Valutazione della sensibilità diagnostica per l'infarto miocardico senza sopraslivellamento del tratto ST (NSTEMI) di due metodi ad alta sensibilità per la troponina cardiaca

Federica Braga[1], Alberto Dolci[1], Annalisa Cavallero[2], Anna Ghezzi[1], Ilenia Infusino[1], Monica Milano[1], Mara Rubino[2], Giancarlo Marenzi[2], Mauro Panteghini[1,3]

[1]Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Azienda Ospedaliera 'Luigi Sacco', Milano

[2]Centro Cardiologico Monzino, IRCCS, Università degli Studi, Milano

[3]Dipartimento di Scienze Cliniche 'Luigi Sacco', Università degli Studi, Milano

ABSTRACT

Evaluation of the sensitivity of two highly sensitive troponin assays for early detection of non ST-elevation myocardial infarction (NSTEMI). The major clinical role for the cardiac troponin in the myocardial infarction diagnosis is in patients with non diagnostic initial electrocardiogram (ECG) (suspected NSTEMI). The aim of this study was to evaluate the clinical sensitivity of two highly sensitive last generation troponin assays (Siemens Advia TnI-Ultra and Roche Diagnostics hsTnT) in the diagnosis of patients presenting with recent NSTEMI in comparison to conventional troponin assays. The study group consisted of 150 patients admitted to the Emergency Department with suspected acute coronary syndrome, to whom serial blood samples were taken every 3 h throughout the first 6 h after hospital admission. After evaluation of clinical history, ECG, and standard troponin results, obtained blinded to results of tested troponin assays, 31 patients were diagnosed as NSTEMI. Positive results were considered values >40 ng/L for TnI-Ultra and >15 ng/L for hsTnT, respectively. Sensitivities for NSTEMI were 81%, 87%, and 58% at admission and 100%, 100%, and 94% after 6 h for TnI-Ultra, hsTnT, and conventional assays, respectively. Interestingly, with both highly sensitive assays the maximal 100% sensitivity was already reached 3 h after admission. New highly sensitive troponin assays may significantly shorten the time to rule out NSTEMI. Although preliminary, our data suggest that the observation period of patients with suspected myocardial damage can be reduced from the conventional 12 h from hospital admission to only 3 h. Accordingly, a new protocol, sampling at presentation and 3 h later, could be recommended

INTRODUZIONE

La troponina cardiaca (I o T) è il biomarcatore raccomandato in tutte le linee guida cliniche e di laboratorio per la diagnosi, la stratificazione del rischio e la selezione della strategia terapeutica più efficace nei pazienti con sindrome coronarica acuta (SCA) (1, 2). In particolare, i pazienti che si presentano in ospedale con una sintomatologia compatibile con sospetta SCA, vengono immediatamente valutati mediante elettrocardiogramma (ECG) a 12 derivazioni e, sulla base dell'esito di questo esame, suddivisi in due categorie. Se si rileva un'elevazione del tratto ST del tracciato ECG, si può porre diagnosi di infarto acuto del miocardio con elevazione del tratto ST (STEMI), mentre per i pazienti che non presentano questo segno all'ECG è necessario ricorrere al contributo diagnostico del laboratorio mediante la determinazione della troponina, che, se positiva, rileva la presenza di necrosi miocardica e contribuisce a porre diagnosi di infarto acuto del miocardio, che, in assenza di elevazione del tratto ST, sarà definito infarto miocardico senza sopraslivellamento del tratto ST (NSTEMI) (3). La diagnosi di NSTEMI è dunque più complessa, richiede più tempo di quella di STEMI e, soprattutto, necessita della valutazione biochimica del paziente per giungere alla diagnosi.

La definizione "universale" di infarto del miocardio specifica che, nei pazienti con un quadro clinico coerente con l'origine ischemica del danno, ogni incremento della concentrazione di troponina cardiaca al di sopra del 99° percentile della distribuzione dei valori della popolazione di riferimento (99°URL) può essere considerato un criterio sufficiente per porre diagnosi di infarto, purché il marcatore mostri una caratteristica cinetica di rilascio nel sangue (1). Il problema, più volte discusso, è che col livello di sensibilità analitica dei metodi tradizionali non è

Corrispondenza a: Federica Braga, Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Azienda Ospedaliera 'Luigi Sacco', Via Giovanbattista Grassi 74, 20157 Milano. Tel. 0239042290, Fax 0250319835, E-mail federica.braga@studenti.unimi.it

Ricevuto: 14.03.2011 Revisionato: 15.03.2011 Accettato: 15.03.2011

possibile rilevare la concentrazione della troponina cardiaca nella maggior parte dei (o in tutti i) soggetti che costituiscono la popolazione di riferimento, per cui la stima del 99°URL non è possibile o per lo meno risulta inaccurata (4, 5). Questo ha stimolato l'introduzione sul mercato di nuove generazioni di metodi, che aumentando appropriatamente la sensibilità di misurazione del marcatore, consentissero di superare questo limite analitico (6). L'evoluzione tecnologica ha utilizzato e sta utilizzando varie soluzioni per risolvere il problema dell'insufficiente sensibilità analitica e migliorare le prestazioni a concentrazioni molto basse dell'analita (7). Indipendentemente dalla strada scelta, il miglioramento induce, in linea generale, un abbassamento del limite di rilevabilità (LoD) delle metodiche, vale a dire della minima concentrazione di troponina misurabile (8). In questo modo, utilizzando questi metodi molto sensibili è possibile misurare le concentrazioni di troponina presenti nei soggetti di riferimento e accuratamente calcolare il 99°URL, come raccomandato dalle linee guida. L'impiego in pratica di questo livello decisionale si traduce in un rilevante miglioramento della sensibilità diagnostica del metodo, anche se espone a peggioramenti della specificità clinica per la diagnosi di infarto miocardico, in quanto l'elevata sensibilità dei metodi è anche in grado di rilevare minimi aumenti delle concentrazioni di troponina in corso di patologie cardiache non associate a eziologia ischemica (9). E' indubbio tuttavia che la maggiore sensibilità metodologica e, di consequenza clinica, si potrebbe tradurre in un importante vantaggio operativo in termini di precocità dell'abilità di escludere ("to rule out") la presenza di infarto e prendere più velocemente decisioni relative al trattamento del paziente (10). Purtroppo, a eccezione dello studio di Giannitsis et al. (11), nessuno degli studi, nemmeno quelli pubblicati su riviste molto importanti, che hanno finora valutato la sensibilità diagnostica dei nuovi metodi dotati di elevata sensibilità analitica, ha avuto la cura di selezionare unicamente pazienti con NSTEMI, come detto sopra gli unici che necessitano del contributo diagnostico del laboratorio (12, 13). In questo studio, abbiamo quindi ritenuto utile valutare la sensibilità diagnostica di due metodi di ultima generazione per la determinazione della troponina cardiaca, confrontandoli ai risultati ottenuti con metodi tradizionali, per la diagnosi di NSTEMI in pazienti afferenti al Pronto Soccorso con diagnosi di sospetta SCA.

MATERIALI E METODI

Popolazione e protocollo di prelievo

Per lo studio erano arruolati 150 pazienti giunti al Pronto Soccorso con sospetta SCA, 21 afferenti all'Azienda Ospedaliera "Luigi Sacco" e 129 al Centro Cardiologico Monzino. A ciascun paziente era eseguito un prelievo di sangue venoso, consistente in una provetta da 4 mL senza additivi né gel separatore, all'ammissione (T0) e dopo tre (T3) e sei ore (T6), utilizzando il sistema sottovuoto Vacutainer (Becton Dickinson). Le provette erano centrifugate a 3000g per 15 min e i campioni di siero così ottenuti erano suddivisi in aliquote. Un'aliquota dei campioni T0 e T6 era immediatamente inviata ai rispettivi laboratori d'urgenza per la determinazione della troponina in regime d'urgenza a scopo diagnostico, utilizzando i metodi convenzionali in uso (vedi paragrafo successivo). Le rimanenti aliquote di T0, T3 e T6 erano congelate a -80 °C fino al momento dell'esecuzione delle analisi con i metodi ad elevata sensibilità. La determinazione della troponina con questi metodi era eseguita dopo scongelamento progressivo delle aliquote da -80 °C a -20 °C e poi a +4 °C.

I criteri diagnostici utilizzati per la diagnosi di NSTEMI erano: a) assenza di sopraslivellamento del tratto ST all'ECG, b) almeno un valore di troponina cardiaca superiore al livello decisionale, e c) un andamento tipico di salita e/o discesa della concentrazione plasmatica del biomarcatore. Lo studio era approvato dai rispettivi Comitati Etici delle due strutture coinvolte.

Metodi analitici

La determinazione routinaria della troponina ai tempi T0 e T6 sui campioni freschi dei pazienti arruolati era eseguita applicando i protocolli di esecuzione dell'analisi in regime di urgenza nei due laboratori interessati (determinazione in singolo e all'interno di serie analitiche validate utilizzando i materiali di controllo e gli intervalli di accettabilità forniti dai rispettivi produttori). In particolare, all'ospedale "Luigi Sacco" era dosata la troponina T (cTnT) su analizzatore Elecsys 2010 (Roche Diagnostics) con il metodo di 4^ generazione (livello decisionale, 0,03 µg/L) e al Centro Cardiologico Monzino la troponina I (cTnI) su piattaforma UniCell DxI 800 (Beckman Coulter) con il metodo Access AccuTnI (livello decisionale, 0,06 µg/L).

I metodi ad alta sensibilità per la determinazione della troponina valutati nello studio erano il saggio hsTnT (Roche Diagnostics), eseguito su analizzatore Cobas e 411, e il saggio TnI-Ultra (Siemens Healthcare Diagnostics), eseguito su analizzatore Advia Centaur, con determinazioni in singolo eseguite, per entrambi i metodi, sulla stessa aliquota. Tutte le aliquote erano determinate in due uniche serie analitiche, validate con materiali di controllo e intervalli di accettabilità forniti dai rispettivi produttori. Il metodo hsTnT impiega gli stessi anticorpi monoclonali del saggio di generazione precedente, anche se l'anticorpo di rilevazione è stato reingegnerizzato per limitare le interferenze da anticorpi eterofili (7). L'incremento della sensibilità è stato ottenuto aumentando il volume del campione, la concentrazione del rutenio coniugato all'anticorpo di rilevazione e riducendo il segnale strumentale con l'ottimizzazione del tampone utilizzato (14, 15). Il livello decisionale utilizzato, corrispondente al 99°URL, è 15 ng/L e il LoD stimato è 5 ng/L (15). Il metodo TnI-Ultra è un immunosaggio "sandwich" a tre anticorpi anti-cTnI, due monoclonali di cattura e uno policlonale di rilevazione. L'incremento della sensibilità è ottenuto

sfruttando il cosidetto "fenomeno di cooperazione" dovuto all'impiego di due anticorpi di cattura che riconoscono epitopi molto vicini tra loro (16). Il livello decisionale utilizzato, corrispondente al 99°URL, è 40 ng/L e il LoD stimato è 6 ng/L (17).

Analisi dei dati

Per l'analisi dei dati, i risultati di cTnT e cTnI ottenuti sul campione fresco con i metodi in uso nei due laboratori d'urgenza sono stati considerati come un unico gruppo ("metodo convenzionale"), anche se valutati come negativi o positivi in funzione del rispettivo livello decisionale. Sono state poi calcolate le sensibilità (no. risultati positivi/no. totale risultati x 100) mostrate dai tre metodi (convenzionale, TnI-Ultra e hsTnT) ai tempi T0, T3 (solo TnI-Ultra e hsTnT) e T6 e i rispettivi intervalli di confidenza al 95% (95%CI).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Sulla base della storia clinica del paziente, dell'ECG all'ammissione in Pronto Soccorso e dei risultati di troponina determinati a scopo diagnostico, e senza conoscere i risultati dei metodi ad alta sensibilità, 31 soggetti erano diagnosticati come NSTEMI e ritenuti eligibili per lo studio. La sensibilità dei vari metodi di misura della troponina, calcolata ai tempi T0, T3 e T6, è riportata nella Tabella 1. I risultati sembrano dimostrare che le metodiche ad alta sensibilità utilizzate in questo studio possono effettivamente migliorare la sensibilità del marcatore nella diagnosi precoce di NSTEMI, raggiungendo il massimo di sensibilità ben prima delle metodiche convenzionali. In effetti, già dopo sole 3 ore dall'ammissione, la sensibilità diagnostica di entrambi i metodi ad elevata sensibilità raggiungeva il 100%. Purtroppo il numero relativamente esiguo dei soggetti arruolati impedisce di ottenere dei 95%CI sufficientemente ristretti e tali da fornire informazioni univoche sulla significatività delle differenze tra le sensibilità mostrate dalle metodiche ad alta sensibilità e i metodi convenzionali, specialmente al T0. Altri studi hanno mostrato simili difficoltà a raccogliere casistiche sufficientemente ampie. Giannitsis et al., al fine di arruolare 26 pazienti con NSTEMI (e 31 con angina instabile), hanno analizzato ben 863 pazienti giunti al Pronto Soccorso con sospetta SCA (11). Ciò che è confortante è che i nostri risultati sostanzialmente confermano quelli riportati da questi Autori in uno studio che mostra molte analogie col nostro, anche se alcune differenze esistono, come l'esclusivo arruolamento di pazienti con NSTEMI negativi per la cTnT all'ammissione e l'utilizzo come cut-off per la cTnT del valore corrispondente al LoD del metodo (0,01 μg/L) (11). Comunque, i risultati di entrambi gli studi concordano nel dimostrare una migliore sensibilità dei metodi altamente sensibili rispetto alle metodiche convenzionali per la diagnosi precoce di NSTEMI. Considerando che per l'impiego della troponina cardiaca nella diagnosi di infarto del miocardio si raccomanda di prelevare i campioni di sangue all'ammissione e dopo almeno 6-9 ore e che, più convenzionalmente, spesso si esegue anche un prelievo dopo 12 ore (1, 18), si può ipotizzare che con l'impiego dei saggi ad alta sensibilità si possa significativamente anticipare l'esecuzione del secondo prelievo ed essere in grado di escludere con un'elevatissima probabilità la presenza di danno miocardico irreversibile già tre ore dopo l'ammissione al Pronto Soccorso, con ricadute sui costi sanitari che è facile immaginare.

In conclusione, le nuove metodiche che determinano le troponine cardiache con maggiore sensibilità analitica sono in grado di anticipare significativamente i tempi di esclusione ("rule out") di NSTEMI in atto. Anche se preliminari, i nostri dati suggeriscono che il periodo di osservazione dei pazienti con sospetto danno miocardico di tipo necrotico possa essere ridotto dalle convenzionali 9-12 ore a sole tre ore dall'arrivo in Pronto Soccorso. Pertanto, in accordo con i dati ottenuti in questo studio, potrebbe essere raccomandata una nuova strategia biochimica per la diagnosi di NSTEMI in cui siano previsti, per i pazienti che afferiscono al Pronto Soccorso con segni clinici di SCA ma senza sopraslivellamento del tratto ST all'ECG, solo due prelievi di sangue per la determinazione della troponina, uno all'ammissione e uno trascorse non più di tre ore.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia Siemens Healthcare Diagnostics per aver fornito gratuitamente tutto il materiale necessario alle determinazioni con metodica TnI-Ultra.

Tabella 1
Sensibilità diagnostica per NSTEMI all'ammissione in Pronto Soccorso e dopo 3 e 6 ore delle metodiche di misurazione della troponina valutate

	Sensibilità (95%CI)		
	Ammissione	Dopo 3 ore	Dopo 6 ore
Convenzionale	58,1% (39,1-75,5)	ND	93,6% (78,6-99,2)
TnI-Ultra	80,7% (62,5-92,6)	100% (88,9-100)	100% (88,9-100)
hsTnT	87,1% (70,2-96,4)	100% (88,9-100)	100% (88,9-100)

NSTEMI, infarto miocardico senza sopraslivellamento del tratto ST all'elettrocardiogramma; CI, intervallo di confidenza; ND, non disponibile.

BIBLIOGRAFIA

1. Thygesen K, Alpert JS, White HD. Universal definition of myocardial infarction. Circulation 2007;116:2634-53.
2. 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.
3. Dolci A, Panteghini M. I marcatori biochimici nella diagnosi e nella sorveglianza delle patologie cardiache. In: Panteghini M, ed. Interpretazione degli esami di laboratorio. Trattato Italiano di Medicina di Laboratorio. Vol VII. Padova: Piccin, 2008:329-67.
4. Panteghini M, Pagani F, Yeo KTJ, et al. Evaluation of imprecision for cardiac troponin assays at low-range concentrations. Clin Chem 2004;50:327-32.
5. Panteghini M. A critical appraisal of experimental factors influencing the definition of the 99th percentile limit for cardiac troponins. Clin Chem Lab Med 2009;47:1179-82.
6. Apple FS. A new season for cardiac troponin assays: it's time to keep a scorecard. Clin Chem 2009;55:1303-6.
7. Panteghini M. Assay-related issues in the measurement of cardiac troponins. Clin Chim Acta 2009;402:88-93.
8. Tate JR, Panteghini M. Measurement of cardiac troponin revisited. Biochim Clin 2008;32:535-46.
9. Kelley WE, Januzzi JL, Christenson RH. Increases of cardiac troponin in conditions other than acute coronary syndrome and heart failure. Clin Chem 2009;55:2098-112.
10. Harvey DW. Higher sensitivity troponin levels in the community: what do they mean and how will the diagnosis of myocardial infarction be made? Am Heart J 2010;159:972-8.
11. Giannitsis E, Becker M, Kurz K, et al. High-sensitivity cardiac troponin T for early prediction of evolving non-ST-segment elevation myocardial infarction in patients with suspected acute coronary syndrome and negative troponin results on admission. Clin Chem 2010;56:642-50.
12. Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, et al. Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays. New Engl J Med 2009;361:858-67.
13. Keller T, Zeller T, Peetz D, et al. Sensitive troponin I assay in early diagnosis of acute myocardial infarction. N Engl J Med 2009;361:868-77.
14. Giannitsis E, Kurz K, Hallermayer K, et al. Analytical validation of a high-sensitivity cardiac troponin T assay. Clin Chem 2010;56:254-61.
15. Saenger AK, Beyrau R, Braun S, et al. Multicenter analytical evaluation of a high-sensitivity troponin T assay. Clin Chim Acta 2011;412:748-54.
16. Nikulina VA, Kizim EA, Massino YS, et al. Synergistic effects in antigen capture ELISA using three monoclonal antibodies directed at different epitopes of the same antigen. Clin Chim Acta 2000;299:25-44.
17. Apple FS, Smith SW, Pearce LA, et al. Use of the Centaur TnI-Ultra assay for detection of myocardial infarction and adverse events in patients presenting with symptoms suggestive of acute coronary syndrome. Clin Chem 2008;54:723-8.
18. NICE guideline 95. Chest pain of recent onset: Assessment and diagnosis of recent onset chest pain or discomfort of suspected cardiac origin. 2010.