

Doporučení České společnost klinické biochemie ČLS JEP Laboratorní aspekty stanovení kardiálních troponinů

Friedecký B.

Analytické charakteristiky metod stanovení kardiálních troponinů

Jsou sumarizovány v šesti tabulkách, publikovaných v prosinci 2019 a aktualizovaných naposled v srpnu 2020 experty IFCC a její edukační komisí „Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers (C-CB)“. Lze je najít a stáhnout z webové stránky <https://www.ifcc.org/ifcc-news/archive-2019/2019-02-14-c-cb-tables>. Data tabulek vycházejí z údajů, poskytnutých výrobcí diagnostik [1]. V danou chvíli jde o asi jediné možné praktické řešení, použitelné v praxi a pro formulaci doporučení.

Tabulka 1. Šest souborů dat analytických charakteristik, uveřejněných experty IFCC C-CB na podkladě informací od výrobců MD [1]

Tabulka	Analytická data stanovení
1	Stanovení BNP, NT-proBNP, pro-ANP
2	Stanovení „contemporary“ cTnI a cTnT
3	Stanovení hs cTnI a hs cTnT
4	Stanovení POCT cTnI, cTnT
5	cTnI/T a analytické interference hemolýzy a biotinu
6	Natriuretické peptidy a analytické interference hemolýzy a biotinu

V Tabulce 2 jsou uvedeny klíčové charakteristiky metod stanovení kardiálních troponinů, poskytnuté jednotlivými výrobci, se kterými pracovala edukační komise IFCC C-CB.

Tabulka 2. Charakteristiky metod stanovení a interpretace kardiomarkerů, uvedené na webových stránkách IFCC C-CB

Parametr (analytická charakteristika)	Jednotka
Mez blanku (LoB)	ng/L
Mez detekce (LoD)	ng/L
Variační koeficient (CV) pro 99. percentil	%
Koncentrace pro CV = 20 %	ng/L
Koncentrace pro CV = 10 %	ng/L
Referenční populace počet probandů, muži, ženy	počet (n)
99. percentil všech testovaných (mužů a žen)	ng/L
Četnost kvantifikovatelných výsledků mezi LoD a 99. percentilem	%
Vzorky – typ matrice	uvedeno slovy

Diagnóza AIM a kardiální troponiny

Čtvrtá univerzální definice AIM považuje troponiny cTnI a cTnT za jediné a rovnocenné markery této diagnózy [2]. Definice rozlišuje mezi

- kardiálním poškozením (cardiac injury);
- akutním infarktem myokardu (AIM).

K diagnostice jednoho z obou stavů stačí jediná koncentrace nad hodnotu 99. percentilu. K diagnostice akutního infarktu je nutná kromě zvýšení cTn nad 99. percentil přítomnost aspoň jednoho z charakteristických klinických symptomů.

Akutní infarkt myokardu má podle této definice pět typů, přitom typy 4 a 5 souvisí s invazivními zásahy na myokardu: typ 4 s perkutánní koronární intervencí (PCI) a typ 5 s aortokoronárním bypassesem (CABG). V obou těchto případech jsou doporučené rozhodovací hodnoty definovány jako násobky 99. percentilu.

Hodnoty troponinů mohou být zvýšené z řady jiných příčin. Ty jsou rovněž uvedené v doporučení o čtvrté univerzální definici AIM a v klinické části doporučení České kardiologické společnosti „Užití kardiálních troponinů I a T v kardiologii“. Definice doporučuje používat k diagnóze AIM vysoce citlivé metody stanovení hs cTn [3,4].

Matrice vzorků

Materiály IFCC C-CB obsahují důležité informace o matricích vzorků pacientů, vyžadující pozornost laboratorní a tomu odpovídající dokumentační a informační činnost. Data o vhodnosti maticí vzorků u jednotlivých metod/systémů jsou značně rozdílná a najdou se i difference mezi produkty stejných výrobců. Spektrum akceptovatelných vzorků se pohybuje od vzorků plné krve přes sérum až k vzorkům plazmy s různými antikoagulačními přísadami. Vlastnosti matrice jsou v datech výrobců popsány. Možné vlivy na výsledky mají být sledované, respektované, dokumentované a aktualizované, nejlépe při každé nové šarži výrobku, minimálně 1x ročně.

Analytické interference

Z analytických interferencí jsou zpracované a dokumentované interference hemolýzy a biotinu [5]. Interference biotinu mohou způsobit snižování hodnot 99. percentilů, a tím i změnit diagnostické klasifikace AIM.

V Tabulce 3 je uveden jejich stav pro metody hs cTnI/T, a to jak laboratorní, tak POCT. Organizace FDA

(Food and Drug Administration, USA) doporučila výrobčům testovacích souprav a přístrojových platform úpravy jejich analytických metod a postupů tak, aby vedly k zvýšení mezí interference biotinu na hodnoty $\geq 1200 \mu\text{g/L}$. Z velké míry je již tento požadavek respektován. V tabulce jsou dále uvedeny interference hemoglobinu, jejichž velikost se pohybuje v širokém intervalu $0,7 - 10,0 \text{ g/L}$. Hodnoty interference biotinu a hemoglobinu jsou součástí pracovního laboratorního protokolu metody měření a také součástí laboratorní příručky pro uživatele. Hodnoty se minimálně 1x ročně aktualizují. Několik dosud chybějících hodnot by mělo být získáno dotazy u výrobců.

Tabulka 3. Data výrobců o interferenci biotinu a hemoglobinu u kardiálních markerů

Výrobek	Horní limit biotinu ($\mu\text{g/L}$)	Horní limit hemoglobinu (%)
Abbott Architect, Alinity	290	5,0
Beckman	290	4,0
BioMérieux	2000	4,85
Healthcare Pylon	bez interference	7,0
Fujirebio	?	5,1
LSI Pathfast	1500	10,0
Ortho	3500	0,7
Quidel Alere	3600	2,0
Roche	3000	1,0
Siemens (Advia, Atellica, Dimension)	1200 – 3600	4,0 – 5,0
Singulex	?	4,55
Tosoh	?	4,4

Meze blanku (LoB), detekce (LoD), stanovitelnosti (LoQ) a preciznost měření

Hodnoty mezi blanku a detekce jsou standardní součástí dokumentace výrobců. Pro hs cTn metody jsou typické hodnoty LoD v rozmezí asi 1 až 3 ng/L. Hodnoty LoD mají být jednou ročně validovány. Experimentální validace je však velmi obtížná a nemá definovány ani jednoznačné postupy, ani dostupné materiály. Je tedy doporučována periodická revize dat z dokumentace výrobců.

Podíl kvantifikovaných výsledků pro interval hodnot LoD až 99. percentilu má podle definice hs cTn přesahovat 50 % (příčímž některé soudobé metody dosahují až 99 %). Intervaly hodnot koncentrací pro preciznost CV = 10 % (což lze považovat za intervaly hodnot LoQ) se pohybují v rozmezí $0,5 - 12 \text{ ng/L}$, procentuální podíl kvantifikovatelných výsledků (nad LoD) v rozmezí $> 50 - 99 \%$ a preciznost měření koncentrací, odpovídajících 99. percentilům v rozmezí $4 - 9,9 \%$ (Tabulka 4). I ostatní hodnoty v tabulce 4 by měly být aktualizovány vždy v případě potřeby a minimálně 1x ročně revalidovány. Z tabelovaných dat je zřejmé, že míra harmonizace výsledků není vysoká a že při klinické interpretaci výsledků je nezbytné důsledně respektovat charakteristiky použitých metod měření.

Tabulka 4. Intervaly hodnot LoB, LoD, LoQ, preciznosti a počtu kvantifikovatelných výsledků nad LoD

Parametr	Hodnota
LoB	$0 - 1 \text{ ng/L}$
LoD	$0,08 - 3,0 \text{ ng/L}$
CV (%) pro 99. percentil	$4 - 9,9$
Koncentrace pro dosažení CV = 10 % (LoQ)	$0,5 - 12 \text{ ng/L}$
% stanovitelných výsledků mezi LoD a 99. percentilem	$> 50 - 99$

„Contemporary“ metody

„Contemporary“ metody nejsou v současnosti podle 4. univerzální definice AIM pro stanovení diagnózy doporučené, ale zatím ani zavřené. Stále jsou některé z nich výrobci nabízené a v laboratořích ještě používané, zejména pro POCT systémy. Jde ale o metody bez další perspektivy.

Vykazují násobně vyšší hodnoty LoD a rovněž počtem násobně nižší (obvykle v rozmezí 1 až 5 %) nekvantifikovatelných (cenzorovaných) výsledků v intervalu LoD až 99. percentil ve srovnání s více než minimálně požadovanými 50 % u metod hs cTn. Podle posledních publikovaných údajů se jejich většina týká diagnostik, vyráběných v USA. V seznamu jsou v Evropě CE značkou opatřena jen diagnostika Siemens typu Ultra, u ostatních včetně jiných diagnostik Siemens (Atellica, Advia, Dimension) lze už plně předpokládat použití hs cTnI/T. Laboratorní metody Roche jsou v kategorii hs, ale Roche Cobas h 232 POCT patří do skupiny „contemporary“. To komplikuje klinickou interpretaci. „Contemporary“ diagnostika u kardiálních troponinů nerozlišují genderový charakter hodnot cut-off-99. percentilů.

Hodnoty LoQ (mez stanovitelnosti) nebývají výrobci uváděné a jsou zaměňované s LoD. Za LoQ meze lze považovat údaje „Koncentrace pro CV = 10 %“ v tabulkách IFCC C-CB, neboť souvisí se schopností dosáhnout určité hodnoty celkové chyby či nejistoty měření. Více o tom v pracích [2, 3].

Kontrola analytické kvality měření

Ideální je použití tří koncentrací kontrolních materiálů [4]:

- s hodnotou mezi LoD a 99. percentilem;
- s hodnotou v rozmezí 99. percentilu a jeho mírně zvýšené hodnoty (o asi 20 %);
- s vyšší hodnotou uvnitř pracovního rozsahu měření.

Problém spolehlivosti velmi nízkých koncentrací hs cTn je diskutovaný a například v práci [4] se uvádí, že pro $hs \text{ cTn} \leq 10 \text{ ng/L}$ dosahuje hodnota nejistoty (chyby) až asi 35 %. Také podle údajů z jiného zdroje [5] vykazují hodnoty preciznosti, získané analýzou kontrolních vzorků při koncentraci pod 10 ng/L , hodnot CV významně vyšších než požadovaných 10 %.

Interpretace výsledků s použitím hodnot 99. percentilů

Hodnoty 99. percentilů jsou rozdílné u různých metod. Hodnoty 99. percentilů hs cTn jsou závislé na pohlaví, u starších typů metod („contemporary“) tato závislost nebyla pozorována. U metod hs cTn udávají výrobci tři hodnoty 99. percentilů: pro celý soubor, pro muže, a pro ženy. V současnosti se již striktně doporučuje tyto genderové rozdíly při klinické interpretaci respektovat. Závislost na věku je u hs cTn často pozorována, ale zůstává kontroverzní a nebývá vždy vyhodnocovaná [7]. Pro klinické laboratoře je znalost a používání dat výrobců o hodnotách 99. percentilů hs cTn nezbytná.

Text 4. univerzální definice AIM navrhuje jako rozhodovací limity hodnotu $5 \times 99.$ percentil pro typ AIM 4 a $10 \times 99.$ percentil pro typ AIM 5. Při stanovení násobků 99. percentilu však byla zjištěna podstatně nižší srovnatelnost diagnostických klasifikací u různých metod, než u detekce typů AIM 1, 2 a 3.

Přístup „rule out“ a delta hodnoty

Možnost použití tohoto principiálně progresivnějšího hodnotícího postupu je vázána pouze na použití hs cTn metod a u „contemporary“ měřících metod je vyloučena. Problém samotných delta hodnot je ztížen růzností časových algoritmů a vyžaduje další studium. V současnosti se při použití metod hs cTn/T upřednostňují časové algoritmy 0-1 hod. a 0-2 hod. V každém případě by tento koncept měl být založen na použití delta hodnot na bázi biologické variability s klíčovým nástrojem hodnot RCV – reference change value.

Autoři IFCC C-CB jsou si toho dobře vědomi, mají v tabulkách rubriku pro RCV připravenou, avšak zatím nevyplněnou. Hodnoty RCV předpokládají důkladné stanovení velikostí biologických variabilit. Řada dat biologických variabilit pro metody hs cTn/T je k dispozici a lze předpokládat v budoucnosti doplnění datových tabulek IFCC C-CB o ně [6, 7].

POCT

Spoluautoři a experti edukační komise IFCC C-CB zcela recentně publikovali svůj postoj k stanovení kardiálních troponinů s použitím systémů POCT. Jejich stanoviska jsou orientována mnohem více k budoucnosti problému, než k jeho přítomnosti [8]. Podstatou jejich stanoviska jsou následující zásady:

- důsledná aplikace metod hs-cTn u POCT systémů;
- shodnost požadavků na analytické a interpretační požadavky pro POCT a laboratorní metody (včetně LoD, hodnot 99. percentilů, jejich genderového charakteru, schopnost kvantifikace výsledků mezi LoD a 99. percentilem, preciznost měření);
- randomizované studie, potvrzující efektivitu klinické interpretace ve srovnání s laboratorními metodami;
- zaštitění kvality regulující institucí (např. FDA).

Z tabulky IFCC C-CB ze srpna 2021 však jasně plyne,

že většina současných přístrojů POCT takovým požadavkům nevyhovuje z různých příčin:

- nejsou typu hs cTn;
- nediferencují mezi hodnotami 99. percentilů podle pohlaví;
- v řadě případů nedosahují požadované preciznosti měření.

Jednotky výsledků měření

U stanovení hs cTn jsou obecně doporučované jednotky ng/L. Dokonce i základní pramen dat IFCC C-CB používá pro „contemporary“ metody jiné ($\mu\text{g/L}$) jednotky, než pro hs-metody (ng/L). Přitom užití jiných jednotek může snadno způsobit i fatální změnu číselných hodnot, například ve specifických situacích zdravotnických zařízení, kombinujících laboratorní a POCT metody.

Interpretace

Experti IFCC C-CB doporučují aktivní účast klinické laboratoře na komunikaci s kliniky i s podílem na interpretaci. Tento aktivní přístup laboratoří nebývá v českých laboratorních obvyklý [9]. Klíčové interpretační aspekty jsou zejména následující:

- řádná a důsledná informace o preanalytických faktorech;
- čas odezvy (TAT) pod 60 minut. Klíčové zejména pro realizaci dvou- a jednohodinových odběrových algoritmů (delta hodnoty);
- přístupnost, znalost a respekt k hodnotám LoD, LoQ, preciznosti a 99. percentilů s ohledem na jejich genderový charakter a jejich aktualizace;
- zvýšená pozornost v situaci, kdy v oblasti téhož zdravotnického zařízení fungují dva rozdílné analytické měřicí systémy. Typicky může jít o vztah mezi výsledky laboratorních měření a POCT.

Literatura

1. **IFCC Committee on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers Updated Tables.** August 2020.
2. **Thygesen, K., Alpert, J. S., Jaffe, A. S., Chaitman, B. R., Bax, J. J., Morrow, D. A. et al.** Fourth universal definition of myocardial infarction. *Eur. Heart J.*, 2019, 40(3), s. 237-268.
3. **Wu, A. H. B., Christenson, R. H., Greene, D. M., Jaffé, A. S., Kavsak, P. A. et al.** Clinical laboratory practice recommendation for the use of cardiac troponin in acute coronary syndrome. Expert opinion from Academy AACC and the Task force on clinical applications of cardiac biomarkers of the IFCC. *Clin. Chem.*, 2018, 64(4), s. 645-655.
4. **Kavsak, P. A., McRae, A., Vatanpour, S., Ismail, O. Z., Worster, A.** A Multicenter assessment of the sensitivity and specificity for a single high-sensitivity cardiac troponin test at emergency department presentation for hospital admission. *J Appl. Lab. Med.*, 2019, 4(2), s. 170-179.
5. **Saenger, A. K., Jaffé, A. S., Body, R., Collinson, P. O., Kavsak, P. A. et al.** Cardiac troponin and natriuretic peptide analytical interferences from hemolysis and biotin: Educational aids from the IFCC C-CB. *Clin. Chem.*

Lab. Med., 2019, 57(5), s. 633-640.

6. **Clerico, A., Padoanm A., Zanimotto, M. et al.** Clinical relevance of biological variation of cardiac troponin. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2020, 59, s. 643-652.
7. **Cerriotti, F., Garzón-Marco, J. D., Fernández-Callé, P. et al.** The European Biological Variation Study (EuBIVAS): weekly biological variation of cardiac troponin I estimated by the use of two different high-sensitivity cardiac troponin I assays. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2020, 58(10), s. 1741-1747.
8. **Apple, F. A., Fantz, R., Collinson, P. O. on behalf IFCC C-CB.** Implementation of High-Sensitivity and Point-of-Care Cardiac Troponin Assays into Practice: Some Different Thoughts. *Clin. Chem.*, 2021, 67(1), s. 70-78.
9. **Friedecký, B., Kratochvíla, J., Kotaška, K., Štěpánková, M.** Kardiální markery-Dotazník 2019. *FONS*, 2019, 4, s. 26-38.

Schváleno výborem ČSKB 15. 12. 2021