



CARDIAC TROPONIN I/ (cTnI)

Aplicação diagnóstica

O i-STAT® cardiac troponin I (cTnI) é um teste *in vitro* para a determinação quantitativa de troponina cardíaca I (cTnI) em sangue total ou plasma. As medições da troponina cardíaca I são usadas no diagnóstico e no tratamento do enfarte do miocárdio e como meio auxiliar na estratificação de risco de doentes com síndromes coronárias agudas relacionada com o risco relativo de mortalidade.

Explicação do método

O cartucho de testes i-STAT cTnI utiliza um método de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) em dois locais. Os anticorpos específicos para a troponina cardíaca I (cTnI) humana estão localizados num sensor electroquímico fabricado num *chip* de silicone. Noutro local do *chip* de silicone do sensor encontra-se também um conjugado enzimático de fosfatase alcalina/anticorpo específico de uma porção separada da molécula de cTnI. A amostra de sangue total ou plasma entra em contacto com os sensores, permitindo que o conjugado enzimático se dissolva na amostra. A cTnI presente na amostra é marcada com fosfatase alcalina e é capturada na superfície do sensor electroquímico durante um período de incubação de aproximadamente sete minutos. Uma lavagem remove a amostra, bem como o excesso de conjugado enzimático, dos sensores. No fluído de lavagem encontra-se um substrato para a enzima de fosfatase alcalina. O substrato é clivado pela enzima ligada ao complexo tipo *sandwich* de anticorpo/antigénio/anticorpo libertando um produto detectável electroquimicamente. O sensor electroquímico (amperimétrico) mede este produto enzimático que é proporcional à concentração de cTnI presente na amostra.

Conteúdo

Cada cartucho i-STAT cTnI contém uma entrada para amostras, sensores para detectar o nível de cTnI conforme anteriormente descrito, bem como todos os reagentes necessários para realizar o teste. O cartucho contém um tampão e conservantes. Segue-se uma lista dos componentes reactivos:

Ingrediente reactivo	Origem biológica	Quantidade mínima
Conjugado de fosfatase alcalina/anticorpo	IgG de cabra : intestino bovino	0,003 µg
IgG	IgG de cabra : IgG de rato	8µg : 8 µg
Fosfato aminofenil de sódio	Não aplicável	0,9 mg
Heparina	Intestino de porco	0,45 IU
IgM	IgM de rato	0,3 µg

Rastreabilidade metrológica

O teste da troponina cardíaca I (cTnI) do i-STAT System mede a concentração da quantidade de substância de troponina I no plasma ou na fracção plasmática de sangue total (dimensão ng mL⁻¹) para utilização em diagnóstico *in vitro*. Os valores de troponina cardíaca I atribuídos aos controlos e aos materiais de verificação da calibração do i-STAT baseiam-se no calibrador i-STAT utilizado e preparado a partir de complexo de troponina cardíaca ITC humana (Hy-Test Ltd., Turku, Finlândia, referência #8T62). Os controlos e os materiais de verificação da calibração do i-STAT System são validados apenas para utilização com o i-STAT System e os valores atribuídos não podem ser utilizados indiscriminadamente com outros métodos. Poderá obter mais informações sobre a rastreabilidade metrológica junto da Abbott Point of Care Inc.

Intervalo reportável

O teste i-STAT cTnI irá apresentar um intervalo de 0,00 a 50,00 ng/mL (µg/L). Amostras com valores superiores ao intervalo reportável irão apresentar o resultado “>50,00 ng/mL” no ecrã do visor do analisador. No entanto, as características de desempenho do teste de medição da cTnI i-STAT não foram estabelecidas para valores de cTnI superiores a 35,00 ng/mL (µg/L).

Intervalo de referência

As amostras de sangue total e as amostras de plasma de 162 dadores aparentemente saudáveis foram analisadas em duplicado utilizando três lotes diferentes de cartuchos i-STAT cTnI. O intervalo de 0 a 97,5% dos resultados abrangeu valores entre 0,00 ng/mL (µg/L) e 0,03 ng/mL (µg/L). O intervalo de 0 a 99% dos resultados abrangeu valores entre 0,00 ng/mL (µg/L) e 0,08 ng/mL (µg/L).

Nota: Cada instituição deverá estabelecer o seu próprio intervalo de referência utilizando o ensaio i-STAT cTnI.

Importância clínica

Os marcadores cardíacos bioquímicos, incluindo a cTnI, são úteis tanto para o diagnóstico de enfarte do miocárdio como para a estratificação do risco, podendo fornecer alguma orientação no que respeita às opções terapêuticas.

Para tirar maior proveito do diagnóstico, o marcador cardíaco utilizado deve ser específico para o tecido cardíaco, deve ser rapidamente libertado na corrente sanguínea com uma relação proporcional directa entre o grau de lesão do miocárdio e o nível medido do marcador e deve manter-se no sangue durante um período de tempo suficiente para fornecer uma janela de diagnóstico adequada.¹ As troponinas cardíacas específicas, troponina I (cTnI) e troponina T (cTnT), são consideradas os marcadores bioquímicos de eleição na avaliação das síndromes coronárias agudas (*Acute Coronary Syndromes*, ACS), incluindo o enfarte do miocárdio com elevação do segmento ST, enfarte do miocárdio sem elevação do segmento ST e angina instável.^{2,3} Níveis elevados de troponinas cardíacas específicas fornecem informações de prognóstico que vão além das fornecidas pelos sintomas e sinais clínicos dos doentes, o ECG na admissão e a prova de esforço pré-alta.¹ O estudo de Antman et al. referiu que os doentes com níveis elevados de cTnI apresentavam, em termos estatísticos, um aumento significativo na mortalidade ($p < 0,001$).⁴ Outros estudos demonstraram um aumento dos episódios cardíacos não fatais, tais como enfarte do miocárdio não-fatal, insuficiência cardíaca congestiva e revascularização urgente com níveis crescentes de cTnI.^{5,6,7}

A possibilidade de medição da cTnI em concentrações baixas permite que a intervenção terapêutica seja tida em consideração em qualquer aumento registado superior ao intervalo normal. Os doentes que não apresentam elevação do segmento ST no respectivo ECG, mas que apresentam um ligeiro aumento no nível de cTnI ou cTnT, podem obter melhores resultados com o tratamento se forem utilizados determinados fármacos, tais como os inibidores da GP IIb/IIIa ou as heparinas de baixo peso molecular.^{8,9,10}

Uma equipa liderada pela *European Society of Cardiology* (ESC), pelo *American College of Cardiology Foundation* (ACCF), pela *American Heart Association* (AHA) e pelo *World Heart Federation* (WHF) reanalisou os critérios anteriores de enfarte do miocárdio utilizando uma definição universal de enfarte do miocárdio que aponta a cTnI como o biomarcador de eleição para lesão do miocárdio. De acordo com esta equipa, a definição universal de enfarte do miocárdio é definida como uma subida típica e uma descida gradual dos biomarcadores cardíacos (sobretudo da troponina) com pelo menos um valor acima do percentil 99 do limite superior de referência (LSR) juntamente com evidência de isquémia miocárdica e pelo menos um dos seguintes sintomas: sintomas de isquémia, desenvolvimento de ondas Q patológicas no electrocardiograma (ECG), alterações isquémicas no ECG ou evidência por imagem de nova perda de miocárdio viável ou nova anomalia regional do movimento da parede.² Um valor elevado de troponina não é por si só suficiente para diagnosticar enfarte do miocárdio. O quadro clínico do doente (história clínica, exame físico) e o ECG devem ser utilizados em conjunto com os valores de troponina na avaliação do diagnóstico de suspeita de enfarte do miocárdio.³ Recomenda-se a utilização de um protocolo de colheita de amostras em série para facilitar a identificação de alterações nos níveis de troponina ao longo do tempo características do enfarte do miocárdio.^{2,3,11}

Uma vez que a cTnI não é inequivocamente detectável pelos ensaios disponíveis no mercado em amostras de indivíduos saudáveis, as medições superiores ao limite superior do intervalo de referência têm maior probabilidade de estarem associadas a isquémia ou necrose.¹² Esta probabilidade aumenta com a concentração de troponina medida. Contudo, por norma, resultados acima do intervalo de referência irão ocorrer numa população saudável normal mesmo na ausência de necrose do miocárdio, ou seja, um resultado acima do percentil 99 não confirma a presença de troponina com absoluta certeza. Cada instituição deve determinar o intervalo de referência e os níveis de decisão adequados à respectiva população de doentes e prática clínica específica.

Uma lesão aguda do miocárdio é demonstrada através de alterações temporais nos níveis de troponina, enquanto que os aumentos consistentes da troponina podem ser sintoma de outras condições cardíacas ou não cardíacas crónicas. Existem vários estados clínicos que podem provocar um nível de troponina elevado sem se verificar uma doença arterial coronária isquémica. Tais estados incluem o traumatismo contuso, a miocardite, insuficiência cardíaca congestiva, hipertrofia ventricular esquerda, etc.^{13,14} Estes estados clínicos devem ser tidos em consideração durante a interpretação dos resultados. A utilização de amostras colhidas em série com uma metodologia de detecção de troponina consistente permite identificar alterações temporais nos níveis de troponina, bem como clarificar o diagnóstico clínico dos doentes com resultados de nível inferior. Se existirem incoerências nas informações clínicas ou se os critérios de diagnóstico não forem totalmente satisfeitos, existe a possibilidade de os resultados induzirem em erro – consulte Limitações do teste.

Características de desempenho

Foram obtidos dados de precisão em vários locais, como a seguir se descreve. Foram analisados diariamente duplicados de cada controlo durante um período de 20 dias, resultando num total de 40 réplicas. As estatísticas médias são apresentadas mais à frente.

Os dados de comparação entre métodos foram obtidos utilizando a directriz EP9-A2 do CLSI.¹⁵ As amostras de sangue venoso foram colhidas para tubos de vácuo heparinizados e analisadas em duplicado no i-STAT System. Procedeu-se à centrifugação de uma parte da amostra e o plasma separado foi analisado em duplicado através do método comparativo, no espaço de 1 hora após a colheita.

Efectuou-se uma análise de regressão de Deming¹⁶ na primeira réplica de cada amostra. Na tabela de comparação dos métodos, n é o número de amostras no primeiro conjunto de resultados, Sxx e Syy referem-se a estimativas de imprecisão com base nos duplicados dos métodos comparativo e i-STAT, respectivamente. Sy.x corresponde ao erro padrão da estimativa e r ao coeficiente de correlação.*

Os métodos de comparação irão variar de instituição para instituição devido a diferenças no manuseamento das amostras, calibração dos métodos comparativos e outras variáveis específicas dessas instituições.

Os estudos de interferência basearam-se na directriz EP7 do CLSI.¹⁷

*O aviso habitual relativamente à utilização da análise de regressão é aqui resumido como advertência. Para qualquer analito, "se os dados se situarem num intervalo estreito, as estimativas dos parâmetros de regressão são relativamente imprecisas e poderão induzir em erro. Desta forma, as previsões efectuadas a partir destas estimativas poderão não ser válidas".¹³ O coeficiente de correlação, r , pode ser utilizado como um guia para avaliar a adequação do intervalo do método comparativo na resolução deste problema. Como orientação, o intervalo de dados pode ser considerado adequado se $r > 0,975$.

Dados de precisão (ng/mL)

Controlo	Média	DP	%CV
Nível 1	0,53	0,04	7,8
Nível 2	2,17	0,18	8,5
Nível 3	31,82	2,42	7,6

Comparação de métodos (ng/mL)

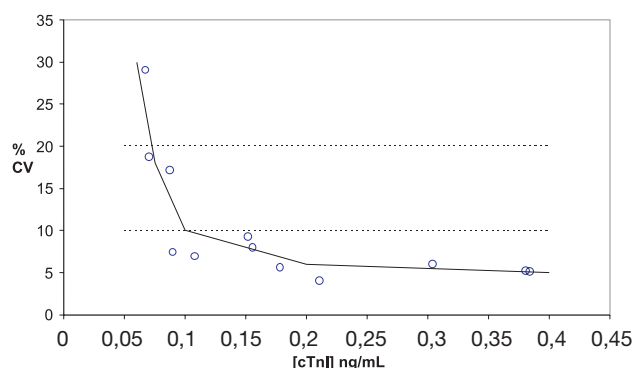
	Dade Behring Stratus® CS
n	189
Sxx	0,28
Syy	0,31
Declive	0,883
Intersecção	0,029
Sy.x	1,40
Xmin	0,00
Xmax	46,27
r	0,975

Sensibilidades analíticas e funcionais

A sensibilidade analítica do método cTnI é de 0,02 ng/mL, o que corresponde ao nível de cTnI mais baixo que pode ser distinguido de zero. A sensibilidade analítica é definida como a concentração a dois desvios padrão de uma amostra a 0,00 ng/mL.

Outra característica de uma medição analítica consiste na sensibilidade funcional que, por sua vez, é definida como o nível de cTnI no qual o método de teste apresenta uma percentagem particular do coeficiente de variação (%CV). Os cálculos relativos à sensibilidade funcional de 20% e 10% para o método cTnI foram determinados a partir das medições de sangue total. As sensibilidades funcionais de 20% e 10% para o método cTnI correspondem a 0,07 ng/mL e 0.10 ng/mL, respectivamente (consulte o gráfico seguinte).

Imprecisão do método i-STAT vs nível de cTnI



Especificidade analítica

O método cTnI é específico para a troponina cardíaca I. As proteínas musculares que se seguem foram testadas e considerou-se que estas têm um efeito sem significado na cTnI medida.

Agente de reacção cruzada	Concentração	Percentagem de reactividade cruzada
Troponina C (cardíaca)	1000 ng/mL	<0,002%
Troponina T (cardíaca)	1000 ng/mL	0,65%
Troponina I (esquelética)	1000 ng/mL	<0,002%
Troponina T (esquelética)	1000 ng/mL	<0,002%

Recuperação

A linearidade da diluição do teste i-STAT cTnI foi estudada utilizando amostras de sangue total e de plasma heparinizado obtidas a partir de 3 dadores diferentes. Para cada dador, foram preparadas uma amostra original negativa para cTnI e uma amostra contendo cTnI. Este processo resultou em três amostras de sangue total positivas para cTnI que foram, em seguida, analisadas em duplicado para cada um dos três lotes de cartuchos i-STAT cTnI. Estas amostras de sangue total foram, em seguida, diluídas utilizando um volume igual do sangue total original (não suplementado) e analisadas em duplicado. A recuperação de cTnI foi calculada a partir destes dados de sangue total.

O plasma obtido a partir destes três dadores foi combinado em volumes iguais e em todos os pares de combinações. Estas combinações foram então analisadas em duplicado para cada um dos três lotes de cartuchos i-STAT cTnI. A recuperação de cTnI para cada par foi calculada utilizando a média dos 6 resultados. A % de recuperação é indicada nas tabelas que se seguem.

Sangue total

Amostra	Concentração	Concentração diluída	% de recuperação
A	2,05	1,04	101%
B	6,31	3,14	100%
C	27,04	14,05	104%

Plasma

Amostra	Concentração	Concentração diluída	% de recuperação
A	2,41	-----	-----
B	7,50	-----	-----
C	29,35	-----	-----
A+B	-----	4,69	95%
B+C	-----	18,90	103%
A+C	-----	16,89	106%

Limitações do teste

A frequência de resultados suprimidos é afetada pela pressão atmosférica. As taxas de resultados suprimidos podem aumentar em altitudes elevadas (diminuição da pressão barométrica) e podem tornar-se persistentes se os testes forem efetuados a mais de 2286 metros acima do nível do mar. Quando não for aceitável a supressão de resultados, a i-STAT recomenda que esteja disponível um método de teste alternativo.

As amostras de doentes que tenham estado em contacto com animais ou que tenham sido sujeitos a procedimentos terapêuticos ou de diagnóstico que empreguem imunoglobulinas ou reagentes obtidos a partir de imunoglobulinas podem conter anticorpos, por exemplo, HAMA ou outros anticorpos heterofílicos, que poderão interferir nos imunoensaios e conduzir a resultados incorrectos.¹⁸⁻²⁴ A produção de potenciais anticorpos interferentes como resposta a infecções bacterianas foi reportada.¹⁶ Embora este produto contenha reagentes que minimizam o efeito destes interferentes, bem como algoritmos QC concebidos para detectar os respectivos efeitos, a possibilidade da interferência originar resultados incorrectos deve ser avaliada cuidadosamente nos casos em que existem incoerências nas informações clínicas. Os resultados do ensaio i-STAT cTnI devem ser tidos em consideração no contexto da totalidade das informações clínicas disponíveis. As decisões médicas não se devem basear numa única medição do i-STAT.¹⁴

A troponina cardíaca pode não surgir na circulação durante 4 a 6 horas após os primeiros sintomas de enfarte do miocárdio. Consequentemente, um único resultado negativo não é suficiente para excluir a possibilidade de enfarte do miocárdio. A utilização de um protocolo de colheita de amostras em série constitui uma prática recomendada.¹¹

Normalmente, os resultados de diferentes ensaios de troponina não são comparáveis: a CTnI e a CTnT são moléculas distintas e os resultados não são comparáveis nem podem ser utilizados indiscriminadamente. Além disso, quando determinada amostra de doente é analisada com diferentes métodos de análise, pode observar-se uma variação significativa nos valores absolutos de troponina.¹³

As amostras parcialmente coaguladas podem originar resultados de cTnI elevados superiores ao intervalo de referência, bem como códigos de erro de verificação da qualidade. Para evitar que tal aconteça, após a colheita da amostra de sangue total num tubo de colheita heparinizado, a amostra deverá ser suavemente invertida pelo menos 10 vezes para assegurar uma dissolução uniforme do anticoagulante de heparina.

As amostras extremamente hemolisadas poderão originar um redução da actividade da fosfatase alcalina, resultando numa detecção reduzida de cTnI, num aumento dos *backgrounds* de ensaio e/ou códigos de verificação de qualidade.

Demonstrou-se que os hematócitos no intervalo de 0 a 65 % da PCV não afectam os resultados. As amostras com níveis de hematócitos superiores a este intervalo demonstraram aumentos na imprecisão dos testes e nos códigos de verificação da qualidade.

Durante o teste, o analisador deve permanecer numa superfície plana com o visor voltado para cima. Qualquer movimento no analisador durante a análise poderá aumentar a frequência de resultados ou códigos de verificação da qualidade suprimidos. Entende-se também por superfície plana a utilização do aparelho portátil no downloader/recharger.

Testes de interferência

As substâncias seguintes revelaram ter um efeito pouco significativo (inferior a 10%) no método cTnI, quando adicionadas a uma *pool* de plasma com aproximadamente 2 ng/mL de troponina cardíaca I nas concentrações indicadas.

Composto	Nível para o teste ($\mu\text{mol/L}$, excepto indicação em contrário)
Acetaminofeno	1660
Alopurinol	294
Ácido ascórbico	227
Ácido acetilsalicílico	3330
Atenolol	37,6
Cafeína	308
Captopril	23
Cloranfenicol	155
Diclofenac	169
Digoxina	6,15
Dopamina	5,87
Enalaprilat	0,86
Eritromicina	81,6
Furosemida	181
Heparina de sódio*	36 U/mL
Ibuprofeno	2425
Dinitrato de isosorbido	636
Metildopa	71
Nicotina	6,2
Nifedipina	1,156
Fenitoína	198
Propranolol	7,71
Ácido salicílico	4340
Teofilina	222
Verapamil	4,4
Varfarina	64,9

*Demonstrou-se que a heparina a 90 U/ml reduz o nível de cTnI em aproximadamente 20%.

Referências

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 enoxaparin 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 é uma marca comercial registada de Abbott Group of Companies em várias jurisdições.



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