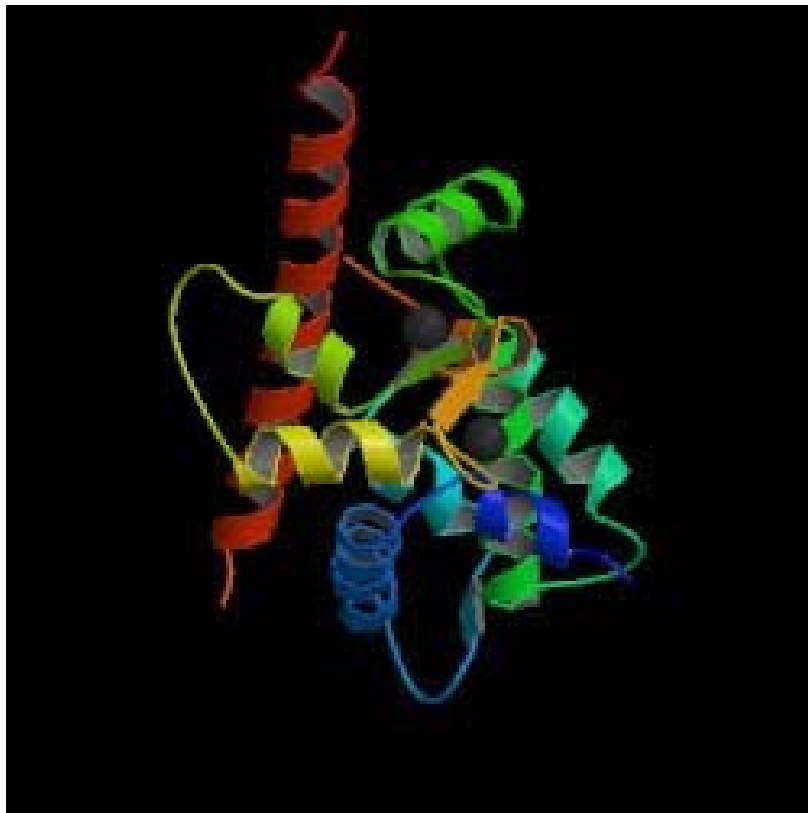


# Applicazioni del nuovo test della troponina I ultrasensibile



Troponina I [www.biospacific.com](http://www.biospacific.com)

Lavoro di diploma 2007  
Redatto da: Marella Vedova  
Scuola Superiore Medico Tecnica, Locarno

Svolto presso: l'Ospedale La Carità di Locarno  
Responsabile: Dr. Roberto Della Bruna

# INDICE

INDICE.....	1
1. ABBREVIAZIONI.....	3
2. RIASSUNTO.....	4
3. INTRODUZIONE.....	5
3.1. Utilità clinica dei marcatori cardiaci.....	5
3.2. I marcatori cardiaci.....	6
3.3. Marcatore cardiaco ideale.....	7
3.4. La troponina.....	8
3.5. Ruolo della troponina nella contrazione muscolare.....	10
3.6. Obiettivi del lavoro.....	10
4. MATERIALE E METODI.....	11
4.1. Strategia di realizzazione.....	11
4.1.1. Campioni:.....	11
4.1.2. Procedimento:.....	11
4.2. Materiale:.....	12
4.3. Metodi:.....	13
4.4. Analisi dei dati.....	14
4.4.1. Imprecisione delle analisi.....	14
4.4.2. Inaccuratezza delle analisi.....	14
4.4.3. Confronto metodi.....	14
5. RISULTATI.....	15
5.1. Imprecisione delle analisi.....	15
5.2. In accuratezza delle analisi.....	17
5.3. Confronto risultati.....	19
5.4. Confronto metodi.....	22
5.4.1. Confronto secondo Altman & Bland.....	23
5.4.2. Confronto secondo Deming.....	25
5.4.3. Confronto secondo Passing & Bablok.....	26
6. DISCUSSIONE.....	27
7. CONCLUSIONI.....	29
8. BIBLIOGRAFIA.....	30
9. RINGRAZIAMENTI.....	31
10. ALLEGATI.....	32

## INDICE DELLE FIGURE

Figura 1: Andamento nel tempo dei marcatori cardiaci.....	7
Figura 2: La molecola di troponina con le tre sub-unità proteiche che la costituiscono.....	8
Figura 3: Struttura ad elica di miofibrilla.....	9
Figura 4: La figura raffigura il cambiamento conformazionale del complesso troponina-tropomiosina.....	10
Figura 5: Raffigurazione del principio del metodo.....	13
Figura 6: CV % dei controlli cq1 e cq2 per i due metodi .....	17
Figura 7: Confronto dei dati secondo Altman & Bland .....	24
Figura 8: Confronto dei dati secondo Deming.....	25
Figura 9: Confronto dei dati secondo Passing & Bablok.....	26

## INDICE DELLE TABELLE

Tabella 1: Tabella riassuntiva della variazioni dei markers biologici in seguito ad un IM:.....	8
Tabella 2: Sottotipi di troponina .....	9
Tabella 3: Riporta i risultati dei controlli del metodo della troponina I in uso attualmente.....	15
Tabella 4: Riporta i risultati dei controlli del metodo della troponina ultrasensibile .....	16
Tabella 5: Riassume i risultati dei controlli del kit bioMérieux (C1 e C2) misurati in $\mu$ g/l .....	18
Tabella 6: Risultati ottenuti con i due Test Troponina I e Troponina I Ultrasensibile .....	19

# INDICE DEGLI ALLEGATI

Allegato 1: Metodica originale Troponina I Ultrasensibile della ditta bioMérieux.....	32
Allegato 2: Metodica originale Troponina I Ultrasensibile della ditta bioMérieux.....	36

## 1. ABBREVIAZIONI

cTnI	cardiac Troponin I
CV	Coefficiente di Variazione
DS	Deviazione Standard
ECG	ElettroCardioGramma
EOLAB	Dipartimento di medicina di Laboratorio
fTnI	fast Troponin I
IDM:	Infarto del Miocardio
IM	Infarto del Miocardio
OCL	Ospedale Civico Lugano
ODL	Ospedale di Locarno
sTnI:	slow Troponin I
TnC	Troponina C
TnI	Troponina I
TNI:	Troponina I
TNIU:	Troponina I Ultrasensibile
TnT	Troponina T

## 2. RIASSUNTO

### Scopo

La troponina è considerata uno dei marcatori di danno cardiaco maggiormente sensibile e specifico. Questo marcatore viene raccomandato dalle società di cardiologia: Joint European Society of Cardiology ed American College of Cardiology Committee<sup>1</sup> per la diagnosi di infarto del miocardio (IM).

La realizzazione del mio lavoro di diploma consiste nella valutazione dell'efficienza funzionale e attendibilità del nuovo test della troponina I ultrasensibile su apparecchio Vidas, che verrà introdotta nei laboratori EOLAB in sostituzione al test della troponina I attualmente in uso.

### Materiale e Metodi

Sono state effettuate misurazioni su 59 campioni (plasma litio-eparina) con il nuovo metodo della troponina ultrasensibile e con il metodo in uso su apparecchio Vidas della ditta bioMérieux, Francia.

I 59 campioni sono stati prelevati dalla routine degli ospedali ODL e OCL. Per la determinazione della troponina vi era un'indicazione clinica di infarto o sospetto infarto.

I risultati sono stati analizzati e confrontati utilizzando il programma Analyse-it + Clinical Laboratory, in uso presso il laboratorio dell'Ospedale San Giovanni di Bellinzona.

### Risultati e Conclusione

Il nuovo metodo di analisi della troponina è più preciso ed accurato rispetto al metodo attualmente in uso.

La nuova troponina che verrà introdotta, da mediamente dei risultati più bassi del metodo in uso. Questo fatto di per sé non è clinicamente importante in quanto la troponina permette unicamente di confermare o escludere un infarto.

## ABSTRACT

### Aim

Troponin is one of the most sensitive and specific indicators of damage to the heart muscle. This biomarker is indicated from the Joint European Society of Cardiology and the American College of Cardiology Committee<sup>1</sup> for the diagnostic of myocardial infarction.

The aim of the study is the evaluation of the functional efficiency of the new Ultrasensitive Troponin I Test on Vidas analyser, this new analysis will be introduced in substitution of Troponin I Test in use in Cantonal Hospital Laboratories.

### Materials and Methods

59 plasma (Lithium-Heparin) samples were analyzed with the new Ultrasensitive Troponin I Test, on the Vidas analyser from bioMérieux, France. In the meantime, on the same apparatus, the samples were examined with the Troponin I Test in routine use.

The samples comes from ODL and OCL hospitals. For the detection of troponina the clinical implication was myocardial infarction suspect.

The results were analysed and compared with the program Analyse-it + Clinical Laboratory in use at Cantonal Hospital San Giovanni in Bellinzona.

### Results and Conclusion

The new troponin test is more precise and accurate than the old method in routine use.

The new analysis that will be introduced, give lower results than the old method currently used.

This facts doesn't have a clinical importance than the troponin provide only to confirm or exclude myocardial infarction.

## 3. INTRODUZIONE

### 3.1. Utilità clinica dei marcatori cardiaci

Tra i disturbi più frequenti che richiedono una rapida diagnosi nel reparto di pronto soccorso vi è il dolore toracico acuto. Una veloce identificazione dei pazienti con problemi coronarici permette una migliore riuscita terapeutica, in quanto la sua efficacia è maggiore se applicata prontamente<sup>2</sup>.

La cardiopatia ischemica è attualmente la principale causa di mortalità nei paesi più industrializzati<sup>2</sup>. Per cardiopatia ischemica si identificano un gruppo di malattie che, pur potendo avere cause diverse, producono un effetto finale comune: la riduzione progressiva o improvvisa del flusso sanguigno dovuto ad un restringimento o ad una ostruzione completa delle arterie coronariche, che porta il tessuto muscolare cardiaco colpito alla necrosi.

Questa situazione comprende differenti patologie quali: l'infarto del miocardio (IM) e l'angina instabile

L'infarto del miocardio è costituito dalla necrosi di una zona di miocardio, data dall'occlusione di uno o più rami delle arterie coronariche.

L'angina pectoris rappresenta il più frequente sintomo dell'arteriosclerosi coronarica. A differenza dell'infarto, nell'angina si verifica un'ischemia miocardica temporanea (micronecrosi) dovuta al restringimento temporaneo di un'arteria coronarica in conseguenza ad un evento trombotico o ad uno spasmo. L'angina pur essendo meno grave dell'IM può essere spesso complicata da aritmie, insufficienza cardiaca e può degenerare in un infarto cardiaco<sup>3</sup>.

Per queste ragioni una corretta diagnosi è di grande importanza e si basa sulla sintomatologia del paziente, sull'elettrocardiogramma e sulle analisi di laboratorio dei marcatori cardiaci.

I criteri diagnostici per un IM acuto, in corso o appena verificatosi, sono, secondo la ri-definizione dell'infarto del miocardio apparso in Europa e negli USA<sup>1</sup> i seguenti:

1. Aumento tipico e poi diminuzione di uno dei due marcatori di necrosi miocardica indicati: troponina o CK-MB, più almeno uno dei seguenti sintomi o situazioni:
  - Ischemia
  - Elettrocardiogramma patologico
  - Intervento coronarico
2. Riscontro patologico di un IM acuto<sup>4</sup>

### 3.2. I marcatori cardiaci

I marcatori cardiaci sono proteine espresse comunemente o esclusivamente dalle cellule del miocardio e riscontrabili nel circolo sanguigno dopo una loro necrosi.

Giocano un ruolo essenziale nella diagnosi e terapia in pazienti che presentano una sindrome coronarica acuta.

I marcatori di necrosi del tessuto miocardico hanno subito un'evoluzione nel tempo grazie alle nuove tecnologie e conoscenze, alcuni parametri ritenuti eccellenti si sono rilevati poco specifici o sensibili a favore di altri.

Oggi la troponina è ritenuta uno dei biomarker più sensibile e specifico per danni cardiaci.

Tra gli enzimi cardiaci ed i marcatori maggiormente analizzati vi sono: ASAT, ALAT, BNP, CK, CK-MB, mioglobina, LDH e le troponine.

Gli enzimi aspartato aminotransferasi (ASAT), alanina aminotransferasi (ALAT), lattato deidrogenasi (LDH) possono elevarsi durante un infarto del miocardio ma sono parametri poco specifici in quanto possono indicare epatopatie e danni agli organi interni in generale.

Il brain natriuretic peptide (BNP), ormone che regola la pressione sanguigna, viene liberato nel circolo in risposta ad un aumento della pressione cardiaca. I livelli di BNP riscontrabili aumentano con il progredire dell'insufficienza cardiaca.

La mioglobina è una proteina citoplasmatica della muscolatura cardiaca e scheletrica striata. Grazie al suo basso peso molecolare può entrare rapidamente nella circolazione in caso di danno alle cellule muscolari. La mioglobina possiede però un alto valore predittivo di un risultato negativo ma è poco specifica.

La creatinichinasi (CK) è un enzima contenuto prevalentemente nel tessuto muscolare scheletrico, cardiaco e in minor quantità nel tessuto cerebrale. Valori molto elevati, possono indicare un infarto. Valori meno elevati indicano: angina grave, miocardite, embolia polmonare, edema polmonare, infarto cerebrale, ipotiroidismo, e altro. Queste situazioni lo rendono un parametro poco specifico in caso di IM.

L'isoenzima creatinichinasi MB (CK-MB). La CK è un enzima che si trova in forme diverse: come isoenzima mitocondriale di tipo cardiaco (CK-MB), nonché come isoenzima citosolico: di tipo muscolare (CK-MM) e di tipo cerebrale (CK-BB). La CK-MB viene impiegata per la diagnosi di IM, è abbastanza specifica, ma esistono varianti genetiche comunemente definite "macro-ck" che pur essendo piuttosto rare, ne diminuiscono la specificità.

La troponina I è un biomarker altamente sensibile e specifico del danno al miocardio. Elevate concentrazioni di troponina I correlate ad una sindrome coronarica acuta vengono considerate indice di infarto miocardico.

Inoltre il dosaggio della troponina permette, in pazienti con sintomi coronarici acuti e livelli di troponina nei range di riferimento, di escludere un infarto del miocardio a favore di un evento di angina instabile. Molto importante è la sua assenza nel sangue in pazienti sani.

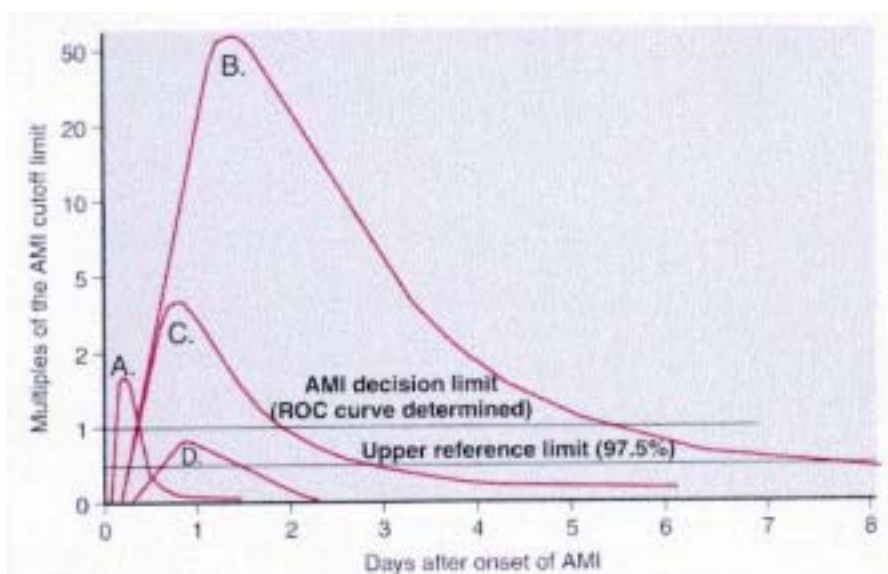
In commercio esistono test per dosare le subunità cTnI e la cTnT della Troponina. Dal punto di vista diagnostico i test sono considerati equivalenti<sup>5</sup>.

### 3.3. Marcatore cardiaco ideale

La diagnosi di IM richiede un metodo diagnostico sensibile e specifico e quindi spesso vengono richieste analisi di diversi marcatori.

Il marcatore cardiaco ideale, secondo le nuove direttive della Joint European Society of Cardiology ed American College of Cardiology Committee, deve provvedere: una rapida diagnosi, un riscontro della terapia trombolitica, la determinazione di un eventuale re-infarto, l'indicazione della zona dove è avvenuta la necrosi e l'accertamento di un possibile IM durante un'operazione cardiaca e non cardiaca.

Il tempo che intercorre dall'evento coronarico acuto alla comparsa del biomarcatore nel sangue è di grande importanza diagnostica e differisce tra markers. [Figura 1]



**Figura 1: Andamento nel tempo dei marcatori cardiaci. Picco A: mioglobina dopo IM. Picco B: troponina cardiaca dopo IM. Picco C: CK-MB dopo IM. Picco D: troponina cardiaca dopo un evento di angina instabile**  
Braunwald: Heart Disease: A. Textbook of Cardiovascular Medicine, 6th edition

La cTnI può venir riscontrata nel siero dopo 3-8 ore dall'inizio dell'evento coronarico acuto e rimanere elevata fino a 7-10 giorni seguenti<sup>6</sup>. Per questo motivo non permette una diagnosi precoce di IM.

La mioglobina si eleva precocemente anche se poco specifica, può essere d'aiuto, assieme ad altri parametri, per l'ottenimento di una più rapida diagnosi al ricovero.

Nei casi di re-infarto il lungo tempo di normalizzazione della troponina non ne permette una chiara identificazione. È raccomandata la misurazione supplementare di un parametro con un'emivita breve come la mioglobina<sup>4</sup>.



Come si vede chiaramente nella Figura 1 la troponina, durante un evento di angina instabile, non supera la linea soglia di diagnosi di IM (picco D), mentre raggiunge concentrazioni anche molto alte durante un IM. Questa caratteristica ne permette una buona distinzione.

Infine la ripetizione delle misurazioni di marcatori cardiaci viene consigliata per seguire l'andamento della necrosi della zona colpita dall'infarto.

**Tabella 1: Tabella riassuntiva della variazioni dei markers biologici in seguito ad un IM:**

Parametro	Mm (kD)	Emivita biologica (ore)	Aumento (ore)	Conc. massima (ore)	Normalizzazione
ASAT	93	20	6-12	18-36	3-4
LDH	135	110	6-12	48-144	7-14
CK	86	17	3-12	12-24	3-4
CK-MB attività	86	13s	3-12	12-24	2-3
CK-MB massa	86	13	2-6	12-24	3
Mioglobina	17.8	0.25	2-6	6-12	1
cTnI	22.5	2-4	3-8	12-24	7-10
cTnT	37	2-4	3-8	12-96	7-14

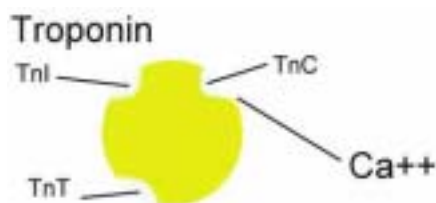
Dr. G. Togni, *dispense chimica clinica 2004/05*

Tra i marcatori cardiaci citati, negli ultimi anni, la troponina I si è rivelata essere molto utile grazie alla buona sensibilità e specificità per i danni cardiaci. È per questo motivo che viene adottata negli ospedali del cantone.

### 3.4. La troponina

La troponina è un complesso formato da tre proteine che interagiscono nella contrazione della muscolatura scheletrica e cardiaca, non presenti però a livello della muscolatura liscia.

La troponina è costituita da 3 sub-unità I, T e C [Figura 2], implicate nella contrazione muscolare.



**Figura 2: La molecola di troponina con le tre sub-unità proteiche che la costituiscono**

<http://images.google.ch/images?q=troponin&gbv=2&svnum=10&hl=it&start=20&sa=N&ndsp=20>

La troponina I possiede tre isomeri: due isomeri scheletrici (sTnI e fTnI) ed uno cardiaco (cTnI) che è assente nel muscolo liscio e presente nella muscolatura scheletrica<sup>5</sup>. [Tabella 2]

Ognuno dei tre isomeri è codificato da differenti geni localizzati su differenti cromosomi. L'isomero cTnI si differenzia dagli altri due isomeri per il suo peso molecolare maggiore in quanto possiede un maggior numero di aminoacidi nella propria struttura molecolare.

La troponina cardiaca non è presente nel siero di soggetti normali, questo la rende un eccezionale marker per individuare danni al miocardio<sup>7</sup>.

**Tabella 2: Sottotipi di troponina**

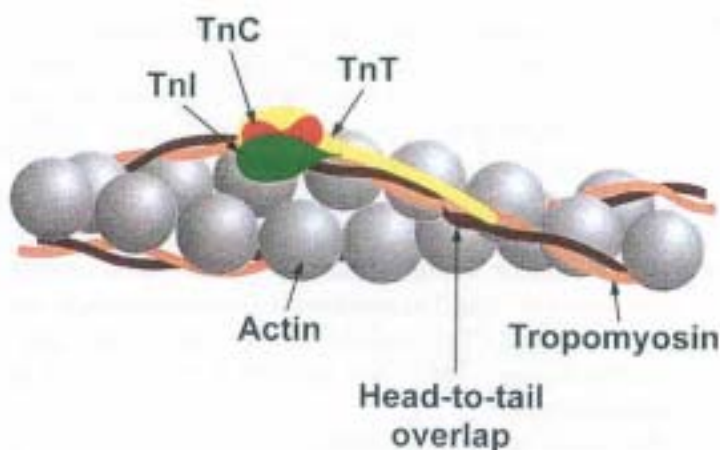
Ci sono vari sottotipi tessuto-specifici delle unità C, I e T della molecola troponina<sup>5</sup>:

Troponina C	Troponina I	Troponina T
Slow troponin C	Slow-twitch skeletal muscle troponin I	Slow skeletal troponin T1
Fast troponin C	Fast-twitch skeletal muscle troponin I	Cardiac troponin T2
	Cardiac troponin I	Fast skeletal troponin T

<http://www.wikipedia.org>

Troponina, miosina, actina e tropomiosina formano le miofibrille costituenti della fibra muscolare. Le miofibrille sono composte da due tipi di filamenti: chiamati filamenti sottili e filamenti spessi.

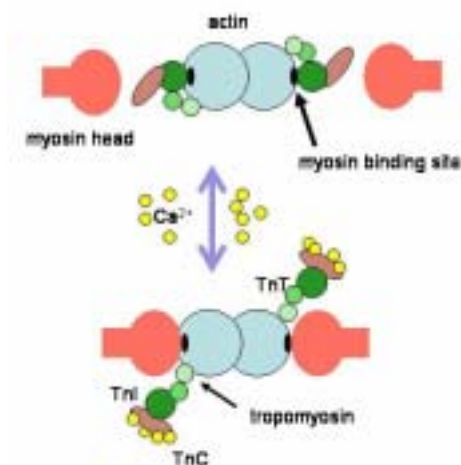
La molecola di troponina, assieme alle molecole tropomiosina e actina creano i filamenti sottili mentre la miosina costituisce i filamenti spessi<sup>5</sup>. [Figura 3]



**Figura 3: Struttura ad elica di miofibrilla**

<http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/abdelaiz-ahmed-ihab-2004-09-20/HTML/chapter1.html>

### 3.5. Ruolo della troponina nella contrazione muscolare



**Figura 4: La figura raffigura il cambiamento conformazionale del complesso troponina-tropomiosina e quindi la scoperta del legame per la miosina.**

www2.warwick.ac.uk

La contrazione muscolare è regolata dalla concentrazione di calcio intracellulare.

Quando il muscolo è rilassato, la troponina mantiene la tropomiosina in posizione tale da coprire i siti di legame della miosina che si trovano sulla molecola di actina.

Durante la contrazione muscolare gli ioni calcio si legano ai loro siti specifici sulla molecola di troponina C (che nella muscolatura scheletrica possiede quattro siti di legame per il calcio mentre nella muscolatura cardiaca ne possiede tre). Questo legame produce un cambiamento conformazionale del complesso troponina-tropomiosina e quindi il legame per la miosina sulla proteina actina viene scoperto. [Figura 4]

A questo punto l'actina si congiunge al filamento sottile producendo il movimento che genera la contrazione<sup>5</sup>.

### 3.6. Obiettivi del lavoro

La realizzazione di questo lavoro di diploma consiste nella valutazione dell'attendibilità del nuovo test della troponina I ultrasensibile su apparecchio VIDAS bioMérieux che verrà introdotta in sostituzione al test della troponina I in uso attualmente nei laboratori dell'Ente Ospedaliero Cantonale.

Il nuovo test della troponina I ultrasensibile comporta una maggior sensibilità in quanto il limite di rilevazione analitica arriva a concentrazioni di 0,01  $\mu\text{g/l}$  a differenza del test della troponina I che possiede una sensibilità funzionale a partire da 0,10  $\mu\text{g/l}$ .

Una maggior sensibilità dovrebbe aiutare la rilevazione di un eventuale positività o negatività in pazienti con dosaggi della troponina I che si situano nella zona grigia di 0,10 e 0,16  $\mu\text{g/l}$  importante per la diagnosi di eventi coronarici acuti e per la distinzione tra angine instabili ed infarti acuti del miocardio<sup>7</sup>.

## 4. MATERIALE E METODI

### 4.1. Strategia di realizzazione

#### 4.1.1. Campioni:

Sono state effettuate misurazioni su 59 campioni (plasma litio-eparina) con una concentrazione di troponina I superiore a 0.10  $\mu$ g/l e 10 campioni con concentrazioni inferiori a 0.10  $\mu$ g/l per valutare la sensibilità del nuovo metodo.

Tra il 26 ottobre e il 28 novembre 59 campioni sono stati prelevati dalla routine degli ospedali ODL e OCL. Per la determinazione della troponina vi era un'indicazione clinica di infarto o sospetto infarto. Le misurazioni sono state eseguite in doppio con i due metodi.

#### 4.1.2. Procedimento:

Dopo la programmazione del nuovo test sull'apparecchio VIDAS bioMérieux, la lettura della scheda MLE (contenente i dati forniti dalla casa produttrice per la calibrazione del test) e la calibrazione dell'analisi sono state eseguite:

Misurazioni in doppio dei campioni con il test della troponina I su VIDAS bioMérieux

Misurazioni in doppio dei campioni con il test della troponina I ultrasensibile VIDAS bioMérieux

Sui campioni provenienti dall'ODL la troponina è stata determinata in doppio con il metodo della troponina attualmente in uso e in doppio con il metodo della troponina ultrasensibile.

Per i campioni provenienti dall'OCL, è stata considerata la misura ottenuta in quell'ospedale. Una volta spediti all'ODL, è stata misurata una volta ancora la troponina con il metodo in uso per avere il doppio risultato, e determinata infine in doppio con il nuovo metodo.

I controlli di qualità: per il metodo ultrasensibile sono stati effettuati i due livelli di controllo forniti dal kit della bioMérieux, France (C1,C2), ed i due livelli di controllo usati nella routine ospedaliera forniti dalla ditta BIO-RAD, France (cq1,cq2). Per il test della troponina I in uso attualmente sono stati effettuati i due livelli di controllo usati nella routine della ditta BIO-RAD, France (cq1,cq2).

La calibrazione dei due test, i controlli, la programmazione del nuovo test, la lettura della scheda MLE e le misurazioni sono state effettuate rispettando le indicazioni delle metodiche dei kits TNI, TNIU VIDAS, bioMérieux, Francia [in allegato]

Per quanto riguarda la calibrazione della troponina ultrasensibile a differenza della troponina attualmente in uso viene eseguita con due calibratori. Per entrambi i metodi, calibratori e controlli sono stati sciolti come descritto nella metodica dei kits allegata.

## 4.2. Materiale:

Per le misurazioni della Troponina I sono stati impiegati l'apparecchio ed i reagenti seguenti:

- Vidas (bioMérieux SA, Lyon, France), modello: VIDAS 30, numero articolo: 527001-5  
provenienza: 595 Anglum Drive, Hazelwood, Missouri 63042-2395, USA
  
- Kit Vidas Troponin I, bioMérieux SA, 69280 Marcy-l'Etoile, France  
Numero lotto: 807572901
  - o Calibratore: S1 (siero umano + troponina I + conservanti)      Lotto: 804807601
  - o Cartucce TNI      Lotto: 070905-1
  - o Coni TNI      Lotto: 805909701
  - o Diluente TNI (siero umano + 0,9 g/l di sodio azide)      Lotto: 804901801
  
- Controlli di qualità, BIO-RAD, Marnes-la-Coquette, France      Lotto: 31190
  - o cq1: Liquichek Cardiac Markers Control LT Levels 1      Lotto: 31191
  - o cq2: Liquichek Cardiac Markers Control LT Levels 2      Lotto: 31192

Per la misurazione della Troponina I Ultrasensibile sono stati impiegati l'apparecchio ed i reagenti seguenti:

- Vidas (bioMérieux SA, Lyon, France), modello: VIDAS 30, numero articolo: 527001-5  
provenienza: 595 Anglum Drive, Hazelwood, Missouri 63042-2395, USA
  
- Kit Vidas Troponin I Ultra, bioMérieux SA, 69280 Marcy-l'Etoile, France  
Numero di lotto: 804798901
  - o Calibratore S1 (siero umano + troponina I + conservanti)      Lotto: 804807901
  - o Calibratore S2 (siero umano + troponina I + conservanti)      Lotto: 804808001
  - o Cartucce TNIU      Lotto: 070629-0
  - o Coni TNIU      Lotto: 804813101
  - o Diluente TNIU (siero umano + 0,9 g/l di sodio azide)      Lotto: 804808901
  
- Controlli di qualità: BIO-RAD, Marnes-la-Coquette, France (cq1-2)      Lotto: 31190
  - o cq1: Liquichek Cardiac Markers Control LT Levels 1      Lotto: 31191
  - o cq2: Liquichek Cardiac Markers Control LT Levels 2      Lotto: 31192
  - o C1 control TNIU del kit Troponin I Ultra, bioMérieux SA, 69280 Marcy-l'Etoile, France      Lotto: 804808301
  - o C2 control TNIU del kit Troponin I Ultra, bioMérieux SA, 69280 Marcy-l'Etoile, France      Lotto: 804808601

### 4.3. Metodi:

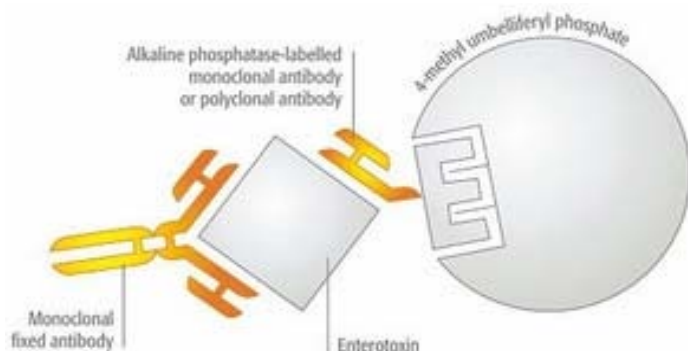
Per i due test:

Il principio del test associa un metodo immunoenzimatico a sandwich nella prima fase ad una rilevazione finale in fluorescenza.

Tutte le fasi del test sono realizzate automaticamente dall'apparecchio.

Il campione viene prelevato con il cono monouso (fornito dal kit) e trasferito nel pozzetto della cartuccia (fornita dal kit) contenente l'anticorpo anti-troponina I cardiaca marcato con fosfatasi alcalina (coniugato). La miscela campione/coniugato viene sottoposta a ripetuti cicli di aspirazione/rilascio da parte del cono. Questa operazione permette all'antigene di legarsi da una parte alle immunoglobuline fissate sul cono e dall'altra al coniugato, formando così un sandwich. I componenti non fissati vengono eliminati tramite lavaggi.

Nella rilevazione finale il substrato (4-metil-umbelliferil fosfato) viene aspirato/rilasciato dal cono; l'enzima del coniugato ne catalizza l'idrolisi in un prodotto fluorescente (4-metil-umbelliferone) [Figura 5]; l'intensità della fluorescenza emessa viene misurata a 450 nm. IL valore del segnale è proporzionale alla concentrazione dell'antigene presente nel campione.



**Figura 5: Raffigurazione del principio del metodo**

[www.biomereux.com](http://www.biomereux.com)

Al termine del dosaggio i risultati vengono calcolati automaticamente dallo strumento in rapporto ad una curva di calibrazione per il test della Troponina I mentre in rapporto a due curve di calibrazione inserite in memoria per la Troponina I Ultrasensibile.

[tratto dalla metodica bioMérieux in allegato]

## 4.4. Analisi dei dati

### 4.4.1. Imprecisione delle analisi

L'imprecisione delle analisi è stata valutata dalle misure in doppio secondo la formula:

$$\left\{ \left[ \frac{\sum (\text{misura 1} - \text{misura 2})^2}{2 \times n} \right]^{0.5} \right\} / 2 \times n \quad n = \text{numero dei campioni}$$

### 4.4.2. Inaccuratezza delle analisi

L'inaccuratezza delle analisi è stata valutata secondo la formula:

$$\text{inaccuratezza (\%)} = 100 - \frac{\text{valore misurato} \times 100}{\text{valore soglia}}$$

### 4.4.3. Confronto metodi

I due metodi sono stati confrontati secondo il metodo di Altman e Bland, secondo il metodo parametrico di Deming e secondo il metodo non parametrico di Passing-Bablok, utilizzando il programma Analyse-it + Clinical Laboratory 1.71, Software Ltd. PO BOX 103, Leeds, LS277WZ, in uso presso il laboratorio dell'Ospedale San Giovanni di Bellinzona.

Per le analisi secondo Passing & Bablock sono state confrontate le medie delle due misure ottenute con la troponina I in uso attualmente presso i laboratori EOLAB e le misure ottenute con il metodo della troponina I ultrasensibile.

## 5. RISULTATI

Per stimare l'imprecisione dei due metodi è stato usato il coefficiente di variazione ottenuto ripetendo l'analisi giornalmente con dei sieri di controllo Liquichek Cardiac Markers Control LT, BIO-RAD, Level 1 (cq1) e 2 (cq2). È stato in questo modo determinato il coefficiente di variazione inter assay.

### 5.1. Imprecisione delle analisi

La tabella 3 riassume i risultati ottenuti giornalmente con il test della troponina I in uso attualmente utilizzando i due livelli dei sieri di controllo usati nella routine ospedaliera.

**Tabella 3: Riporta i risultati dei controlli del metodo della troponina I in uso attualmente, ottenuti durante i giorni dove sono state eseguite le misurazioni dei 59 campioni testati. Misurati in µg/l**

cq1	cq2
0.49	2.94
0.51	3.10
0.37	3.08
0.38	3.02
0.39	3.10
0.42	3.10
0.36	3.06
0.42	3.10
0.42	3.19
0.44	3.25
0.43	3.10
0.46	3.11
0.51	2.72

<b>media</b>	0.43	3.07
<b>sd</b>	0.05	0.13
<b>cv %</b>	11.66	4.16

cq1: Liquichek Cardiac Markers Control LT Levels 1 Mean: 0.45 Range: 0.32-0.59

cq2: Liquichek Cardiac Markers Control LT Levels 2 Mean: 3.25 Range: 2.28-4.23



La tabella 4 riassume i risultati ottenuti giornalmente con il test della troponina I ultrasensibile utilizzando i due livelli dei sieri di controllo usati per la routine ospedaliera.

**Tabella 4: Riporta i risultati dei controlli del metodo della troponina ultrasensibile, ottenuti durante i giorni dove sono state eseguite le misurazioni dei 59 campioni testati. Misurati in µg/l**

cg1	cg2
0.14	0.73
0.13	0.72
0.12	0.72
0.12	0.72
0.12	0.72
0.12	0.73
0.14	0.76
0.13	0.73
0.13	0.72
0.12	0.72
0.12	0.71
0.12	0.73
0.12	0.72

<b>media</b>	0.13	0.73
<b>sd</b>	0.01	0.01
<b>cv %</b>	6.19	1.65

cg1: Liquichek Cardiac Markers Control LT Levels 1  
 cg2: Liquichek Cardiac Markers Control LT Levels 2

Si nota come i valori assoluti ottenuti con i due sieri di controllo siano differenti per i due metodi. Dalla tabella 3 si nota come il CV per il primo livello sia di 11,66%, rispettivamente 4,16% per il secondo livello.

Per quanto riguarda la troponina ultrasensibile [Tabella 4] per gli stessi sieri di controllo è stato misurato un CV di 6,19% (livello 1) rispettivamente di 1,65% (livello 2).

La figura 6 riassume i coefficienti di variazione dei controlli cq1 e cq2 ottenuti con il metodo della troponina I in uso attualmente e con la troponina I ultrasensibile e gli stessi sieri di controllo.

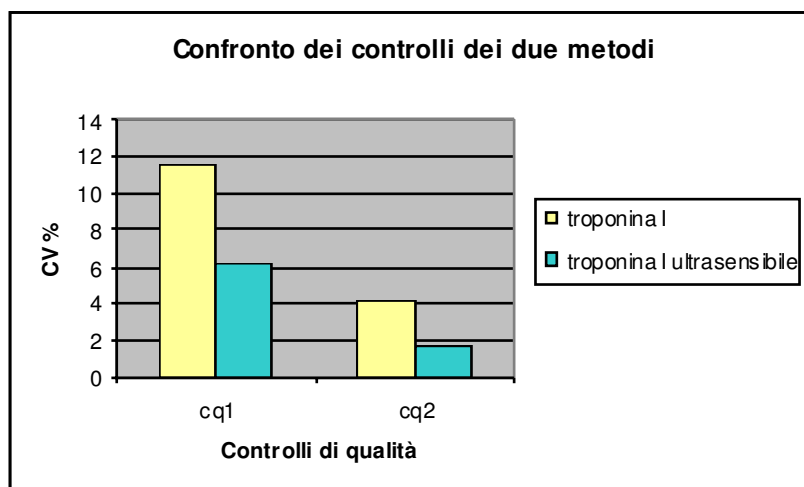


Figura 6: CV % dei controlli cq1 e cq2 per i due metodi

La troponina ultrasensibile è quindi più precisa della troponina attualmente in uso.

## 5.2. In accuratezza delle analisi

Per la troponina attualmente in uso l'inaccuratezza dell'analisi è stata calcolata dal valore soglia dichiarato secondo la formula stimata:

$$\text{inaccuratezza (\%)} = 100 - \frac{\text{valore misurato}}{\text{valore soglia}} \times 100$$

valore soglia

Come sieri di controllo sono stati usati i controlli Liquichek Cardiac Markers Control LT livello (cq1 e cq2). I valori soglia dei sieri di controllo della troponina I in uso sono:

Cq1 0,45 µg/l

Cq2 3,25 µg/l

L'inaccuratezza per il metodo della troponina I in uso è risultata del 6,7% per il controllo livello 1 e del 4,92% per il controllo livello 2.

Per la troponina ultrasensibile non è stato possibile usare gli stessi sieri di controllo per la determinazione dell'inaccuratezza dell'analisi in quanto i controlli non fornivano ancora dichiarazioni per il nuovo metodo.

L'inaccuratezza è stata quindi determinata usando i controlli forniti dal kit della bioMérieux.

La tabella 5 riassume i risultati dei controlli C1 e C2 del kit bioMérieux, eseguiti durante il periodo d'esecuzione delle misurazioni.

I valori soglia per questi sieri di controllo sono:

C1 3,43 µg/l

C2 0,44 µg/l

**Tabella 5: Riassunto i risultati dei controlli del kit bioMérieux (C1 e C2) misurati in µg/l**

C1	C2
3.64	0.45
3.26	0.38
3.52	0.43
3.37	0.43
3.44	0.44
3.45	0.44
3.53	0.45
3.46	0.44
3.48	0.43
3.45	0.41
3.49	0.43
3.52	0.45
3.55	0.46

media	3.47	0.43
sd	0.09	0.02
cv %	2.63	4.76

C1 Dose Value Mean: 3.43 Range: 2.86-4.00 µg/l

C2 Dose Value Mean: 0.44 Range: 0.35-0.53 µg/l

Usando il controllo C1 l'inaccuratezza è risultata del 1,1% mentre per il controllo C2 è risultata del 2,3%.

Il dosaggio della troponina ultrasensibile risulta quindi più accurato rispetto alla troponina in uso attualmente.

### 5.3. Confronto risultati

La tabella 6 riassume tutti i risultati ottenuti con i due metodi per i 59 campioni analizzati. Il range delle misurazioni va da 0 a 106,44  $\mu\text{g/l}$  per quanto riguarda la troponina in uso e da 0 a 43,41  $\mu\text{g/l}$  per le misurazioni della troponina I ultrasensibile.

**Tabella 6: Risultati ottenuti con i due Test Troponina I e Troponina I Ultrasensibile eseguiti su VIDAS**

Campione	Metodo (μg/l)			
	Troponina I		Troponina I Ultrasensibile	
1	<0.10	0.83	<0.01	<0.01
2	<0.10	0.27	<0.01	<0.01
3	<0.10	<0.10	0.05	0.06
4	<0.10	<0.10	<0.01	<0.01
5	<0.10	<0.10	<0.01	<0.01
6	<0.10	<0.10	<0.01	<0.01
7	<0.10	<0.10	<0.01	<0.01
8	<0.10	<0.10	0.03	0.03
9	<0.10	<0.10	<0.01	<0.01
10	<0.10	<0.10	<0.01	<0.01
11	0.10	0.12	0.30	0.29
12	0.10	0.10	0.25	0.25
13	0.16	0.16	0.39	0.39
14	0.24	0.27	0.40	0.41
15	0.27	0.19	0.34	0.35
16	0.27	0.23	0.52	0.52
17	0.35	0.27	0.40	0.38
18	0.35	0.33	0.57	0.58
19	0.36	0.51	1.37	1.43
20	0.37	0.37	1.10	1.06
21	0.38	0.33	0.56	0.53
22	0.39	0.40	0.60	0.63
23	0.42	0.40	0.56	0.54
24	0.47	0.47	0.74	0.72
25	0.48	0.51	0.79	0.77
26	0.55	0.86	1.16	1.16
27	0.56	0.55	0.74	0.71
28	0.59	0.61	0.75	0.76
29	0.69	0.78	2.15	2.21
30	0.87	0.88	1.00	0.98
31	0.96	0.94	0.69	0.68
32	1.01	0.97	0.89	0.89
33	1.15	1.18	1.33	1.30
34	1.26	0.26	1.61	1.56
35	1.31	1.32	1.19	1.20
36	1.40	1.54	3.43	3.42
37	1.67	1.62	1.12	1.09

Campione	Metodo		(µg/l)	
	Troponina I		Troponina I Ultrasensibile	2.47
38	1.89	1.74	1.28	1.32
39	1.92	1.65	1.30	1.34
40	2.21	3.55	2.49	2.43
42	2.54	2.92	2.26	2.29
43	2.83	2.30	1.85	2.04
44	4.25	4.37	3.81	3.72
45	4.49	4.63	2.85	2.78
46	5.53	5.50	3.15	3.08
47	6.97	7.12	4.96	4.69
48	7.41	6.95	3.83	3.92
49	11.46	12.46	6.39	6.54
50	12.71	13.02	6.65	6.82
51	16.72	16.84	6.73	6.77
52	20.34	18.68	13.32	13.46
53	21.97	21.33	3.97	3.89
54	30.51	32.16	15.07	14.44
55	39.56	34.30	16.43	16.94
56	42.83	45.60	22.12	21.78
57	45.01	37.68	36.02	36.42
58	49.72	98.85	42.48	43.41
59	55.41	106.44	43.17	43.14

I valori di riferimento per l'interpretazione dei risultati sono:

**Troponina I:** [allegato 1]

Nessun sintomo cardiaco:	<0,10	µg/l
Zona grigia	0,10 – 0,16	µg/l
Diagnosi di necrosi miocardica	>0,16	µg/l

**Troponina I ultrasensibile:** [allegato 2]

Nessun sintomo cardiaco:	< 0,01	µg/l
“Zona grigia”	0,01 - 0,11	µg/l
Diagnosi di necrosi miocardica	> 0,11	µg/l

Già ad un primo sguardo si nota come la precisione nelle ripetizioni delle analisi con la troponina ultrasensibile sia migliore rispetto alla troponina attualmente in uso.

Per quanto riguarda la troponina in uso in due casi il risultato non era coerente: la prima determinazione dava un risultato di troponina negativa mentre la ripetizione della stessa dava una troponina da considerare positiva. (campione numero 1 e 2)

Per la troponina ultrasensibile le misure erano sempre coerenti ed il paziente veniva situato rispettivamente nella fascia di troponina negativa, nella fascia definita come zona grigia, oppure nella fascia di troponina positiva.

Confrontando le misure ottenute con i due metodi si nota come in sei casi l'attribuzione del paziente ad una determinata categoria diagnostica sia risultata discordante:

**Caso A:** campione numero 1

Nel caso del paziente 1 la misura in doppio con la troponina in uso ha fornito due risultati discordanti di  $<0,10 \mu\text{g/l}$  e  $0,83 \mu\text{g/l}$  mentre la troponina ultrasensibile negativa. Il paziente non ha avuto infarti recenti.

**Caso B:** campione numero 2

Il dosaggio con la troponina in uso ha dato risultati contraddittori di  $<0,10 \mu\text{g/l}$  e  $0,27 \mu\text{g/l}$  mentre con il metodo ultrasensibile ha dato valori negativi.

**Caso C:** campione numero 11

Il metodo in uso è discordante invece il metodo ultrasensibile da i due risultati negativi. Il paziente ha avuto un infarto del miocardio nei giorni precedenti.

**Caso D:** campione numero 3

Il metodo in uso da due risultati negativi mentre il metodo ultrasensibile situa il campione in zona grigia. Il paziente è noto per una cardiopatia.

**Caso E:** campione numero 12

Il paziente è attribuito alla zona grigia con il test in uso mentre risulta positivo con il metodo ultrasensibile. Il paziente non soffre di cardiopatie acute, ha avuto un infarto del miocardio alcuni mesi prima.

**Caso F:** campione numero 8

La troponina in uso attualmente fornisce due risultati negativi mentre la troponina ultrasensibile da due risultati in zona grigia. Il paziente soffre di eventi di angina pectoris instabile.

Nei casi A, D e F il risultato della troponina ultrasensibile sembra risultare migliore del punto di vista clinico.

Nei casi B ed E il metodo in uso pare preferibile dal punto di vista clinico.

Nel caso C il paziente ha avuto un infarto e la troponina sta scendendo quindi i metodi si equivalgono.

In tutti gli altri casi il paziente è stato attribuito alla stessa categoria con entrambi i metodi d'analisi.

Globalmente si può quindi affermare che le due troponine si equivalgono. In tre casi si lasciava preferire la troponina I ultrasensibile mentre in due casi era preferibile il metodo in uso.

In questi casi dubbi si tratta comunque sempre di pazienti o con misure di troponina discordanti o con valori prossimi alla zona grigia del paziente.

## 5.4. Confronto metodi

Per poter determinare una relazione tra i due metodi sono stati confrontati secondo il metodo di Altman e Bland, secondo il metodo parametrico di Deming e secondo il metodo non parametrico di Passing & Bablok, utilizzando il programma Analyse-it + Clinical Laboratory 1.71, Software Ltd. PO BOX 103, Leeds, LS277WZ, in uso presso il laboratorio dell'Ospedale San Giovanni di Bellinzona.

Per poter confrontare i due metodi secondo Passing & Bablok non sono state usate le due misure singole (effettuate in doppio) ma è stata usata la media.

In generale si può notare come il metodo ultrasensibile dia dei valori più bassi rispetto al test in uso.

I risultati secondo Altman & Bland sono raffigurati nella Figura 7 che segue.

### 5.4.1. Confronto secondo Altman & Bland

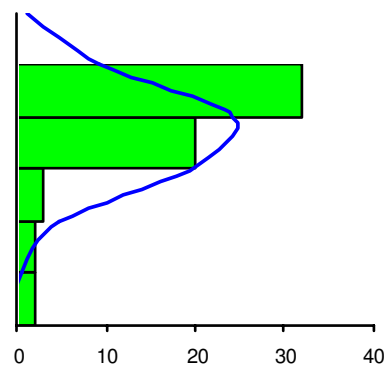
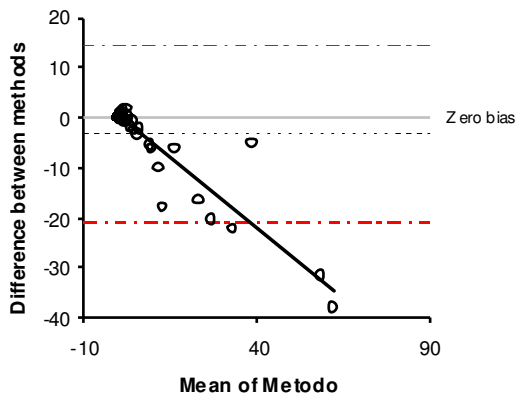
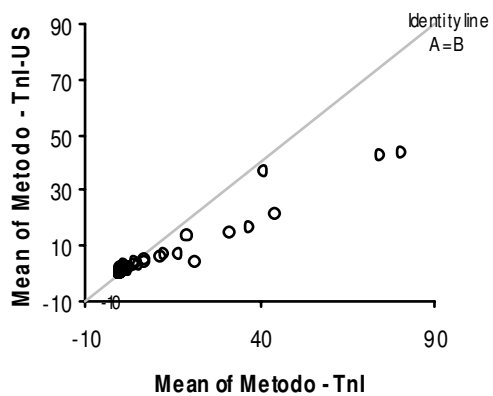
La Figura 7 mostra i dati del confronto tra i due metodi secondo Altman & Bland

		analysed with: + Analyse-it Clinical Laboratory 1.73	
<b>Test</b>	<b>Bias plots</b>		
	Metodo: Tnl v Tnl-US		
<b>Performed by</b>	labbam		

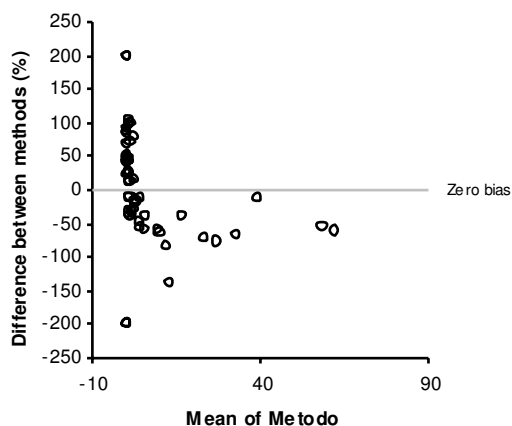
**n** | 59

**Bias** | -3.105  
**95% CI** | -5.487 to -0.723

95% limits of agreement	95% CI	
<b>Lower</b>	-21.022	-25.009 to -17.036
<b>Upper</b>	14.812	10.826 to 18.798







**Figura 7: Confronto dei dati secondo Altman & Bland**

Nel primo grafico l'ascissa riporta le misure effettuate con il metodo della troponina attualmente in uso, mentre l'ordinata riporta il metodo della troponina ultrasensibile.

Si nota come la troponina ultrasensibile dia dei valori più bassi rispetto al metodo in uso. Le misure infatti si trovano tutte a destra della bisettrice che corrisponderebbe alla perfetta identità dei metodi.

Il secondo grafico indica come la differenza tra i due metodi aumenti al crescere del valore di troponina misurato.

Il terzo grafico esprime la differenza % di un metodo rispetto all'altro in funzione della media tra i due metodi. Si può notare come al crescere dei valori la troponina ultrasensibile dia risultati inferiori rispetto a quelli del metodo in uso.

Anche se la relazione tra le due metodiche non appare lineare, le differenze non sono comunque costanti su tutto l'arco delle misurazioni.

## 5.4.2. Confronto secondo Deming

La Figura 8 mostra il confronto dei dati secondo il metodo parametrico di Deming.

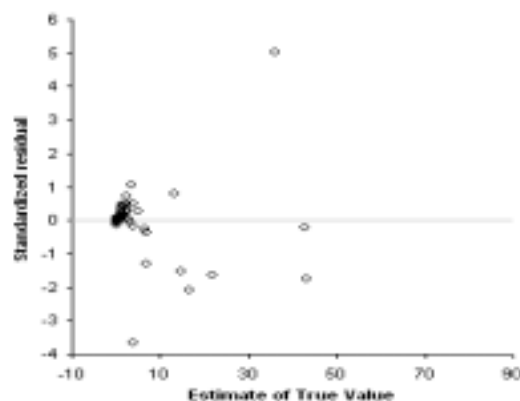
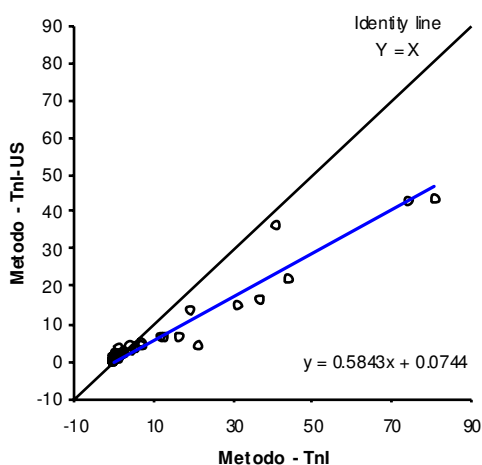
analysed with: Analyse-it + Clinical Laboratory 1.73	
<b>Test</b>	<b>Deming method comparison</b>
	Metodo: TnI v TnI-US
<b>Performed by</b>	labbam

n | 59

Imprecision SD | 6.5864 | 0.1315  
Variance ratio | 2507.6781

	Coefficient	SE	95% CI
<b>Intercept</b>	0.0744	0.3531	-0.6328 to 0.7815
<b>Slope</b>	0.5843	0.0193	0.5457 to 0.6230

(proportional bias detected)



**Figura 8: Confronto dei dati secondo Deming**

Nel grafico di sinistra l'ordinata rappresenta come sopra la troponina ultrasensibile mentre l'ascissa presenta i dati della troponina attualmente in uso, ovviamente i due metodi non sono identici.

La relazione che correla le due misure secondo Deming è la seguente:

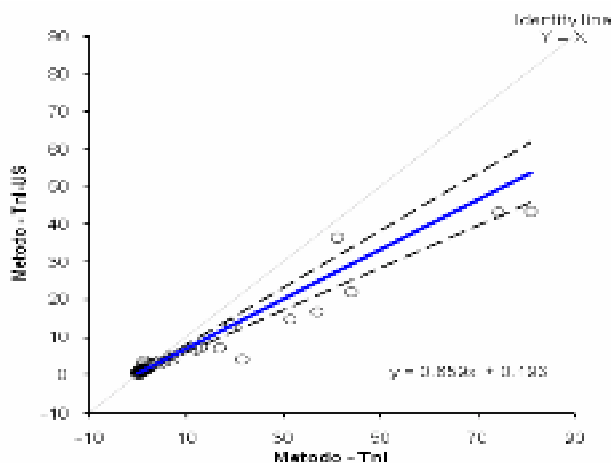
$$\text{Tropo U} = 0,58 \text{ troponina I} + 0,07 \text{ troponina I ultrasensibile}$$

Il grafico di destra rappresenta le distanze delle singole misure (ordinata) dalla retta di regressione in funzione della media delle misure eseguite.

### 5.4.3. Confronto secondo Passing & Bablok

La Figura 9 mostra il confronto secondo il metodo non parametrico di Passing & Bablok.

Test		Passing & Bablok method comparison		analysed with: Analyse-it + Clinical Laboratory 1.73	
Performed by		labder			
n		59			
		Coefficient	95% CI		
Intercept		0.193	0.137 to 0.300	(constant bias detected)	
Slope		0.660	0.565 to 0.760	(proportional bias detected)	
Cusum test for linearity - p		< 0.01		(non-linear relationship between X and Y detected)	



**Figura 9: Confronto dei dati secondo Passing & Bablok**

Questo tipo di analisi è da preferire quando i valori misurati non sono distribuiti in modo normale

Secondo Passing & Bablok la relazione tra i due metodi è:

$$\text{Tropono U} = 0,66 \times \text{troponina I} + 0,19 \text{ troponina I ultrasensibile}$$

Il test secondo Passing & Bablok indica che:

- La relazione tra i due metodi non è perfettamente lineare.
- I metodi non sono ovviamente identici.

## 6. DISCUSSIONE

Lo scopo del lavoro di diploma era di confrontare le principali caratteristiche analitiche di due metodi per la determinazione della troponina e soprattutto la relazione di un metodo con l'altro. Si vuole infatti sostituire la troponina I in uso attualmente nei laboratori EOLAB con il nuovo metodo della troponina I ultrasensibile. Queste informazioni devono essere date al clinico.

La troponina ultrasensibile dovrebbe permettere una migliore differenziazione tra pazienti: senza eventi coronarici acuti, pazienti senza eventi acuti ma con un'angina pectoris instabile e pazienti con infarto del miocardio.

Dai risultati rappresentati nel capitolo 5 si nota come la nuova troponina ultrasensibile sia più precisa ed accurata rispetto al vecchio metodo.

Le misure dei campioni con i due metodi rappresentate nella Tabella 6, indicano chiaramente che le misure in doppio eseguite con il metodo ultrasensibile sono più coerenti rispetto alla troponina in uso. La maggior variabilità del metodo in uso può essere in parte spiegata con il fatto che la prima delle due misurazioni di troponina in alcuni casi è stata eseguita su due apparecchi diversi e quindi con due differenti calibrazioni. Inoltre per i pazienti ottenuti dall'ospedale Civico le due misure di troponina I attualmente in uso sono state eseguite in due giorni successivi. Nonostante la troponina sia stabile 3 giorni a 4°C (secondo le direttive OMS), è probabile che un leggero fattore di errore sia stato introdotto rispetto alla determinazione della troponina I ultrasensibile, effettuata due volte nello stesso giorno.

I coefficienti di variazione misurati inter assay e la deviazione standard del rispettivo valore soglia indicano comunque che la troponina ultrasensibile è in ogni modo più precisa ed accurata di quella in uso.

I confronti dei metodi secondo Altman & Bland, Deming e Passing & Bablok indicano che:

- Come anche si vede dalla Tabella 6 dei risultati, le misurazioni con i due metodi non sono identiche.
- La relazione tra i due metodi non è lineare

Il fatto che i due metodi non siano linearmente correlabili è plausibile. Ciò è probabilmente dovuto al fatto che la troponina ultrasensibile viene calibrata con due calibratori per meglio discriminare i pazienti che si situano in zona grigia, mentre la troponina in uso è calibrata ad un solo punto.

Il programma Analyse-it + Clinical Laboratory 1.71, calcola comunque la miglior relazione possibile tra i due metodi. Le equazioni non sono identiche ma abbastanza simili a seconda che si usi un test parametrico (Deming) oppure non parametrico (Passing & Bablok).

Non essendo i risultati distribuiti normalmente la retta di regressione misurata con il metodo non parametrico è preferibile.

I due metodi non danno risultati identici, la troponina ultrasensibile dà generalmente dei risultati più bassi rispetto a quella in uso.

Dal punto di vista clinico questo fatto non è di grande importanza in quanto l'esame serve a diagnosticare o ad escludere una necrosi miocardica. I valori numerici rivestono quindi un'importanza minore rispetto ad un parametro con una necessità di quantificazione, come per esempio la misura della glicemia sanguigna.

Ad eccezione di sei casi (vedi paragrafo 5.3) il paziente è sempre stato attribuito alla stessa categoria diagnostica (negativo, zona grigia, positivo), con entrambi i metodi di analisi.

Il risultato dato dalla troponina ultrasensibile era preferibile in tre casi, mentre in due casi era preferibile dal punto di vista clinico, il risultato dato con il vecchio metodo.

Si tratta comunque di casi limite in cui i pazienti soffrivano di angina pectoris instabile o avevano avuto recenti infortuni cardiaci. È quindi difficile in base a queste differenze giudicare la bontà di un metodo rispetto all'altro.

In ogni caso, anche in queste situazioni limite il test della troponina I ultrasensibile forniva dei risultati in doppio più coerenti rispetto al test in uso.

Una volta introdotto questo nuovo test l'esperienza clinica permetterà di valutare meglio questi risultati di troponina in zona grigia.

## 7. CONCLUSIONI

Lo scopo del lavoro era confrontare un metodo per la determinazione della troponina I con l'apparecchio VIDAS bioMérieux in vista della prossima introduzione del metodo definito ultrasensibile.

Si è potuto constatare che:

- Il nuovo metodo di analisi della troponina è più preciso e affidabile rispetto al metodo attualmente in uso.
- Il tempo implicato per l'analisi ed i costi non differiscono rispetto al metodo precedente.
- La relazione tra i due metodi non è perfettamente lineare. La nuova troponina che verrà introdotta, da mediamente dei risultati più bassi del metodo in uso. Questo fatto di per sé non è clinicamente importante in quanto la troponina permette unicamente di confermare o escludere un infarto. La gravità dello stesso non è necessariamente collegata alla misura di troponina.

Al momento dell'introduzione del nuovo metodo la relazione esistente tra i due metodi d'analisi andrà spiegata al clinico in modo che possa giudicare plausibilmente eventuali valori precedenti di uno stesso paziente misurati con l'altro metodo (in uso).

## 8. BIBLIOGRAFIA

- 1 Joint European Society of Cardiology / American College of Cardiology Committee, *Myocardial infarction redefined*, Eur. Heart J., 2000; 21:1502-1513
- 2 Moccetti T., *Ruolo delle troponine nella valutazione e nel trattamento della sindrome coronarica acuta*, Tribuna medica ticinese, Marzo 2000; 65
- 3 Pedrotta V., *Cuore e circolazione*, Dispense scolastiche di patologia e fisiologia, 2002
- 4 Documento EOLAB, *Parametri biochimici per sospetto di infarto del miocardio*, revisione 2003
- 5 Thomas L., *Labor und Diagnose*, Die Medizinische Verlags gesellschaft mbH, 4. Auflage, 1992
- 6 Togni G., *dispense chimica clinica*, Dispense scolastiche di chimica clinica, 2004/05
- 7 bioMérieux SA, France, *Troponin I Ultra*, Vidas, Metodica Kit 2005/07

## 9. RINGRAZIAMENTI

Vorrei qui ringraziare le seguenti persone:

Dr. Roberto Della Bruna per l'aiuto ed i consigli forniti durante la stesura del lavoro.

Dr. Marco Balerna per l'aiuto datomi nell'analisi statistica dei dati.

Il Direttore Andrea Boffini, le docenti Sonja Marci e Daniela Marcacci per i consigli di metodologia.

Il capo laboratorio Germana Tosi, e tutto il laboratorio dell'Ospedale la Carità di Locarno per l'aiuto fornitomi ed il tempo messo a disposizione.

Il capo laboratorio Marcello Niosi, e tutto il laboratorio dell'Ospedale Civico di Lugano per i campioni fornitomi.

Infine un ringraziamento va all'Ente Ospedaliero Cantonale ed EOLAB per avermi dato l'opportunità di svolgere questo lavoro.



# 10. ALLEGATI

## Allegato 1: Metodica originale Troponina I Ultrasensibile della ditta bioMérieux

REF 30 448

11038 B - en - 2006/07

VIDAS® Troponin I Ultra

11038 B - en - 2006/07

### VIDAS® TROPONIN I Ultra (TNU)

IVD

VIDAS® Troponin I Ultra is an automated quantitative test for use on the VIDAS instruments for the determination of human cardiac troponin I in human serum or plasma (albumin heparin) using the ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay) technique. VIDAS Troponin I Ultra is intended to be used as an aid in the diagnosis of myocardial infarction.

#### SUMMARY AND EXPLANATION

Troponin is a regulatory protein of the thin filament of striated muscle, and consists of three subunits, T and C, which are implicated together in muscle contractions. Troponin I has a cardiac isoenzyme which enables highly specific detection of myocardial injury. This isoenzyme is rapidly released after acute myocardial infarction (AMI) and can be detected in blood between the 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> hour after the onset of chest pain, with a peak between the 14<sup>th</sup> and 36<sup>th</sup> hour; concentrations in blood remain high for 3 to 7 days (1, 2, 3). Cardiac troponin is the biomarker of choice for detection of myocardial necrosis as it is more specific and sensitive than the classic cardiac enzymes (4).

Due to the specificity of cardiac troponin I, its detection can be interpreted even in patients with skeletal muscle diseases (5).

The recommendations of the consensus committee of the European Society of Cardiology (ESC) and the American College of Cardiology (ACC) specify that the diagnosis of myocardial necrosis can be made when the level of cardiac troponin in the blood is greater than the 99<sup>th</sup> percentile of a healthy population, in the clinical setting of acute ischemia. Acceptable imprecision (coefficient of variation) at the 99<sup>th</sup> percentile for each assay should be defined as <10% (6).

Patients presenting an acute coronary syndrome and high concentrations of cardiac troponin I and/or CKMB, are considered to be victims of myocardial infarction, whereas the diagnosis of unstable angina will be made if the concentrations of cardiac troponin I and CKMB are situated in the reference range (5).

Several published guidelines agree that a single test for troponin on arrival of the patient in the hospital is sufficient (7). The collection of at least 3 blood samples during the early triage period has been recommended (8). Apart from its role in the diagnosis of AMI (9, 10, 11), the determination of cardiac troponin I is useful for assessing the effect of thrombolytic therapy and estimating the extent of necrosis (12).

For patients with acute coronary syndrome, Troponin is a prognosis indicator and allows to stratify the risk of cardiac events and mortality (13, 14).

In certain clinical contexts, myocardial cell injury leading to an increased troponin concentration in the blood may be observed (15).

The VIDAS Troponin I Ultra assay is an aid in the diagnosis of myocardial infarction.

#### PRINCIPLE

The assay principle combines a one-step immunoassay sandwich method with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR)<sup>®</sup> serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The sample is transferred into the wells containing anti-cardiac troponin antibodies labeled with alkaline phosphatase (conjugate). The sample/conjugate mixture is cycled in and out of the SPR several times. The operation enables the troponin I to bind with the immunoglobulins fixed to the interior wall of the SPR and the conjugate to form a sandwich. Unbound components are eliminated during washing steps.

Two detection steps are then performed successively. During each step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a product (4-Methyl-umbelliferone) the fluorescence of which is measured at 480 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the concentration of antigen present in the sample.

At the end of the assay, the results are automatically calculated by the instrument in relation to two calibration curves stored in memory corresponding to the two detection steps. A fluorescence threshold value determines the calibration curve to be used for each sample. The results are then printed out.

#### CONTENT OF THE KIT (60 tests) - RECONSTITUTION OF REAGENTS:

60 TNU/ strips	STR	Ready-to-use
60 TNU SPRs 2 x 36	SFR	Ready-to-use Interior of SPRs coated with mouse monoclonal anti-cardiac troponin I immunoglobulins
TNU controls Control C1 2 x 2 ml (lyophilized)	C1	Reconstitute with 2 mL of distilled water. Let stand for 5 - 10 minutes then mix. Stable after reconstitution for 8 hours at 2-8°C, or until the expiration date on the kit at -25 ± 5°C. 4 freeze/thaw cycles are possible. Human serum* + troponin I + preservatives
Control C2 2 x 2 ml (lyophilized)	C2	The confidence interval in µg/L is indicated on the MLE card after the following mention: "Control C1 Dose Value Range" or "Control C2 Dose Value Range"
TNU calibrators Calibrator S1 2 x 2 ml (lyophilized)	S1	Reconstitute with 2 mL distilled water. Let stand for 5 - 10 minutes then mix. Stable after reconstitution for 8 hours at 2-8°C, or until the expiration date on the kit at -25 ± 5°C. 4 freeze/thaw cycles are possible. Human serum* + troponin I + preservatives
Calibrator S2 2 x 2 ml (lyophilized)	S2	The concentration in µg/L is indicated on the MLE card after the following mention: "Calibrator (S1) Dose Value" or "Calibrator (S2) Dose Value", along with the confidence interval in "Relative Fluorescence Value" after the following mention: "Calibrator (S1) RFV Range" or "Calibrator (S2) RFV Range"
TNU diluent 1 x 2 ml (liquid)	R1	Ready-to-use Human serum* + preservatives
1 MLE card		Specifications sheet containing the factory master calibration data required to calibrate the test.
1 Package insert		

\* The product has been tested and shown to be negative for HBs antigen, antibodies to HIV-1, HIV-2 and HCV. However, since no screening test method can totally guarantee their absence, the product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

#### The SPR

The interior of the SPR is coated during production with mouse monoclonal anti-cardiac troponin I immunoglobulins. Each SPR is identified by the TNU code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and reseal the pouch correctly after opening.

#### The strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

#### Description of the TNU strip

Wells	Reagents
1	Sample well
2-3-4	Empty wells
5	Conjugate: alkaline phosphatase-labeled monoclonal anti-cardiac troponin (mouse) + preservatives (400 µL)
6-7-8	Wash buffer: Tris HCl pH 7.3 + preservative (800 µL)
9	Empty wells
10	Cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.8 mmol/L) + diethylenetriamine (DEA) (0.02 mol/L or 0.01% pH 8.2) + sodium acetate (300 µL)

#### \* IRRITANT reagent:

- R 38 : irritating to eyes.
  - S 26 : in case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.
- For further information, refer to the Safety Data Sheet available on request.

**MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED**

- Pipette with disposable tip calibrated to dispense 200 µL.
- Powderless disposable gloves.

**WARNINGS AND PRECAUTIONS**

- For *in vitro* diagnostic use only.
- For professional use only.
- This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - latest edition).
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Do not use the SPRs if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use powderless gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (dehancholamine). Refer to the risk phrase "R" and the precaution "S" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent and a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the Operator's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The VDAS and mini VDAS instruments should be regularly cleaned and decontaminated (see the Operator's Manual).

**STORAGE CONDITIONS**

- Store the VDAS Troponin I Ultra kit at 2-8°C.
- Do not freeze the kit.
- Do not freeze reagents, with the exception of calibrators and controls after reconstitution.
- Store all unused reagents at 2-8°C.
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label. Refer to the kit composition table for special storage conditions.

**SPECIMENS****Specimen type and collection**

Human serum or plasma (Biom hemapan).

For a given patient, serial troponin testing must be performed using the same type of sample tube.

Samples containing suspended fibrin particles or erythrocyte stroma should be centrifuged before testing.

**Sample preparation**

- **On tubes:** wait for samples to coagulate and centrifuge according to the tube manufacturer's recommendations to eliminate fibrin.

- **Other tubes:** follow the tube manufacturer's recommendations for use.

- **Frozen stored samples:** after thawing, all these samples must be clarified by centrifuging.

**Note:** Blood sampling tube results may vary from one manufacturer to another depending on the materials and additives used.

It is the responsibility of each laboratory to validate the type of sample tube used and to follow the manufacturer's recommendations for use.

**Sample stability**

Samples separated from the clot can be stored at 2-8°C for up to 48 hours after collection or up to 4 months at -80°C. Avoid successive freezing and thawing.

**Sample-related interferences**

None of the following factors have been found to significantly influence this assay:

- hemolysis (after spiking samples with hemoglobin: up to 330 µmol/L or 2178 ng/dL),
- lipemia (after spiking samples with lipids: up to 30 g/L equivalent in triglycerides),
- bilirubinemia (after spiking samples with bilirubin: up to 510 µmol/L or 29mg/dL).

However, it is recommended not to use samples which appear to be hemolyzed, lipemic or icteric and, if possible, to collect a new sample.

**INSTRUCTIONS FOR USE**

For complete instructions, see the VDAS or mini VDAS Operator's Manual.

**VDAS PTC protocol data entry**

When using the assay for the first time, scan the bar code(s) (at the end of the package insert) using the VDAS or mini VDAS bar code reader. This reading will allow VDAS PTC protocol data to be transferred to the VDAS PC and/or mini VDAS instrument software for its update. These data should only be read the first time the assay is used, or if requested by the VDAS instrument.

**Master lot data entry**

Before each new lot of reagents is used, specifications (or factory master calibration curve data) must be entered into the instrument (VDAS or mini VDAS) using the master lot entry (MLE) card (specifications sheet) included in each kit. If this operation is not performed before initiating the tests, the instrument will not be able to print results. The master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter data automatically using the MLE card or manually.

**Calibration**

Calibration, using the two calibrators provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the master lot data (MLE card) has been entered, and then every 28 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf life of the kit.

The calibrators, identified by S1 and S2, must be tested in duplicate (see VDAS Operator's Manual) in the same run. The calibration values must be within the set RFV ("Relative Fluorescence Value"). If this is not the case, recalibrate using S1 and S2 as the mean will not be stored in memory.

**Procedure**

1. Remove the required reagents from the refrigerator.
2. Use one TRU strip and one TRU SPR for each sample, control or calibrator to be tested. **Make sure the storage pouch has been resealed after the required SPRs have been removed.**
3. Type or select "TRU" on the instrument to enter the test code. The calibrator must be identified by "S1" and "S2", and tested in duplicate. If the controls need to be tested, it should be identified by "C1" and "C2".
4. Mix the calibrator and/or control using a Vario-type mixer.
5. Pipette 200 µL of calibrator, control or sample into the sample wells.

6. Insert the SPRs and strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.

7. **Initiate the assay immediately.** All the assay steps are performed automatically by the instrument. The assay will be completed within approximately 20 minutes.

8. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.

9. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

**RESULTS AND INTERPRETATION**

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cassette for each sample tested.

The results are automatically calculated by the instrument and the concentrations are expressed in µg/L (or ng/mL). The VDAS Troponin I Ultra assay is standardized against the "Standard Reference Material 2021".

Samples with cardiac troponin I concentrations > 50 µg/L should be retested after being diluted 1:5 in the VDAS Troponin I Ultra kit diluent (1 volume of sample + 4 volumes of diluent).

If the dilution factor has not been entered when the Work List was created (see Operator's Manual), multiply the result by the dilution factor to obtain the sample concentration.

**QUALITY CONTROL**

Two controls are included in each VDAS Troponin I Ultra kit. These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values. Samples tested in the same run must be re-assayed.

**Note**

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

**LIMITATIONS OF THE METHOD**

Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history, and any other tests performed.

Certain diseases, which are not connected with myocardial ischemia, may be accompanied by an increase in the troponin concentration (myofibrosis, cardiac trauma, pericarditis, sepsis, etc.) (15).

**RANGE OF EXPECTED VALUES**

These figures are given as a guide. It is recommended that each laboratory establishes its own reference values for a specially selected population.

For VDAS Tropon I Ultra, the 99<sup>th</sup> percentile value was obtained using NAT heparinized plasmas from subjects (336 men and 430 women aged 20-81 years) with no cardiac symptoms. This value was < 0.01 µg/L.

In 2008, the consensus committee of the European Society for Cardiology (ESC) and the American College of Cardiology (ACC) recommended that the diagnosis of myocardial necrosis be made when the level of cardiac troponin is greater than the 99<sup>th</sup> percentile of a reference control group with impedance < 12%.

The regression study was performed using 6 plasma pools tested in duplicate in 20 different runs (2 runs per day) with 2 repeat lots at 3 sites (per pool n= 240). The smallest measurable concentration of troponin I, with an inter-lot coefficient of variation < 15%, is 0.11 µg/L. No significant difference was observed for the concentration between plasma and serum specimens.

Any cardiac troponin I values (over than the reference value, combined with a negative ECG and chest pain lasting less than 6 hours, must be confirmed by a second specimen 8 hours later, in order to rule out the diagnosis of AMI (4).

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.

**PERFORMANCE**

Studies performed using VDAS Troponin I Ultra gave the following results:

**Measurement range**

The measurement values of the VDAS Troponin I Ultra kit range from 0.01 to 30 µg/L.

**Analytical detection limit**

The analytical detection limit, defined as the smallest concentration of cardiac troponin I which is significantly different from the zero concentration with a probability of 95%, is < 0.01 µg/L.

**Hook effect**

No hook effect was found up to cardiac troponin I concentrations of 1 800 µg/L.

**Precision**

Four samples were tested in duplicate in 20 different runs (2 runs per day) with 2 repeat lots at 3 sites (n=240).

The repeatability (intra-run precision), inter-lot reproducibility and inter-site reproducibility were calculated using the protocol, based on the recommendations of NCCLS document EPS-42.

Sample	Mean concentration µg/L	Repeatability		Inter-lot reproducibility		Inter-site reproducibility	
		Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)
Sample 1	0.50	0.007	1.28	0.020	3.44	0.022	3.74
Sample 2	3.60	0.026	1.36	0.103	3.44	0.146	4.19
Sample 3	6.60	0.128	1.90	0.275	4.12	0.281	4.22
Sample 4	17.00	0.460	2.70	1.127	6.61	1.340	7.60

**Specificity**

Tested compound	Tested concentration	Cross-reactivity %
Skeletal Troponin I	100 µg/L	< 0.001
Cardiac Troponin C	100 µg/L	< 0.001
Cardiac Troponin T	100 µg/L	0.2
Skeletal Troponin T	100 µg/L	< 0.001

**Drug interference**

The following drugs were tested by spiking a 2.2 µg/L mean concentration serum pool. No interference was encountered as the concentrations obtained did not vary significantly.

Drug	Tested concentration	Drug	Tested concentration
Ascorbic acid	30 mg/L	Digoxin	5 µg/L
Salicylic acid	100 mg/L	Erythromycin	300 mg/L
Uric acid	200 mg/L	Ethanol	500 mg/L
Human albumin	10 mg/dL	Genferon subtrate	120 mg/L
Amikacin	150 mg/L	Lithyone	30 µg/L
Amoxicillin trihydrate	11 mg/dL	Nicotin	20 mg/L
Aspirin	30 mg/L	Paracetol G	25 Ultra
Cephalexin	2 mg/dL	Propranolol	100 mg/L
Chloramphenicol	250 mg/L	Ribavirin	1 mg/dL
Lithium chloride	35 mg/L	Spectinomycin	4 mg/dL
Clonazepam HCl	2 mg/dL	Urea	200 mg/L
Creatinine	300 mg/L		

**Linearity****Utilities test**

4 heparinized plasmas with a mean = 30 µg/L were diluted up to 1:75 using the kit diluent. Each dilution was tested singly in 3 runs.

The kit linearity was studied according to a procedure taken from the NCCLS guideline EPS-A. The kit is linear over the measurement range considered.

**Comparison with another test method**

524 samples tested using the VDAS Troponin I Ultra (Y) method were compared with a rival automated immunoassay assay technique (X). The results obtained are indicated below (Passing & Bablok curve and correlation coefficient). The equation represents the trend of the relation between the 2 techniques.

$$Y = 2.42 X$$

Confidence interval for the slope: 0.38 - 3.64

Correlation coefficient: 0.97

Due to the various circulating forms of cardiac troponin I, the difference in immuno-reactivity tested with the antibodies used, and the standardization, troponin I concentrations in a sample determined using reagents from different manufacturers, may vary.

## AID IN THE DIAGNOSIS OF MYOCARDIAL INFARCTION: CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY

A clinical study performed at two sites (France and USA) enabled the diagnostic performance of VDAG Troponin I Ultra to be determined.

For 15 weeks, assays were performed using 960 samples from patients admitted to the emergency department with chest pain and suspected myocardial infarction. These samples were collected from the patients within 6 hours following their admission, and then between 4 and 12 hours after the first collection:

- within 0-6 hours after admission, out of the 545 patients concerned, 152 were diagnosed as having myocardial infarction (according to the definitions of the consensus committee);
- within 4-12 hours after the first sample collection, out of the 453 patients concerned, 113 were diagnosed as having myocardial infarction.

The clinical sensitivity and specificity of VDAG Troponin I Ultra for a sample collected at the time of admission and the one subsequently collected, are presented in the tables below.

## Clinical sensitivity and specificity: decisional cut-off with a 10% CV (0.11 µg/L)

Times	0-6 hours after admission	4-12 hours after first collection
Samples (n)	545	453
Sensitivity %	70.32	90.23
95% confidence interval	60.92-82.48	82.64-98.02
Specificity %	94.40	90.28
95% confidence interval	91.80-96.31	87.42-92.11

## WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced, according to their nature and degree of hazarousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

## LITERATURE REFERENCES

- APPLE FS. Cardiac Troponin I in: Wu AH: Pathology and Laboratory Medicine - Cardiac Markers, Humana Press Inc. ed. Totowa, NJ (2009)
- CHRISTENSEN RH, AZIZY HMC. Biochemical markers of the acute coronary syndromes. Clin Chem 1999; 45: 189-194
- WU AH, et al. Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. Clin Chem 1998; 44: 1194-1206
- THE JOINT EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY COMMITTEE. Myocardial Infarction Re-defined - A consensus Document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of Myocardial Infarction. JACC 2000; 35(5): 881-90
- BOOER GS, et al. Cardiac Troponin-I is not expressed in fat and healthy or diseased adult human skeletal muscle tissue. Clin Chem 1999; 45: 1710-1715
- APPLE FS, WU AH. Myocardial infarction redefined: role of cardiac troponin Testing. Clin Chem 2011; 57: 377-378
- HARM DS, et al. Acute coronary syndrome without ST elevation: implementation of new guidelines. The Lancet 2008; November 1, 2007: 1933-1938
- WU AH, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the Use of Cardiac Markers in Coronary Artery Diseases. Clin Chem 1999; 45: 1194-1201
- CHANG JL, et al. Cardiac troponin I: A Marker with high specificity for cardiac injury. Circulation 1993; 88: 101-105
- CHIFFELLE JP. Cardiac troponin I and troponin T - recent players in the field of Myocardial Markers. Clin Chem Lab Med 1999; 37: 11-20
- PAATECHIS M et al. The sensitivity of cardiac markers - an evidence based approach. Clin Chem Lab Med, 1999; 37: 1097-1106
- APPLE FS, et al. Early monitoring of serum cardiac troponin I for assessment of coronary reperfusion following thrombolysis therapy. Am J Clin Pathol 1998; 102: 5-9
- WYBLEN J M, et al. Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. N Engl J Med 1998; 339: 1302-1308

18 SALVANI M, OTTAVI F, FERROVINO D, et al. Troponin influence of elevated values of cardiac troponin I in patients with unstable angina. Circulation 1997; 95: 2013-2020

19 JAFFE AX. Elevations in cardiac troponin measurements like false-positive the real truth. Cardiovasc Toxicol 2001; 1(2): 87-92

20 PAATECHIS M et al. Role and importance of biochemerical markers in clinical cardiology. European Heart Journal 2004; 25(14): 1137-1138

## INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	GR - Catalogue number US - Catalog number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limitation
	Use by
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for test

## WARRANTY

bioMérieux declares all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL bioMérieux'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO bioMérieux FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

	<p><b>bioMérieux<sup>®</sup> SA</b>          av. capital de 12 220 270 €          675 620 388 RCS LYON          69280 Marcy-l'Étoile / France          Tel: 33 (0)4 78 67 20 00          Fax: 33 (0)4 78 67 20 99  <a href="http://www.biomerieux.com">http://www.biomerieux.com</a></p>	<p><b>bioMérieux, Inc.</b>          Box 15860          Durham, NC 27704-0860 /          USA          Tel: (1) 919 620 20 00          Fax: (1) 919 620 22 11          Printed in France</p>	
<p><small>bioMérieux, le logo bioMérieux, MDG et iPP are used, among other registered trademarks belonging to bioMérieux SA or one of its subsidiaries.</small></p>			

# Allegato 2: Metodica originale Troponin I Ultrasensibile della ditta bioMérieux

REF 30 445

1122 1 11 - 2007

## VIDAS<sup>®</sup> Troponin I (TM)

IVD

VIDAS Troponin I è un test quantitativo, automatizzato sui sistemi VIDAS, che permette il dosaggio della troponina I cardiaca prima nel siero o nel plasma (separato dal siero) con la tecnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay). Il test VIDAS Troponin I costituisce un aiuto per la diagnosi delle sindromi coronariche acute.

### INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

La troponina è uno dei componenti proteici della miofibrilla striata. È costituita da 3 sub-unità I, T e C, che sono implicate insieme nella contrazione muscolare. Esistono numerose forme circolanti della troponina: la forma libera, i complessi trimero e tetramero, le forme ossidate e scade, le forme fosforilate e glicilate. La troponina I ha una isoforma cardiaca che permette di evidenziare, in maniera altamente specifica, una lesione miocardica. A seguito di un infarto miocardico (IM), quella isoforma viene liberata precocemente e può essere rilevata nel sangue 4-8 ore dall'inizio del dolore con un picco tra le 14<sup>e</sup> e le 36<sup>e</sup> ore; la sua concentrazione nel sangue resta elevata per 3-7 giorni (1, 2, 3).

Le raccomandazioni del comitato dei consensi della società europea di cardiologia (ESC) e dell'American College of Cardiology (ACC) specificano che la diagnosi di infarto miocardico può essere fatta quando il livello di troponina cardiaca nel sangue è superiore al 99<sup>o</sup> percentile del range dei valori normali in presenza di sintomi di ischemia acuta. L'impressione accettabile (qualificata di variazione) al 99<sup>o</sup> percentile per ogni dosaggio deve essere l'10% (4).

Numerose pubblicazioni insistono sul fatto che non è sufficiente un unico dosaggio della troponina eseguito all'ammissione al paziente in ospedale (5). Si raccomandano almeno 2 campioni di sangue durante la fase di sintomi del paziente (6).

Il dosaggio della troponina I cardiaca, oltre all'infarto per la diagnosi del CIM (7, 8, 9), permette di verificare l'efficacia di una terapia trombolitica e di allargare l'intervallo della ricerca (10).

Per i pazienti con angina instabile, la determinazione della troponina I cardiaca, permette la stratificazione del rischio di CIM (sia che comprenda (11, 12).

Inoltre, data la cardioprotezione della troponina I cardiaca, è possibile interpretare il dosaggio anche nel caso di soggetti affetti da lesioni delle miocardite sclerotica (13).

Il test VIDAS Troponin I costituisce un valido strumento di diagnosi delle sindromi coronariche acute.

### PRINCIPIO

Il principio del dosaggio consiste in un metodo immunoenzimatico sandwich in una fase ad una rivelazione finale in fluorescenza (ELFA).

I coni, monovalenti, servono sia da base solida che da volume di spostamento. Gli altri reattivi della reazione immunologica sono pronti per l'uso e pre-diluiti nella cartuccia.

Tutte le fasi del test sono realizzate automaticamente dallo strumento. Il campione viene prelevato e trasferito nei pozetti contenente l'anticorpo anti-troponina I cardiaca marcato con fosfalato alcalino (conjugato). La micela tampone/conjugato viene sottoposta a ripetuti cicli di aspirazione/risacca da parte del cuneo. Questa operazione permette all'antigene di legarsi di una parte alla immunoglobulina fissata sul cuneo e dall'altra al conjugato, formando così un "sandwich". I componenti non legati vengono eliminati tramite fasi di lavaggio.

Nella fase finale di rivelazione il substrato (4-Methyl-umbelliferyl fosfato) viene agglomerato dal cuneo; l'enzima del conjugato re catalizza l'idrolisi in un prodotto fluorescente (4-Methyl-umbelliferone). L'intensità della fluorescenza emessa è misurata a 400 nm. Il valore del segnale di fluorescenza è proporzionale alla concentrazione dell'antigene presente nel campione.

All'uscita del test, i risultati vengono calcolati automaticamente dallo strumento in rapporto a una curva di calibratore inserita in memoria, quindi vengono stampati.

VIDAS<sup>®</sup> Troponin I

1122 1 11 - 2007

### COMPOSIZIONE E RICOSTITUZIONE DEI REATTIVI DELLA CONFEZIONE (SU DETERMINAZIONI)

Reattivo	QNT	Preparazione per l'uso
96 cartucce TM	936	Pronti per l'uso.
96 coni TM 2 x 26	576	Pronti per l'uso. Coni sensibilizzati con immunoglobuline monoclonali di topo anti-troponina I cardiaca.
Coni TM 2 x 1 ml (diluizioni)	C1	Ricostituire con 1 ml di acqua distillata. Aspettare 5-10 minuti prima di omogeneizzare. Dopo la ricostituzione il cuneo è usabile a 2-8°C o congelato a -20 ± 6°C, fino alla data di scadenza della confezione. È possibile congelare/scopelare 5 volte. Sera usare* + Troponin I + conservanti. L'antidoto fosfalato in syrl è indicato sulle vial MLE con la menzione: "Control C1 (Due Value Range)".
Calibratore TM 3 x 1 ml (diluizioni)	B1	Ricostituire con 1 ml di acqua distillata. Aspettare 5-10 minuti prima di omogeneizzare. Dopo la ricostituzione il cuneo è usabile a 2-8°C o congelato a -20 ± 6°C, fino alla data di scadenza della confezione. È possibile congelare/scopelare 5 volte. Sera usare* + Troponin I + conservanti. La combinazione in syrl è indicata sulle vial MLE con la menzione: "Calibratore (C1) Due Value". L'antidoto fosfalato in "Relative Fluorescence Value" è indicato sulla vial MLE con la menzione: "Calibratore (C1) RTV Range".
Diserbo TM 1 x 2 ml (liquido)	B5	Pronto per l'uso. Sera usare* + 0,8 g/l di sodio azide.
1 Scheda MLE		Scheda delle specifiche tecniche contenente i dati fondamentali per la calibrazione del test.
1 Scheda tecnica		

\* È stato verificato l'assenza di antigeni HbA<sub>1c</sub>, anticorpi anti-HIV, anti-VIC e di anticorpi anti-HCI (Tidelex), poiché nessun test può essere praticato simultaneamente. Questi prodotti non devono manipolare con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infetti.

### Il cone

Come è sensibilizzato durante la produzione, con immunoglobuline monoclonali di topo anti-troponina I cardiaca. Ogni cone è contrassegnato con il codice TM. Prima di usare il numero di cono necessari a lasciare i cono realizzati nel loro sacchetto. Richiudere accuratamente il sacchetto dopo l'apertura.

### La cartuccia

La cartuccia è composta da 10 pozetti ricoperti da un foglio di alluminio sigillato ed etichettato. Dopo vi è stampato un codice a barre che corrisponde principalmente al tipo di test da realizzare, il numero di sito utilizzato ed alla data di scadenza della confezione. L'etichetta, in corrispondenza del primo pozetto, è tagliata per facilitare l'introduzione del campione. L'ultimo pozetto è una cassetta che consente la lettura in formato. I pozetti intermedi contengono i diversi reattivi necessari all'analisi.

### Composizione della cartuccia TM

Pozetto	Reattivo
1	Pozetto del campione.
2-3-4	Pozetti vuoti.
5	Coniugato: immunoglobuline monoclonali di topo anti-troponina I cardiaca marcate con fosfalato alcalino + 0,9 g/l di sodio azide (100 µl).
6-7-8	Tampone di lavaggio: Tris (0,05 mol/l, pH 7,0) + NaCl (0,8 mol/l) + Triton x100 2 g/l + 0,8 g/l di sodio azide (100 µl).
9	Pozetto vuoto.
10	Cassetta di lettura contenente il substrato: 4-Methyl-umbelliferyl fosfato (2,6 mmol/l) + detergente* (0,02 mol/l, carica 0,5 %) pH 9,2 + 1 g/l di sodio azide (100 µl).

### \* Reattivo IRRITANTE:

- R 36 : irritante per gli occhi.

- S 26 : In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico.

Per informazioni più complete consultare la Scheda di Sicurezza, disponibile su richiesta.

**MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO**

- Pipette con puntali sterili per la distribuzione di 15 µl.
- Guanti di lattice neri/sterili senza talco.

**PRECAZIONI D'USO**

- Utilizzare per diagnostica in vitro.
- Esclusivamente per uso professionale.
- Questa confezione contiene componenti di origine animale. Poiché nessuno dei reattivi di analisi strumentale contenuti può garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile, si raccomanda di manipolarli con le precauzioni d'uso fornite al prodotto potenzialmente infettivo (consultare Laboratory Biosafety manual - WHO - Genova - ultima edizione).
- Questa confezione contiene dei componenti di origine animale. Poiché i reattivi sull'origine animale sono veri e propri animali non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile, si raccomanda di manipolarli con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare).
- Non utilizzare i cori o il sacchetto se sono lacerati.
- Non utilizzare le cartucce involtate all'interno di fogli di alluminio o plastica danneggiati.
- Non utilizzare i reattivi dopo le date di scadenza indicate sull'etichetta della confezione.
- Non mescolare i reattivi (p1 e p2) e conservarli in loti differenti.
- I guanti non devono essere toccati poiché il talco, in alcuni loti immunoreattivi, può causare falsi risultati.
- I reattivi della confezione contengono un conservante (iodo) attivo suacidificante il reagente con le soluzioni dei livelli in punto e in base fornendo acid metalliche esplosive. Si raccomanda di sottoporre con acqua dopo ogni utilizzo.
- Il substrato (p2) della cartuccia contiene un agente irritante (dicloridato). Prelevare attenzione alla fase di reattivo "T" ed ai consigli di prudenza "T" sopra riportati.
- In caso di versamento di liquidi si deve trattare con detergenti a con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5 %. Per eliminare liquidi versati altrimenti o sulle superfici, consultare il Manuale d'uso. Non autoclavare i prodotti trattati con ipoclorito di sodio.
- Gli elementi del modulo analitico VDAS e del VDAS devono essere regolarmente puliti e decontaminati (consultare il Manuale d'uso).

**CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE**

- Conservare la confezione VDAS Tropon I a 2-8°C.
- Non congelare i reattivi, ad eccezione dei calibratori e dei controlli dopo la reconstituzione.
- Lasciare a 2-8°C i reattivi non utilizzati.
- All'apertura della confezione, verificare l'integrità e la correttezza chiusa del(lei) sacchetto(lei) del corio. In caso contrario, non utilizzare i cori.
- Per conservare la stabilità dei cori, richiudere accuratamente, dopo ogni utilizzazione, il sacchetto del corio con il suo dischiante e ristipare tutta la confezione a 2-8°C.

- Tutti i componenti della confezione, se correttamente conservati alle condizioni prescritte, sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione. Per condizioni di conservazione perfette vedere la tabella della composizione della confezione.

**CAMPIONI****Natura e volume dei campioni**

Cori o plasma (preparato al lotto).

Per uno stesso paziente, i dosaggi seriali della troponina dovranno essere eseguiti su prelievi fatti con lo stesso tipo di provetto di plasma.

Uno studio recente ha mostrato che i risultati ottenuti su campioni di plasma prelevati per le troponine possono essere superiori del 30-40 % rispetto ai valori ottenuti sul siero. Nei campioni che non contengono troponina non è stata osservata alcuna differenza tra i diversi tipi di prelievi.

Si consiglia che ogni laboratorio verifichi l'attendibilità dei prelievi di plasma utilizzati.

Poiché la presenza di EDTA provoca una distorsione dei valori risultanti, non deve essere utilizzato plasma prelevato con EDTA.

I campioni che contengono particelle di fibrina in sospensione e dagli strati di eritrociti devono essere sedimentati e centrifugazione prima di essere esaminati. Per questo dosaggio non è stata riscontrata alcuna interferenza significativa in caso di:

- sieri (dopo aggiunta nel campione di concentrazione salata di emoglobina da 0 a 300 mg/dl o da 0 a 2 g/l).
- sieri (dopo aggiunta nel campione di concentrazione salata di lipidi (paraffinici) da 0 a 20 mg/dl).
- sieri (dopo aggiunta nel campione di concentrazione salata di bilirubina da 0 a 40 mg/dl o da 0 a 20 mg/dl).

Tuttavia si consiglia di non ottenere campioni molto analizzati, sviluppati ed idrati e di eseguire, se possibile, un nuovo prelievo.

**Reattivi dei campioni**

I campioni possono essere conservati, decantati, a 2-8°C al massimo per 48 ore dopo il prelievo a congelati a -20 ± 5°C per un massimo di due mesi. Evitare di congelare e scongelare più volte.

**PROCEDIMENTO**

Per le istruzioni complete, far riferimento al Manuale d'uso del VDAS o del mod VDAS.

**Registrazione dei dati della scheda MLE**

All'apertura di un nuovo lotto, prima di eseguire le analisi, devono essere registrate nello strumento (VDAS o nel VDAS), anche la scheda MLE (scheda delle specifiche tecniche ad ogni confezione), le specifiche (dal fronte del Modulo) del lotto. Se questa operazione non è stata fatta prima di inviare gli esami, lo strumento non potrà fornire i risultati.

La registrazione delle specifiche va fatta una sola volta per lotto; può essere effettuata manualmente od in maniera automatica mediante la scheda MLE.

**Calibrazione**

La calibrazione, mediante il calibratore fornito nella confezione, deve essere effettuata all'apertura di ogni nuovo lotto dopo aver verificato le specifiche del lotto stesso (scheda MLE) e deve essere ripetuta ogni 14 giorni. C'è permesso di aggiungere la calibrazione ad ogni strumento ad allineazione avvenuta del reattivo nel tempo.

Il calibratore, identificato con 31, deve essere analizzato in doppio (consultare il Manuale d'uso) nella stessa serie di esami. Il valore del calibratore deve essere compreso nei limiti di RVV (Relative Fluorescence Value) indicati in caso contrario occorre eseguire una nuova calibrazione.

**Conservazione del test**

1. Prelevare dal frigorifero scottato i reattivi essiccati e trasferirli a temperatura ambiente per almeno 5 minuti prima dell'uso.
2. Utilizzare una cartuccia TM ed un corio TM per ogni campione, controllo o calibratore da esaminare. Verificare che il sacchetto del corio sia stato ben richiuso dopo ogni utilizzazione.
3. Digitarlo e selezionarlo sullo strumento "TM" per inserire il codice del test il calibratore, identificato obbligatoriamente con "31", deve essere inserito in doppio. Se si deve esaminare il controllo, dovrà essere identificato con C1.
4. Omogeneizzare con un agitatore tipo vetro il calibratore ed il controllo.
5. Distribuire 100 µl del calibratore, del controllo o del campione nel pozzetto del campione della cartuccia.
6. Inserire nello strumento i cori e le cartucce (verificare attentamente la corrispondenza dei codici colori e lettere) del corio e della cartuccia.
7. Avviare immediatamente l'analisi. Tutte le fasi del procedimento vengono guidate automaticamente dallo strumento. I risultati si otterranno in circa 10 minuti.
8. Alla fine dell'analisi estrarre dallo strumento i cori e le cartucce.
9. Eliminare i cori e le cartucce utilizzati in un recipiente appropriato.

**RESULTATI**

Una volta terminati i test, i risultati vengono analizzati automaticamente dal sistema informatico dello strumento. L'apparecchio esegue per ogni test due misure di fluorescenza nella cavità di lettura. La prima lettura prende in considerazione il rumore di fondo della cavità del substrato prima che il substrato venga a contatto con i cori. La seconda lettura è eseguita dopo l'incubazione del substrato con l'enzima presente nel corio. Il calcolo dell'RFV (Relative Fluorescence Value) e il risultato sono differenziali delle due misure. Viene stampato sul foglio dei risultati.

I risultati vengono stampati automaticamente dallo strumento in rapporto ad una scala di calibratore normalizzato (modulo normalizzato - modulo legato a 4 parametri) e sono espressi in µg/l.

I campioni con concentrazioni di troponina I cariche superiori a 50 µg/l devono essere rianalizzati dopo averli diluiti con il diluente della confezione.

Se il lettore di risultato non è stato fornito durante la creazione della lista di lavoro vedere il Manuale d'uso) replicare i risultati per il lettore di risultato per ottenere la concentrazione dei campioni.

**VALORI DI RIFERIMENTO**

Il confronto dei risultati della società europea di cardiologia (ESC) e dell'American College of Cardiology (ACC) raccomandano che la diagnosi di infarto miocardico venga fatta quando la concentrazione della troponina I è superiore al 99° percentile di una popolazione sana di riferimento con una sensibilità > 95%.

Uno studio eseguito su 201 pazienti e su 300 sani di pazienti (comprensivi di buona salute) ha mostrato che tutti i campioni avevano una concentrazione di troponina I inferiore a 0,10 µg/l che corrisponde al 99° percentile del VDAS Tropon I. A questo corrisponde il coefficiente di variazione del 15%.

La più piccola concentrazione di troponina I misurabile con un coefficiente di variazione < 10 % è di 0,10 µg/l. A questa concentrazione, non sono state osservate interferenze significative tra campioni di plasma e di siero.

Secondo le raccomandazioni del comitato dei consensi la soglia che deve essere ritenuta valida è di 0,10 µg/l, qualunque sia il tipo di prelievo utilizzato.

Ogni lotto di troponina I contiene inferiore a 0,10 µg/l (basato ad un ECO negativo) e ad un valore medio (risultato di medio a 2 cm, deve essere confermato su un secondo prelievo eseguito 4 ore più tardi per escludere la diagnosi di IAM IV).

L'interpretazione dei risultati del test deve essere fatta tenendo conto del contesto clinico e, eventualmente, dei risultati di altri esami.

**CONTROLLO DI QUALITÀ**

In ogni confezione VDAS Traponi 1 è incluso un controllo. Questo controllo deve essere utilizzato all'apertura di ogni nuova confezione per verificare che i risultati non siano alterati. Anche ogni calibrazione deve essere verificata tramite questo controllo. Affinché lo strumento possa verificare la salute del controllo, leggere attentamente con cura.

Se i valori del controllo risultano al di fuori degli intervalli indicati, i risultati non possono essere considerati validi. I campioni analizzati in quelle stesse analisi devono essere ricampionati.

**Nota**

È responsabilità dell'utilizzatore assicurarsi che il controllo di qualità corrisponda a quanto previsto dalla legislazione locale vigente.

**UNITÀ DEL METODO**

È possibile avere interferenze con alcuni tipi che contengono sostanze simili sotto qualche componente del metodo per questo motivo i risultati di questo reagente devono essere interpretati tenendo conto del controllo interno e, eventualmente, dei risultati di altri kit.

Alcune patologie non legate ad una infezione cardiaca possono accompagnarsi ad una elevazione della concentrazione di triptone (previdici, streptococchi cardiaci, pertosse, sepsi...) (14).

**PERFORMANCE**

I dati riportati nelle tabelle seguenti vengono forniti a puro titolo di esempio.

**Intervallo di misura**

L'intervallo di misura della confezione VDAS Traponi 1 va da 0,15 µg/l a 30 µg/l.

**Limite di rilevazione analitica**

Dal momento che la più piccola concentrazione di triptone (1 cartuccia) significativamente differisce dalla concentrazione zero con una probabilità del 95% - 0,19 µg/l.

**"Hook effect"**

Non è stato riscontrato nessun hook effect (effetto gancio) fino a concentrazioni di triptone (1 cartuccia) di 12.000 µg/l.

**Precisione**

Ogni campione viene analizzato in doppio, sulle stesse VDAS, in 40 differenti serie analitiche (2 serie al giorno). Per 3 campioni il protocollo è stato eseguito con 3 diversi tipi di reattivo.

La ripetibilità (precisione intra-serie), la riproducibilità intra-serie (precisione inter-serie) e la riproducibilità inter-serie e inter-lotto (precisione globale) sono state calcolate secondo le raccomandazioni del documento NCCLS EP5-T2, volume 12, tabella 4.

Campione	N	Media µg/l	Ripetibilità intra-serie	
			CV %	CV %
1	80	0,34	2,9	4,1
2	80	0,78	1,7	2,5
3	80	2,03	1,8	2,8
4	80	14,38	1,7	2,6
5	80	35,83	1,3	3,2

Campione	N	Media µg/l	Riproducibilità inter-serie e inter-lotto	
			CV %	CV %
2	240	0,80	4,7	
4	240	15,11	3,3	
5	240	35,50	4,2	

**Specificità**

Componente testato	Concentrazione iniziale	% reattivi positivi
Triptone (cartuccia)	100 µg/l	100
Triptone (schietta)	100 µg/l	+0,001
Triptone C	100 µg/l	+0,001
Triptone T (cartuccia)	80 µg/l	1,6
Triptone T (schietta)	100 µg/l	+0,001
Acqua	100 µg/l	+0,001
Stiviera	100 µg/l	+0,001
Triptomero	100 µg/l	+0,001

**Accuratezza**

**Test di ripetibilità**

3 tipi di placati sono stati diluiti con un pool di acidi di soggetti nasali e diluiti in seguito in 3 serie. Il rapporto tra la concentrazione media misurata e la concentrazione media prevista è espresso come percentuale di recupero medio.

Pos. di placati	Fattore di diluizione	Concentrazione media prevista µg/l	Concentrazione media misurata µg/l	Percentuale di recupero medio (%)
1	1:1	11,38	11,38	100
	1:2	5,69	5,40	95
	1:3	3,79	3,81	100
	1:4	2,83	2,83	100
	1:10	1,13	1,16	103
	1:20	0,56	0,57	102
2	1:1	17,89	17,89	100
	1:2	8,94	8,94	100
	1:3	5,96	6,17	104
	1:4	4,47	4,34	97
	1:10	1,79	1,89	111
	1:20	0,89	0,87	98
3	1:1	41,94	41,94	100
	1:2	20,97	20,97	100
	1:3	13,98	14,19	102
	1:4	10,48	10,48	100
	1:10	4,19	4,28	104
	1:20	2,10	2,18	104

**COMPARAZIONE CON UN ALTRO METODO DI DOSAGGIO**

107 campioni sono stati dosati con il metodo VDAS Traponi 1 (Y) e con un'altra tecnica immunoenzimatica (X). I risultati ottenuti sono indicati di seguito (secondo il Passing & Babcock).

$Y = 1,018 X - 0,03$  con un coefficiente di correlazione di 0,92

Data la validità delle forme di triptone (1 cartuccia) e dato lo effetto di immunità legata agli anticorpi utilizzati, la concentrazione di triptone (1 cartuccia) di un campione, determinata con metodi di diversi produttori, può essere variabile.

**SMALTAMENTO DEI RISULTATI**

Dovranno essere utilizzati e non utilizzati ed i materiali necessari conformarsi rigorosamente e precisamente relative ai problemi infettivi e parasitológico-infettivo. È responsabilità di ogni laboratorio gestire i risultati e gli effetti prodotti a seconda della loro natura e della loro pericolosità ed assicurare di fare accurate il rapporto e lo smaltimento conformemente alle regolazioni vigenti.

**RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI**

1. APPEL TO, Carboxy troponin I (h), v.6, S.6.9, 30 118966, 1992. - *Technology and Laboratory Medicine*, 199, 33-34.
2. CHAYAKHACHIAN A.A., AGENCY 1101. - *Biomedical methods of the auto-control systems*. Ch-Oxon 1994. - 45: 199-194.
3. FUJII K., et al. - For the medical research by Good Clinical Practice Subcommittee - 17th International Conference on Clinical Tropical and Infectious Diseases for Developing Countries and Tropical and Infectious Diseases for Japan 7-11/01-05/01-1994. - 45: 1188-1193.
4. THE 5th EUROPEAN SOCIETY OF CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE - A Consensus Document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee on the definition of myocardial infarction. *JACC* 2000. 35(3): 855-859.
5. HASEGAWA S. et al. - Auto control systems without 37 variant measurements of new guidelines. *The Lancet* Vol. 365, November 3, 2005.
6. FUJII K., et al. - National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Medicine Recommendations for the Use of Cardiac Markers in Coronary Artery Disease. *Clin Chem* 1994. 41: 1338-1321.
7. ADAMS JC, et al. - Cardiac troponin I: A marker with high sensitivity for cardiac injury. *Circulation* 1990. 83: 104-109.
8. CHIFFELLE JJ, Carboxy troponin I and troponin T: Report issued to the task of Myocardial Infarction. *Clin Chem Lab Med* 1994. 32: 1120.
9. FINESTEIN DM et al. - The sensitivity of cardiac markers in infarction: a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med* 1999. 37: 997-1000.
10. APPEL TO, et al. Early monitoring of acute pericardial troponin I: An assessment of troponin repositioned following myocardial infarction. *Am J Clin Pathol* 1999. 112: 4-9.
11. ANDERSON GR, et al. - Cardiac troponin I levels in acute infarction: the use of troponin I and troponin T. *Clin Chem* 1994. 41: 1149-1154.
12. OLIVIERI G, OYSTER F, HERRMANN D, et al. - Diagnostic value of elevated values of cardiac troponin I in patients with unstable angina. *Circulation* 1997. 95: 2051-2055.
13. BOSSON JJ, et al. - Cardiac troponin: Is not apparent in non-cardiac disease? A correlation with tumor necrosis factor alpha. *Clin Chem* 1994. 41: 1738-1743.
14. FINESTEIN DM - Role and importance of troponin markers in clinical pathology. *Clinical Chemistry* *Journal*, 2004, 25(6), 1167-1196.

**TABELLA DEI SIMBOLI**

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Diagnostico medico-diagnostico in vitro
	Falsocampo
	Limiti di temperatura
	Utilizzare aghi
	Codice del testo
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Conditivo sufficiente per 30 mesi

**REF 30 445****VIDAS® Troponin I (TI)**

Il Vidas Troponin I è un test quantitativo automatizzato nei sistemi VIDAS che permette un dosaggio di Troponin I cardiaca, basata su immunoassay, nel siero o nel plasma (Deposito di Bio) per la forma cTnI (Troponin I).  
 Il Vidas Troponin I è una appa al diagnóstico dos síntomas coronarios agudos.

**INTRODUÇÃO E OBJECTIVO DO TESTE**

A Troponina I é um dos componentes proteicos do músculo cardíaco. É formado por 3 subunidades I, T e C, que se movem conjuntamente na contração muscular. As formas circulantes da troponina são múltiplas, sendo mais complexas (cardíaca) e também, formas oxidadas ou reduzidas, formas fosforiladas ou unificadas. A Troponina I possui uma estrutura cardíaca que permite detectar com elevada especificidade uma lesão do músculo. Esta estrutura é liberada precocemente após um episódio de isquémia (MI) e pode ser detectado no sangue entre a 4ª e a 2ª hora após o início do dor agudo e auge entre as 14 a as 26 horas. A sua concentração no sangue permanece elevada durante 3 a 7 dias (1, 2, 3).

As recomendações de uso do presente do Sociedade Europeia de Cardiologia (ESC) e da American College of Cardiology (ACC) especificam que o diagnóstico de doenças de elevado risco pode ser efectuado quando a presença de troponina cardíaca no sangue for superior ao 99 percentil do domínio normal na presença de sinais de isquémia aguda. A precisão analítica (coeficiente de variação) do 99 percentil para este dosamento deve ser < 10% (4).

Vários publicações incluem no facto de que um valor alto de troponina no soro de um paciente de troponina contínua e ser maiorado (5). É recomendável utilizar o teste em pacientes com sintomas de infarto do miocárdio (MI).

Para além do seu interesse no diagnóstico de MI (1, 2, 3), o tratamento da troponina I cardíaca permite verificar a eficácia de um tratamento trombolítico e catalise o benefício de revascularização (6). Para os doentes que sofrem de angina de peito moderada a grave, a administração de troponina I cardíaca, permite a identificação de fase aguda por um EM (para diagnóstico) (7, 8).

Por último, a controlo periódico da troponina I cardíaca torna a sua detecção indispensável nos doentes de risco, sempre que estes existam (9).

O teste VIDAS Troponin I é um teste de diagnóstico dos sintomas coronários agudos.

**PRINCÍPIO**

O princípio do dosamento assenta à técnica imunométrica tipo sandwich, sendo o substrato com uma ligação livre em fluorescência (FLU).

O teste de utilização deste teste deve fazer de base todos os casos de suporte ao diagnóstico. Os dados referentes da reação imunológica estão prontos a ser usados e publicados no teste.

Todos os reagentes do teste são efectuados automaticamente pelo aparelho. A análise é automatizada e depois transferida para o pipet que utiliza o sistema anti-interferência e cardaca medida com fluorescência estudada conjugada. A leitura anterior é corrigida e armazenada e depois armazenada sobre o teste. Esta operação permite ao analista obter os resultados de forma automática. Os dados de suporte ao diagnóstico estão prontos a ser usados e publicados no teste.

Os reagentes do teste são efectuados automaticamente pelo aparelho. A análise é automatizada e depois transferida para o pipet que utiliza o sistema anti-interferência e cardaca medida com fluorescência estudada conjugada. A leitura anterior é corrigida e armazenada e depois armazenada sobre o teste. Esta operação permite ao analista obter os resultados de forma automática. Os dados de suporte ao diagnóstico estão prontos a ser usados e publicados no teste.

Para além do seu interesse no diagnóstico de MI (1, 2, 3), o tratamento da troponina I cardíaca permite verificar a eficácia de um tratamento trombolítico e catalise o benefício de revascularização (6).

Para os doentes que sofrem de angina de peito moderada a grave, a administração de troponina I cardíaca, permite a identificação de fase aguda por um EM (para diagnóstico) (7, 8).



**BioMérieux SA**  
 36, Boulevard de la République  
 69500 CHIRAZIMONT

**VIDAS® Mérieux SA**  
 Tel: 33 (0)4 78 97 20 30  
 Fax: 33 (0)4 78 97 20 30  
 Web: www.biomérieux.com



Confeccionado em França

© 2007 BioMérieux. Todos os direitos reservados. Este documento contém informações confidenciais e de propriedade da BioMérieux.

BioMérieux® ou Produtos - I