di background del dosaggio e/o i codici di controllo della qualità.

Gli ematocriti nel range 0-65% PCV non influiscono sui risultati. Per i campioni con livelli di ematocrito al di sopra di questo range, è stato riscontrato un aumento dell'imprecisione del test e dei codici di controllo della qualità.

Durante l'analisi, l'analizzatore deve poggiare su una superficie piana con il display rivolto verso l'alto. Se l'analizzatore viene spostato durante il test, è possibile che aumenti la frequenza di risultati eliminati o di codici di controllo della qualità. Per garantire l'appoggio su superficie piana, è possibile utilizzare l'analizzatore (portatile) inserito nel Downloader/Recharger.

Test delle interferenze

È stato riscontrato che le seguenti sostanze non incidono significativamente (meno del 10%) sul metodo cTnI se aggiunte ad un pool di plasma contenente circa 2 ng/mL di troponina cardiaca I, alle concentrazioni indicate:

Sostanza	Concentrazione della sostanza analizzata (µmol/L se non diversamente indicato)
Acetaminofene	1660
Allopurinolo	294
Acido ascorbico	227
Acido acetilsalicilico	3330
Atenololo	37,6
Caffeina	308
Captopril	23
Cloramfenicolo	155
Diclofenac	169
Digossina	6,15
Dopamina	5,87
Enalaprilato	0,86
Eritromicina	81,6
Furosemide	181
Eparina sodica*	36 U/mL
Ibuprofene	2425
Isosorbide dinitrato	636
Metildopa	71
Nicotina	6,2
Nifedipina	1,156
Fenitoina	198
Propranolol	7,71
Acido salicilico	4340
Teofillina	222
Verapamile	4,4
Warfarin	64,9

*È stato riscontrato che l'eparina a 90 U/mL riduce il livello di cTnI di circa il 20%.

Bibliografia

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 è un marchio commerciale registrato di Abbott Group of Companies in diverse giurisdizioni.



Abbott Point of Care Inc.
Abbott Park, IL 60064 • USA



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



©2018 Abbott Point of Care Inc. All rights reserved. Printed in USA