

Valutazione di un metodo POCT ad elevata sensibilità per la troponina cardiaca: confronto con una strumentazione automatizzata di laboratorio

Rosalia Aloe¹, Paola Avanzini¹, Roberta Musa¹, Paola Cerati¹, Martina Di Pietro²

¹SSD Biochimica ad Elevata Automazione, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma

²Laboratorio Unico Metropolitano, AUSL Bologna

Questo lavoro è stato in parte presentato al 53° Congresso SIBioC - 11-13 Ottobre 2021, Virtual Edition, quale Comunicazione Orale

ABSTRACT

Evaluation of a high-sensitivity cardiac troponin point-of-care assay: a comparison with a laboratory platform.

Introduction: until recently, high-sensitivity in cTn testing has been adequately performed exclusively by laboratory platforms, whereas point-of-care systems lack the required analytical performance. The Quidel TriageTrue High Sensitivity Troponin I Test (TriageTrue) is a novel point-of-care test that meets the IFCC definition of a high-sensitivity troponin assay. The aim of this study is to evaluate the performance of the TriageTrue assay versus the Beckman Coulter Access hsTnI assay, performed in a central laboratory analyzer.

Methods: the TriageTrue assay was carried out on Quidel Triage MeterPro; the Access Troponin I-hs assay was carried out on Beckman Coulter UniCel DxI 800. The two assays have been compared by a linearity study and by evaluating the agreement through a Passing-Bablok regression analysis and a Bland-Altman plot. In addition, the analytical performance of TriageTrue itself has been checked by performing an intra-assay precision study for two levels of troponin, including values at the 99th percentile.

Results: in comparing TriageTrue versus the Beckman Coulter Access hsTnI, a satisfactory linearity for the tested range (3.13-800 ng/L) has been observed; the precision study results demonstrate that the TriageTrue CV was less than 10% for all the three concentrations tested (21.5, 124.3 and 550 ng/L respectively).

Conclusions: the definition of a high linearity can be derived from the elevated Spearman's correlation coefficient of 1.000 ($p < 0.001$) which indicates that the values obtained by TriageTrue and by Beckman Coulter hsTnI are highly monotonically related, and thus have a high level of comparability.

Parole chiave: troponina-hs, point-of-care, infarto miocardico acuto

INTRODUZIONE

Nella Quarta Definizione Universale di Infarto Miocardico (2018) pubblicata dalla Task Force congiunta della European Society of Cardiology, American College of Cardiology Foundation, American Heart Association, World Heart Federation (ESC-ACCF-AHA-WHF) (1), viene definita una combinazione di criteri per soddisfare la diagnosi di infarto miocardico acuto (IMA), includendo tra essi la raccomandazione di utilizzare metodi ad elevata sensibilità per la determinazione delle troponine cardiache (hs-cTn) e di rilevare un aumento e/o una diminuzione nella concentrazione di cTn con almeno un valore superiore al 99° percentile del limite superiore di riferimento (URL). Inoltre, sono stati sviluppati algoritmi diagnostici basati sulla velocità di incremento delle cTn,

utilizzando metodi ad alta sensibilità per ridurre il tempo di diagnosi dei pazienti con sospetto di IMA, come gli algoritmi 0/1 ora, definiti nelle ultime linee guida ESC 2020 (2).

Anche la IFCC ha definito i requisiti necessari per definire un metodo "ad alta sensibilità" per la determinazione delle troponine cardiache, tra i quali: l'imprecisione totale al 99° percentile che deve essere <10% CV e l'abilità del metodo a rilevare concentrazioni di cTn superiori al limite di rilevazione (LOD) in almeno il 50% degli individui sani (3).

Fino ad oggi questi criteri sono stati raggiunti esclusivamente dai metodi applicati a strumentazioni automatizzate di laboratorio, in quanto i sistemi point-of-care (POCT) non possedevano le prestazioni analitiche richieste. Recentemente, il test Quidel TriageTrue High

Corrispondenza a: Paola Cerati, SSD Biochimica ad Elevata Automazione, AOU di Parma, Viale Antonio Gramsci, 14, 43126 Parma, Email: pcerati@ao.pr.it

Ricevuto: 25.03.2022

Revisionato: 15.04.2022

Accettato: 01.07.2022

Pubblicato on-line: 03.08.2022

DOI: 10.19186/BC_2022.049

Sensitivity Troponin I (Triage True) è stato presentato come un nuovo metodo POCT in grado di soddisfare i requisiti IFCC di un metodo ad alta sensibilità per hs-cTnI.

In uno studio precedente, il test TriageTrue aveva dimostrato di possedere un'elevata accuratezza diagnostica nei pazienti con sospetto IMA, con una prestazione clinica paragonabile a quella delle misure con i test cTnT e cTnI hs eseguiti su strumentazioni Roche Elecsys e Abbott Architect (4). Inoltre, secondo i risultati di questo studio, è stato possibile validare un algoritmo TriageTrue specifico per 0/1 ora, sicuro ed efficace, che è stato poi incluso nelle linee guida ESC 2020 (2-4).

L'individuazione nel primo o in prelievi ematici successivi di concentrazioni elevate di cTn, unitamente alla valutazione della cinetica e della durata del rilascio di questo marcatore, sono elementi utili per determinare con relativa sicurezza la ragione dell'aumento della cTn e quindi discriminare tra IMA (in particolare negli infarti senza sovrastivellamento del tratto ST, NSTEMI) e danno cardiaco non connesso ad ischemia miocardica (5).

In passato le Linee Guida cliniche (6) hanno raccomandato di prelevare campioni di sangue per la determinazione della cTn all'ammissione nel Dipartimento di Emergenza e di ripetere il prelievo dopo 3-6 ore (6).

Successivamente, grazie all'impiego di metodi ad elevata sensibilità, è stato possibile sviluppare protocolli diagnostici più veloci nei quali gli intervalli tra determinazioni seriali potevano essere significativamente ridotti.

In sostituzione agli algoritmi tradizionali 3/6 ore, quindi, le linee guida cliniche nonché la quarta definizione universale di infarto, consigliano l'utilizzo di un algoritmo 0/3 ore o, in alternativa, un algoritmo 0/1 ora (1).

Le determinazioni di hs-cTn tuttavia, vengono normalmente eseguite nel laboratorio centrale di un ospedale, struttura che non sempre si trova nelle immediate vicinanze di un Dipartimento di Emergenza: la distanza tra il punto di prelievo e quello dell'esecuzione dell'esame può comportare un inevitabile aumento del tempo di risposta.

Anche l'ottimizzazione del trasporto dei campioni con l'utilizzo di sistemi di posta pneumatica, permane come fattore limitante del tempo di risposta, la numerosità dei campioni che devono essere analizzati nello stesso periodo di tempo nel laboratorio analisi centralizzato. Per tali motivi, l'utilizzo di sistemi POCT affidabili presso il punto di assistenza potrebbe superare le problematiche descritte e consentire un più rapido ed efficace tempo di risposta in accordo a quanto suggerito dalle linee-guida.

La gestione delle piattaforme POCT richiede un contesto organizzativo ben pianificato, sia per considerazioni legate alla qualità analitica che per la gestione e la formazione del personale dedicato, perseguendo un'armonizzazione tra i diversi contesti coinvolti. Il laboratorio centrale dovrebbe mantenere un'attenta supervisione di tutti i processi relativi alla selezione della piattaforma scelta e alla gestione della qualità del dato analitico; inoltre, per migliorare l'utilizzo della strumentazione POCT, è necessario che

sia attuabile un collegamento in rete con il sistema informatico del laboratorio stesso. E' quindi necessaria un'organizzazione adeguatamente strutturata per poter garantire elevati standard di prestazione (7-8).

L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare le prestazioni della piattaforma POCT Quidel TriageTrue MeterPro (Quidel Cardiovascular Inc.; 9975 Summers Ridge Road San Diego, CA 92121 USA) rispetto allo strumento automatizzato in uso presso il Laboratorio, Beckman Coulter UniCel DxI 800 (Beckman Coulter; Brea, CA).

METODI

Metodi analitici

Per la preparazione dei pool è stato utilizzato plasma residuo proveniente da campioni di routine resi anonimi (plasma K₂EDTA, Becton Dickinson, Franklin Lakes; New Jersey, USA).

Il metodo Access Hs-cTnI è calibrato con Access Hs-cTnI Calibrator (REF B52700, Lotti 832155;920782); i materiali utilizzati per il controllo di qualità sono il Multichem hsTn-Technopath (REF HS301A, Lotto 3081078T, Technopath Clinical Diagnostic; Fort Henry, Ballina, Co. Tipperary, Irlanda) ed il Seronorm Immunoassay Liq L-1 (REF 207010, Lotto 1701808) e L-2 (REF 207110, Lotto 1701809; Sero AS Stasjonsvein 44, 1396 Billinstad; Norvegia), sieri di controllo liquidi a base umana. Nel sistema Quidel TriageTrue MeterPro la calibrazione viene eseguita con un microchip fornito assieme al reagente mentre il controllo di qualità è integrato nel software e nel dispositivo analitico.

Il Triage True High Sensitivity Troponin I (REF 97600 EU Lotti: T10651N, T10652N) è un immunodosaggio a fluorescenza eseguito su analizzatore Quidel Triage True MeterPro e fornisce la determinazione quantitativa della cTnI in campioni di sangue intero o plasma anticoagulati con EDTA. La procedura di misura prevede l'erogazione di alcune gocce di sangue intero o plasma nella area per i campioni presente sul dispositivo. Nei campioni di sangue intero, le cellule ematiche sono separate dal plasma mediante un filtro contenuto nel dispositivo stesso. Il campione reagisce con gli anticorpi coniugati fluorescenti e scorre attraverso il dispositivo per capillarità: i complessi così formati vengono catturati in zone specifiche del dispositivo per la misura di cTnI. Il dispositivo viene quindi inserito nell'analizzatore Triage MeterPro, dove l'intensità di fluorescenza sviluppata dalla reazione è rilevata dall'analizzatore all'interno della zona di misurazione ed è direttamente proporzionale alla concentrazione dell'analita presente nel campione. I risultati sono visualizzati sullo schermo dell'analizzatore entro 20 minuti dall'aggiunta del campione (9). Secondo le specifiche del produttore, l'intervallo di misurazione del metodo va da 0,1 a 1 000 ng/L, il limite di rilevamento (LOD) è di 1,5 ng/L per il plasma e 1,7 ng/L per il sangue intero e l'imprecisione totale al 99° percentile URL (valore soglia, 20,5 ng/L) è pari 5,6% CV. Il valore decisionale è 20,5 ng/L, mentre i valori genere-specifici sono 14,4 e 25,7 ng/L rispettivamente per

femmine e maschi (9).

Il metodo Access-hsTnI (REF B52699, Lotti: 832115-2528-2244) è un saggio immunoenzimatico sequenziale in due fasi (sandwich). L'anticorpo monoclonale anti-cTnI coniugato alla fosfatasi alcalina viene aggiunto alla cuvetta di reazione assieme ad un tampone contenente tensioattivo ed al campione. Dopo una breve incubazione, sono aggiunte particelle paramagnetiche rivestite con anticorpi monoclonali anti-cTnI. L'anticorpo umano-cTnI si lega all'anticorpo anti-cTnI sulla fase solida, mentre l'anticorpo anti-cTnI coniugato con la fosfatasi alcalina reagisce con diversi siti antigenici presenti sulle molecole di cTnI. Dopo l'incubazione nella cuvetta di reazione, i materiali legati alla fase solida vengono trattenuti in un campo magnetico mentre i materiali non legati vengono lavati. Successivamente, viene aggiunto il substrato chemiluminescente nella cuvetta di reazione. La produzione di luce, misurata mediante luminometro è direttamente proporzionale alla concentrazione di cTnI nel campione. La concentrazione di analita nel campione è misurata in base ad una curva di calibrazione multipunto memorizzata nello strumento. Secondo le specifiche del produttore, l'intervallo di misurazione varia da 2,3 a 27 027 ng/L, il LOD è di 2,3 ng/L e il valore dell'imprecisione $\leq 10\%$ CV a concentrazioni $\geq 11,5$ ng/L. I livelli decisionali adottati dal laboratorio sono 10,5 ng/L e 17,8 ng/L rispettivamente per femmine e maschi (10).

L'analisi statistica è stata effettuata con il programma MedCal 18.6- Software bv Ostenda, Belgio.

Studio di precisione

Secondo le raccomandazioni contenute nella definizione di "elevata sensibilità" (hs) (9), i laboratori dovrebbero misurare 3 diverse concentrazioni di materiali QC almeno una volta al giorno. In particolare: una concentrazione compresa tra il limite di rilevazione (LoD) e il 99° percentile più basso specifico per genere; una concentrazione superiore ma vicina (entro il 20%) al 99° percentile URL più alto specifico per genere; una concentrazione prossima alla linearità e comunque superiore alla concentrazione del 99° percentile URL (11)

In accordo con queste raccomandazioni, sono stati raccolti i pool di sieri preparati come sopra descritto, selezionati in base ai risultati del test hs-cTnI, vicini alle concentrazioni raccomandate.

L'imprecisione è stata quindi valutata utilizzando 3 pool:

- pool basso (pool 1), con una concentrazione di cTnI vicina all'URL del 99° percentile (concentrazione attesa: 20,5 ng/L);
- pool medio (pool 2), con una concentrazione di cTnI di circa sei volte l'URL del 99° percentile del metodo di analisi (concentrazione attesa: 123 ng/L);
- pool alto (pool 3), con una concentrazione di cTnI vicina al punto medio dell'intervallo analitico del test (concentrazione attesa: 500 ng/L).

Per ottenere una quantità di materiale sufficiente per lo studio di precisione sono stati raccolti circa 15 ml di plasma per ogni pool. La concentrazione di cTnI nei 3 pool, determinata con il metodo in uso in Laboratorio

(Beckman Coulter UniCel Dxl 800), era rispettivamente: 21,5 ng/L; 124,3 ng/L e 550 ng/L; i pool sono stati suddivisi in 25 aliquote da 500 μ L e congelati a -80 °C.

Prima dell'esame sullo strumento POCT, i campioni sono stati scongelati singolarmente a temperatura ambiente e centrifugati a 3 500 rpm per 10 minuti. Per ciascuno dei tre pool, sono state eseguiti 5 replicati al giorno per un totale di 5 giorni. Con questa procedura sono stati ottenuti 25 risultati per ciascun pool, sui quali sono state calcolate la precisione intra-serie e la precisione totale.

Studio di linearità

Lo studio di linearità è stato effettuato per verificare l'intervallo di concentrazioni di cTnI all'interno del quale la misura risultava lineare nel sistema POCT.

Per questo studio sono stati preparati i seguenti due pool di plasma:

- pool alto (pool H), con concentrazione vicina al limite superiore di linearità del metodo (1 000 ng/L).
- pool basso (pool L), vicino al LoD dichiarato dal produttore (1,6 ng/L).

La concentrazione di cTnI nei pool H e L è stata determinata utilizzando il metodo in uso in laboratorio ed è risultata rispettivamente pari a 914,2 ng/L e 1,7 ng/L. Dopo la determinazione della concentrazione di cTnI nel campione iniziale con il metodo in uso, sono state eseguite 9 diluizioni scalari (diluizioni 1:2) e, a parte, 2 diluizioni speciali (7a e 7b), per ottenere un maggior numero di dati intorno al valore decisionale del 99° percentile (Tabella 1).

La concentrazione di cTnI di ciascun livello è stata determinata con il metodo in uso in laboratorio e poi l'aliquota è stata rapidamente congelata a -80 °C, fino al giorno della misura sulla piattaforma POCT.

Prima dell'analisi i campioni sono stati scongelati singolarmente a temperatura ambiente e centrifugati a 3 500 rpm per 10 minuti. Per ogni livello sono state eseguiti cinque replicati.

Tabella 1

Studio di linearità: concentrazioni dei pool utilizzati

Livello	Concentrazione attesa (ng/L)	Livello	Concentrazione attesa (ng/L)
1	800	7a	20
2	400	7b	14
3	200	8	12,5
4	100	9	6,25
5	50	10	3,13
6	25		

Studio di comparazione

Il confronto analitico e clinico tra i due metodi è stato condotto su campioni di plasma di 73 pazienti giunti al Pronto Soccorso con dolore toracico e sospetto di IMA o di lesione miocardica cronica (CMI). Per ogni paziente sono stati prelevati due campioni (BD Vacutainer® Plastic K2-EDTA da 3,5 ml) in due tempi diversi, T0 e T1. Il primo campione è stato prelevato all'ammissione del paziente al Pronto Soccorso (T0), il campione a T1 è il secondo prelievo raccolto per ogni paziente; per raggiungere una numerosità adeguata di campioni sono stati selezionati pazienti per cui fosse possibile ottenere due valori di hs-cTnI indipendentemente dal tempo trascorso dal primo prelievo.

I 146 campioni di pazienti, sono stati separati in due aliquote indipendenti per essere analizzati separatamente sui due strumenti.

Il confronto analitico tra metodi è stato effettuato utilizzando la regressione di Passing Bablock, il grafico di Bland Altman, la correlazione di Spearman e il Test di Man Whitney.

Per quanto riguarda invece il confronto clinico, è stato definito risultato "positivo" un valore di hs-cTnI superiore ai rispettivi valori decisionali dei due strumenti e "negativo" un valore di hs-cTnI inferiore ai rispettivi valori decisionali dei due strumenti. I valori di hs-cTnI ottenuti

per ogni campione con il metodo in uso in laboratorio e il metodo POCT sono stati confrontati mediante due tabelle di contingenza 2x2, rispettivamente per i risultati ottenuti a T0 e T1. La concordanza è stata definita come la percentuale di risultati entrambi positivi o entrambi negativi sul totale dei campioni analizzati.

RISULTATI

Nello studio di precisione i valori di CV ottenuti erano tutti inferiori al 10%, con una precisione particolarmente significativa per il pool basso nel quale è stato ottenuto un CV di 4,5% (Tabella 2).

I risultati dello studio di linearità hanno evidenziato una significativa correlazione nell'intervallo di concentrazioni considerato. Nel confronto tra metodi, l'indice di correlazione di Spearman risulta significativo ($p < 0,001$) sia sui campioni prelevati all'ammissione (T0, $r=0,9179$ Figura 1a), che sul prelievo successivo (T1, $0,924$; Figura 1b). Tale risultato evidenzia la significativa correlazione dei due metodi a confronto, in un ampio intervallo di concentrazioni come quelle misurabili all'ammissione e nel prelievo successivo. I grafici dimostrano infatti una relazione fra le concentrazioni di hs-cTnI monotona e lineare per la maggior parte dei valori (Figura 1a e 1b).

Nella Tabella 3 sono presentati i valori delle equazioni di Passing-Bablok, con i rispettivi intervalli di confidenza,

Tabella 2

Precisione intra-assay e precisione totale.

Pool	Concentrazione cTnI (ng/L), metodo di laboratorio	Concentrazione cTnI (ng/L) metodo POCT	Precisione intra-assay		Precisione totale	
			DS	CV%	DS	CV%
Basso	21,5	20,7	0,998	4,82	0,93	4,5
Medio	124,3	114,4	10,59	9,25	10,49	9,16
Alto	550	479,2	32,81	6,84	43,39	9,05

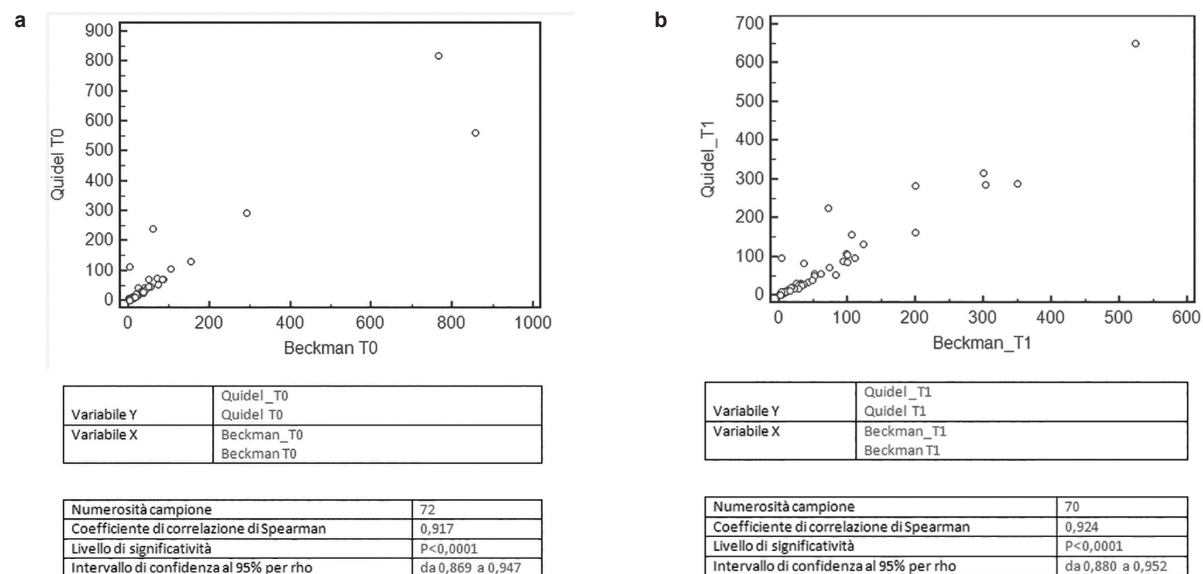


Figura 1

Linearità e correlazione di Spearman; i valori sono espressi in ng/L. Pannello a: dati ottenuti nel prelievo all'ammissione (T0); pannello b: dati ottenuti nel prelievo successivo (T1).

dello studio di confronto fra i due metodi.

Nelle Figure 2 e 3, sono mostrati i grafici per i confronti dei valori suddivisi in base alle concentrazioni di hs-cTnI: Figura 2, determinazioni T0 (pannello a, campioni con concentrazione >100 ng/L; pannello b, campioni con concentrazione ≤100 ng/L); Figura 3, determinazioni a T1 (pannello a, campioni con concentrazione >100 ng/L; pannello b, campioni con concentrazione ≤100 ng/L)

E' necessario precisare che nella analisi di regressione dei risultati ottenuti a T0 per valori >100 ng/L sono state escluse due coppie di dati (campione 41; Quidel: 241 ng/L, Beckman: 58,9 ng/L e campione 50; Quidel: 114 ng/L Beckman. 3,3 ng/L), in quanto con il metodo Beckman i valori sono risultati <100 ng/L. L'intervallo di valori di questa serie era 100 - >1 000 ng/L per Quidel e 100 - 3 288 ng/L per Beckman.

Analogamente, nella analisi di regressione dei risultati ottenuti a T1 per valori >100 ng/L sono state escluse 4 coppie di dati (campione 1; Quidel: 94,8 ng/L, Beckman: 110,4 ng/L; campione 2; Quidel: 108 ng/L, Beckman: 97,8

ng/L; campione 24; Quidel: 85 ng/L; Beckman: 100,1 ng/L e campione 41; Quidel:224 ng/L; Beckman: 71,9 ng/L), poichè i valori di hs-cTnI ottenuti con il metodo Quidel risultavano <100 ng/L sui campioni 1 e 24, mentre i valori di hs-cTnI ottenuti con il metodo Beckman risultavano <100 sui campioni 2 e 41 rispettivamente. L'intervallo di valori di questa serie era 100 - >1 000 ng/L per Quidel e 100 - 6 952 ng/L per Beckman.

Il test di Cusum per la linearità non ha dimostrato deviazioni significative dalla linearità in nessuno dei 6 gruppi di dati considerati (T0: tutto l'intervallo, p=0,87; ≤100 e >100 ng/L p=0,61 e 0,93 rispettivamente; T1: tutto l'intervallo, p=0,16; ≤100 e >100 ng/L p=0,66 e 0,19 rispettivamente)

L'analisi statistica secondo Bland-Altman, ha dimostrato: un bias medio dei valori a T0 pari a 0,4%, statisticamente non significativo (95% delle differenze tra i due metodi compreso tra 83,3 e -84,1%) (Figura 4, pannello a) ed un bias medio dei valori a T1 pari a 1,4 %, statisticamente non significativo (95% delle differenze tra

Tabella 3

Equazioni di Passing-Bablok e intervalli di confidenza al 95% (95%IC)

	Equazione di Pasing-Bablok	N	95%IC (intercetta)	95%IC (pendenza)
T0 (0,8 - >1000 ng/L)	$y = 0,629054 + 0,897026 x$	72	da -0,7065 a 1,2812	da 0,8362 a 0,9865
T1 (0,1 - >1000 ng/L)	$y = 0,0180188 + 0,946319 x$	70	da 1,0898 a 0,7439	da 0,8777 a 1,0347
T0 (>100 ng/L) Fig. 2a	$y = -11,306151 + 1,037654 x$	5	ND	ND
T0 (<100 ng/L) Fig. 2b	$y = 0,749316 + 0,863844 x$	65	da -0,04459 a 1,4987	da 0,8156 a 0,9344
T1 (>100 ng/L) Fig. 3a	$y = -7,792697 + 1,100225 x$	9	da -142,7772 a 92,2776	da 0,5978 a 1,5285
T1 (<100 ng/L) Fig. 3b	$y = 0,488825 + 0,891117 x$	57	da -0,3308 a 1,1025	da 0,8159 a 0,9667

T0, campioni prelevati all'ammissione; T1, campioni del prelievo successivo; ND, intervallo di confidenza non determinabile per scarsa numerosità di dati.

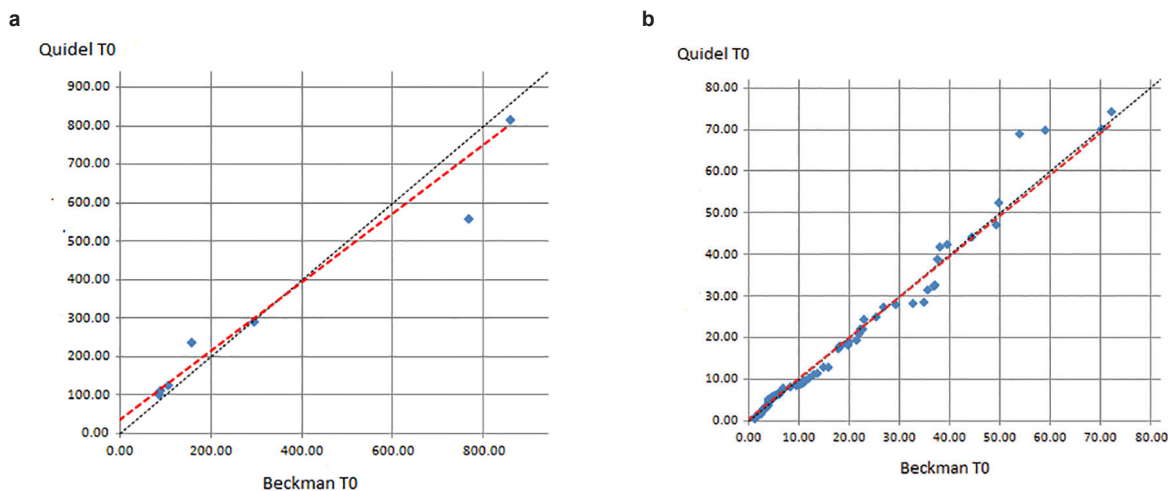


Figura 2

Regressione non parametrica di Passing-Bablok per il confronto tra i due metodi su determinazioni eseguite sul prelievo all'ammissione (T0); i valori sono espressi in ng/L.

Pannello a: campioni con valori >100 ng/L; pannello b: campioni con valori <100 ng/L. Nei grafici sono presenti la linea di identità, pendenza=1: retta nera; linea di regressione: retta rossa. Le equazioni delle rette sono presentate in tabella 3.

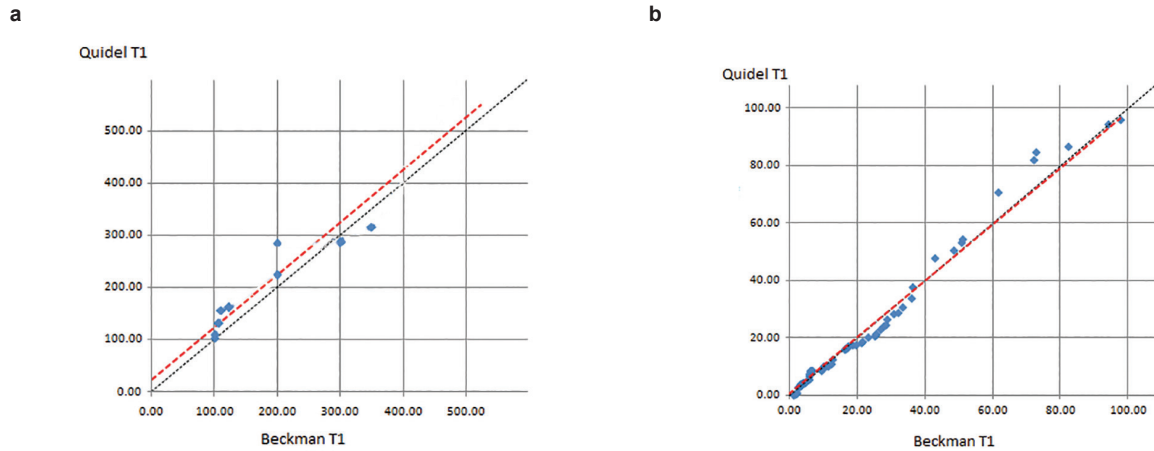


Figura 3
 Regressione non parametrica di Passing-Bablok per il confronto tra i due metodi su determinazioni eseguite sul prelievo successivo (T1); i valori sono espressi in ng/L.
 Pannello a: campioni con valori >100 ng/L; pannello b: campioni con valori <100 ng/L. Nei grafici sono presenti la linea di identità, pendenza=1: retta nera; linea di regressione: retta rossa. Le equazioni delle rette sono presentate in tabella 3.

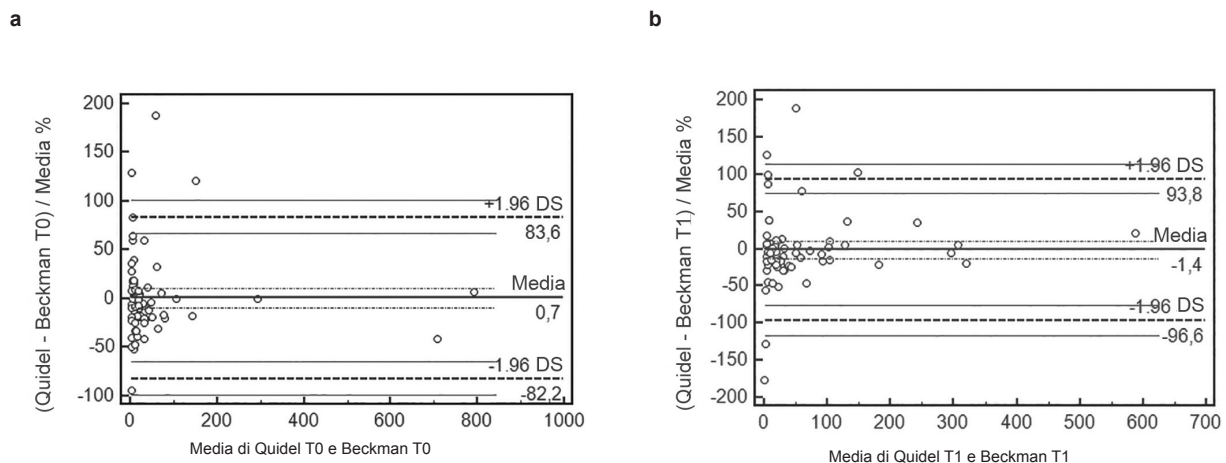


Figura 4
 Grafico di Bland Altman media di Quidel e Beckman (T0) delle differenze tra i due metodi; i valori sono espressi in ng/L. La linea continua centrale rappresenta la differenza media; le linee continue in basso e in alto rappresentano gli intervalli di confidenza al 95% (95%IC) dei limiti di concordanza; le linee tratteggiate rosse rappresentano i limiti di concordanza. Pannello a: determinazioni eseguite nel prelievo all'ammissione (T0); pannello b: determinazioni eseguite nel prelievo successivo.

i due metodi tra comprese tra 96,6 e -93,8%) (Figura 4, pannello b).

Complessivamente, il Test Mann Whitney, ha dimostrato che non vi sono differenze statisticamente significative nelle concentrazioni dei valori misurati con i due metodi sia al tempo T0 che a T1 (T0: p=0,899, T1: p= 0,9303).

Infine, la percentuale di concordanza tra metodi al tempo T0, è risultata pari all'81%: 40% (n=29) dei valori di di hs-cTnI misurati con i due metodi positivi e 41% (n=30) negativi. Nel 19% dei pazienti i valori di hs-cTnI misurati con i due metodi sono risultati discordanti. Al tempo T1, la percentuale di concordanza è risultata pari all' 86%: 48%, (n=35) dei valori di cTnI misurati con i due metodi positivi,

38% (n=28) negativi; il 13% erano discordanti.

DISCUSSIONE

La linearità del metodo Triage True è risultata eccellente nell'intervallo di concentrazioni compreso tra 3,13 e 800 ng/L (coefficiente di correlazione di Spearman=1 000; p <0,001).

Triage True mostra un'imprecisione <10%CV per tutti i pool analizzati, le cui concentrazioni erano vicine sia ai possibili valori decisionali, sia a quelli utilizzati dal produttore nella fase di validazione e riportati nelle Instruction For Use del metodo. In particolare, nel pool basso (21,5 ng/L, la concentrazione più vicina al

valore soglia del metodo), il metodo Triage True mostra un'elevata precisione (CV=4,5%).

I due metodi sono comparabili all'interno dell'intervallo di concentrazioni misurate sui campioni prelevati sia a T0 che a T1.

Tuttavia, nello studio di regressione effettuato sui valori di hs-cTnI misurati T0, è possibile apprezzare la presenza di un errore sistematico proporzionale, dato che la pendenza (0,8970) è vicina all'unità ma 1 non è compresa nell'intervallo di confidenza al 95% (0,8362 - 0,9792). L'analisi di regressione condotta sui valori di hs-cTnI a T1 invece, non dimostra nè errore sistematico nè costante, dato che lo 0 è compreso nell'intervallo di confidenza al 95% dell'intercetta (da -1,0898 a -0,7439) e l'unità è compresa nell'intervallo di confidenza al 95% della pendenza (0,8777 - 1,0347).

Inoltre, considerando la correlazione tra metodi in relazione alle concentrazioni, per valori di hs-cTnI misurati sia a T0 che a T1 a bassa concentrazione (≤ 100 ng/L) è possibile apprezzare la presenza di errore sistematico proporzionale, dato che le pendenze delle rette di regressione (T0: 0,8638 e T1: 0,8911 rispettivamente) sono vicine a 1 ma l'unità non è compresa nei rispettivi intervalli di confidenza (T0: 0,8156 - 0,9344; T1: 0,8159 - 0,9667).

L'analisi di regressione condotta invece su valori misurati a T1 >100 ng/L, evidenzia l'assenza di errori sistematici e costanti, dato che lo 0 è compreso all'interno degli intervalli di confidenza dell'intercetta (-142,7772 - 92,2776) e l'unità in quello della pendenza (0,5978 - 1,5285).

L'analisi dei grafici di Bland Altman dimostra una concordanza accettabile dei valori di cTnI misurati con i due metodi con un bias medio <10 , e comunque le differenze tra i valori misurati con i due metodi sia a T0 che a T1 non sono risultate statisticamente significative.

La quarta definizione universale di infarto miocardico stabilisce che l'URL della cTn, definito come il 99° percentile della distribuzione dei valori di cTnI in una popolazione di riferimento, rappresenta la soglia decisionale per la diagnosi di IMA (1). Poiché esiste ed è nota una sostanziale eterogeneità nei metodi per la determinazione di hs-cTnI con conseguenti differenze nei livelli decisionali (2,3), il confronto tra i risultati provenienti da diversi studi è fondamentale per utilizzare efficacemente la determinazione della hs-cTnI.

Questa situazione emerge chiaramente nello studio di comparazione presentato, dove si evidenziano maggiori discrepanze per i valori prossimi al livello decisionale sui campioni prelevati a T0 rispetto a quelli prelevati a T1.

In entrambe le analisi di comparazione i valori di cTnI misurati sono inferiori al livello decisionale del test Triage True e superiori al livello decisionale del test Access Beckman, ad eccezione di due casi: per il campione numero 41 i risultati di cTnI sono superiori al livello decisionale con entrambi i metodi ma si osserva un incremento nel tempo di differente entità ed in particolare con il metodo Triage True 241 ng/L (T0) e 224 ng/L (T1); con il metodo Access Beckman 58,9 ng/L (T0) e 71,9 ng/L (T1) rispettivamente. Per il campione numero 50 i valori di cTnI risultavano discordanti con i due metodi: negativi

per Access Beckman (3,3; 2,6 ng/L) e positivi per Triage True (114; 96,4 ng/L). È stato possibile confermare i dati solo con il metodo Access Beckman per insufficienza di campione. Le uniche informazioni disponibili sui pazienti erano il sesso (femmina) e la presenza conclamata di componente monoclonale, condizione che andrà attentamente valutata sul metodo POCT.

I due metodi dimostrano comunque una elevata concordanza di risultati: le differenze rilevate possono essere imputabili ai differenti livelli decisionali come pure a possibili interferenze endogene, come nel caso del campione appartenente al paziente con componente monoclonale è 1

È importante segnalare infine che il metodo POCT è stato valutato su campioni di plasma e non di sangue intero, utilizzando peraltro i livelli decisionali proposti per il plasma; come è noto, il valore del 99° percentile può essere diverso in relazione alla matrice del campione.

CONCLUSIONI

I risultati dello studio indicano che le prestazioni analitiche del test TriageTrue sono conformi a quelle previste nelle linee guida per i metodi di misura ad alta sensibilità delle troponine cardiache ed alle linee guida cliniche per l'utilizzo nei pazienti con sospetto IMA. Inoltre il metodo TriageTrue presenta un elevato livello di correlazione con il test hs-cTnI eseguito sulla strumentazione del Laboratorio Centrale.

Oltre alle caratteristiche delle prestazioni analitiche, TriageTrue MeterPro può essere definito un POCT vero e proprio (semplicità di utilizzo, dimensioni ridotte e velocità di esecuzione del test), che pertanto potrebbe essere collocato e utilizzato direttamente in un Dipartimento di Emergenza, soprattutto se questo è logisticamente lontano dal Laboratorio Centrale.

In conclusione l'utilizzo di questo sistema analitico potrebbe migliorare il processo decisionale clinico riducendo non solo i tempi di attesa per i pazienti ma consentendo anche un più rapido inquadramento clinico con un evidente vantaggio economico legato ad una corretta e precoce gestione clinica e terapeutica del paziente.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *Eur Heart J* 2019;3:237-69.
2. Collet JP, Thiele H, Barbato E, et al. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2021;42:1289-367.
3. Apple FS, Collinson PO, and the IFCC Task Force on Clinical Applications of Cardiac Biomarkers. Analytical characteristics of high-sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Chem* 2012;58:54-61.
4. Boeddinghaus J, Nestelberger T, Koechlin L, et al. Early diagnosis of myocardial infarction with Point-of-Care

- high-sensitivity cardiac troponin I. *J Am Coll Cardiol* 2020;75:1111-24.
5. Gresslien T, Agewall S. Troponin and exercise. *Int J Cardiol* 2016;221:609-21.
 6. Roffi M, Patrono C, Collet J.P, 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.
 7. Rampoldi E, Patrucco G, Casati M, et al. Principi per l'implementazione e la gestione del point-of-care-testing (POCT): indicazioni essenziali. *Biochim Clin* 2021;45:312-26.
 8. Clerico A, Zaninotto M, Plebani M. High-sensitivity assay for cardiac troponins with POCT methods. The future is soon. *Clin Chem Lab Med* 2021;59:1477-8.
 9. Instruction For Use: Quidel Triage True High Sensitivity Troponin I.97600EU.20 <https://www.quidel.com/sites/default/files/I2P6G7UMQFG6LCURSL.pdf> (Ultimo accesso: maggio 2022)
 10. Beckman Coulter. Acces hsTnl. C11140M. 2021. <https://www.beckmancoulter.com/it/products/immunoassay/access-hstni> (ultimo accesso: luglio 2022)
 11. Apple FS, Jaffe AS, Collinson P, et al. IFCC educational materials on selected analytical and clinical applications of high sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Biochem* 2015;48:201-3.