

Convegno Regionale SIBioC Emilia Romagna

Bologna 6 Dicembre 2019

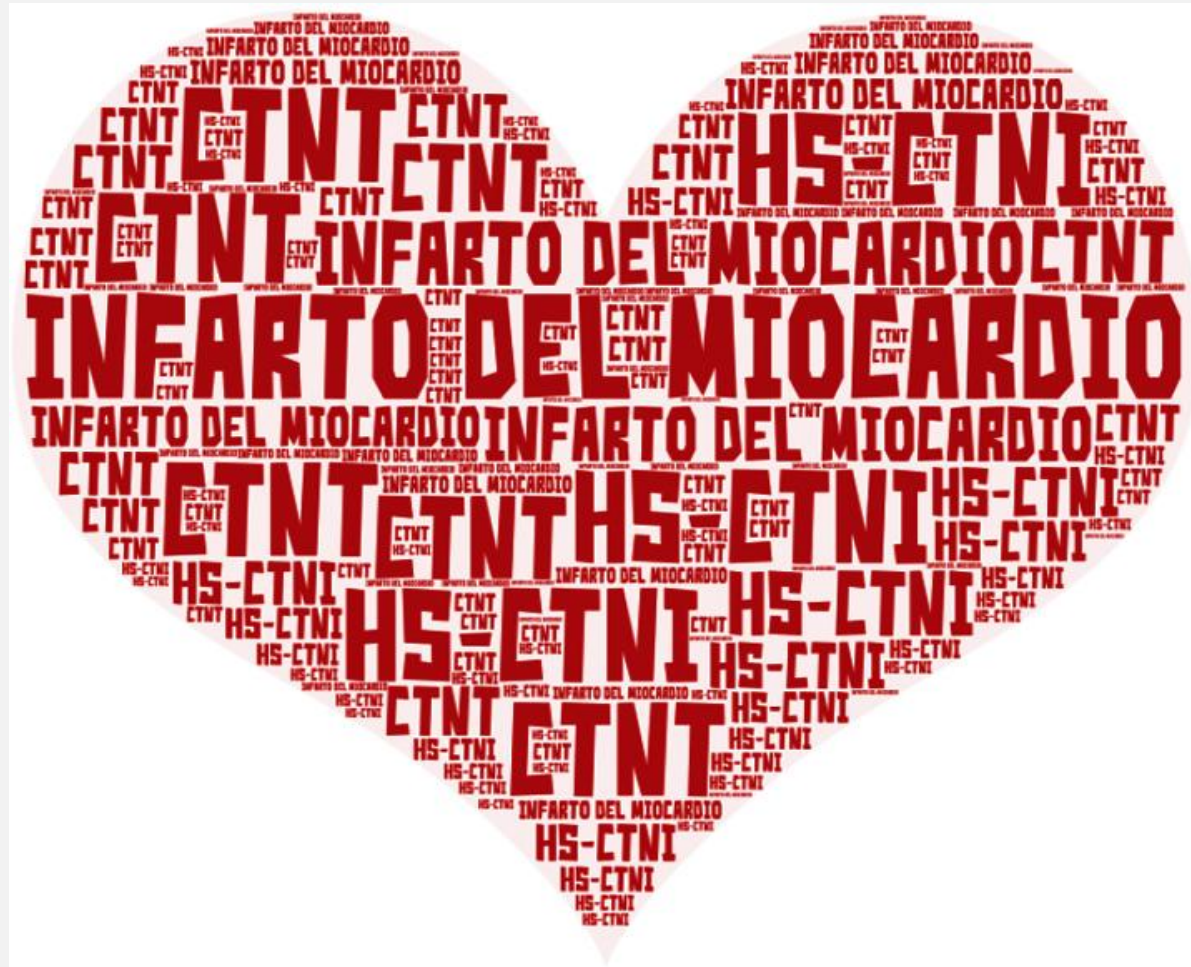
Stato dell'Arte dell'utilizzo delle troponine ad alta sensibilità



Aldo Clerico
Gruppo di Studio dei Biomarcatori Cardiaci
Intersocietario ELAS – SIBioC
clerico@ftgm.it



Stato dell'arte dei metodi ad alta sensibilità per la cTnI



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 Bio-Markers of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

Alan H.B. Wu,^{1*} Robert H. Christenson,² Dina N. Greene,³ Allan S. Jaffe,⁴ Peter A. Kavsak,⁵ Jordi Ordonez-Llanos,⁶ and Fred S. Apple⁷

DEFINIZIONE E SPECIFICHE DI QUALITA'

- Si definiscono test di laboratorio ad alta-sensibilità (*high sensitivity*) analitica per la misura delle troponine I e T esclusivamente i metodi immunometrici che sono in grado di misurare il 99° percentile della popolazione di riferimento con un errore (CV %) uguale o inferiore al 10%, come raccomandato da tutte le linee guida nazionali ed internazionali (primo criterio: *conditio sine qua non*).
- I metodi ad alta-sensibilità devono essere anche in grado di misurare i livelli circolanti delle troponine nella maggioranza dei soggetti adulti di una popolazione di riferimento (almeno 300 individui) costituita solo da donne o solo da uomini (secondo criterio di classificazione).



Head-to-head comparison of plasma cTnI concentration values measured with three high-sensitivity methods in a large Italian population of healthy volunteers and patients admitted to emergency department with acute coronary syndrome: A multi-center study^{☆, ☆☆}

Aldo Clerico^{a,*}, Andrea Ripoli^a, Martina Zaninotto^b, Silvia Masotti^a, Veronica Musetti^a,
Marcello Ciaccio^c, Rosalia Aloe^d, Sara Rizzardi^e, Ruggero Dittadi^f, Cinzia Carrozza^g,
Tommaso Fasano^h, Marco Perroneⁱ, Antonio de Santis^j, Concetta Prontera^a, Daniela Riggio^k,
Cristina Guiotto^l, Marco Migliardi^l, Sergio Bernardiniⁱ, Mario Plebani^b

^a Laboratorio Clinico, Fondazione CNR-Regione Toscana, G. Monasterio e Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa, Italy

^b Department of Laboratory Medicine, University-Hospital, Padova, Italy

^c Department of Laboratory Medicine, University-Hospital, Palermo, Italy

^d S. S. Dipartimentale Biochimica ad Elevata Automazione, Dipartimento Diagnostico Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, Parma, Italy

^e Azienda Socio-Sanitaria Territoriale di Cremona, UO Laboratorio analisi chimico cliniche e microbiologiche, Cremona, Italy

^f Ospedale dell'Angelo ULSS 3 Serenissima, Mestre, Italy

^g UOC Chimica, Biochimica e Biologia Molecolare Clinica, Fondazione Policlinico Universitario "A. Gemelli", IRCCS, and Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italy

^h Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche ed Endocrinologia (LACCE), Azienda Unità Sanitaria Locale - IRCCS di Reggio Emilia, Italy

ⁱ Università degli Studi Di Roma Tor Vergata, Dipartimento di Medicina, Roma, Italy

^j Laboratorio di Analisi Cliniche e Microbiologiche P.O. San Paolo – ASL Bari, Bari, Italy

^k Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Milan, Italy

^l S.C. Laboratorio Analisi, A.O. Ordine Mauriziano di Torino, Torino, Italy

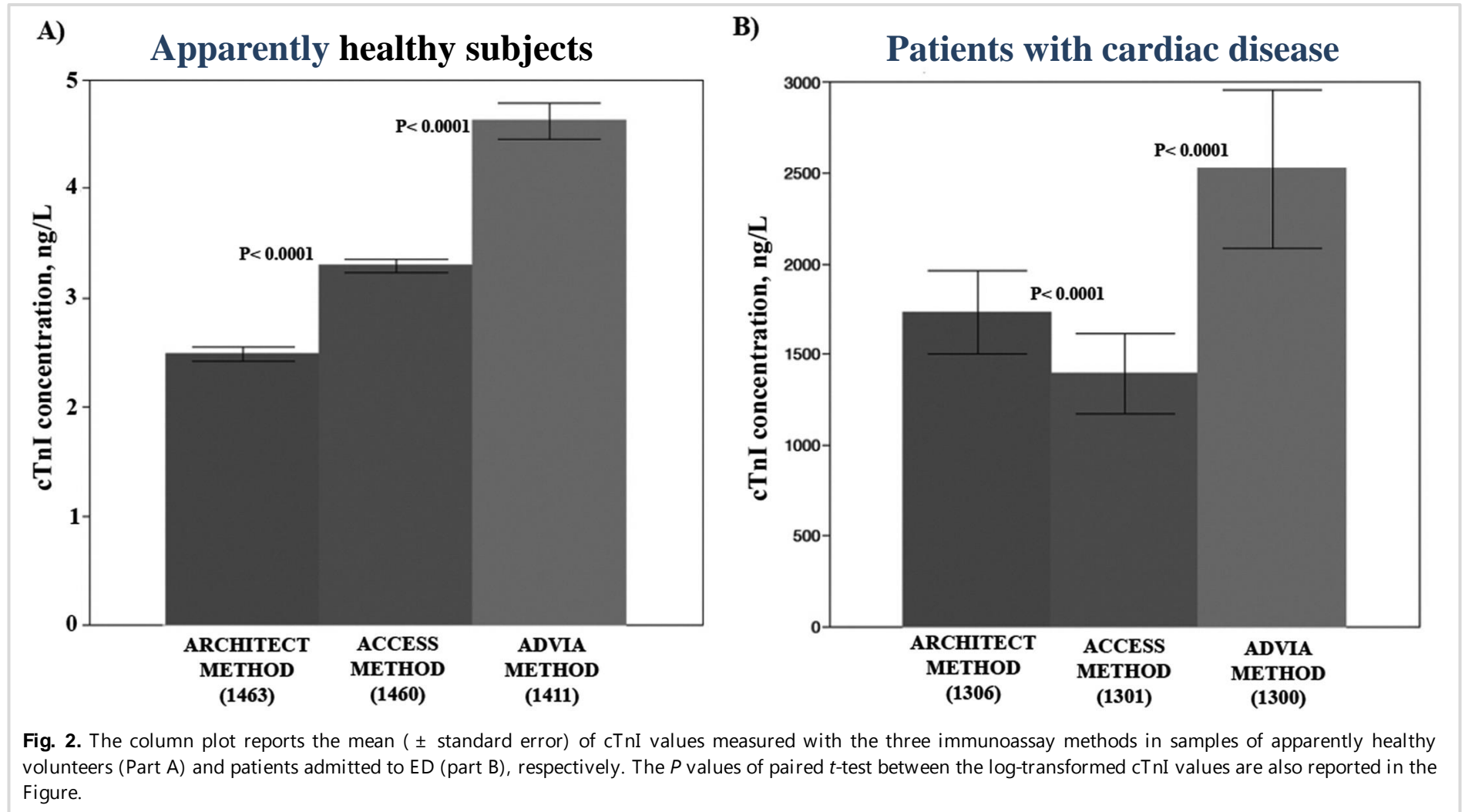
Parametri di sensibilità analitica di alcuni metodi per la misura della cTnI distribuiti in Italia dopo l'anno 2016

Metodi	LoB (ng/L)	LoD (ng/L)	LoQ 20% CV (ng/L)	LoQ 10% CV (ng/L)	Ratio
Architect	0,7	1,3	1,8	4,7	5,6
Access DxI	0,6	1,3	2,1	5,3	3,3
ADVIA XPT	1,0	2,2	3,5	8,4	5,6
CLEIA AIA	1,1	2,1	15,0	30,9	1

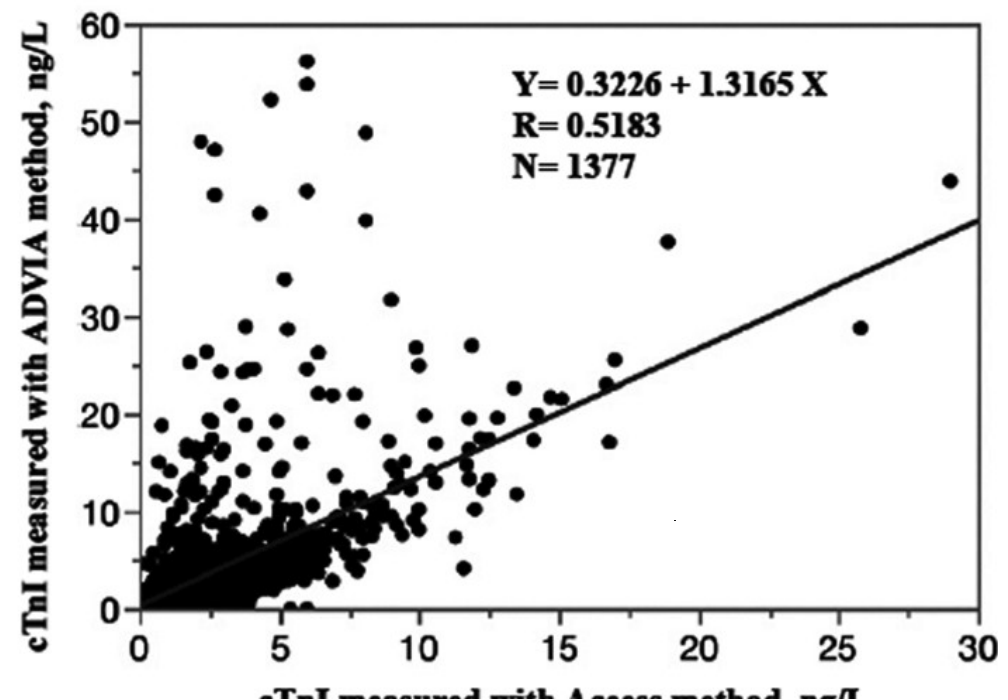
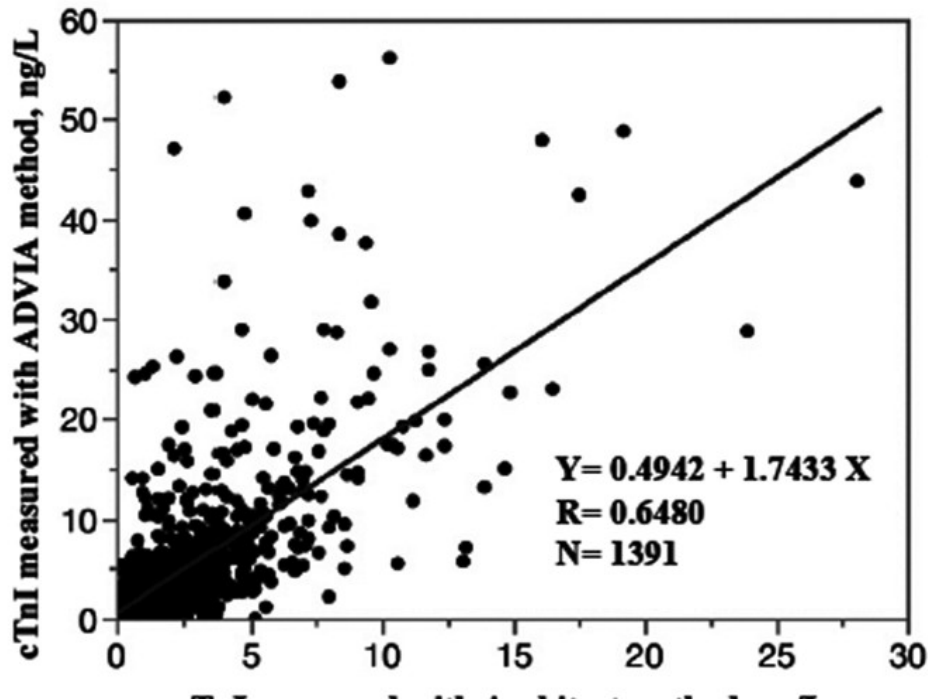
Il valore Ratio rappresenta il rapporto tra il valore del 99° percentile URL suggerito dal produttore e il valore di LoQ 10%CV misurato in laboratorio.

- **Architect:** metodo *Architect highly Sensitive TnI* per la piattaforma Architect i1000SR.
- **Access DxI:** metodo *Access hsTnI (IUO)* per la piattaforma DxI.
- **ADVIA XPT:** metodo *High-Sensitivity Troponin I (TNIH)* per la piattaforma Centaur XPT.
- **CLEIA AIA:** metodo *CL AIA-PACK cTnI TEST* per la piattaforma AIA-CL2400.

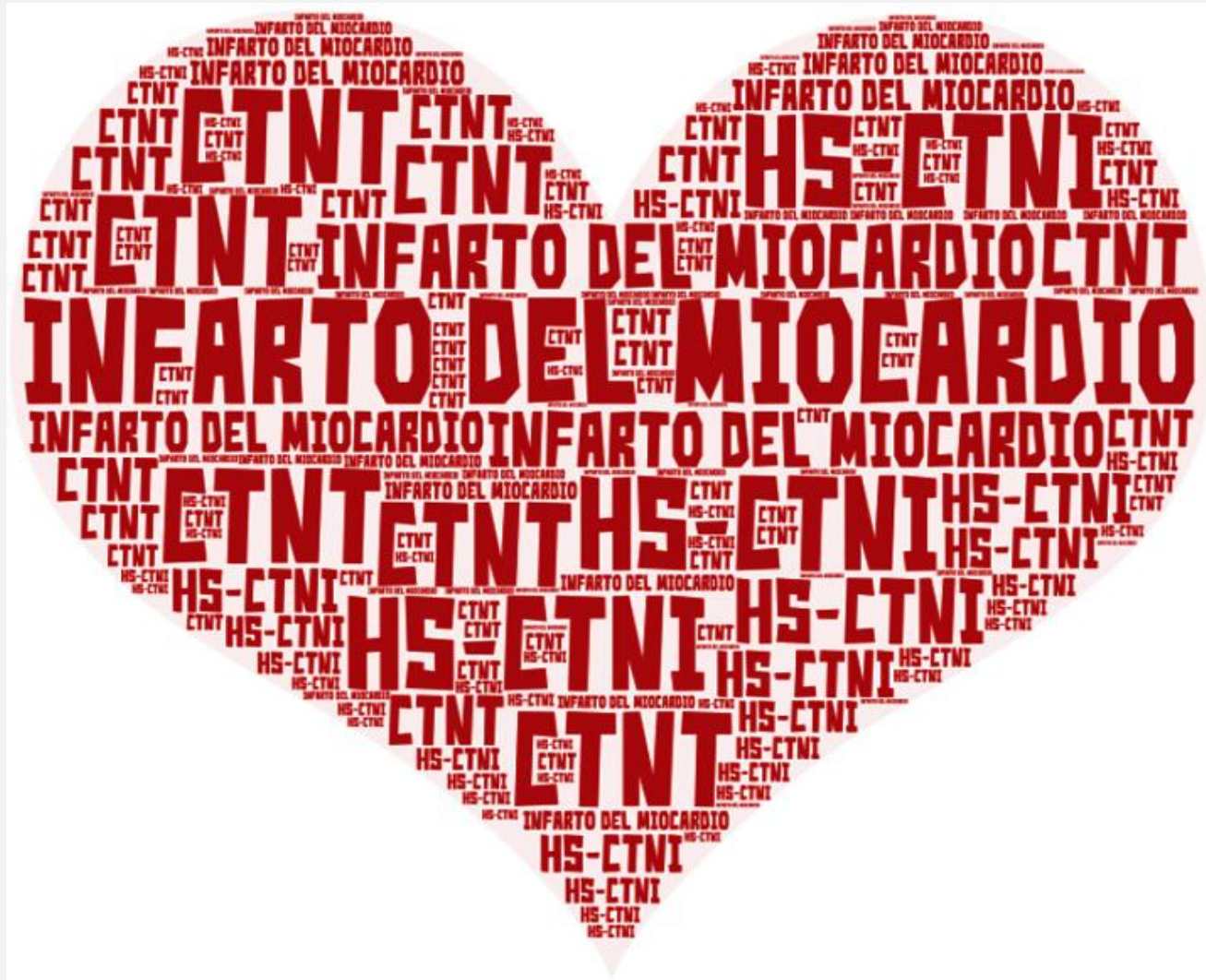
Head-to-head comparison of plasma cTnI concentration values measured with three high-sensitivity methods in a large Italian population of healthy volunteers and patients admitted to emergency department with acute coronary syndrome: A multi-center study^{☆,☆☆}



Head-to-head comparison of plasma cTnI concentration values measured with three high-sensitivity methods in a large Italian population of healthy volunteers and patients admitted to emergency department with acute coronary syndrome: A multi-center study ☆,☆☆



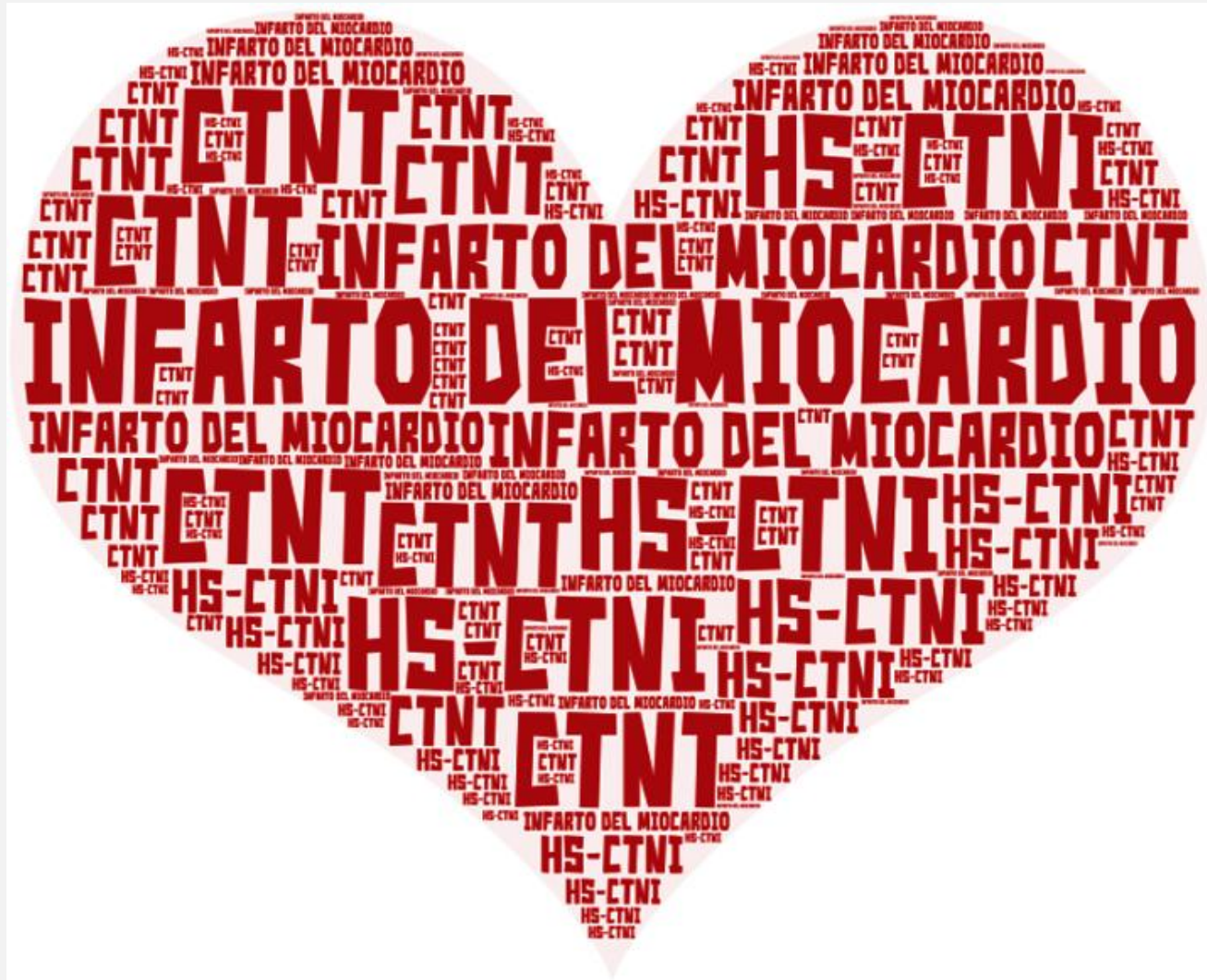
UTILIZZO DEI METODI AD ALTA SENSIBILITA' ANALITICA IN PRONTO SOCCORSO



VANTAGGI DELL'USO DEI METODI AD ALTA SENSIBILITA' ANALITICA IN PRONTO SOCCORSO

- Il più evidente vantaggio dell'uso di metodi ad alta sensibilità per la misura delle troponine cardiache è il risparmio di tempo nella diagnosi differenziale della sindrome coronarica acuta.
- Nell'anno 2000 occorreva per la diagnosi di IMA dalle 24 alle 48 ore, siamo poi passati a 6-12 ore intorno agli anni 2005-2010, ed infine a 3 ore (o addirittura meno) dopo il 2015 per il *rule-in* e *rule-out* dell'infarto del miocardio in Pronto Soccorso.

INTERPRETAZIONE CLINICA DELLA MISURA DELLE TROPONINE CON METODI AD ALTA SENSIBILITA' IN PRONTO SOCCORSO



Fourth universal definition of myocardial infarction (2018)



ESC

European Society
of Cardiology

European Heart Journal (2018) 00, 1–33
doi:10.1093/eurheartj/ehy462

Universal definitions of myocardial injury and myocardial infarction

Criteria for myocardial injury

The term myocardial injury should be used when there is evidence of elevated cardiac troponin values (cTn) with at least one value above

Criteria for myocardial injury

The term myocardial injury should be used when there is evidence of elevated cardiac troponin values (cTn) with at least one value above the 99th percentile upper reference limit (URL). The myocardial injury is considered acute if there is a rise and/or fall of cTn values.

the following.

- Symptoms of myocardial ischaemia;
- New ischaemic ECG changes;
- Development of pathological Q waves;
- Imaging evidence of new loss of viable myocardium or new regional wall motion abnormality in a pattern consistent with an ischaemic aetiology;
- Identification of a coronary thrombus by angiography or autopsy (not for types 2 or 3 MIs).

Post-mortem demonstration of acute athero-thrombosis in the artery supplying the infarcted myocardium meets criteria for *type 1 MI*.

Evidence of an imbalance between myocardial oxygen supply and demand unrelated to acute athero-thrombosis meets criteria for *type 2 MI*.

Cardiac death in patients with symptoms suggestive of myocardial ischaemia and presumed new ischaemic ECG changes before cTn values become available or abnormal meets criteria for *type 3 MI*.

DEFINIZIONE DI DANNO MIOCARDICO

- Il termine «danno miocardico» (*myocardial injury*) dovrebbe essere utilizzato nella pratica clinica quando vi è una evidenza di elevati valori di troponine cardiache (preferibilmente misurate con metodi *high-sensitivity*) con almeno un valore al di sopra del 99° percentile URL.
- Il danno miocardico è considerato «acuto» quando si può evidenziare una cinetica in aumento e/o diminuzione dei livelli del biomarcatore in una serie di campioni dello stesso paziente.



Dal danno miocardico all'infarto del miocardio (I)

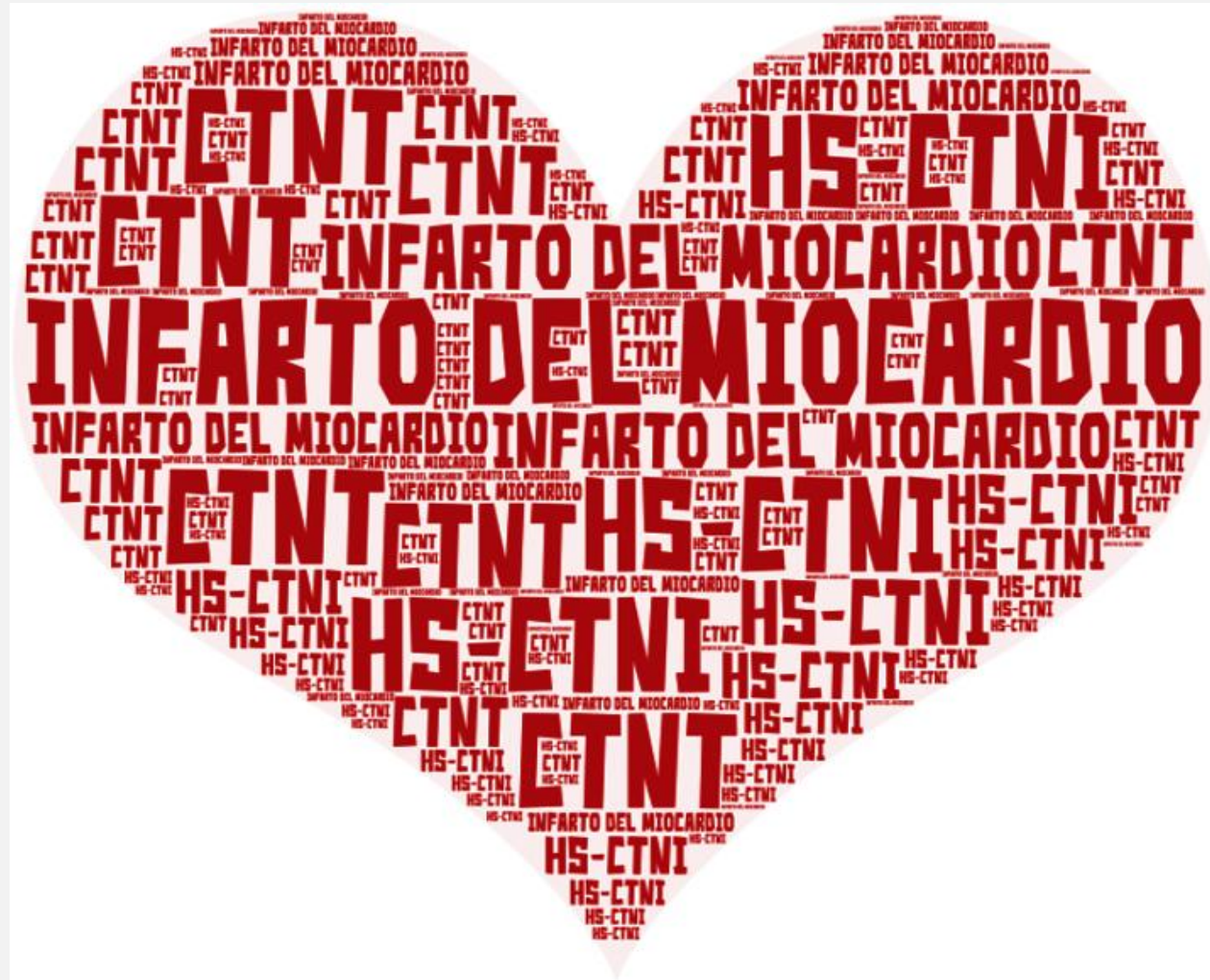
- Il documento *Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction* pone in primo piano la “certificazione” della presenza di un danno cardiaco (*myocardial injury*), che assume, quindi, una valenza non solo fisiopatologica e clinica, ma anche anatomopatologica e medico legale.
- Di fatto, si raccomanda al clinico di eseguire la misura della cTnI o cTnT, preferibilmente con metodi ad alta sensibilità, in tutti i soggetti/pazienti in cui vi sia un sospetto di malattia cardiovascolare.
- La presenza di un valore di hs-cTn al di sopra del 99° percentile URL, stabilisce la presenza clinica del danno cardiaco.

Dal danno miocardico all'infarto del miocardio (II)

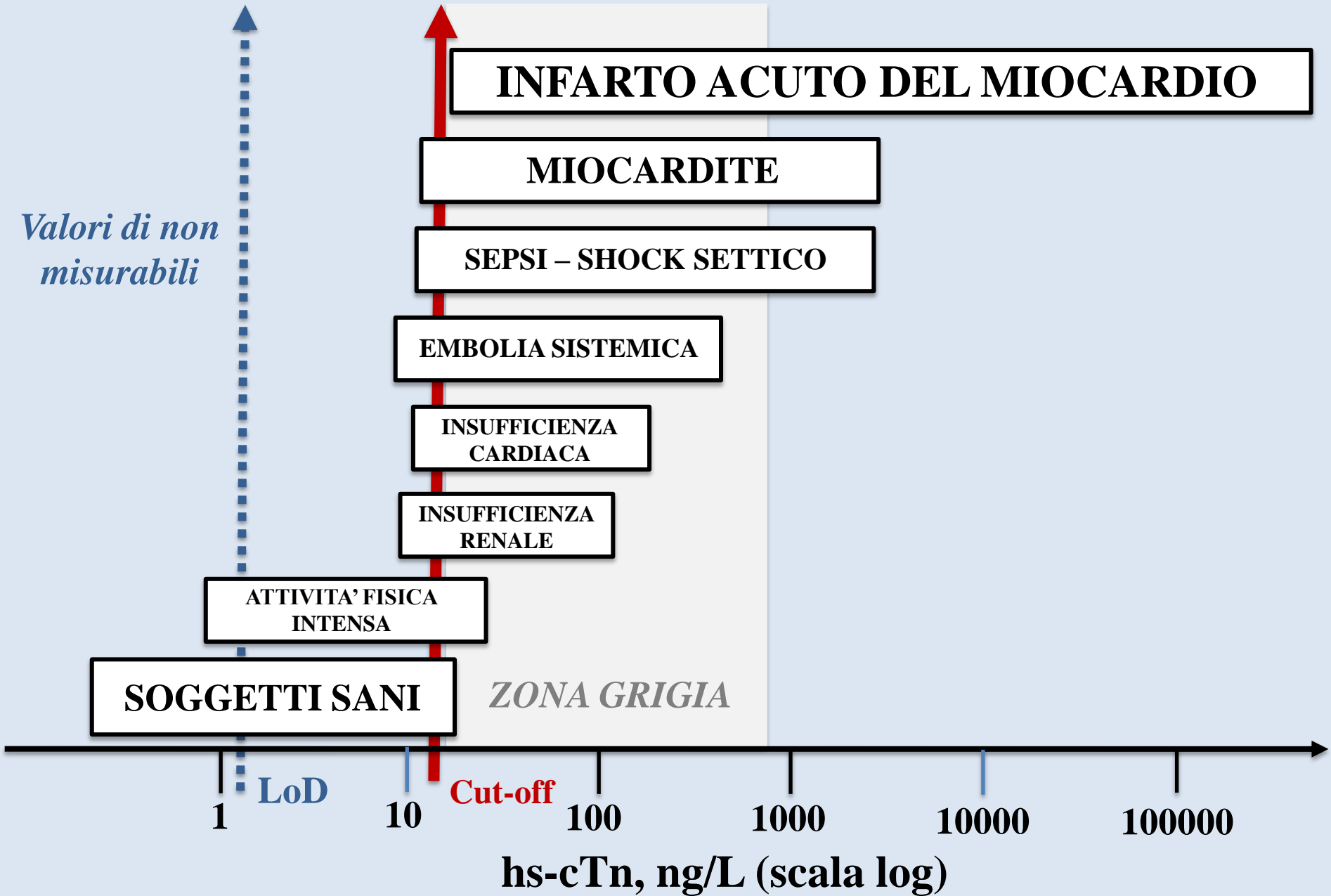
Determinata la presenza del danno miocardico, si deve stabilire se il paziente presenta un infarto acuto del miocardio (IMA):

- Dapprima, mediante la cinetica delle hs-cTn, utilizzando almeno due campioni in serie del paziente (generalmente un campione basale e dopo 3 ore), si deve accertare se vi è un aumento (o una diminuzione) significativa dei valori di hs-Tn nel tempo (evidenza di danno acuto).**
- Successivamente, si potrà porre diagnosi di IMA se il danno è acuto e il paziente presenta clinicamente una ischemia miocardica per una grave alterazione del flusso coronarico (IMA Tipo 1), oppure se presenta un apporto insufficiente di ossigeno da parte del flusso coronarico rispetto alle richieste del miocardio (IMA Tipo 2).**

Purtroppo un aumento della sensibilità (analitica o clinica) si accompagna sempre ad una diminuzione della specificità.



Intervallo di riferimento > 99° Percentile URL - DANNO MIOCARDICO



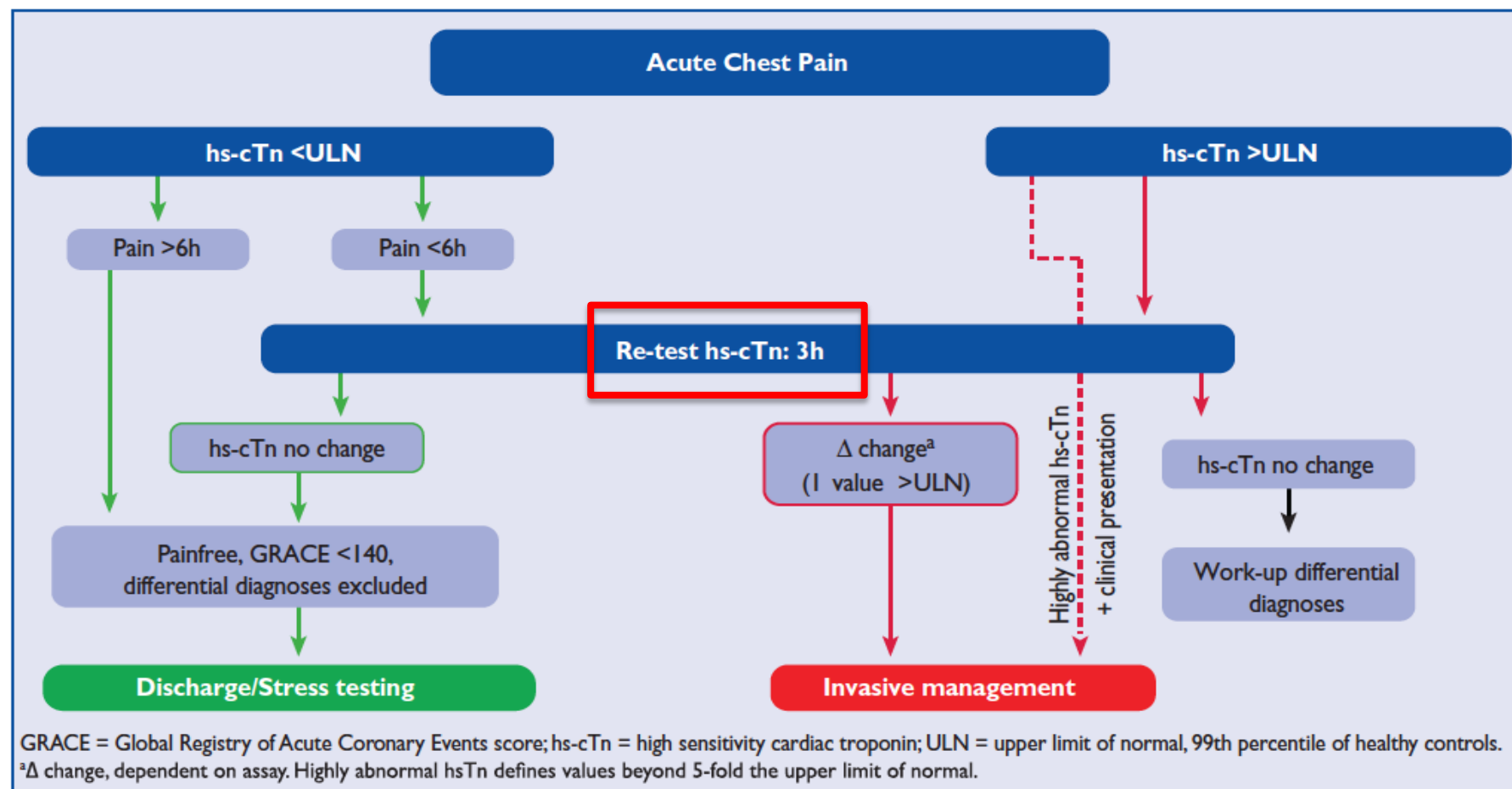
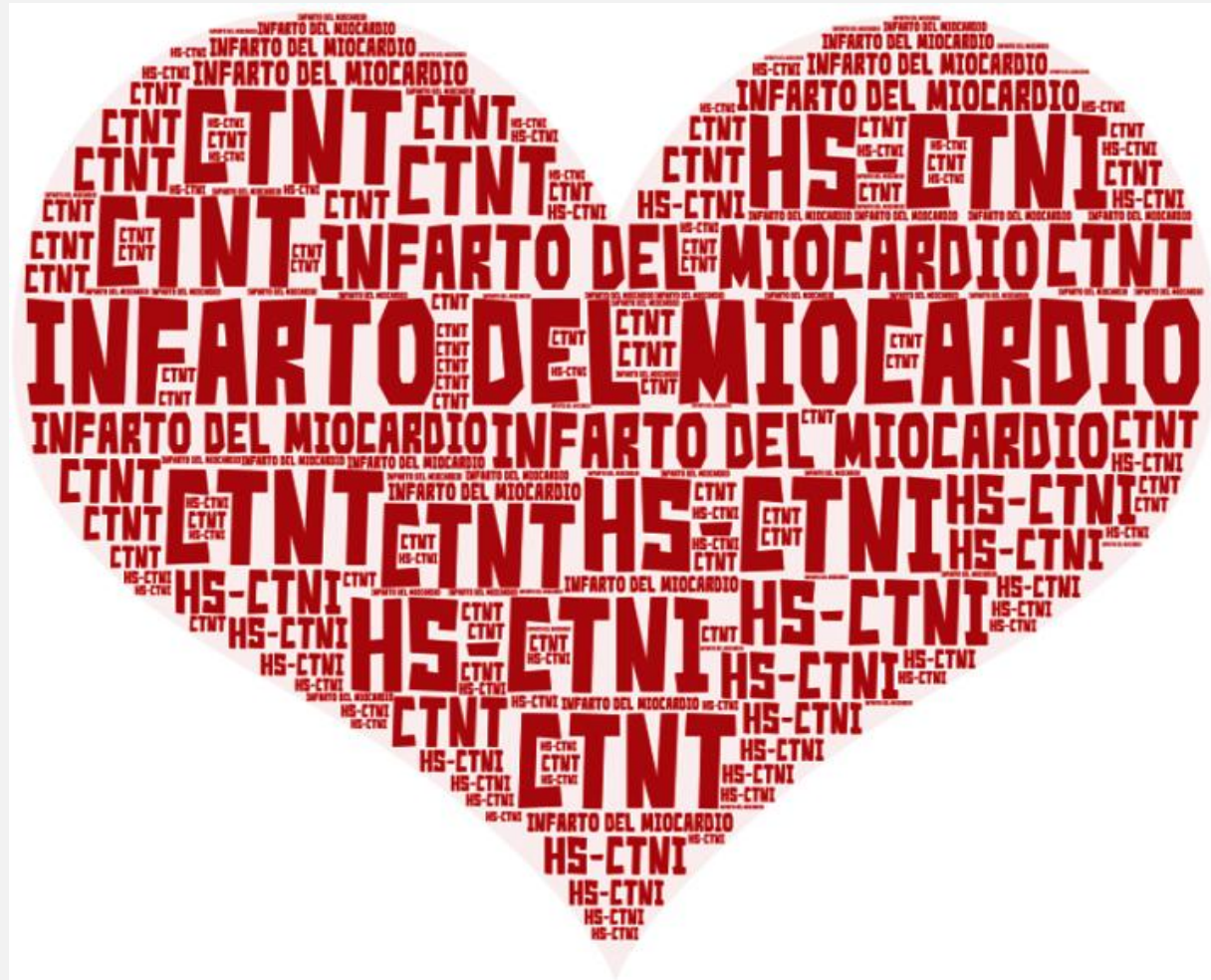


Figure 2 0 h/3 h rule-out algorithm of non-ST-elevation acute coronary syndromes using high-sensitivity cardiac troponin assays.

Nuove applicazioni cliniche dei metodi hs-cTn

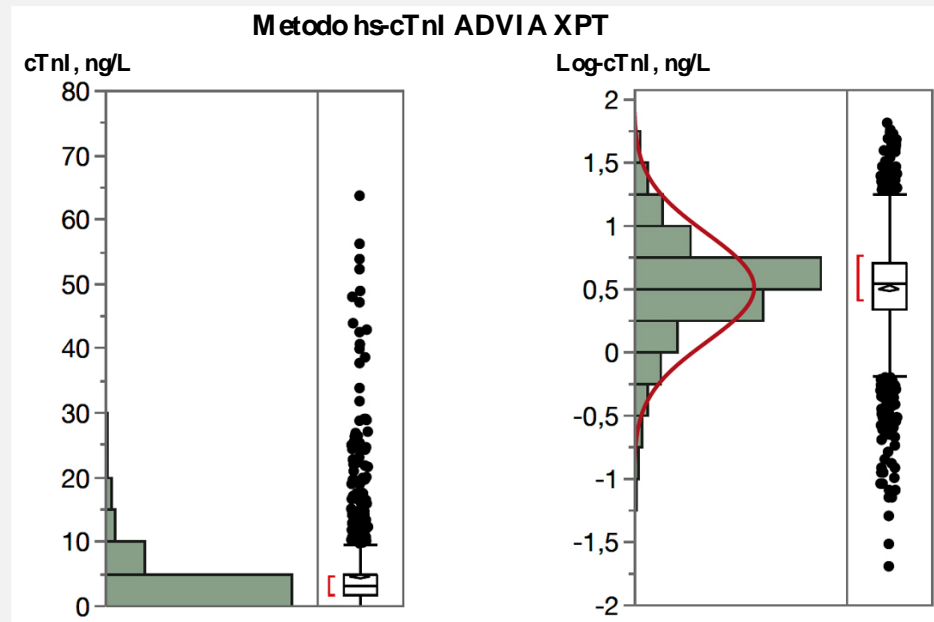
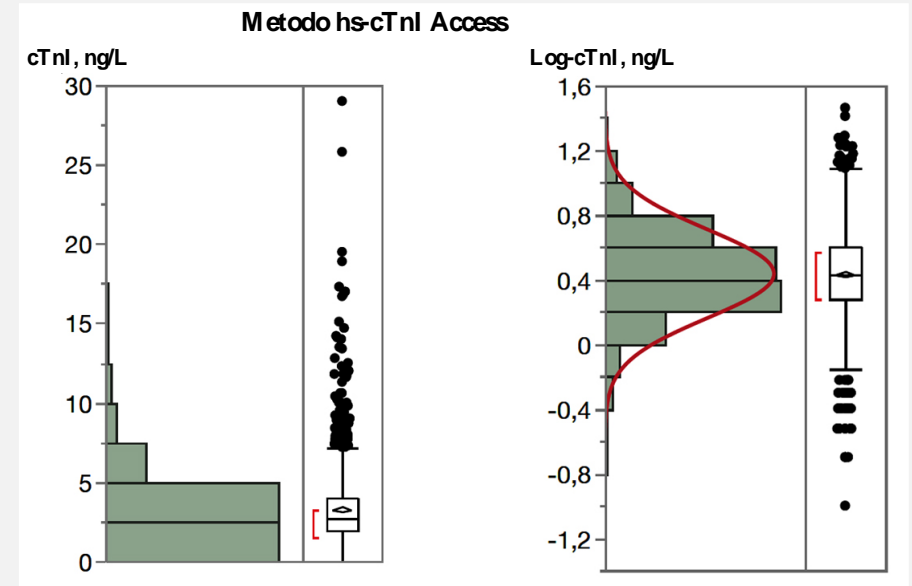
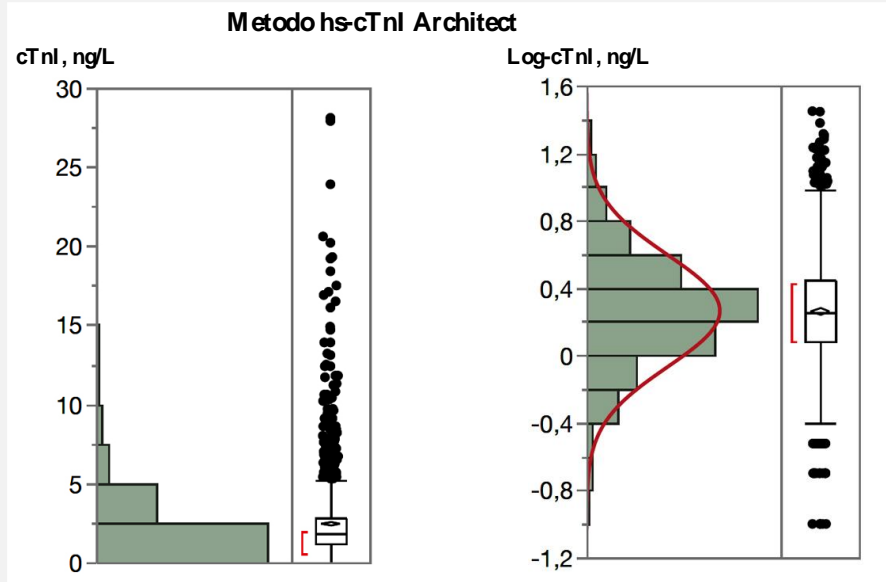


Rilevanza fisiopatologica dei livelli «normali» di cTnI e cTnT

- Dal punto di vista fisiopatologico, si può ipotizzare che la misura delle troponine cardiache I e T con metodi ad elevata sensibilità fornisca una stima del turnover (fisiologico o patologico) della cellula miocardica (*cardiomyocyte renewal*).
- Infatti, i metodi ad elevata sensibilità della cTnI hanno dimostrato che mediamente i soggetti adulti sani presentano un 99° percentile URL (15-45 ng/L), che sono compatibili con un turnover cardiaco giornaliero di circa 30-40 mg, simile a quello determinato sperimentalmente in mammiferi e nell'uomo*.

* Cardiomyocyte Regeneration. A Consensus Statement. Circulation 2017;136:680-6

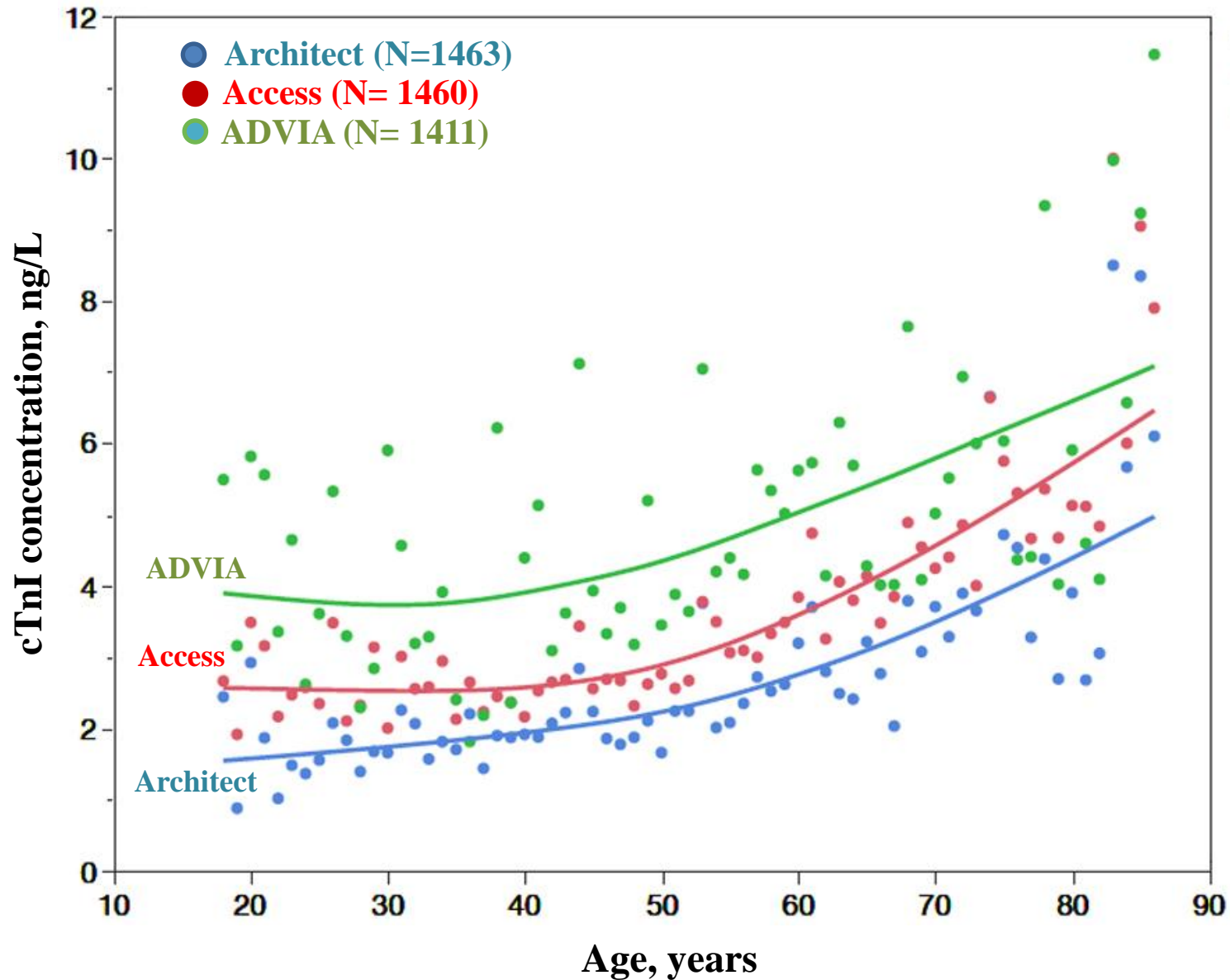
Parametri di distribuzione dei valori di hs-cTnI nella popolazione adulta italiana (circa 1500 soggetti, età 18-86 anni, F/M 0,95)



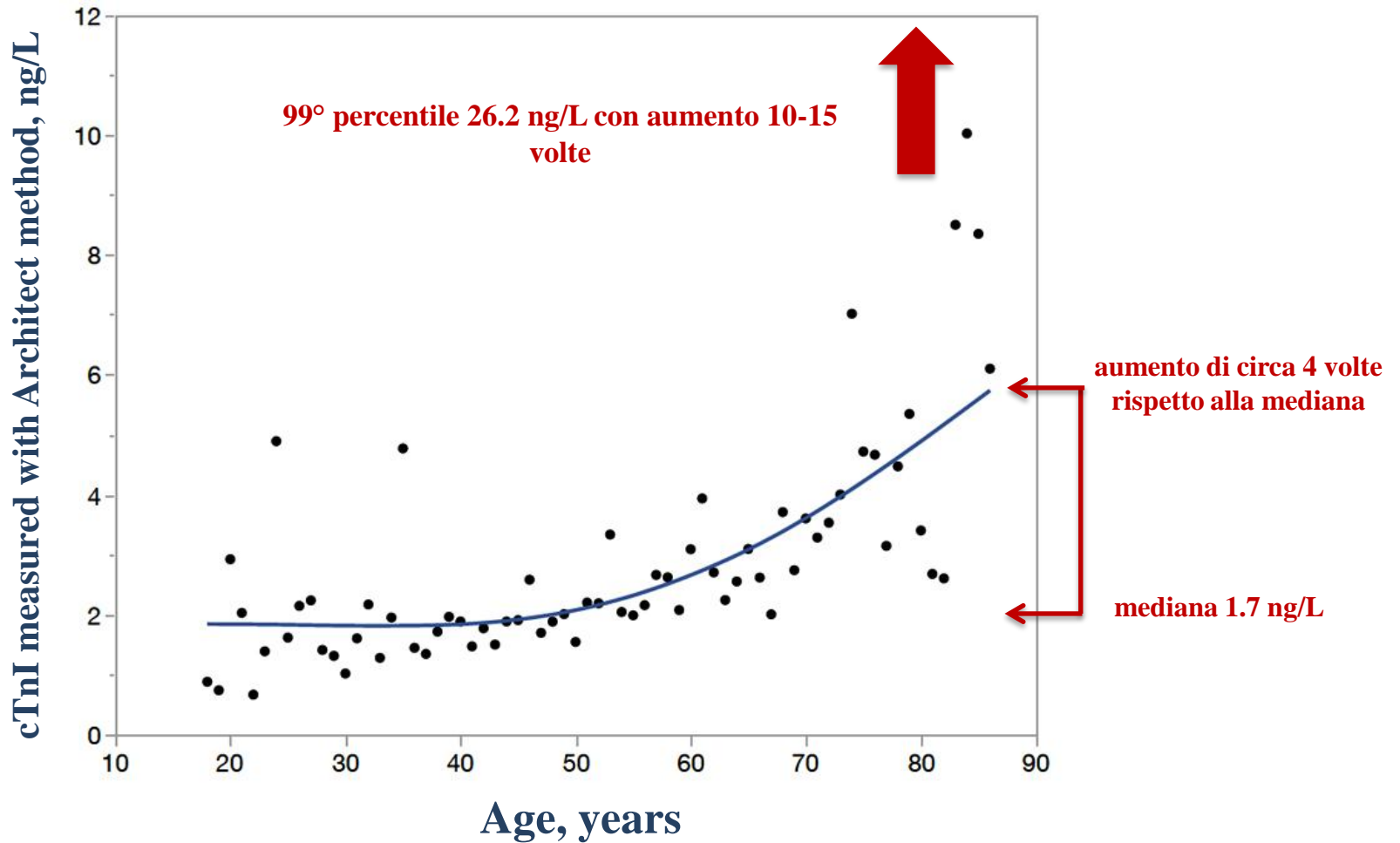
Parametri di distribuzione dei valori di hs- cTnI nella popolazione adulta Italiana

Population groups	Mean±SD	Median	25 th percentile	75 th percentile	97.5 th percentile	99 th percentile	99 th per c. BS* (95% CI) (99% CI)
ARCHITECT							
Whole Population (N= 1463)	2.5±2.6	1.8	1.2	2.8	9.6	18.9	14.4 (12.0-17.5) (11.4-19.2)
Women (N=699)	1.8±1.7	1.4	0.9	2.3	6.5	11.5	9.7 (6.8-12.4) (6.7-12.5)
Men (N=764)	3.1±3.1	2.1	1.5	3.4	12.3	21.2	17.2 (14.2-20.6) (13.4-23.9)
ACCESS							
Whole Population (N= 1460)	3.3±2.5	2.7	1.9	4.0	10.0	16.8	13.1 (11.8-15.2) (11.7-16.8)
Women (N=703)	2.7±1.9	2.3	1.6	3.2	6.4	15.5	9.2 (7.2-14.2) (6.6-16.8)
Men (N=757)	3.9±2.8	3.2	2.3	4.6	11.8	17.5	14.0 (12.4-17) (12.1-19.5)
ADVIA							
Whole Population (N= 1411)	4.6±6.1	3.3	1.8	4.9	22.1	46.9	33.5 (26.2-42.8) (25.2-47.1)
Women (N=680)	3.5±4.8	2.7	1.1	3.9	14.7	38.1	24.7 (16.3-37.8.) (15.8-40.2)
Men (N=731)	5.7±7.0	3.9	2.6	5.6	26.0	50.0	41.8 (28.7-48.8) (26.6-52.2)

Spline interpolation analysis of cTnI values and age in apparently healthy subjects of both sexes (range 18-86 years, F/M= 0,95) measured with 3 hs-cTnI methods



Spline interpolation analysis of cTnI values and age in healthy subjects of both sexes (range 18-86 years, N= 1463, F/M= 0.95)



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 Bio-Markers of the
International Federation of Clinical Chemistry and
Laboratory Medicine

Alan H.B. Wu,^{1*} Robert H. Christenson,² Dina N. Greene,³ Allan S. Jaffe,⁴ Peter A. Kavsak,⁵
Jordi Ordonez-Llanos,⁶ and Fred S. Apple⁷

Using hs-cTn assays, biological variation studies have shown that cTn has a low index of individuality; i.e., intraindividual variances are only a fraction of the total group variances (61). This implies that serial testing provides a better means for diagnosis than use of a population-based upper reference interval. A significant change in cTn concentrations on samples collected over time improves the clinical specificity of cTn.

Una migliore strategia sembra quindi quella di confrontare due campioni in serie dello stesso individuo: uno che si riferisce ad uno stato ritenuto «basale» rispetto ad un successivo «controllo».

Reference Change Value (RCV)

According to Callum G. Fraser, the bidirectional Z-score RCV between two results (CI 95%) can be calculated by considering both the analytical variability of the method (CV_A) and the intra-individual variability (CV_I), using the following formula:

$$**RCV = 1.96 [2(CV_A^2 + CV_I^2)]^{1/2}**$$

CV_A : analytical variability of the method (ranging from 30% for cTnI of 2 ng/L to 5% for cTnI > 15 ng/L)

CV_I : intra-individual variability (for cTnI 9%)

24-h biological variation profile of cTnI measured by Architect method in individuals with or without chronic kidney disease (CKD)

Table 1. Hour-to-hour biological variation in individuals with or without chronic kidney disease.

	1-h		3-h ^c		6-h ^d	
	No CKD n = 18	CKD n = 18	No CKD n = 18	CKD n = 18	No CKD n = 18	CKD n = 18
Variance components						
CV _G	49.4 (37.1-74.2)	62.4 (46.8-93.5)	48.0 (35.9-71.1)	61.6 (46.2-92.4)	48.6 (36.2-73.1)	61.6 (46.1-92.5)
CV _I	8.6 (7.6-9.7)	7.7 (7.1-8.4)	9.4 (7.6-11.5)	8.7 (7.5-10.2)	9.2 (6.2-12.4)	8.9 (7.1-11.3)
CV _A ^a	10.0 (9.4-10.8)	5.6 (5.2-6.0)	9.9 (8.8-11.2)	5.6 (5.0-6.3)	10.1 (8.7-12.1)	5.9 (5.0-7.0)
RCV ^b						
Normal	36.7	26.4	37.9	28.6	37.5	29.5
Log-normal ^e	-30.6; 44.0	-23.16; 30.15	-31.4; 45.8	-24.8; 33.0	-31.4; 45.7	-25.5; 34.2
Index of individuality	0.27	0.15	0.28	0.17	0.28	0.17

^a On the basis of duplicate measurements.
^b on the basis of a Z-score of 1.96.
^c 3-h intervals: 10:30 AM-1:30 PM, 1:30 PM-4:30 PM, 4:30 PM-7:30 PM, 7:30 PM-10:30 PM, 1:30 AM-4:30 AM, and 4:30 AM-7:30 AM.
^d 6-h intervals: 10:30 AM-4:30 PM, 4:30 PM-10:30 PM, and 10:30 PM-4:30 AM.
^e Owing to the non-normally distributed nature of cardiac troponin I concentrations, log-normal RCVs may possess better biological plausibility.
Values are % (95% CI); CI = confidence interval; CV_A = analytical coefficient of variation; CV_G = between-subject coefficient of variation; CV_I = within-subject biological coefficient of variation; RCV = reference change value.

(Van der Linden et al. Clin Chem 2017; 63:1655-6)

Reference Change Value (RCV) and absolute critical change (D change) of the hs-cTnI method using Architect platform in the range of cTnI concentration from 2 ng/L to 40 ng/L

cTnI concentration (ng/L)	CV _A (%)	RCV 95% CI (%)	Δ Change 95% CI (ng/L)	RCV 99% CI (%)	Δ Change 99% CI (ng/L)
2	18.1	56.1	1.1	73.8	1.5
5	9.8	36.9	1.8	48.6	2.4
10	7.0	31.6	3.2	41.6	4.2
15	6.1	30.1	4.5	39.7	6.0
20	5.6	29.4	5.9	38.6	7.7
40	4.9	28.4	11.4	37.3	14.9

CV_A: Analytical variability evaluated according to the imprecision profile

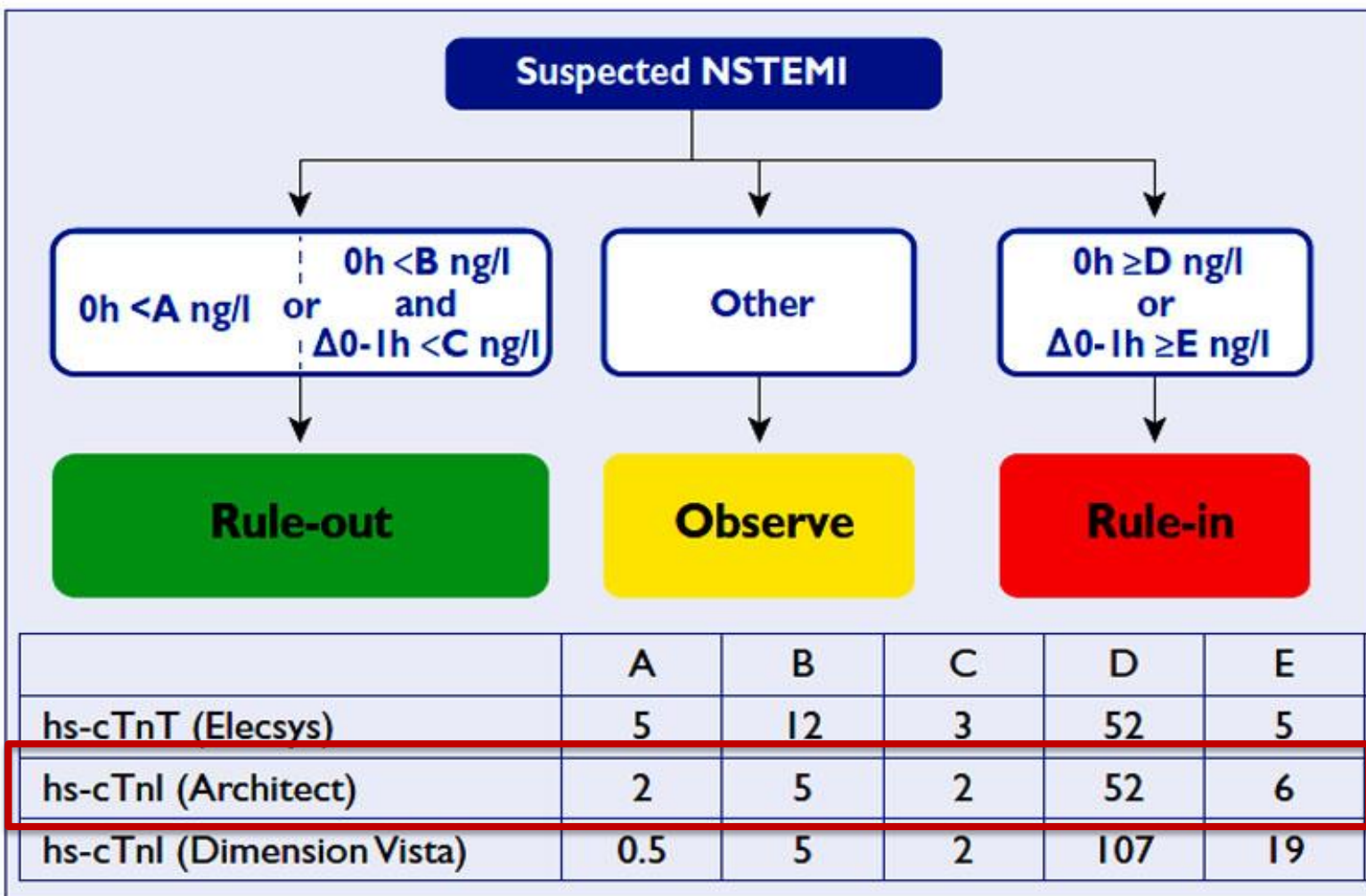
RCV 95% and 99%: Reference Change Values calculated at the probability of 95% and 99% CI, respectively.

Δ Change 95% and 99%: Absolute critical change calculated at the probability of 95% and 99%, respectively. These change values were calculated assuming an intra-individual variability (CV_I) in healthy adult subjects of 9%, as reported by Van der Linden et al. (6). According to the results reported in Figure 1, the analytical variability per cTnI values ≥ 40 ng/L is constant and equal to about 5%, and so the RCV 95% and 99% CI are also constant and equal to about 28 % and 37 %, respectively.

Questi dati possono essere utilizzati per verificare se esiste una differenza significativa tra due valori di hs-cTnI, misurati in due campioni prelevati dallo stesso paziente in tempi differenti.

(Musetti V et al. Clin Chem Lab Med 2019;57:e241-e243)

1 hour rule-in and rule-out algorithms using hs-cTn assays

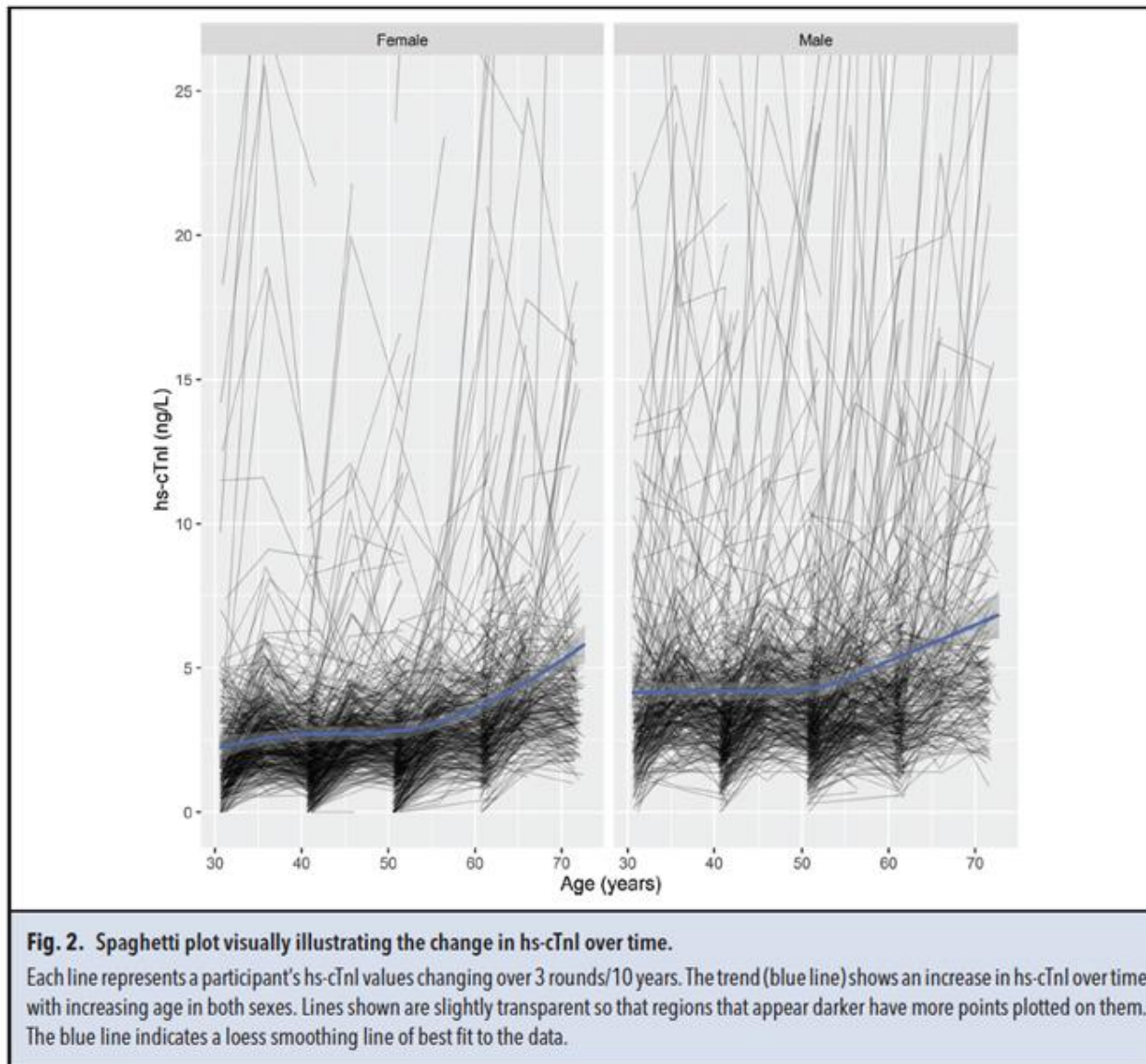


Già negli anni 2016-2017, tre meta-analisi hanno dimostrato che il rischio cardiovascolare correla positivamente con l'aumento della concentrazione del biomarcatore nei soggetti apparentemente sani di entrambi i sessi, anche per valori di cTnI e cTnT inferiori al 99° percentile URL.

Sze J et al. Cardiac troponin and its relationship to cardiovascular outcomes in community populations - A systematic review and meta-analysis. Heart Lung Circ 2016;25:217-28.

Van der Lindel et al. Prognostic value of basal high-sensitive cardiac troponin levels on mortality in the general population: a meta-analysis. Medicine 2016;95:e5703.

Willeit P, Welsh P, Evans JDW, et al. High-sensitivity cardiac troponin concentration and risk of first-ever cardiovascular outcomes in 154,052 participants. J Am Coll Cardiol 2017;70:558-68.



CONCLUSIONS The change in hs-cTnI in 5-years intervals better predicts risk of CVD in the general population.

Valori decisionali del rischio nella popolazione generale per la hs-cTnI suggeriti dallo studio HUNT

Risk	Troponin Level	
	Male (pg/mL)	Female (pg/mL)
Low	< 6	< 4
Moderate	$\geq 6 - \leq 12$	$\geq 4 - \leq 10$
Elevated	> 12	> 10

I dati riportati della tabella dimostrano che anche il terzile a più elevato rischio (> 30% di mortalità) presenta valori di hs-cTnI al di sotto del 99° percentile URL specifico per il sesso (15,6 ng/L nelle donne e 34,2 ng/L negli uomini).

CONCLUSIONI

- Il dosaggio delle troponine cardiache I e T è cardio-specifico, ma non malattia-specifico (non è un test infarto miocardico Si/No).
- I nuovi metodi ad alta sensibilità per le troponine richiedono quindi da parte degli esperti di medicina di laboratorio e soprattutto dei clinici una attenta riflessione riguardo al quesito diagnostico per cui il test viene richiesto.
- I nuovi metodi ad alta sensibilità per le troponine possono quindi fornire informazioni diagnostiche e prognostiche essenziali che però necessitano di essere interpretate alla luce del quadro clinico del paziente.

CONCLUSIONI

- **Livelli circolanti crescenti di hs-cTnI, anche all'interno dell'intervallo di normalità, sono associati a prognosi peggiore non solo nei pazienti con insufficienza cardiaca, ma anche in soggetti a rischio, che non presentano ancora i sintomi dello scompenso cardiaco.**
- **Il valore prognostico dei valori della cTnI, misurati con metodi ad alta-sensibilità, risulta indipendente ed additivo rispetto agli altri fattori classici di rischio.**
- **Sebbene le linee guida non raccomandino ancora l'utilizzo dei metodi hs-cTnI per lo screening nella popolazione generale, molte evidenze supportano il loro utilizzo almeno in sotto-gruppi di soggetti che potrebbero essere a rischio di presentare rimodellamento cardiaco progressivo.**

SIBioC - ELAS
Gruppo di Studio dei Biomarcatori Cardiaci



GRAZIE PER L'ATTENZIONE !



Aldo Clerico
Gruppo di Studio dei Biomarcatori Cardiaci
Intersocietario ELAS - SIBioC
clerico@ftgm.it

