

Specifiche di qualità, terminologia e definizione dei metodi di misura delle troponine cardiache I e T

Aldo Clerico¹, Martina Zaninotto², Maria Stella Graziani³, Monica Mion², Silvia Masotti¹, Concetta Prontera¹, Marco Migliardi⁴, Antonio Fortunato⁵, Mario Plebani²

¹Scuola Superiore Sant'Anna e Fondazione CNR Regione Toscana G. Monasterio Pisa

²Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera Universitaria, Padova

³Sezione di Biochimica Clinica, Università di Verona

⁴Laboratorio Analisi, Azienda Ospedaliera, Ordine Mauriziano, Torino

⁵Patologia Clinica, Azienda Sanitaria Unica Regionale Marche, Area Vasta 5, Ascoli Piceno

ABSTRACT

Quality specifications, terminology and definition of the methods for the measurement of cardiac troponins.

All guidelines recommend that cardiac troponin I (cTnI) and T (cTnT) should be considered the preferred biomarkers for the differential diagnosis of acute coronary syndrome (ACS), and also that the 99th upper reference population limit value for cardiac troponins should be measured with an imprecision ≤ 10 CV%. However, only after the year 2006, some cTn methods showed analytical performances in accordance with the quality specifications required by guidelines. The cTn methods with the best analytical performances (currently named "high-sensitivity" methods) should be preferred for the early diagnosis of ACS and also for risk stratification of cardiovascular disease both in general population and cardiac patients. The most recent international guidelines recommend that two basic criteria are needed to define the characteristics required for cTn immunoassays in order to be defined as "high-sensitivity" methods. The first criterion is that the total imprecision (CV) at the 99th percentile value should be $\leq 10\%$. The second criterion is that these methods should measure cTn concentrations at least in 50% (and ideally $>95\%$) of both healthy adult men and women with value above the assay's limit of detection. The aim of this SIBioC document is to discuss some critical aspects related to definition of "high-sensitivity" cTn methods, including: analytical performance, pathophysiological interpretations, and clinical relevance of "high-sensitivity" cTn assays with particular attention to routine practice of clinical laboratories in Italy, recommending the use of an accurate terminology to avoid the usage of potentially misleading terms.

INTRODUZIONE

Le troponine cardiache I (cTnI) e T (cTnT) sono raccomandate come biomarcatori di prima scelta per la diagnosi differenziale della sindrome coronarica acuta (SCA) da tutte le linee guida nazionali e internazionali (1-11). Tuttavia, pochi sistemi immunometrici per la misura delle troponine cardiache sono al momento in grado di soddisfare le specifiche di qualità richieste dalle linee guida (1-11).

Scopo di questo documento è definire le specifiche di qualità e suggerire una classificazione dei metodi di misura delle cTnI e cTnT in accordo con le più recenti linee guida nazionali e internazionali (7-12). Considerando che nella letteratura si utilizzano differenti terminologie per definire e classificare i più recenti metodi di misura delle cTnI e cTnT, questo documento intende anche suggerire una terminologia univoca,

derivata dalle linee guida internazionali, per classificare i più recenti metodi di misura di questi analiti, che sia utilizzabile nel contesto italiano della medicina di laboratorio, come pure nella pratica clinica.

Nella prima parte del documento sono riassunte e discusse le specifiche di qualità e le definizioni raccomandate dalle più recenti linee guida internazionali (9-12). In questa parte la terminologia originale inglese (non tradotta in italiano) sarà utilizzata per classificare e identificare i metodi, in modo da favorire la più completa armonizzazione con le linee guida.

Nella seconda parte del documento sono riportate e brevemente discusse alcune raccomandazioni che dovrebbero essere universalmente utilizzate nella pratica di laboratorio e clinica in Italia, in modo da ottenere un'armonizzazione della terminologia e della definizione delle prestazioni analitiche dei metodi di misura delle troponine cardiache, che siano in pieno

Corrispondenza a: Aldo Clerico, Scuola Superiore Sant'Anna e Fondazione CNR Regione Toscana G. Monasterio Pisa. E-mail: clerico@ftgm.it

Ricevuto: 30.08.2018

Revisionato: 06.09.2018

Accettato: 06.09.2018

Publicato on-line: 11.10.2018

DOI: 10.19186/BC_2018.062

accordo con le più recenti raccomandazioni (9-12). In questa seconda parte si suggerirà anche una trasposizione in italiano dei termini originali in lingua inglese al fine di ottenere anche un'armonizzazione dei termini tecnici da utilizzare per la classificazione dei metodi di misura delle troponine cardiache (Tabella 1).

METODI DI MISURA

Specifiche di qualità

Nell'anno 2000, le linee guida hanno stabilito per la prima volta che cTnI e cTnT dovevano essere considerate come i biomarcatori di elezione per la diagnosi di infarto acuto del miocardio (IMA) (1). Queste linee guida hanno definito, inoltre, che la concentrazione di cTnI e cTnT, corrispondente al 99° percentile della popolazione di riferimento ("Upper Reference Limit", URL), doveva essere considerata come il valore soglia per la diagnosi di IMA (1). Infine, le stesse linee guida hanno stabilito che tale valore decisionale dovesse essere misurato con un errore, espresso come coefficiente di variazione (CV), uguale o inferiore al 10% (1). Negli anni successivi, tutte le linee guida nazionali e internazionali hanno sempre confermato queste raccomandazioni: cTnI e cTnT sono da considerare i biomarcatori di elezione per la diagnosi di IMA, come valore decisionale deve essere considerato il 99° percentile della distribuzione di cTnI e cTnT nella popolazione di riferimento, e inoltre, questo parametro deve essere misurato con un CV $\leq 10\%$ (2-11).

È evidente che queste specifiche di qualità di fatto assumono che siano presenti in circolo quantità misurabili di cTnI e cTnT anche nei soggetti apparentemente sani. Questa evidenza è stata però verificata sperimentalmente solo dopo l'anno 2005, quando sono stati messi a punto e resi disponibili per i laboratori clinici i primi sistemi immunometrici su piattaforme automatizzate con sensibilità analitica per cTnI e cTnT ≤ 10 ng/L (12-17).

Dal punto di vista metodologico è importante rilevare come la messa a punto di metodi che misurino il 99° percentile con un CV $\leq 10\%$ sia una sfida molto difficile da vincere, in quanto tale valore può essere stimato entro un intervallo di concentrazioni 15-50 ng/L per la cTnI e mediamente di 14 ng/L per la cTnT, considerando i metodi più recenti attualmente disponibili (18-23). Calcoli teorici (14) ed evidenze sperimentali (15)

indicano che è necessaria una sensibilità analitica di circa 1 ng/L perché un sistema immunometrico sia in grado di misurare i livelli circolanti di cTnI e cTnT nella maggior parte dei soggetti adulti apparentemente sani, specialmente se di sesso femminile. In questi ultimi anni, le aziende produttrici hanno reso disponibili metodi immunometrici per la misura delle troponine con prestazioni analitiche progressivamente migliori (12-17). Alcuni di questi metodi soddisfano le specifiche di qualità raccomandate come dimostrano i risultati ottenuti in studi di confronto che utilizzano protocolli standardizzati (18-22).

In accordo con Apple et al. (12), è necessario prendere in considerazione due fondamentali criteri per classificare i più recenti metodi immunometrici per la misura di cTnI e cTnT che presentano una più elevata sensibilità. Tali metodi sono definiti metodi "high-sensitivity" nelle linee guida internazionali più recenti (10-12). Il primo criterio, che è da considerare una *conditio sine qua non*, stabilisce che si devono definire test di laboratorio "high-sensitivity" per la misura delle cTnI e cTnT esclusivamente i sistemi immunometrici che sono in grado di misurare il 99° percentile con un CV $\leq 10\%$. Il secondo criterio stabilisce che i metodi "high-sensitivity" devono essere anche in grado di misurare i livelli circolanti superiori al limite di determinazione del metodo ("Limit of Detection", LoD) nella maggioranza dei soggetti adulti normali (10-12). Ancora più recentemente, il documento della "Academy of the American Association for Clinical Chemistry" e della "Task Force on Clinical Applications of Cardiac Biomarkers" di IFCC, ha posto l'accento sul fatto che la popolazione di riferimento debba comprendere individui di entrambi i sessi e che un metodo "high-sensitivity" debba misurare valori di cTnI e cTnT nella maggior parte sia della popolazione femminile che maschile (10). È ben noto, infatti, che le donne adulte presentano livelli circolanti di cTnI e cTnT mediamente inferiori rispetto agli uomini di pari età, probabilmente perché hanno una massa corporea e quindi anche una massa miocardica più piccola (10,12-16). Alcuni Autori hanno proposto una classificazione in 4 livelli di sensibilità analitica sulla base della percentuale di soggetti sani che sono misurabili con i vari metodi (17). Infatti, alcuni dei più recenti metodi sono in grado di misurare i livelli circolanti di cTnI in una percentuale di soggetti normali (inclusa la popolazione pediatrica) significativamente superiore al 50% (cioè $>80\%$) (18, 19).

Tabella 1

Terminologia utilizzata nel documento e traslazione dalla lingua inglese a quella italiana: riassunto delle raccomandazioni

Termini della letteratura Inglese	Termini da utilizzare nella lingua Italiana
99 th percentile of reference population	99° percentile della popolazione di riferimento
Contemporary sensitivity method	Metodo non ad alta sensibilità (misura il 99° percentile della popolazione di riferimento con un CV $>10\%$ ma $\leq 20\%$).
High-sensitivity method	Metodo ad alta sensibilità (soddisfa le specifiche di qualità previste dalle linee guida)
Limit of Detection (LoD)	Limite di determinazione del metodo
Upper Reference Limit (URL)	Limite superiore di riferimento

In accordo con tutte le più recenti linee guida nazionali ed internazionali (3, 7-10), i metodi che misurano il 99° percentile con un CV <20% (ma >10%) si possono ancora utilizzare nella pratica clinica, ma non si dovrebbero definire come "high-sensitivity". Tali metodi sono definiti dalla letteratura in lingua inglese come "contemporary sensitive". I metodi che invece misurano il 99° percentile con un CV >20% non dovrebbero più essere utilizzati per la diagnosi di IMA (3, 7). In quest'ultima categoria rientrano quasi tutti i metodi di "point of care testing" (POCT), che possono essere utilizzati per un primo screening al letto del paziente, in ambulanza o nei centri di pronto soccorso periferici che non dispongono di un laboratorio clinico. Questi metodi sono pertanto utilizzabili per evidenziare i pazienti ad alto rischio di IMA, per avviarli il più velocemente possibile a un reparto clinico specializzato in grado di effettuare con urgenza un intervento coronarico invasivo, come raccomandato dalle più recenti linee guida internazionali (9).

RACCOMANDAZIONI

Terminologia

1. Si raccomanda di utilizzare, nel contesto della medicina di laboratorio e della pratica clinica in Italia, solamente il termine metodi "ad alta sensibilità" come corrispettivo di "high-sensitivity methods", che è utilizzato dalle linee guida internazionali per indicare i metodi che soddisfano entrambi i criteri riguardanti le specifiche di qualità raccomandati dalle più recenti linee guida (10).
2. Si raccomanda inoltre di definire "non ad alta sensibilità" tutti i metodi di cTnI e cTnT, che misurano il 99° percentile con un CV >10% ma ≤20%. La letteratura internazionale utilizza attualmente il termine "contemporary sensitivity" per definire questi metodi (9-12). L'utilizzo del termine italiano "metodi con sensibilità contemporanea" potrebbe risultare ambiguo per definire questi metodi, in quanto è in corso un rapido passaggio nei laboratori italiani a metodi "ad alta sensibilità". Quindi si presume che nei prossimi mesi la maggior parte dei metodi utilizzati nei laboratori clinici italiani saranno "ad alta sensibilità" e quindi il termine "sensibilità contemporanea" diventerà equivoco e obsoleto. È importante sottolineare che il termine metodi "ad alta sensibilità" non dovrebbe essere utilizzato per definire i metodi che misurano il 99° percentile con un CV ≤10%, ma che, tuttavia, non sono in grado di misurare livelli circolanti di cTnI o cTnT nella maggioranza di individui adulti che compongono una popolazione di riferimento costituita da sole donne o da soli uomini (10).
3. Si raccomanda di NON utilizzare il termine "ultrasensibile" per definire un metodo per la misura delle troponine cardiache, in quanto tale termine può dare origine a fraintendimenti e non è conforme a quanto previsto dalle linee guida internazionali (9-12).

Specifiche di qualità e definizione

4. Si definiscono metodi di laboratorio "ad alta sensibilità" ("high-sensitivity") per la misura delle troponine I e T i metodi immunometrici che sono in grado di misurare il 99° percentile della popolazione di riferimento con un CV ≤10%, come raccomandato da tutte le linee guida nazionali e internazionali (primo criterio: *conditio sine qua non*) (9-12).
5. I metodi "ad alta sensibilità" devono essere anche in grado di misurare i livelli circolanti delle troponine nella maggioranza dei soggetti adulti normali, sia in una popolazione di sole donne che in una di soli uomini (secondo criterio di classificazione) (10).
6. I metodi che misurano il 99° percentile della popolazione di riferimento con un CV ≤20% (ma >10%) si possono ancora utilizzare nella pratica clinica, ma non si devono definire ad alta sensibilità (9-12).
7. I metodi che invece misurano il 99° percentile con un CV ≥20% non devono più essere utilizzati per la diagnosi di IMA (6, 7, 9, 11).

BIBLIOGRAFIA

1. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, et al. Myocardial infarction redefined: a consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:959-69.
2. Thygesen K, Alpert JS, White HD. Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2173-95.
3. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for Universal Definition of Myocardial Infarction. Third universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:1581-98.
4. Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2007;53:552-74.
5. Apple FS, Jesse RL, Newby LK, et al. National Academy of Clinical Biochemistry and IFCC Committee for Standardization of Markers of Cardiac Damage Laboratory Medicine Practice Guidelines: analytical issues for biochemical markers of acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2007;53:547-51.
6. Thygesen K, Mair J, Katus H, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur Heart J* 2010;31:2197-204.
7. Thygesen K, Mair J, Giannitsis E, et al. How to use high-sensitivity cardiac troponins in acute cardiac care. *Eur Heart J* 2012;33:2252-7.
8. Casagrande I, Cavazza M, Clerico A, et al. Proposal for the use in emergency departments of cardiac troponins measured with the latest generation methods in patients with suspected ACS without persistent ST-segment elevation. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:1727-37.
9. Roffi M, Patrono C, Collet JP, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the management of acute

- coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2016;37:267-315.
10. Wu AHB, Christenson RH, Greene DN, et al. Clinical laboratory practice recommendations for the use of cardiac troponin in acute coronary syndrome: expert opinion from the Academy of the American Association for Clinical Chemistry and the Task Force on Clinical Applications of Cardiac Biomarkers of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem* 2018. doi:10.1373/clinchem.2017.277186.
 11. Apple FS, Sandoval Y, Jaffe AS, et al. 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;63:73-81.
 12. Apple FS, Collinson PO. IFCC Task Force on Clinical Applications of Cardiac Biomarkers. Analytical characteristics of high-sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Chem* 2012;58:54-61.
 13. Mair J, Lindahl B, Hammarsten O, et al. How is cardiac troponin released from injured myocardium? *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care* 2018. doi: 10.1177/2048872617748553.
 14. Giannoni A, Giovannini S, Clerico A. Measurement of circulating concentrations of cardiac troponin I and T in healthy subjects: a tool for monitoring myocardial tissue renewal? *Clin Chem Lab Med* 2009;47:1167-77.
 15. Marjot J, Kaier TE, Martin ED, et al. Quantifying the release of biomarkers of myocardial necrosis from cardiac myocytes and intact myocardium. *Clin Chem* 2017;63:990-6.
 16. Clerico A, Zaninotto M, Ripoli A, et al. The 99th percentile of reference population for cTnI and cTnT assay: methodology, pathophysiology and clinical implications. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1634-51.
 17. Apple FS, Collinson PO. IFCC Task Force on Clinical Applications of Cardiac Biomarkers. Analytical characteristics of high-sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Chem* 2012;58:54-61.
 18. Krintus M, Kozinski M, Boudry P, et al. European multicenter analytical evaluation of the Abbott ARCHITECT STAT highly sensitive troponin I immunoassay. *Clin. Chem Lab Med* 2014;52:1657-65.
 19. Caselli C, Cangemi G, Masotti S, et al. Plasma cardiac troponin I concentrations in healthy neonates, children and adolescents measured with a highly sensitive immunoassay method: Highly sensitive troponin I in pediatric age. *Clin Chim Acta* 2016;458:68-71.
 20. Masotti S, Prontera C, Musetti V, et al. Evaluation of analytical performance of a new high-sensitivity immunoassay for cardiac troponin I. *Clin Chem Lab Med* 2018. doi:10.1515/cclm-2017-0387.
 21. Masotti S, Musetti V, Prontera C, et al. Evaluation of analytical performance of a chemiluminescence enzyme immunoassay (CLEIA) for cTnI using the automated AIA-CL2400 platform. *Clin Chem Lab Med* 2018. doi: 10.1515/cclm-2017-1101.
 22. Masotti S, Musetti V, Prontera C, et al. Evaluation of analytical performance of a new ADVIA immunoassay using the Centaur XPT platform system for the measurement of cardiac troponin I. *Clin Chem Lab Med* 2018. doi: 10.1515/cclm-2017-0387.
 23. Clerico A, Zaninotto M, Masotti S, et al. Valutazione delle performance analitiche dei metodi di misura delle troponine cardiache I e T: dalla teoria alla pratica di laboratorio. *Biochim Clin* 2018;42:155-66.