

Pravidla stanovení 99 percentilů dolních referenčních limitů u „hs“ kardiálních troponinů v roce 2022

B. Friedecký, J. Kratochvíla

Úvod

Aktuální doporučení o analytických aspektech kardiálních troponinů České společnosti klinické biochemie bylo recentně uveřejněno na webových stránkách ČSKB a v časopise Klinická biochemie a metabolismus (1). Nyní uveřejněný článek považujeme za jeho nezbytný edukační doplněk, specifikující hlouběji proces určování hodnot diagnostických rozhodovacích limitů pro vysoce citlivé kardiální troponiny (hs cTn T/I). Tato podrobnější specifikace je při soudobé úrovni standardizace nezbytná a vykazuje silný harmonizační efekt. Sdělení vychází z recentního doporučení o stanovování hodnot 99 percentilu dolního referenčního limitu, uveřejněného nově členy pracovní skupiny IFCC pro Klinickou aplikaci kardiálních biomarkerů C-CB (2).

Zásady stanovení 99 percentilů dolních referenčních limitů hs cTn

Koncentrace nad 99 percentil referenčního souboru, specifikovaná podle pohlaví, je v souladu se čtvrtou definicí akutního infarktu myokardu pro diagnostický rozhodovací limit myokardiálního poškození (injury) nebo infarktu myokardu.

Rozlišení mezi srdečním poškozením a infarktem je dáno přítomnosti/nepřítomností klinických symptomů, EKG, zobrazovacích metod.

ESC (Evropská kardiologická společnost) doporučuje k rychlé identifikaci pacientů s vysokou pravděpodobností infarktu používat rovněž hodnocení stavů rule-out a rule-in pomocí delta hodnot s algoritmy odběrů vzorků 0-1 nebo 0-2 hodin.

Referenční soubor k určení hodnot 99 percentilů má mít následující složení: 50 % mužů, 50 % žen, věk 18-80 let, zastoupení všech signifikantních etnických skupin a nepřítomnost osob v souboru s určenými kritérii vyloučení (Tabulka 1).

Tabulka 1. Kritéria k vyloučení osob z referenčního souboru stanovení 99 percentilu hs cTn

Důvod	Ověření
Medikace hyperlipidemiky	
Diabetes	HbA _{1c} >48 mmol/mol, FPG >7 mmol/l 2h PG >11,1 mmol/l
CKD	
Subklinická srdeční choroba	NT pro BNP >125 ng/l, BNP >35 ng/l
Kouření	
BMI (body mass index)	pod <18 m ² /kg nebo >35 m ² /kg
Těhotenství	
Aplikace biotinu	1 týden přerušeni
Hospitalizace	žádná poslední 3 měsíce
Chronické choroby	tumor, žaludek, játra, thyreoida, autoimunitní choroby

Hodnoty 99 percentilů musí být specifikovány pro muže a ženy.

Jsou určeny z referenčního souboru 800 osob, 400 mužů a 400 žen. Jsou stanoveny neparаметrickými statistickými metodami.

Je třeba vyloučit všechny výsledky, podezřelé z přítomnosti makrotroponinů, heterofilních a cirkulujících protilátek.

Doporučuje se ověřit takové případy použitím jiného diagnostického kitu (u hs cTnI).

Protokoly preanalytických interferencí měření. Obsahují popsání vlivu hemolýzy, turbidity, ikteru, antikoagulancií, biotinu. Při určení 99 percentilu je nutné je zohlednit.

Korekce variabilit mezi šaržemi (lot to lot)

- Čtyři laboratoře po 2x100 vzorcích a spojení výsledků do jednoho statistického hodnocení
- Multicentrické studie
- Použití biobankingu, kdy jeden vzorek je analyzován ve více laboratořích

Je nutné s jistotou očekávat změny hodnot hs cTn a 99 percentilů při výměně každé šarže. Tyto změny (nejistota) se doporučuje minimalizovat výše uvedeným způsobem.

Efekt složení referenčního souboru na hodnotu 99 percentilu (3,4)

Tabulka 2. Ukázka vlivu složení referenčního souboru na hodnoty hs cTnI. Před a po eliminaci nevhodných členů souboru (ng/l)

	Před eliminací		Po eliminaci	
	M	Ž	M	Ž
Siemens Advia(3)	74,7	57,5	15,3	11,9
Siemens Atellica (3)	75,2	55,1	15,5	12,9
Siemens Atellica (výrobce)	53,5	34,1		
Siemens Atellica(4)	70	49		

Data tabulky 2 jasně ukazují, že hodnoty 99 percentilů dolních referenčních limitů mohou být hlavně u cTnI různých výrobců zásadně ovlivněna způsobem stanovení (nepoužití neparametrického statistického hodnocení) a zejména výběrem osob referenčního souboru. A take, že jsou pravděpodobně ovlivněna data 99 percentilů, udávaná výrobcem. To představuje závažný problém, protože rutinní laboratoře jinou možnost výběru hodnoty nemají a současně to vysvětluje velké rozdíly mezi hodnotami, pozorované už dříve v řadě studií.

U studie (3) stačila k dramatickému snížení hodnot 99 percentilu dodatečná analýza NT-proBNP, která po vyloučení osob s výsledky nad horní hranici referenčního limitu snížila počet členů souboru o 8 %, ale výsledky hodnot se snížily vícenásobně. Data australské studie (4) spolu s daty z firemní dokumentace Siemens Atellica jsou v tabulce 2 uvedeny taky. Tam však nebyla eliminace původního referenčního souboru provedena. Zdá se být nezbytné stávající hodnoty 99 percentilů verifikovat pro přísně vybrané referenční soubory a udělat z tohoto kroku součást harmonizačních protokolů výrobců.

Diference mezi muži a ženami byly rovněž zaznamenány při stanovení absolutních delta a hodnot, i když jen těsně nad hranicích statistické významnosti (5).

Literatura

1. Friedecký B.: Doporučení České společnosti klinické biochemie ČLS JEP. Laboratorní aspekty stanovení kardiálních troponinů. *Klin Biochem Metab* 2022, 30(51):21-24.
2. Aakre KM, Saenger AK, Body R, Collinson P, Hammersten O. a spol.: Analytical considerations in deriving 99th in deriving 99th percentile upper reference limit for high-sensitivity cardiac troponin assays: Educational recommendations from the IFCC Committee on Clinical Application of Cardiac Bio-Markers. *Clin Chem* 2022. Dostupné: <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvac092>
3. Ahn S, Hyun-Ki K, Lee W, Chun S, Won-Ki M.: Effect of outlier elimination on the 99 percentile upper reference limits of high-sensitivity Cardiac Troponin I assays based on a strictly selected healthy reference population. *Ann Lab Med* 2022. Dostupné: <https://doi.org/10.3343/alm.2022.42.3.331>
4. Pretorius CJ, Parsonage W, Cullen LW, Wilgen U, De Waal E. a spol.: Evaluation of the Atellica TnIH cardiac troponin I assay and assessment of biological equivalence. *Clin Chem Lab Med* 2021. Dostupné: <https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0991>
5. ČSN ISO 21151:2021 IVD MD Measurement of quantities in samples of biological origin. Requirements for international harmonisation protocols establishing metrological traceability of values assigned to calibrators and human samples. ČAS: <http://seznamcsn.agentura-cas.cz/>
6. Liu L, Consagra W, Cai X, Mathias A, Worsster A. a spol.: Sex-Specific absolute Delta thresholds for high-sensitivity cardiac troponin T. *Clin Chem* 2022. Dostupné: <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvab230>