

Postanalytická fáze stanovení kardiálních markerů a markerů srdečního selhávání ve světě i u nás

B. Friedecký, J. Kratochvíla

Analytická citlivost stanovení kardiálních troponinů cTn a hs cTn, vliv pohlaví a věku na hodnoty cut off, delta hodnoty

Analytická citlivost troponinů je charakterizovaná hodnotou meze stanovitelnosti /detekce (LOQ – limit of quantification; LOD – limit of detection) a procenty hodnot referenční populace nad LOQ (mírou možné kvantifikace probandů referenční populace) pro $CV \leq 10\%$. Data byla nedávno shrnuta v publikaci členů pracovní skupiny IFCC Task Force pro kardiální markery (1). V současné době existují dvě, analytickou citlivostí silně odlišné, generace stanovení cTnI/T, komplikující interpretaci výsledků měření vlivem věku, pohlaví a růzností hodnot mezi detekce a stanovitelnosti (LOD, LOQ). K rozlišení se (ne příliš šťastně), používá zkratka „hs“-high(ly) senzitivity.

Stanovení hs cTnI/T: LOQ 1 až 5 ng/l; výsledky měření nad LOD (kvantifikovatelné) $\geq 50\%$

Starší stanovení cTnI/T: LOQ = 10 až 15 ng/l; výsledky nad LOD 1 až 5 %

Podle údajů z téže publikace IFCC Task Force 2017 (1) existuje v současné době šest metod třídy „hs“ (high sensitive) troponinů:

Z nich jsou v laboratořích účastníků EHK SEKK běžně používané tři:

- Abbott Architect hs cTnI
- Beckman Access hs cTnI,
- Roche hs cTnT.

Pro metody cTnI/T hs jsou na rozdíl od starších metod typické problémy se závislostí hodnot 99 percentilů na pohlaví a věku. V tabulce 1 jsou uvedena recentně publikovaná data těchto vlivů (1, 2, 3, 4).

Hodnoty jsou pohlavím ovlivněny významně, ale jsou zatím poněkud odlišné u různých studií a autorů. Patrně se do těchto studií také promítá věk jedinců referenčních souborů, který rovněž hodnoty hs cTn I/T významně ovlivňuje. Obecně hodnoty s věkem rostou, a u mužů více, než u žen. V pracích 1 až 3 jsou údaje o vlivu věku na hodnoty 99 percentilů uvedeny.

Genderové rozdíly při stanovení hs cTnI/T také souvisí s růzností hodnot LOQ jednotlivých metod a analytických systémů. Vysoká hodnota LOQ (5 ng/l) u cTnT Roche ve srovnání s LOQ hs cTnI (< 2 ng/l) vede k významnému snížení počtu výsledků jedinců referenčního souboru žen nad hodnotu LOQ a následně k hodnotě CV vyšší, než požadovaných $CV \leq 10\%$. Může to být jeden z důvodů, proč výrobce neuvádí hodnoty 99 percentilu rozčleněné podle pohlaví, u souprav firmy Roche, protože při udání společné hodnoty 99 percentilu pro hs cTnT Roche lze požadované hodnoty preciznosti ($CV \leq 10\%$) bez problémů dosáhnout. Vliv respektování závislosti hodnot 99 percentilů je většinou autorů považován za klinicky významný. Názory o klinické nevýznamnosti různých genderových hodnot jsou v menšině. Exaktních hodnot 99 percentilů lze u hs cTnI/T dosáhnout pouze pečlivým statistickým přístupem, zahrnujícím perfektně provedený profil preciznosti, s garancí nízké lot-to-lot variability. Dále pak i použitím referenční populace se striktně vyloučenými syndromy srdečních chorob, s dostatečným počtem členů referenční populace a při použití vhodné statistické metody identifikace a eliminace odlehklých výsledků. Je také nutné vyloučit zatížení jakoukoliv fyzickou námahou. Počet členů referenční populace by měl dosahovat při určení 99 percentilu 2000 jedinců (2), při souběžném respektování vlivu pohlaví, věku a etnicity. Skupina expertů (ve zcela nové práci) testovala v letech 2015 a 2016 výsledky analytického měření hs cTn

Tabulka 1. Souhrn hodnot genderových rozdílů mezi hodnotami 99 percentilů u cTnI/T hs, uvedených v současných publikacích a dokumentaci výrobců (1, 2, 3, 4 a další).

Analyt / systém	Počet dat - studií	Studie, rozlišující pohlaví	Interval muži (ng/l)	Interval ženy (ng/l)
cTnI Architect Abbott	11	11	14,9 – 34,2	9,5 – 21,5
cTnI Beckman Access	2	2	28 - 52	23 - 28
cTnT Roche Cobas	10	4	14 - 19	8,9 - 12

Tabulka 2. Četnost používání obsoletních markerů v %. Studie Carmague 2013 EU a NA, Itálie 2016, SEKK 2017

Analyt	EU	NA	Itálie	SEKK (ČR)
LD / HBD	25	15	7	-
CK	80	40	12	-
CKMB mass	27	28	20	25
Myoglobin	15	5	9	68

a cTn u řady šarží kalibrátorů a reagií metodou hs cTnI Architect (lot-to-lot variation) s použitím vzorků o koncentracích cTn ≤ 10 ng/l. Zjistili u nich celkovou chybu TE = 3,4 ng/l (5). Problémy s lot-to-lot variací řady šarží, vrcholící zásahem výrobce do kalibrace byly pozorovány i před lety i při stanovení hs cTnT Roche (6). Hodnoty celkové chyby TE > 3,5 ng/l mohou signalizovat problematickou šarží kalibrátoru/reagií nebo sub optimální měření analyzátoru. K tomu je třeba podotknout, že analytická kontrola kvality výsledků měření (interní i externí hodnocení kvality) **celosvětově značně trpí nedostatkem vhodných kontrolních materiálů o dostatečně nízké koncentraci cTnI/T.**

Současný přístup ke klinickému hodnocení výsledků měření cTnI/T zdůrazňuje a často preferuje (vedle použití 99 percentilů s hodnotami CV ≤ 10 %) i postup, hodnotící změnu koncentrací cTnI/T v čase. Jde o použití výpočtu „delta hodnot - Δ “, které jsou vyhodnocené buď jako relativní (v procentech), nebo jako absolutní v jednotkách ng/l. Data pro cTnT Roche hodnotí schopnost predikce akutního infarktu myokardu pomocí hodnot PPV (pozitivní prediktivní hodnoty) pro dobu odběru druhého vzorku od bazální hodnoty 1,2 a ≥ 4 hodiny, a pro sérii hodnot cut off od 14n/l po 100 ng/l. Pro výpočty PPV byla použita jednak relativní delta o hodnotě 20 %, dále pak absolutní delta o hodnotě 9 ng/l. Publikované výsledky by měly být pro účastníky programů EHK zajímavé (7), a informativní i s ohledem na analytický potenciál jejich metod k diagnostice akutního infarktu. Při volbě cut off > 14 ng/l byla dosažena maximální hodnota PPV **již po 1 hodině při použití kritéria absolutní hodnoty delta Δ** (PPV 91,6 %). Při volbě cut off > 60 ng/l bylo dosaženo maximálních hodnot PPV (91 - 92,5 %) rovnocenně při použití relativní i absolutní hodnoty delta a ve všech uvedených časech. Při hodnotách cut off 80 a 100 ng/l nebylo dosaženo analýzou z dalšího odběru již dalšího zvýšení PPV a zde není již třeba delta hodnoty aplikovat. Další práce pro delta hodnoty hs cTnI Architect byla publikována téměř současně i kanadskými autory (8). Bylo u ní použito dat RING Study (Kanada) a autoři se soustředili

na matematickou simulaci vlivu analytických chyb na četnost chybné diagnostické klasifikace. Podle autorů jsou počty chybných diagnostických klasifikací při použití hodnoty 99 percentilu nízké (pod 1 %) v případech, jsou-li hodnoty pacientů vyšší, než 99 percentil. Δ hodnoty jsou údajně ovlivněny kvalitou analytického měření podstatně více. Při Δ hodnotě 5 ng/l způsobuje hodnota bias ± 1 ng/l asi 5 % chybných diagnostických klasifikací. Vzhledem k faktu, že metody cTnI/T hs již používá většina účastníků programu SEKK, mají tyto informace značný význam.

Italská práce z letošního roku upozorňuje, že algoritmy hodnocení podle Δ delta hodnot v čase 0 až 1 hodina jsou použitelné jen pro cTnI hs Architect a hs cTnT Roche. V ostatních případech by bylo rozumné zůstat u staršího algoritmu 0 až 3 hodiny (9).

Výsledky mezinárodní studie CARMAGUE (včetně stanovení troponinů)

V období let 2006 až 2013 byly organizovány tři mezinárodní cykly kontroly kvality postanalytické fáze u srdečních markerů v zemích EU (10, 11). Od roku 2013 k účastníkům z EU (442 účastníků) přibýlo i 91 účastníků z USA a Kanady (skupina NA). (Viz tabulka 2)

Četnost použití obsoletních markerů akutního koronárního syndromu se postupně, ale velmi pomalu snižuje. Zůstává překvapivě vysoká u stanovení kat. k. CK. V případě stanovení myoglobinu v ČR je četnost extrémně vysoká a důvody jsou nejasné.

Tabulka 3. Z jakých dat odvozují účastníci cut off hodnoty troponinů v roce 2013 (uvedeno v %)?

Zvolená / použitá data	EU	NA
Data výrobců	61,9	40
Doporučení, publikace	17	15
Lokální laboratorní data	21	45

Ve srovnání s laboratořemi NA jsou pozorovány v laboratořích zemí EU velké rozdíly. Důraz na odvozování lokálních dat v zemích NA je nápadný.

Je zajímavé, že odvození těchto dat z ROC křivek je používáno jen minimálně. V roce 2013 v necelém 1 % případech, v roce 2006 pak v 5 % případech.

Tabulka 4. Hodnoty cut off troponinů používané v rutinních klinických laboratořích (v %)

Cut off hodnoty	EU	NA	Itálie
99 percentil	52	45	78
Nejnižší hodnota s CV ≤ 10 %	16	24	10

Častěji se kryjí používané hodnoty cut off s hodnotou 99 percentilu v Evropě, než v Americe, ještě vyšší využití hodnot 99 percentilu jako cut off vykazuje Itálie na podkladě národního doporučení.

Tabulka 5. Doba druhého odběru (pro určení případné Δ hodnoty) v %

Časový údaj	EU	EU cTn hs	Itálie
2 hodiny	0,6	0,7	-
3 hodiny	28	47	14
6 hodin	52	44	33
9 hodin	0,7	0,6	33
12 hodin	17	6	6

Doby druhého odběru jsou celosvětově velmi odlišné a zejména při použití cTn hs zbytečně dlouhé. U souboru NA nebyla tato data ještě v době publikace k dispozici. K současně prosazovaným algoritmům (nověji 0 až 1 hod; nebo dříve 0 až 3 hodiny) má dosavadní praxe v rutinních klinických laboratořích doposud daleko.

Studie CARMAGUE- Stanovení NT-proBNP, BNP (12)

Tabulka 6. Carmague 2013, SEKK 2017. Počty účastníků (jako procenta z počtů stanovení cTnI/T)

Data	EU	NA	SEKK 2017
NP Carmague 2013	67	68	74
NP Carmague 2009	68	-	-
NP Carmague 2006	56	-	-

NP – natriuretické peptidy

Od roku 2009 byly počty laboratořích, používajících ch NP ve srovnání s použitím troponinů stabilní. V ČR je počet používání NP nad průměrem.

Tabulka 7. Carmague 2013 - NP. Akreditace, EQA.

Účast / Statut	EU	NA
Externí hodnocení kvality	79	96
Akreditace	69	96

Zajímavá je vyšší četnost účasti amerických (NA) laboratořích v programech EHK a v akreditačních programech!

Tabulka 8. Carmague 2013 - NP. SEKK 2017 - NP. Výrobci a četnost použití (v %).

Analyt	Výrobce	EU	NA	SEKK
NT-proBNP	Roche	74	63	68
BNP	Abbott	54	34	74
	Siemens Advia	-	34	-

Velmi podobné údaje v ČR, EU a u amerických laboratořích (NA) při stanovení NT-pro BNP. U stanovení BNP je dominantním výrobcem v ČR Abbott. Stejně testovací soupravy, dodávané pod různou značkou (Roche a Bio Mérieux) při stanovení NT-proBNP vykazaly v programu SEKK 40 až 48 % rozdíly mezi sebou.

Tabulka 9. Carmague 2013 - NP. Údaje účastníků o hodnotách cut off

Analyt	EU + NA
NT-proBNP	125 – 1800 ng/l
BNP	100 ng/l (62 %)

Údaje o cut off hodnotách výrobců jsou velmi rozdílné v různých programech, ale v podstatě shodné v evropských a amerických laboratořích. Zachycují nejen rozdíly u různých doporučení, ale navíc rozdílné zohledňování vlivu pohlaví a věku u různých laboratořích.

Tabulka 10. Cut off hodnoty podle Doporučení ESC 2012 a 2016

Analyt	Koncentrace	Stav
NT-proBNP	125 ng/l	chronická srdeční slabost
	300 ng/l	akutní srdeční slabost
BNP	100 ng/l	akutní a chronická srdeční slabost

Nově formulované hodnoty rozhodovacích limitů podle evropských doporučení z roku 2012 a 2016 by měly zjednodušit a zlepšit postanalytickou kvalitu měření u obou natriuretických peptidů.

Tabulka 11. Program SEKK 2017. Shoda údajů laboratoří s daty výrobců u hodnot cut off

Analyt	Shoda (%)
cTnT	97
cTnI	86
NT-proBNP	85

Ve srovnání výsledků EHK SEKK s daty obou studií CARMAGUE se v ČR ukazuje dobrá úroveň shody mezi údaji laboratoří a výrobců.

Literatura

1. **Apple FA, Sandoval Y, Jaffe AS, Ordóñez Llanos JO** for the IFCC Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers: Cardiac Troponin Assays: Guide to understanding analytical characteristics and their impact on clinical care. *Clin Chem* 2017, 63/1:73-81.
2. **Clerico A, Zaninotto M, Ripoli A, Massoti S, Prontera C, Passino S, Plebani M.**: The 99th percentile of reference population for cTnI and cTnT assay: methodology, pathophysiology and clinical implications. *Clin Chem Lab Med* 2017, DOI 10.1515/cclm-2016-0933.
3. **Kimenai D, Henry RMA, van der Kallen CJH, Darnelie PC, Schram DT, Stehouwer CDA a spol.**: Direct comparison of clinical decision limits for cardiac troponin T and I. *Heart* 2016, 102:610-616.
4. **Ungerer JPI, Tate JR, Pretorius CJ.**: Discordance with 3 cardiac troponin I and T assays: implication for the 99 percentile cut off. *Clin Chem* 2016, 62:1106-1114.
5. **Kavsak PA, Jaffe AS, Greene DN, Christenson RH, Apple FS, Wu AHB.**: Total analytic error for low cardiac troponin concentrations (≤ 10 ng/l) by use of a high-sensitive cardiac troponin assay. *Clin Chem* 2017, DOI:10.1373/clinchem.2017.271361.
6. **Hammerstein O, Jacobsson CE, Widegren M, Danylchenko T, Jaffe AS.**: Long-time quality assessment of the Elecsys troponin T hs assay. *Clin Biochem* 2013, 46/12:1055-1057.
7. **Mueller-Hennessen M, Mueller Ch, Giannitis E, Biener M, Vafeie M, de Fillipi CR a spol.**: Serial sampling of high-sensitive cardiac troponin T may not be required for prediction of acute myocardial infarction diagnosis in chest pain patients with highly abnormal concentrations at presentation. *Clin Chem* 2017, 63/2:542-551.
8. **Lyon AW, Kavsak A, Lyon OAS, Worster A, Lyon ME.**: Simulation Model of misclassification error for single thresholds of high-sensitivity cardiac troponin I due to assay bias and imprecision. *Clin Chem* 2017, 63/2:585-592.
9. **Ferraro S, Dolci A, Panteghini M.**: Fast track protocols using highly sensitive troponin assays for ruling out and ruling in non-ST elevation acute coronary syndrom. *Clin Chem Lab Med* 2017 DOI 10/1515/cclm-2017-0044.
10. **Collinson P, Hamerler-Lercher A, Suvisaari J, Apple FS, Christenson RH, Pulkki K a spol.**: How well do laboratories adhere to recommended clinical guidelines for the management of myocardial infarction? The cardiac marker guidelines uptake in Europe Study (CARMAGUE). *Clin Chem* 2016, 62/9:1264-1271.
11. **Cappelletti B, Morandini M, Moretti M, Malloggi L, Stenner E.**: How well do laboratories adhere to recommended clinical guidelines for the management of myocardial infarction? The Italian experience. *Clin Chem* 2017, 63/2:610-612.
12. **Hammerer-Lercher A, Collinson PO, Suvisaari J, Christenson RH, Pulkki K, van Diejen-Visser MP, Duff CJ a spol.**: Are heart failure management recommendations and guidelines followed in laboratory medicine in Europe and North America? The Cardiac guide marker guideline update in Europe (CARMAGUE) study. *J Appl Lab Med* 2017, 1/5:483-493.