



**UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**

Collegium Medicum
im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Bydgoszcz 2023 r.



**UNIwersytet
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**
Wydział Lekarski
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Piotr Gajewski

**Oznaczanie sercowej troponiny I - nowoczesne rozwiązania w celu
poprawy postępowania diagnostyczno-klinicznego u pacjentów
z podejrzeniem ostrego zespołu wieńcowego**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor:

dr hab. Magdalena Krintus, prof. UMK

Drugi promotor

prof. dr hab. Marek Koziński

Bydgoszcz 2023 r.

W sposób szczególny pragnę podziękować

Pani Profesor Magdalenie Krintus,

oraz

Panu Profesorowi Markowi Kozińskiemu,

*promotorom mojej pracy, za poświęcony mi czas, cenne uwagi i wskazówki
merytoryczne oraz pomoc w przygotowaniu niniejszej rozprawy.*

*Pragnę również złożyć podziękowania pracownikom
Katedry i Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej CM UMK w Bydgoszczy, Zakładu Diagnostyki
Laboratoryjnej Szpitala Uniwersyteckiego nr 1 im. dr. A. Jurasza w Bydgoszczy*

Pracę dedykuję mojej ukochanej Rodzinie

Spis treści

1. Wykaz skrótów	9
2. Wstęp	11
2.1. Ostre zespoły wieńcowe	12
2.1.1. Epidemiologia OZW w Polsce	14
2.1.2. Diagnostyka AMI	15
2.1.3. Biomarkery używane w diagnostyce uszkodzenia i martwicy mięśnia sercowego	16
2.1.4. Struktura, funkcje i właściwości biologiczne cTn	17
2.1.5. Standaryzacja i harmonizacja metod do oznaczania stężenia cTnI	19
2.1.6. Zastosowanie szybkich protokołów diagnostycznych w celu wykluczenia AMI	21
2.1.7. Definicja, charakterystyka analityczna i aspekty kliniczne zastosowania wysokoczułych testów do oznaczania cTn	24
2.1.8. Oznaczanie stężenia hs-cTnI na zautomatyzowanych platformach immunochemicznych	26
2.2. Czas oczekiwania na wynik badania (TAT) jako istotny wskaźnik jakościowy procesu diagnostycznego	28
2.3. Wpływ hemolizy na wyniki uzyskiwane w MLD	30
2.3.1. Definicja hemolizy	30
2.3.2. Interferencje analityczne związane z obecnością hemolizy	30
2.3.3. Przyczyny występowania hemolizy <i>in vitro</i>	31
2.3.4. Indeks hemolizy	32
2.4. Nowoczesne systemy probówkowe	32

2.4.1.	Rodzaj uzyskiwanego materiału w probówkach BD PSTII™ i BD Barricor™ ..	32
2.4.2.	Różnice pomiędzy probówkami BD PSTII™ i BD Barricor™ ..	33
3.	Cel pracy ..	36
4.	Metody badawcze ..	37
4.1.	Część analityczna ..	37
4.1.1.	Materiał badany ..	37
4.1.2.	Pobieranie i przygotowanie materiału ..	37
4.1.3.	Charakterystyka systemów pomiarowych do oznaczania HI ..	38
4.1.4.	Charakterystyka analitycznych systemów pomiarowych do oznaczania stężenia hs-cTnI ..	40
4.1.5.	Charakterystyka analityczna testu hs-cTnI Atellica (Atellica IM High-Sensitivity Troponin I) ..	40
4.1.6.	Charakterystyka analityczna testu hs-cTnI Alinity (STAT High Sensitive Troponin-I) ..	41
4.2.	Część kliniczna ..	43
4.2.1.	Pacjenci ..	43
4.2.2.	Pobieranie krwi i oznaczanie stężenia hs-cTnI ..	43
4.2.3.	Strategia wykluczania AMI przy przyjęciu ..	44
4.2.4.	Rozpoznanie AMI ..	44
4.3.	Zgodność ze standardami etycznymi ..	45
4.4.	Analiza statystyczna ..	45
5.	Wyniki ..	48
5.1.	Część analityczna ..	48
5.1.1.	Porównanie HI ..	48
5.1.2.	Porównanie pomiędzy probówkami BD Barricor™ i BD PSTII™ z wykorzystaniem testu hs-TnI na dwóch systemach analitycznych ..	52

5.1.3. Porównanie testów do oznaczania hs-cTnI z wykorzystaniem tej samej próbki	57
5.2. Część kliniczna	64
5.2.1. Charakterystyka grupy badanej	64
5.2.2. Wpływ typu próbek na strategię szybkiego wykluczenia AMI z wykorzystaniem zdefiniowanych wartości odcięcia dla obu testów hs-cTnI.	66
6. Dyskusja	70
7. Wnioski	78
8. Streszczenie.....	79
9. Summary	83
10. Zgoda komisji bioetycznej.....	86
11. Bibliografia.....	88
12. Spis rycin	100
13. Spis tabel.....	102

1. Wykaz skrótów

AACC	Amerykańskie Stowarzyszenie Chemii Klinicznej	<i>ang. American Association for Clinical Chemistry</i>
AMI	Ostry zawał mięśnia sercowego	<i>ang. Acute Myocardial Infarction</i>
AST	Aminotransferaza asparaginianowa	<i>ang. Aspartate Aminotransferase</i>
BD	Becton Dickinson	
CABG	Pomostowanie aortalno-wieńcowe	<i>ang. Coronary Artery Bypass Grafting</i>
ChNS	Choroba niedokrwienna serca	<i>ang. Coronary Artery Disease</i>
CK	Kinaza kreatynowa	<i>ang. Creatine Kinase</i>
CK-MB masa	Izofорма MB kinazy kreatynowej wyrażona stężeniem masowym	<i>ang. Creatine Kinase isoenzyme MB mass concentration</i>
CLIA	Chemiluminescencyjny test immunologiczny	<i>ang. Chemiluminescent Immunoassay</i>
CLSI	Instytutu Norm Klinicznych i Laboratoryjnych	<i>ang. Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CMIA	Chemiluminescencyjny test immunologiczny z mikrocząsteczkami	<i>ang. Chemiluminescent Microparticle Immunoassay</i>
cTn	Sercowa troponina	<i>ang. Cardiac troponin</i>
cTnI	Sercowa troponina I	<i>ang. Cardiac troponin I</i>
cTnT	Sercowa troponina T	<i>ang. Cardiac troponin T</i>
CV	Współczynnik zmienności	<i>ang. Coefficient of Variation</i>
CI	Przedział ufności	<i>ang. Confidence Interval</i>
EKG	Elektrokardiografia	<i>ang. Electrocardiography</i>
ESC	Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne	<i>ang. European Society of Cardiology</i>
fHb	Wolna hemoglobina	<i>ang. Free hemoglobin</i>
HI	Indeks hemolizy	<i>ang. Hemolysis index</i>

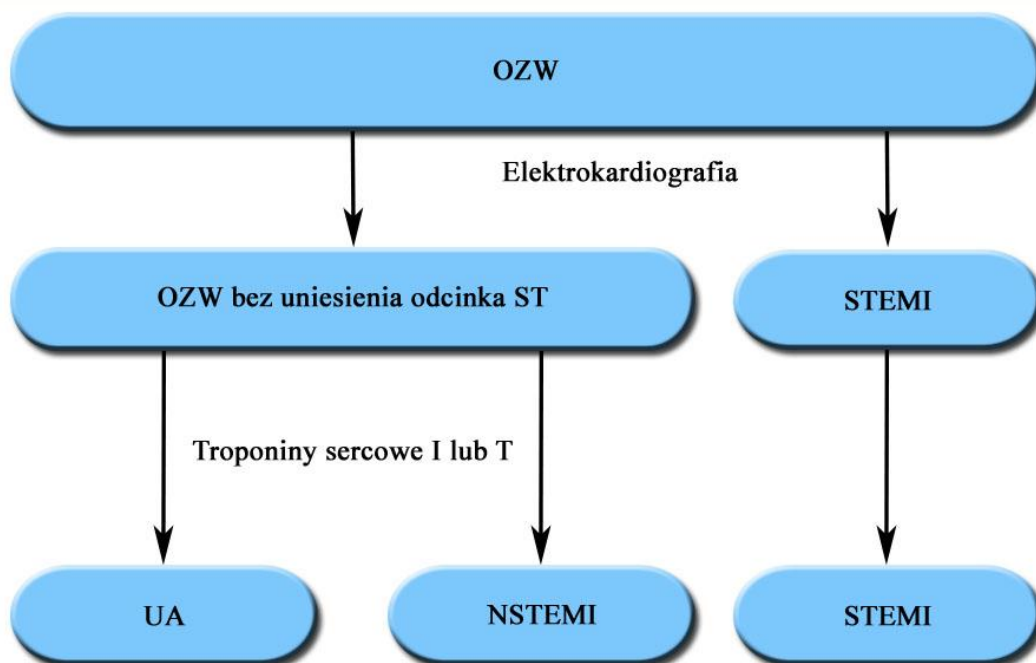
hs-cTn	Sercowa troponina oznaczana metodą o wysokiej czułości	ang. High-sensitivity cardiac troponin
hs-TnI	Sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości	ang. High-sensitivity cardiac troponin I
hs-TnT	Sercowa troponina T oznaczana metodą o wysokiej czułości	ang. High-sensitivity cardiac troponin T
IFCC	Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej	ang. International Federation of Clinical Chemistry
IHME	Instytut Pomiarów i Oceny Stanu Zdrowia	ang. Institute for Health Metrics and Evaluation
IVD	Diagnostyka <i>in vitro</i>	ang. In Vitro Diagnostic
LC	Chromatografia cieczowa	ang. Liquid Chromatography
LDH	Dehydrogenaza mleczanowa	ang. Lactate Dehydrogenase
LoD	Limit detekcji	ang. Limit of Detection
LoQ	Limit oznaczalności	ang. Limit of Quantitation
MACE	Poważne niepożądane zdarzenia sercowo-naczyniowe	ang. Major Adverse Cardiovascular Event
MALDI-MS	Desorpcja i jonizacja laserowa wspomagana matrycą	ang. Matrix Assisted Laser Desorption and Ionisation
MLD	Medyczne laboratorium diagnostyczne	ang. Clinical Laboratory
MS	Spektrometria mas	ang. Mass Spectrometry
NPV	Ujemna wartość predykcyjna	ang. Negative Predictive Value
NSTEMI	Zawał mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST	ang. Non ST-elevation Myocardial Infarction
NIST	Narodowy Instytut Norm i Techniki	ang. National Institute of Standards and Technology
OZW	Ostre zespoły wieńcowe	ang. Acute Coronary Syndromes
PCI	Przeżyłowa interwencja wieńcowa	ang. Percutaneous Coronary interventions
RLU	Względne jednostki luminescencji	ang. Relative Luminescence Units

RP-LC	Chromatografia cieczowa w odwróconym układzie faz	<i>ang. Reversed Phase Liquid Chromatography</i>
SOR	Szpitalny Oddział Ratunkowy	<i>ang. Emergency Department</i>
SRM	Standardowy materiał referencyjny	<i>ang. Standard Reference Material</i>
STEMI	Zawał mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST	<i>ang. ST-Elevation Myocardial Infarction</i>
SU	Szpital Uniwersytecki im. dr. A. Jurasza	<i>ang. A. Jurasz University Hospital</i>
TAE	Całkowity dopuszczalny błąd	<i>ang. Total Allowable Error</i>
TAT	Czas realizacji badania	<i>ang. Turn-Around Time</i>
TnC	Troponina C	<i>ang. Troponin C</i>
UA	Niestabilna dławica piersiowa	<i>ang. Unstable Angina</i>
URL	Górna granica wartości referencyjnych	<i>ang. Upper reference limit</i>
WG-TNI	Grupa Robocza IFCC ds. Standaryzacji Troponiny I	<i>ang. IFCC Working Group for Standardisation of Troponin I</i>
ZDL	Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej	<i>ang. Division of Laboratory Diagnostics</i>

2. Wstęp

2.1. Ostre zespoły wieńcowe

Jednym z największych wyzwań w diagnostyce laboratoryjnej chorób sercowo-naczyniowych są ostre zespoły wieńcowe (OZW) będące ostrą manifestacją choroby niedokrwiennej serca (ChNS). Choć OZW stanowią kontinuum procesu patologicznego, najczęściej związanego z progresją miażdżycy, zwykle na podstawie elektrokardiogramu (EKG) dzieli się je na: zawał mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST (NSTEMI) i zawał mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (STEMI). Pacjenci z niestabilną dławicą piersiową (UA) również zaliczani są do grupy OZW jeśli występuje ból w klatce piersiowej lub inne objawy wskazujące na ostre niedokrwienie przy braku laboratoryjnych wykładników martwicy mięśnia sercowego. Kluczowym elementem diagnostyki w przypadku podejrzenia OZW jest różnicowanie ostrego i przewlekłego uszkodzenia mięśnia sercowego, a w przypadku ostrego charakteru uszkodzenia rozpoznanie ostrego zawału serca (AMI) i różnicowanie go z UA (Rycina 1).



Rycina 1. Podział ostrych zespołów wieńcowych.

NSTEMI: zawał mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST; OZW: ostry zespół wieńcowy; STEMI: zawał mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST; UA: niestabilna dławica piersiowa

Zawał serca można również podzielić na 5 głównych typów w zależności od różnic patologicznych, klinicznych i prognostycznych, a także różnych strategii leczenia (Tabela 1) [1,2]. Zawał serca typu 1 związany jest z pęknięciem blaszki miażdżycowej lub innymi stanami w jej obrębie prowadzącymi do powstania skrzepliny w co najmniej jednej tętnicy wieńcowej, co prowadzi do martwicy mięśnia sercowego [1–4]. Zawał serca typu 2 jest związany z innymi niż miażdżycowe przyczynami martwicy mięśnia sercowego, które powodują zaburzenie równowagi pomiędzy podażą, a zapotrzebowaniem miokardium na tlen np. ciężka niedokrwistość, skurcz tętnicy wieńcowej, ciężkie tachy- i bradyarytmie [2,5,6]. Zawał serca typu 3 charakteryzuje obecność objawów AMI ze zmianami niedokrwienymi w zapisie EKG, przy czym zgon nastąpił przed pobraniem krwi w celu oznaczenia biomarkerów martwicy miokardium, lub zgon nastąpił szybciej niż wzrost stężenia biomarkerów martwicy miokardium [1,2,7]. Zawały serca typu 4 i 5 związane są odpowiednio z przeszskórną interwencją wieńcową (PCI) oraz pomostowaniem aortalno-wieńcowym (CABG) [2].

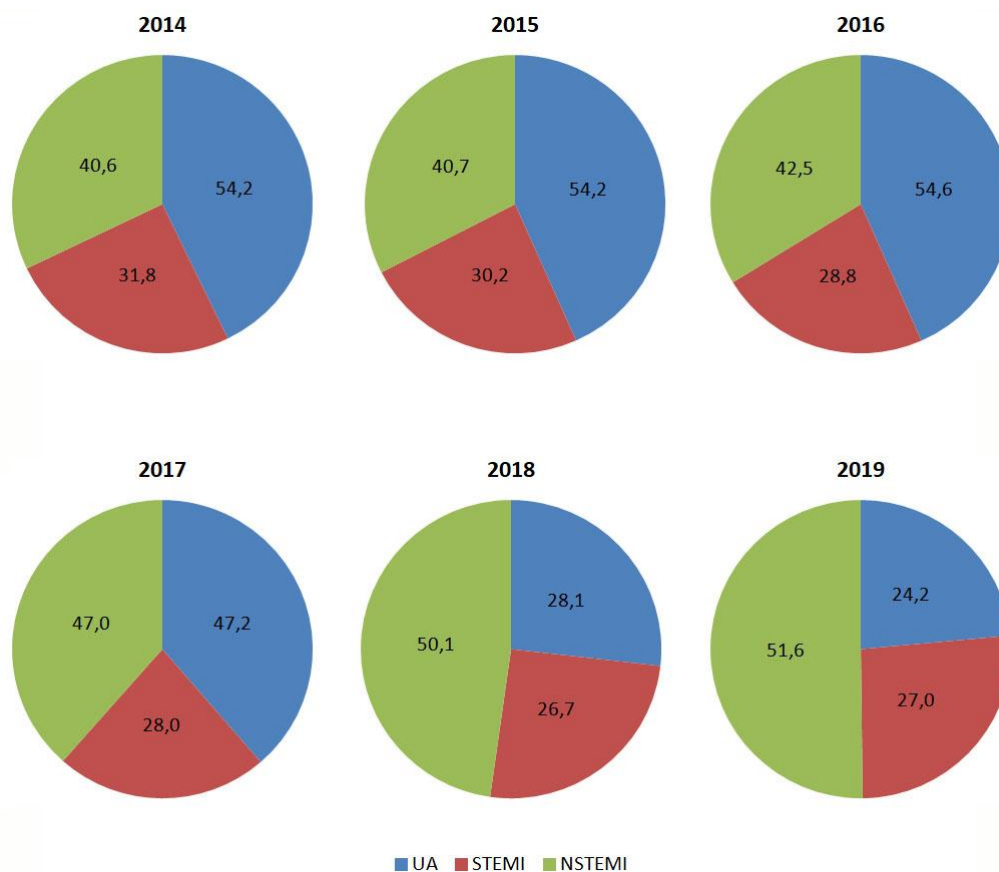
Tabela 1. Typy zawału serca [1–7].

Typ	Nazwa	Kryterium diagnostyczne uwzględniające stężenie cTn
1	Zawał spontaniczny	Co najmniej 1 wynik powyżej wartości 99. percentyla URL
2	Zawał w następstwie niezrównoważonego ukrwienia	Co najmniej 1 wynik powyżej wartości 99. percentyla URL
3	Zgon sercowy w następstwie zawału	cTn nie są oznaczane lub nie wystąpił wzrost
4a	Zawał związany z PCI	Stężenie cTn przekracza 5 krotnie wartość 99. percentyla URL
4b	Zawał związany z zakrzepicą w stencie	Co najmniej 1 wynik powyżej wartości 99. percentyla URL
4c	Zawał związany z restenozą po PCI	Co najmniej 1 wynik powyżej wartości 99. percentyla URL
5	Zawał związany z CABG	Stężenie cTn przekracza 10 krotnie wartość 99. percentyla URL

CABG: pomostowanie aortalno-wieńcowe; PCI: przeszskórna angioplastyka wieńcowa; URL: górna granica wartości referencyjnych

2.1.1. Epidemiologia OZW w Polsce

Według danych Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME), w 2019 roku w Polsce na ChNS chorowało 1,6 mln osób, co stanowi 4,2% polskiej populacji osób dorosłych. Wartość ta jest o 0,7% wyższa niż średnia w Unii Europejskiej [8]. OZW nadal stanowią główną przyczynę zgonów w Polsce. W 2019 r. zarejestrowano 102 700 przypadków OZW, czyli stanowi 19% mniej w porównaniu z rokiem 2014. Mniejsza liczba przypadków OZW wynika przede wszystkim ze spadku liczby przypadków UA o 30000 (55%), szczególnie w latach 2017 i 2018. Z kolei w przypadku częstości występowania AMI, zarówno STEMI, jak i NSTEMI, w latach 2014–2019 zaobserwowano wzrost liczby zdarzeń o 6000 (co stanowi wzrost o 9%) [8].



Rycina 2. Liczba przypadków (w tys.) ostrych zespołów wieńcowych wg typu (2014-2019)[8].

NSTEMI: zawał mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST; STEMI: zawał mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST; UA: niestabilna dławica piersiowa

Zgodnie z danymi statystycznymi z 2019 roku, średni wiek pacjentów płci męskiej z OZW wynosił 66,3 lat. Wśród pacjentów z OZW, mężczyźni dominowali przede wszystkim

w grupie wiekowej 60-74 lata. W przypadku kobiet średni wiek wystąpienia OZW wynosił 72,2 lata i stanowiły one dominującą grupę pacjentów z OZW powyżej 80 roku życia [8]. W przeliczeniu na liczbę dorosłych mieszkańców, w 2019 r. w województwie kujawsko-pomorskim odnotowano 378 przypadków OZW na 100000 osób. W przypadku zawałów średnia liczba AMI pozostawała na podobnym poziomie do obserwowanego wcześniej w 2014 roku, z czego około 64% pacjentów stanowili mężczyźni. Leczenie pacjentów z powodu OZW związane z wykonaniem zabiegu PCI w ciągu 7 dni od początku hospitalizacji najczęściej wykonywane było w przypadku STEMI 88% oraz kolejno w NSTEMI (64%) oraz u pacjentów z UA (48%) według danych z roku 2018. Liczba wykonywanych zabiegów PCI była znacznie wyższa niż w 2014 roku i wykazuje tendencję rosnącą rok do roku, z wyjątkiem procedur wykonanych u pacjentów z UA, u których w latach 2017-2018 zaobserwowano tendencję malejącą.

2.1.2. Diagnostyka AMI

AMI oznacza martwicę kardiomiocytów w wyniku ich niedokrwienia [1].

Rozpoznanie AMI wymaga spełnienia następujących kryteriów:

- ✓ Zmiana stężenia biomarkera uszkodzenia mięśnia sercowego, z co najmniej jedną wartością powyżej 99. percentyla górnej granicy wartości referencyjnych (URL), gdzie biomarkerami uważanymi za złoty standard w diagnostyce uszkodzenia mięśnia sercowego są troponiny sercowe T (cTnT) lub I (cTnI) oznaczane metodami o wysokiej czułości (hs-cTn).

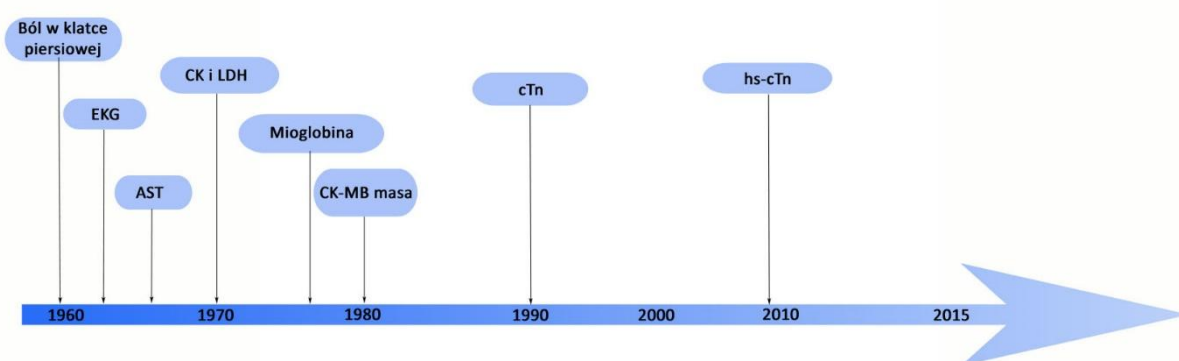
Poza zmianami w stężeniu cTn musi wystąpić przynajmniej jedno ze następujących kryteriów:

- ✓ objawy niedokrwienia mięśnia sercowego;
- ✓ nowe zmiany w EKG wskazujące na niedokrwienie mięśnia sercowego;
- ✓ pojawienie się patologicznych załamków Q w badaniu EKG;
- ✓ utrata żywotnego miokardium lub regionalne nieprawidłowości w kurczliwości ścian mięśnia sercowego, które odpowiadają etiologii niedokrwiennej, uwidocznione w badaniu obrazowym;
- ✓ obecność skrzepliny w tętnicy wieńcowej, która została zidentyfikowana w angiografii lub badaniu sekcyjnym [1].

2.1.3. Biomarkery używane w diagnostyce uszkodzenia i martwicy mięśnia sercowego

Począwszy od 2000 r. kolejne rekomendacje umacniały pozycję biomarkerów, a w szczególności cTn w diagnostyce AMI [1–3]. Równolegle ze zmianami w wytycznych klinicznych, producenci sprzętu do diagnostyki *in vitro* (IVD) skoncentrowali się na ulepszaniu istniejących metod w celu zwiększenia precyzji i uzyskania wyższej czułości testów do oznaczania cTn. Punktem kulminacyjnym prac rozwojowych i innowacji w tym zakresie było wprowadzenie testów o wysokiej czułości (hs) do oznaczania cTn, hs-cTnT w 2009 roku i hs-cTnI w 2013 roku.

Zgodnie z powyższym cTn jest preferowanym biomarkerem do wykrywania uszkodzenia i martwicy mięśnia sercowego oraz pozostaje kluczowym elementem diagnostycznym w rozpoznawaniu AMI w aktualnych zaleceniach klinicznych [1,9]. W związku z tym dokładna ocena ilościowa tego biomarkera, wraz ze szczegółową wiedzą na temat charakterystyki przedanalizacyjnej, wydajności analitycznej i klinicznej dostępnych testów, ma kluczowe znaczenie dla uniknięcia błędnych wyników oznaczeń cTn, które mogą prowadzić do suboptymalnej diagnostyki i niewłaściwego postępowania z pacjentami z podejrzeniem AMI. Problemem pozostaje również brak harmonizacji pomiędzy testami do oznaczania stężenia cTn, co często komplikuje przełożenie wyników analitycznych na praktykę kliniczną [1].

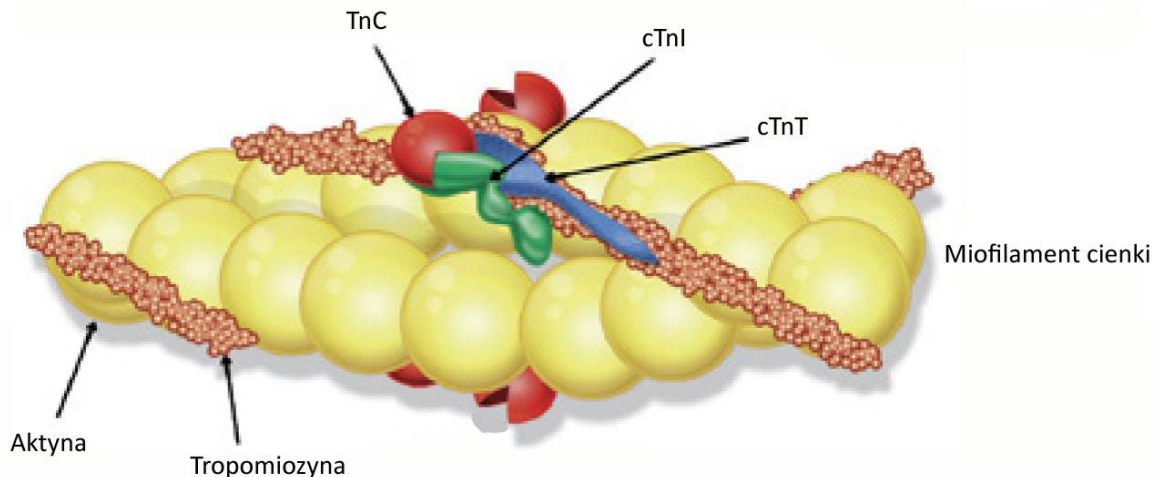


Rycina 3. Ewolucja biomarkerów sercowych [10].

AST: aminotransferaza asparaginianowa; CK: kinaza kreatynowa; CK-MB masa: izoforma MB kinazy kreatynowej wyrażona stężeniem masowym; cTn: sercowa troponina; EKG: elektrokardiografia; hs-cTn: sercowa troponina oznaczana metodą o wysokiej czułości; LDH: dehydrogenaza mleczanowa

2.1.4. Struktura, funkcje i właściwości biologiczne cTn

Skurcz mięśnia sercowego jest procesem złożonym, do którego dochodzi na skutek depolaryzacji błony komórkowej kardiomiocytów i późniejszego wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia (Ca^{2+}). Kluczową rolę w procesie skurczu mięśnia sercowego odgrywa kompleks troponiny [11]. Kompleks ten składa się z trzech podjednostek białkowych: troponiny C (TnC) odpowiedzialnej za wiązanie jonów Ca^{2+} , cTnI odpowiedzialnej za hamowanie aktywności ATP-azy kompleksu aktomiozyny oraz cTnT, która odpowiada za połączenie z tropomiozyną i reguluje oddziaływanie kompleksu troponiny z miofilamentem cienkim [11]. Schemat budowy kompleksu troponinowo-tropomiozynowego jest przedstawiony na Rycinie 4.



Rycina 4. Budowa kompleksu troponinowo-tropomiozynowego [12].
cTnI: sercowa troponina I; cTnT: sercowa troponina T; TnC: troponina C

Skład aminokwasowy cTnI oraz cTnT różni się od składu aminokwasowego izoform tych białek zlokalizowanych w kompleksie troponinowym mięśnia szkieletowego. cTnI jest cząsteczką białka o długości 209 aminokwasów i masie 24 kDa, którego ekspresję kontroluje gen TNNI3 znajdujący się na chromosomie 19 składający się z ośmiu egzonów i siedmiu intronów. Bardzo istotny dla cTnI jest 3 egzon, który jest nieobecny w genach kodujących szkieletowe izoformy TnI i koduje unikalną część domeny N-końcowej [13]. cTnI składa się z pięciu funkcjonalnych domen: N-końcowej, ramienia IT, hamującej, regulatorowej oraz ruchomej domeny C-końcowej [14]. Homologia pomiędzy szkieletową izoformą TnI

a cTnI wynosi około 40% [15]. Częsteczka cTnT ma długość 287 aminokwasów i masę cząsteczkową 34 kDa oraz kodowana jest przez gen TNNT2 znajdujący się na chromosomie 1 [11]. cTnT posiada cztery różne izoformy występujące w mięśniu sercowym [16]. Główną izoformą cTnT jest cTnT3, jednakże występują również izoformy cTnT1, cTnT2 oraz cTnT4, identyfikowane głównie w sercu płodu, ale mogą pojawić się również u dorosłych ze schyłkową niewydolnością mięśnia sercowego lub z chorobami mięśni szkieletowych [16,17]. Homologia pomiędzy cTnT, a szkieletową izoformą TnT waha się pomiędzy 56% a 59% [15]. Częsteczka TnC ma długość 161 aminokwasów i masę cząsteczkową 18 kDa. Jest kodowana przez gen TNNC1 znajdujący się na chromosomie 3, oraz przez gen TNNC2 znajdujący się na chromosomie 20. Skład aminokwasowy TnC jest identyczny w mięśniu sercowym oraz w mięśniach szkieletowych [18]. Ze względu na brak różnic w swoistości TnC nie jest uważana za marker uszkodzenia mięśnia sercowego.

Dane pochodzące z badań biochemicznych próbek mięśnia sercowego wskazują, że zawartość cTnI oraz cTnT w 1 g mokrej masy tkanki ludzkiego serca wynosi odpowiednio około 4-6 mg i 10-11 mg [18]. Około 95% cTn znajduje się w kompleksie troponin i odpowiada za skurcz mięśnia sercowego, natomiast pozostałe 5% nie tworzy kompleksów i jest zlokalizowane w cytoplazmie kardiomiocytów, nie biorąc udziału w skurczu mięśnia sercowego [19]. Znaczenie funkcjonalne cytoplazmatycznej frakcji cTn nie zostało dobrze poznane. W związku z tym uwalnianie cTn po uszkodzeniu mięśnia sercowego ma kinetykę dwufazową. W pierwszej kolejności dochodzi do szybkiego uwalniania wolnych, monomerowych form cTn znajdujących się w cytoplazmie, a w drugiej kolejności do stopniowego uwalniania cTn pochodzącego z kompleksów cTn. Jest to spowodowane proteolityczną degradacją białek kurczliwych w następstwie martwicy kardiomiocytów. Po uszkodzeniu kardiomiocytów poza formami monomerycznymi obserwuje się również potrójne kompleksy cTnI-cTnT-TnC, które następnie są rozkładane do form dimerycznych cTnI-TnC oraz cTnI-cTnT poprzez odłączenie odpowiednio cTnT i TnC [16]. Ze względu na obecność dimerów cTnI-TnC oraz cTnI-cTnT całkowite stężenie cTnI w osoczu jest 5-12 razy wyższe od stężenia wolnej frakcji cTnI [20]. W związku z dwufazowym przebiegiem uwalniania cTn z uszkodzonych kardiomiocytów to właśnie frakcja pochodząca z kompleksów ma największe znaczenie w diagnostyce OZW [21].

Istnieją różne mechanizmy uwalniania cTn z kardiomiocytów, do których należą: martwica kardiomiocytów, apoptoza, zwiększona przepuszczalność błony komórkowej, uwalnianie produktów wewnątrzkomórkowej proteolizy cTn, a także naturalny obrót komórkowy [18,21].

2.1.5. Standaryzacja i harmonizacja metod do oznaczania stężenia cTnI

Pomimo intensywnych prób standaryzacji i harmonizacji metod do oznaczania cTnI, nadal istnieją wyraźne różnice między producentami, a nawet między tymi samymi przeciwciałami stosowanymi na różnych platformach immunochemicznych. W związku z tym oznaczenia cTnI napotykać na poważne wyzwania ze względu na brak zgodności między dostępnymi na rynku metodami, które z kolei dają bardzo zróżnicowane wyniki. Różnice metodologiczne mogą potencjalnie wpływać na klasyfikację pacjentów przy zastosowaniu określonych dla danego testu wartości decyzyjnych [22]. Stężenia cTnI uzyskiwane w różnych metodach nie są zharmonizowane, ponieważ nie ma dostępnego podstawowego materiału referencyjnego (SRM), który producenci *IVD* mogliby wykorzystać do wystandaryzowania dostępnych metod, a różne epitopy łańcucha aminokwasowego cTnI są rozpoznawane przez różne przeciwciała stosowane na poszczególnych platformach [23,24]. Dostępność komutabilnych materiałów referencyjnych niezbędnych do kalibracji jest najważniejszym wymogiem pozwalającym uzyskać porównywalność wyników różnych testów do oznaczania cTnI. Podkomitet Amerykańskiego Towarzystwa Chemii Klinicznej (AACC) ds. Standaryzacji Troponiny Sercowej zainicjował prace nad opracowaniem SRM już ponad 20 lat temu. Celem tych działań było zmniejszenie zmienności między testami poprzez zdefiniowanie wspólnego materiału referencyjnego, ustalenie wspólnych konsensusowych wartości dla cTnI w próbkach pacjentów i wreszcie połączenie SRM i próbek pacjentów w celu uzyskania standaryzacji i harmonizacji testów do oznaczania cTnI. SRM 2921 składający się z oczyszczonego ludzkiego kompleksu cTnT-cTnI-cTnC został opracowany we współpracy z National Institute of Standards and Technology (NIST). Materiał ten dobrze scharakteryzowano strukturalnie przy użyciu chromatografii cieczowej (LC) połączonej ze spektrometrią mas (MS) oraz trawienia trypsyną i desorpcji/ionizacji laserowej wspomaganą matrycą (MALDI-MS). Następnie w celu określenia stężenia cTnI w SRM 2921 zastosowano kombinację analizy chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz

(RP-LC) i analizy aminokwasów [25]. Jednak badania wykazały, że uzyskany materiał referencyjny nie zachowuje się identycznie z natywnymi próbkami surowicy poszczególnych pacjentów z podwyższonymi stężeniami cTnI i nawet po rekaliibracji testu około 50% metod pozostało niezharmonizowanych, co ujawniało słabą komutabilność SRM 2921. Zgodność między metodami poprawiła się po ponownej rekaliibracji względem pul cTnI opartych na surowicy ludzkiej, co oznacza, że użycie wtórnego materiału referencyjnego dopasowanego do natywnych surowic ludzkich prawdopodobnie poprawiłoby harmonizację metod do oznaczania hs-cTnI [24,26].

Należy podkreślić, że o ile harmonizacja opiera się na przypisaniu ustalonej wartości i wykorzystaniu metod komercyjnych, które w danym czasie zapewniają najwyższą zgodność pomiarową, o tyle standaryzacja opiera się na referencyjnym systemie pomiarowym, który obejmuje długoterminową kumutabilność kalibracji [26]. Dostępność referencyjnego systemu pomiarowego jest podstawą poprawnego metrologicznie podejścia do uzyskania standaryzacji pomiarów cTnI [26–28]. Obecnie nie ma metody referencyjnej dla cTnI, która definiowałaby drugorzędowy materiał referencyjny oparty na surowicy ludzkiej. Zasady analityczne powszechnie stosowane w referencyjnych procedurach pomiarowych, takich jak MS, nie mają aktualnie odpowiedniej czułości do pomiaru niskich stężeń cTnI na poziomie nanogramów w surowicy. Chociaż referencyjne procedury pomiarowe i materiały referencyjne oparte na surowicy dla cTnI są opracowywane we współpracy z IFCC, instytutami metrologicznymi, naukowcami i producentami *IVD*, komponenty kompletnego referencyjnego systemu pomiarowego dla cTnI będą dostępne po zdefiniowaniu tych materiałów i metod. Referencyjny system pomiarowy miałby znaczący wpływ na dokładność i porównywalność kliniczną testów do oznaczania cTnI, umożliwiając uzyskanie pomiarów hs-cTnI obarczonych mniejszą niepewnością pomiarową [22]. Najnowsza propozycja modelu NIST pociąga za sobą opracowanie procedur pomiarowych, które wykorzystują testy immunoenzymatyczne, jak również MS do ilościowego oznaczania cTnI w surowicy w stężeniach tak niskich jak 50 ng/l. Pozwoliłoby to uzyskać certyfikowane materiały referencyjne przy zastosowaniu puli surowic o różnych stężeniach cTnI. Dwa trwające obecnie projekty Grupy Roboczej IFCC ds. Standaryzacji Troponiny I (WG-TNI) koncentrują się na przygotowaniu wtórnego materiału referencyjnego dla cTnI, składającego się z trzech pul surowicy cTnI o stężeniach 100, 1000 i 10000 ng/l (faza 2 projektu). Należałoby zatem

przygotować 5 litrów surowicy dla każdego poziomu stężenia cTnI, aby uzyskać zapas materiału referencyjnego na co najmniej 5 lat. Faza 3 tego projektu będzie obejmowała walidację standaryzacji cTnI metodą okrężną (z ang. *round robin*) po transferze wartości przy użyciu wtórnego materiału referencyjnego jako wspólnego kalibratora. Potencjalnym wyzwaniem, z którym należy się zmierzyć, jest fakt, że natywne próbki pacjentów z pozytywnymi wynikami cTnI są dostępne tylko w ograniczonej liczbie. Co więcej, producenci *IVD* nadal ulepszają swoje testy do oznaczania cTnI, zmieniając protokoły wewnętrzne i/lub kombinacje stosowanych przeciwciał. W 2015 r. IFCC WG-TNI opracowało alternatywne podejście oparte na matematycznej rekaliibracji w celu przypisania wartości dla wtórnego materiału referencyjnego dla cTnI. Ustalono w ten sposób wzorzec matematyczny pozwalający zniwelować dominujące różnice pomiędzy rutynowo stosowanymi testami i uzyskać względną porównywalność między metodami [29]. Jednakże nie pozwoliło to na uzyskanie pełnej harmonizacji branych pod uwagę metod, w związku z tym nadal metody proponowane przez różnych producentów *IVD* nie mogą być stosowane zamiennie, a ich interpretacja nadal musi opierać się na wartościach swoistych dla danego testu [22].

2.1.6. Zastosowanie szybkich protokołów diagnostycznych w celu wykluczenia AMI

Szacuje się że nawet co 10 pacjent zgłaszający się do szpitalnych oddziałów ratunkowych (SOR) ma objawy sugerujące AMI [30], a ból w klatce piersiowej jest jedną z najczęstszych przyczyn hospitalizacji pacjentów w stanach nagłych [30,31]. Przy czym tylko 10-20% pacjentów z podejrzeniem AMI ma ostatecznie potwierdzone to rozpoznanie [32]. Szybka klasyfikacja pacjentów z niskim prawdopodobieństwem AMI pozwala na skuteczniejsze i szybsze postępowanie z pacjentami przyjmowanymi na SOR, jak również wpływa na obniżenie kosztów i skrócenie czasu niezbędnej diagnostyki, co umożliwia wdrożenie wczesnego leczenia poprawiającego rokowanie [33]. Wprowadzenie skutecznego i bezpiecznego algorytmu postępowania jest więc niezbędne i musi bezwzględnie opierać się na niepodważalnych dowodach naukowych i aktualnej wiedzy medycznej. Wśród elementów szybkiej strategii klasyfikacji pacjentów z podejrzeniem OZW zgłaszających się do SOR znajduje się oznaczanie stężenia hs-cTnI lub hs-cTnT przy zastosowaniu dostępnych szybkich algorytmów diagnostycznych [34].

Obecne rekomendacje Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC) wskazują na konieczność stosowania szybkich algorytmów wykluczania AMI opartych o pomiar stężenia cTn metodami wysokoczułymi przy przyjęciu i po jednej (algorytm 0-1 h) lub dwóch godzinach (algorytm 0-2 h) od przyjęcia na SOR [1]. Wspomniane strategie charakteryzują się dużą skutecznością oraz zapewniają możliwie największą czułość i ujemną wartość predykcyjną (NPV). Wytyczne ESC jednocześnie wskazują na potrzebę odejścia od stosowanego wcześniej algorytmu oznaczania hs-cTn przy przyjęciu i po trzech godzinach (algorytm 0-3 h) na rzecz wspomnianych wcześniej szybszych strategii. Zastosowanie powyższych algorytmów w połączeniu z oceną EKG oraz stanu klinicznego umożliwia szybką klasyfikację pacjentów, u których konieczna jest dalsza diagnostyka i leczenie ambulatoryjne, od pacjentów których można wypisać ze szpitala. Wartości odcięcia dla wymienionych algorytmów nie są jednolite i zależą od stosowanej metody oznaczenia hs-cTn [1]. Niemniej jednak, stosowanie szybkich strategii 0-1 h stanowi wyzwanie dla wielu medycznych laboratoriów diagnostycznych (MLD), uwzględniając bardzo ograniczony czas realizacji badania (TAT). Biorąc pod uwagę, że najnowsze metody do oznaczania hs-cTn i hs-cTnT z wykorzystaniem zautomatyzowanych platform immunochemicznych charakteryzują się średnim czasem analizy około 15–25 min, uzyskanie wyniku i przesłanie go na SOR w ciągu 60 min wydaje się sporym wyzwaniem w niektórych MLD.

Pojawia się jednak coraz więcej doniesień wskazujących na zasadność stosowania prostszych strategii wykluczania AMI opierających się jedynie o pojedynczy pomiar hs-cTn przy przyjęciu na SOR [34]. Takie strategie znajdują uzasadnienie kliniczne i ekonomiczne, ponieważ pozwalają na szybsze skierowanie pacjentów do dalszej diagnostyki w kierunku innej jednostki chorobowej lub wdrożenie odpowiedniej terapii [35], a także na szybsze wypisanie pacjenta ze szpitala, zmniejszając tym samym zatłoczenie na SOR.

W oparciu o wielośrodkowe badania kliniczne oraz metaanalizy zaproponowano różne strategie szybkiego wykluczenia AMI w oparciu o pojedynczy pomiar stężenia hs-cTn. Strategie mają na celu skrócenie czasu oczekiwania na SOR pacjentów z podejrzeniem AMI, nie wykluczając jednak dotychczas rekomendowanych strategii opartych na seryjnych pomiarach hs-cTn w momencie przyjęcia i po godzinie lub po dwóch godzinach od przyjęcia [1]. Proponowane strategie wykluczenia AMI w oparciu o pojedynczy pomiar hs-cTn muszą

być poparte dokładną oceną stanu klinicznego pacjenta, a także wykonaniem badania EKG [36–40]. Jest to konieczne, ponieważ uzyskane wartości NPV i czułości diagnostycznej dla proponowanych strategii są znacznie wyższe, jeżeli obraz EKG nie wskazuje na pojawienie się nowego ubytku w żywotnym miokardium.

Pierwsza z proponowanych strategii szybkiego wykluczenia AMI w oparciu o pojedynczy pomiar stężenia hs-cTnI lub hs-cTnT wykorzystuje limit detekcji testu (LoD). Zastosowanie testów hs-cTn pozwala na wykrycie stężenia cTn znacznie poniżej wartości 99. percentyla URL, w związku z czym ryzyko wystąpienia AMI u osób z niewykrywalnym stężeniem cTn przy przyjęciu na SOR cechuje się doskonałą wartością NPV sięgającą 99,8-100% i bardzo wysoką czułością diagnostyczną wynoszącą 99,5-100% [41–43]. Powyższe wartości są porównywalne z uzyskanymi przy pomocy rekomendowanych algorytmów dla seryjnych pomiarów stężenia cTn [1]. Ponadto prawdopodobieństwo wystąpienia poważnych niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych (MACE) w okresie trzydziestu dni od wypisania pacjenta ze szpitala nie różni się pomiędzy zastosowaną strategią wykluczenia AMI a danymi uzyskanymi dla strategii opartych na seryjnych pomiarach hs-cTn [41]. Jednakże zastosowanie strategii opartej na niewykrywalnych stężeniach hs-cTn wiąże się ze znacznie mniejszą liczbą osób, u których wykluczono AMI w porównaniu do strategii opartych na seryjnych pomiarach hs-cTnI. W związku z tym postępowanie oparte na pojedynczym pomiarze hs-cTn <LoD przy przyjęciu na SOR powinno stanowić jedynie wstępną metodę selekcji, a pacjenci u których nie wykluczono w ten sposób AMI powinni zostać objęci alternatywnym algorytmem wykluczenia AMI [1,44].

Drugą proponowaną strategią wykluczenia AMI jest zastosowanie pojedynczego oznaczenia hs-cTn przy przyjęciu w połączeniu z oznaczeniem kopeptyny metodą wysokoczułą, dla której wartości ujemne zdefiniowano jako <10 pmol/l [41,45]. Jest to rozwiązanie alternatywne do strategii opartej jedynie na pojedynczym pomiarze hs-cTn <LoD przy przyjęciu na SOR. Zastosowanie drugiego biomarkera nie zapewnia w tej strategii poprawy NPV i czułości diagnostycznej w porównaniu do strategii wykorzystującej stężenia hs-cTn <LoD. Nie wpływa również na podejmowane decyzje kliniczne, a ilość wykluczonych pacjentów nie wzrasta [46]. W związku z czym zastosowanie kopeptyny nie niesie ze sobą

żadnej wartości dodanej, a jej stosowanie w praktyce klinicznej generuje jedynie dodatkowe koszty i zbędną logistykę [45].

Kolejną spośród proponowanych strategii jest jednorazowe oznaczenie hs-cTn przy przyjęciu na SOR z wartością punktu odcięcia poniżej granicy oznaczalności (LoQ). Powyższa strategia również charakteryzuje się bardzo wysokimi wartościami NPV i czułości diagnostycznej, które nie różnią się od uzyskanych za pomocą strategii wykluczenia z wykorzystaniem wartości <LoD [35,47]. Również występowanie MACE po trzydziestu dniach od wypisu ze szpitala nie różni się pomiędzy tymi strategiami. Na korzyść zastosowania powyższej strategii przemawia jej zdolność do wykluczania AMI u znacznie większej ilości pacjentów niż strategia oparta na wartościach hs-cTn <LoD niemniej jednak wzrasta ryzyko uzyskania wyników fałszywie ujemnych [35].

Ostatnia spośród proponowanych strategii jest oparta na zdefiniowanej niskiej wartości stężenia hs-cTnI <5 ng/l niezależnie od zastosowanej metody do oznaczania hs-cTnI. Powyższy próg odcięcia jest wyższy niż w przypadku strategii opartej na stężeniach hs-cTnI <LoQ, co pozwala na wykluczanie AMI u znacznie większej ilości pacjentów zgłaszających się na SOR [35]. Ponadto powyższa strategia nadal cechuje się wysokimi wartościami NPV i czułości diagnostycznej, które nie różnią się w sposób istotny od uzyskiwanych w poprzednich strategiach szybkiego wykluczania AMI. Częstość występowania MACE u pacjentów z wykluczonym AMI przy użyciu strategii opartej o stężenia hs-cTnI <5 ng/l również nie różniła się od wymienionych wcześniej strategii.

2.1.7. Definicja, charakterystyka analityczna i aspekty kliniczne zastosowania wysokoczułych testów do oznaczania cTn

Oznaczanie stężenia hs-cTnI lub hs-cTnT jest uważane przez większość aktualnych wytycznych za optymalną strategię wykrywania uszkodzenia mięśnia sercowego i rozpoznawania AMI [1,2,9,48,49]. W ciągu ostatniej dekady nastąpiła znaczna i postępująca poprawa wydajności analitycznej metod immunochemicznych do oznaczania stężeń cTnI oraz cTnT [50]. Metody o wysokiej czułości umożliwiają pomiar stężenia krążących biomarkerów u większości zdrowych osób obojga płci [50–52]. Zastosowanie metod

do oznaczania hs-cTnI i hs-cTnT zmieniło zatem nie tylko nasze rozumienie patofizjologii AMI, ale także nasze podejście do diagnostyki i monitorowania chorób sercowo-naczyniowych [1,2,48–56]. W 2018 r. AACC i IFCC ustanowiły dwa kryteria, które są kluczowe dla zdefiniowania metod hs-cTn [49]. Pierwsze kryterium dotyczy precyzji testu przy wartości decyzyjnej do rozpoznania AMI, zdefiniowanej jako 99. percentyl URL, która to precyzja wyrażona współczynnikiem zmienności (CV) powinna wynosić $\leq 10\%$ [49]. Drugie kryterium dotyczy zdolności testu do oznaczania wykrywalnych stężeń cTn u zdrowych osób. Zatem metoda o wysokiej czułości do oznaczania cTn musi wykrywać stężenie tego biomarkera powyżej LoD u przynajmniej 50% osób stanowiących populację referencyjną obejmującą przypuszczalnie zdrowe osoby obojga płci, z co najmniej 300 kobietami i 300 mężczyznami [49,50,53]. Wymóg co najmniej 600 osób ma kluczowe znaczenie dla obliczenia 99. percentyla URL z akceptowalnym przedziałem ufności (CI) [49]. Ponieważ kobiety mają średnio znacznie niższe stężenia hs-cTn niż mężczyźni w tym samym wieku, to drugie kryterium zasadniczo wymaga, aby hs-cTn oznaczać w podgrupie co najmniej 300 przypuszczalnie zdrowych kobiet [49].

Metody do oznaczania hs-TnI i hs-TnT charakteryzują się wartościami LoD w zakresie od 1 do 3 ng/l, co odpowiada zawartości cTn w około 5–8 mg mięśnia sercowego, podczas gdy stężenie cTn przy wartości 99. percentyla URL do rozpoznania uszkodzenia mięśnia sercowego, odpowiada zawartości cTn w około 30–40 mg mięśnia sercowego [54–56]. Należy podkreślić, że uszkodzenie mięśnia sercowego obejmujące kilka mg tkanki jest znacznie poniżej granicy wykrywalności echokardiografii lub innych technik obrazowania serca [54–56].

Według Czwartej Uniwersalnej Definicji MI z 2018 r. uszkodzenie mięśnia sercowego występuje gdy co najmniej jedna wartość hs-cTnI lub hs-cTnT przekracza 99. percentyl URL. Dokument ten zaleca stosowanie oznaczeń hs-cTn u wszystkich osób z podejrzeniem uszkodzenia mięśnia sercowego, a nie tylko u pacjentów z OZW. Ponadto wielu autorów sugeruje, że wykrywalne stężenia hs-cTnI i hs-cTnT u zdrowej dorosłej osoby należy uznać za wiarygodny wskaźnik fizjologicznej dobowej odnowy tkanki mięśnia sercowego [2,3,30–32,57]. Wartości dla 99. percentyla URL u zdrowych osób dorosłych (17–35 ng/l) są zgodne z dziennym obrotem około 30–40 mg tkanki mięśnia sercowego, co jest zgodne

z doświadczeniami na ludziach i innych ssakach [2,3,30–32,57]. Niemniej jednak przeprowadzone w ciągu ostatnich lat badania i wyniki trzech metaanaliz wykazały, że stężenia hs-cTnI lub hs-cTnT poniżej 99. percentyla URL wskazują na istotnie wyższe ryzyko sercowo-naczyniowe niż stężenia tego biomarkera w pierwszym tercylu [58,59]. Obiecujące dane dotyczące zastosowania hs-cTn w stratyfikacji ryzyka wynikają przede wszystkim z ich wysokiej czułości analitycznej oraz stosunkowo niewielkiej zmienności wewnątrzsobniczej, która wynosi średnio zaledwie 9% [60]. Biorąc pod uwagę nieparametryczny, prawoskośny rozkład stężeń hs-cTnI i hs-cTnT w zdrowej populacji, dzienna odnowa kardiomiocytów musiałaby wzrosnąć około 10–15 razy (w porównaniu z medianą dystrybucji wynoszącą około 1–4 ng/l), zanim przekroczyłaby wartość 99. percentyla URL [60].

2.1.8. Oznaczanie stężenia hs-cTnI na zautomatyzowanych platformach immunochemicznych

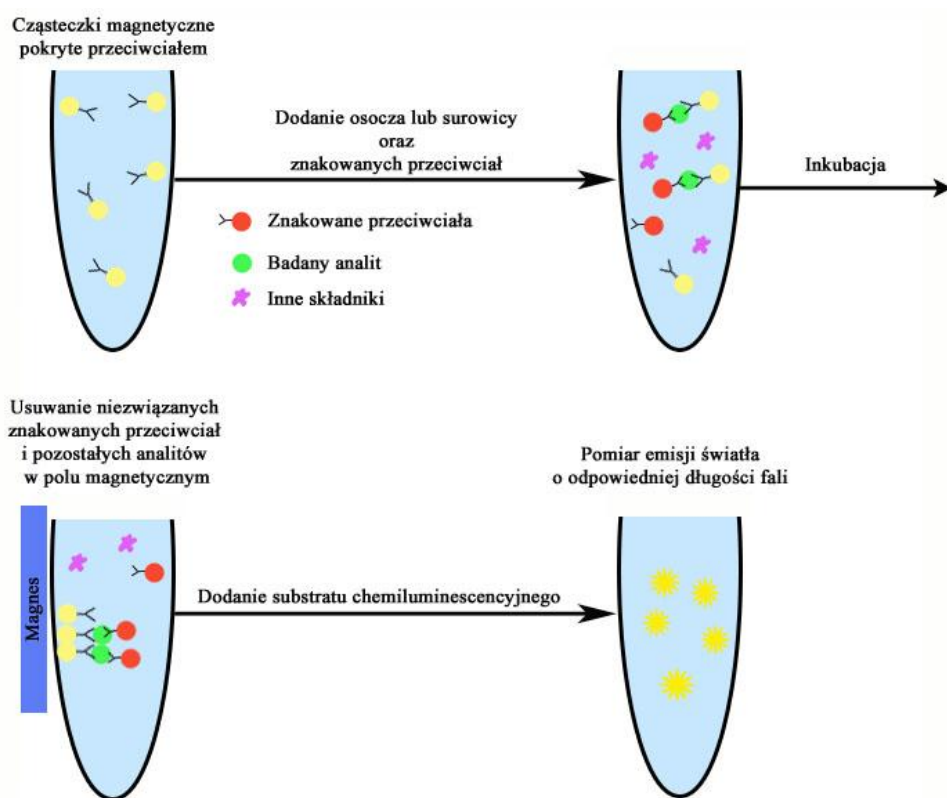
Obecnie na rynku dostępnych jest kilka metod immunochemicznych do pomiaru stężenia hs-cTnI, a większość z nich ma zastosowanie na zautomatyzowanych platformach immunochemicznych o dużej przepustowości i wydajności analitycznej. Do takich metod należą m.in. STAT High-Sensitive Troponin-I wykorzystywana do oznaczeń na analizatorze Alinity i (Abbott) jak również High-Sensitivity Troponin I przeznaczona do użytku na analizatorze Atellica IM (Siemens). Podstawowa charakterystyka analityczna tych metod została przedstawiona w Tabeli 2.

Tabela 2. Charakterystyka testów High-Sensitivity Troponin I i STAT High-Sensitive Troponin-I według ich producentów.

Producent	Siemens Healthcare Diagnostics Inc.	Abbott Diagnostics
Test	High-Sensitivity Troponin I (TnIH)	STAT High Sensitive Troponin-I
Analizator	Atellica IM	Alinity i
Zasada testu	3-stopniowy CMIA	2-stopniowy CMIA
Zakres pomiarowy [ng/l]	2,5-25 000	1,6-50 000
99. percentyl [ng/l]	Dla populacji ogólnej: 45,20 Dla kobiet: 34,11 Dla mężczyzn: 53,48	Dla populacji ogólnej: 26,2 Dla kobiet: 15,6 Dla mężczyzn: 34,2
CV przy 99. percentylu	<4%	Dla populacji ogólnej: 4,6% Dla kobiet: 5,0% Dla mężczyzn: 4,5%
CV <10% [ng/l]	4,86	3,7
LoD [ng/l]	1,6	1,6
LoQ [ng/l]	2,5	3,7
Precyzja testu określona CV <10% [ng/l]	6,0	3,7
Czas do pierwszego wyniku [minuty]	10	17

CV: współczynnik zmienności; CMIA; chemiluminescencyjny test immunologiczny z mikrocząsteczkami; LoD: limit detekcji; LoQ; limit oznaczalności

Obie te metody wykorzystują zjawisko chemiluminescencji z wykorzystaniem mikrocząsteczek (CMIA) [61,62], która jest modyfikacją podstawowej metody chemiluminescencyjnej (CLIA). Powyższa metoda polega na emisji światła wytwarzanego w próbce podczas reakcji chemicznej znacznika przyłączonego do przeciwciała opłaszczonego na mikrocząsteczce z jego aktywatorem. Ilość emitowanego światła o odpowiedniej długości fali jest ściśle związana ze stężeniem badanego analitu [63]. Schemat tej reakcji przedstawiono graficznie na Rycinie 5.



Rycina 5. Schemat reakcji CMIA.
CMIA; chemiluminescencyjny test immunologiczny z mikrocząsteczkami

2.2. TAT jako istotny wskaźnik jakościowy procesu diagnostycznego

Czas realizacji badania zwany również czasem oczekiwania na wynik badania (TAT) jest bardzo istotnym parametrem pozwalającym na ocenę jakości procesu diagnostycznego w MLD [57,64,65]. W związku z powyższym, aby poprawnie zarządzać jakością pracy w laboratorium TAT powinien być stale monitorowany [66]. Jednakże poprawne jego zdefiniowanie od lat przysparza wielu problemów. Jest to związane głównie z różnym punktem widzenia reprezentowanym przez klinicystów i pracowników laboratoriów. Z punktu widzenia klinicystów definicja TAT powinna obejmować pełen zakres czasu od wystawienia zlecenia na badanie materiału biologicznego do momentu interpretacji uzyskanych wyników [67], co znajduje realne odzwierciedlenie w jakości opieki nad pacjentem. Natomiast w opinii pracowników MLD, definicja TAT powinna być ograniczona do czasu od przyjęcia materiału biologicznego do laboratorium do wygenerowania wyniku i wydania go podmiotowi zlecającemu badanie [68]. Laboratoryjna koncepcja definicji TAT może być słuszna do oceny jakości pracy laboratorium

w kontekście realizacji TAT, ponieważ MLD nie ma wpływu na czas jaki upłynął od pobrania materiału do jego dostarczenia, ani na czas jaki upłynął od wydania wyniku do momentu jego interpretacji przez lekarza [65]. Niezależnie jednak od przyjętej definicji TAT zależy od wielu różnych czynników i jego ujednoczenie dla wszystkich parametrów oznaczanych w laboratorium wydaje się być niemożliwe. Wskazuje to na konieczność ciągłego dialogu pomiędzy klinicystami, a pracownikami laboratoriów w celu zapewnienia optymalnego TAT zwłaszcza dla parametrów krytycznych i priorytetowych. Dla wielu parametrów najdłuższym etapem TAT jest faza przedanalityczna [69], a dopiero w drugiej kolejności faza analityczna, którą można określić jako laboratoryjny TAT. Ponadto TAT rozumiany jako całość czasu, który upłynął od zlecenia badań do ich interpretacji przez lekarza może być różny w zależności od tego czy zleczone badania są pilne czy rutynowe [65]. Nie ulega jednak wątpliwości, że należy stale poszukiwać rozwiązań pozwalających na maksymalne skrócenie TAT, zarówno w fazie przedanalitycznej, analitycznej jak i postanalitycznej. Najbardziej skuteczne rozwiązania umożliwiające skrócenie TAT w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej można wprowadzić w fazie przedanalitycznej procesu diagnostycznego. Jednym z nich jest stosowanie probówek służących do uzyskania osocza zamiast standardowych probówek do uzyskania surowicy [70]. Korzyść płynąca z takiej zmiany w kontekście optymalizacji TAT jest znacząca, przede wszystkim ze względu na skrócenie czasu 30-60 minut potrzebnego do wytworzenia skrzepu w probówce do uzyskania surowicy, który nie jest wymagany w probówkach zawierających antykoagulant [71]. Kolejną zaletą wynikającą ze stosowania osocza jest brak ryzyka zatkania igły analizatora pozostałościami fibryny, które mogą znajdować się w surowicy [72]. Problem ten również pozwalają zminimalizować probówki zawierające separator żelowy [70]. Jednakże prawdziwym przełomem w skróceniu TAT w fazie przedanalitycznej okazało się wprowadzenie na rynek diagnostyki *IVD* probówek firmy Becton Dickinson (BD) Barricor™ do uzyskiwania osocza przy znacznie skróconym czasie wirowania. Poza korzyściami płynącymi z rodzaju uzyskiwanego materiału mogą one być wirowane aż o 7 minut krócej niż standardowo używane probówki BD PSTII™ z heparyną litową i separatorem [71]. Dodatkowym, aczkolwiek kosztownym rozwiązaniem korzystnie wpływającym na zmniejszenie TAT jest między innymi wprowadzenie skomputeryzowanego zarządzania wprowadzaniem zleceń pacjentów do systemu laboratoryjnego, a także zastosowanie transportu probówek pocztą pneumatyczną [73]. Również wpływ na skrócenie TAT w fazie analitycznej może mieć zastosowanie wysokowydajnych systemów analitycznych

o dużej przepustowości, zdolnych do przetworzenia w jak najkrótszym czasie maksymalnej ilości materiału biologicznego dostarczanego do MLD [67].

Zachowywanie TAT na odpowiednim poziomie jest niezwykle istotne w przypadku stosowania szybkich algorytmów diagnostycznych u pacjentów SOR. Nieprzestrzeganie TAT rozumianego jako cały proces od wystawienia zlecenia na badania do ich interpretacji przez lekarza wyklucza bowiem ich poprawne stosowanie [1]. Obniża to równocześnie wszelkie korzyści płynące ze stosowania metod o wysokiej czułości [64]. Stąd też tak istotne jest, aby czas od przyjęcia materiału przez laboratorium do wydania wyniku na oddział w przypadku oznaczeń hs-cTn nie przekraczał 60 minut [26,49].

2.3. Wpływ hemolizy na wyniki uzyskiwane w MLD

2.3.1. Definicja hemolizy

Hemoliza jest niepożądanym zjawiskiem polegającym na uwalnianiu się wewnątrzkomórkowych składników erytrocytów, w tym hemoglobiny do płynu zewnątrzkomórkowego na skutek uszkodzenia błony komórkowej erytrocytów. Zjawisko to może zachodzić zarówno wewnątrznaczyniowo (na skutek różnych zaburzeń homeostazy) jak również *in vitro*. Oba stany można ze sobą różnicować na podstawie pomiaru stężenia haptoglobiny, które będzie prawidłowe w przypadku wystąpienia hemolizy *in vitro* [74].

2.3.2. Interferencje analityczne związane z obecnością hemolizy

O interferencji analitycznej można mówić, jeśli istnieje klinicznie istotne odchylenie stężenia mierzonego analitu, spowodowane wpływem innej substancji lub zmianą właściwości próbki [75]. W wyniku hemolizy uwalniane są z erytrocytów różne anality jak np. jony potasu, przez co ich oznaczenie w próbce zawierającej wolną hemoglobinę (fHb) wiązałoby się z fałszywie zawyżonym wynikiem oznaczanego parametru, który nie odzwierciedla rzeczywistego stanu pacjenta. Oczywiście nie są to jedyne mechanizmy poprzez które hemoliza może interferować w oznaczenia laboratoryjne. Istnieje również ryzyko, że uwalniana z erytrocytów zawartość cytoplazmy może wpływać bezpośrednio na metodologię oznaczeń innych analitów np. poprzez odbarwienie roztworu skutkujące

zmianą wartości absorpcji i zafałszowanie wyniku [76]. Ponadto samo widmo falowe fHb pokrywa bardzo szeroki zakres długości fal, co może prowadzić do bezpośredniego zakłócenia pomiarów spektrofotometrycznych analitów, których absorpcje mieszczą się w tym samym zakresie długości fal [75]. Kolejnym ważnym mechanizmem interferencji ze strony hemolizy są właściwości utleniające jonów żelaza zawartych w hemoglobinie. Właściwości te powodują zakłócenia w reakcjach opartych na utlenianiu lub redukcji substratów np. w reakcji z nadtlenkiem wodoru W związku z tym hemoliza wpływa nie tylko na oznaczenia biochemiczne, ale również immunochemiczne, koagulologiczne czy badania PCR [75]. Istnieją dowody sugerujące, że uwolnione z erytrocytów podczas hemolizy enzymy proteolityczne mogą degradować cTnT prowadząc tym samym do powstania fałszywie zaniżonych wyników [78]. Dlatego też tak bardzo ważne jest, aby dokładnie analizować wpływ hemolizy na oznaczenia wszystkich parametrów laboratoryjnych, w tym również wpływ na cTn, a także zwrócić uwagę na jej dokładne ilościowe wykrywanie i odpowiednie raportowanie.

2.3.3. Przyczyny występowania hemolizy *in vitro*

Szacuje się, że hemoliza występuje w około 3,3% wszystkich próbek dostarczanych do laboratorium, z czego aż 12% stanowią próbki pobrane w SOR [76,79]. Ten zwiększony odsetek hemoliz jest spowodowany prawdopodobnie częstym pobieraniem krwi bezpośrednio z kaniuli zamiast z użyciem standardowych metod, a także zbyt krótkim czasem pomiędzy dezynfekcją skóry pacjenta, a rozpoczęciem pobierania krwi [80]. Kolejną z przyczyn mogących wpływać na zwiększenie częstości występowania hemolizy jest stosowanie próbek o dużej objętości (5,5 ml). Stosowanie próbek o niższej objętości (3,5 ml) istotnie zmniejsza częstość występowania hemolizy [81] nawet jeśli krew była pobierana z kaniuli. Na występowanie hemolizy może wpływać również zastosowanie zbyt dużej prędkości i/lub zbyt długiego czasu wirowania krwi [82]. Ponadto na wystąpienie hemolizy może mieć wpływ rodzaj uzyskiwanego materiału (w surowicy hemoliza występuje częściej niż w osoczu) [83] oraz rodzaj zastosowanej próbki do uzyskania takiego samego materiału, czego przykładem jest znacznie częściej występująca hemoliza w próbkach BD PSTIITM niż w próbkach BD BarricorTM o tej samej objętości [66].

2.3.4. Indeks hemolizy

Indeks hemolizy (HI) jest ilościowym wskaźnikiem hemolizy określanym za pomocą zautomatyzowanych metod spektrofotometrycznych przy użyciu różnych sparowanych długości fal [84,85]. Niestety sposoby identyfikowania i odrzucania próbek zhemolizowanych są bardzo zróżnicowane w MLD. Ponadto szacuje się że nadal w ponad 30% europejskich laboratoriów stopień hemolizy ocenia się organoleptycznie i makroskopowo zamiast z użyciem automatycznych systemów detekcji hemolizy [86]. Ocena wzrokowa jakości próbki może prowadzić zarówno do fałszywie zawyżonej częstości raportowania hemolizy [87] jak również zaniżonej przez co pomijane są niskie wartości HI, które mogą interferować w oznaczeniach m.in. potasu, LDH czy AST [88,89]. Pomimo że większość zautomatyzowanych metod do oceny HI dostarcza wyniki w formie półilościowej lub jakościowej [84] nadal stanowią one bardziej obiektywną i dokładną oceną stopnia hemolizy niż ocena wzrokowa [77].

2.4. Nowoczesne systemy próbkowe

2.4.1. Rodzaj uzyskiwanego materiału w próbkach BD PSTII™ i BD Barricor™

Podstawowym materiałem badanym w MLD jest krew żylna, która jest pobierana do różnego rodzaju próbek. W zależności od rodzaju próbki i postępowania z materiałem po dostarczeniu do laboratorium można uzyskać trzy podstawowe rodzaje materiału (krew pełną, osocze lub surowicę) [90], z których tylko osocze i surowica przeznaczone są do badań biochemicznych i immunochemicznych. W celu uzyskania osocza stosuje się różne antykoagulanty takie jak: cytrynian sodu, sole potasowe wersenianu (K_2EDTA i K_3EDTA) czy heparyna litowa. W badaniach biochemicznych i immunochemicznych częściej stosuje się jednak próbki zawierające heparynę litową. Popularnymi próbkami zawierającymi ten antykoagulant są próbki BD PSTII™ oraz BD Barricor™ [71], które poza heparyną zawierają również separator oddzielający osocze od elementów morfotycznych krwi po odwirowaniu próbki.

2.4.2. Różnice pomiędzy próbkami BD PSTII™ i BD Barricor™

Rodzaj zastosowanej próbki może w sposób istotny wpłynąć na TAT nie tylko ze względu na rodzaj materiału uzyskiwanego poprzez dodanie różnych substancji do wnętrza próbki, ale także poprzez zastosowanie separatora oddzielającego osocze od elementów upostaciowionych krwi. Zastosowanie separatora pozwala znacznie skrócić TAT między innymi poprzez wyeliminowanie potrzeby przelewania uzyskanego materiału z próbki pierwotnej do wtórnej. Poza skróceniem czasu minimalizuje się w ten sposób również ryzyko związane z pomyleniem materiału badanego w laboratorium [91], a także szansę na utratę materiału w wyniku jego rozlania. BD wprowadziła w ostatnim czasie nowy typ próbek z heparyną litową jako antykoagulantem, które zawierają mechaniczny separator elementów morfotycznych krwi, różniący się od klasycznie stosowanego separatora żelowego obecnego np. w próbkach do separacji osocza BD PSTII™. Oba rodzaje separatorów mają to samo zadanie, a mianowicie oddzielić osocze od elementów komórkowych krwi w trakcie wirowania zgodnego z zaleceniami producenta. Ze względu na zastosowany rodzaj separatora, próbki BD Barricor™ uznawane są za bardzo innowacyjne. Różnią się one nie tylko składem chemicznym od klasycznego żelu tiksotropowego, ale również umiejscowieniem w próbce. Klasyczny żel zlokalizowany jest na dnie próbki, z którego oddziela się w trakcie wirowania i w niewielkich porcjach przemieszcza na granicę faz, natomiast separator zastosowany w próbce BD Barricor™ zachowuje się podobnie do tłoka i w trakcie wirowania przemieszcza się w kierunku dna zatrzymując na granicy pomiędzy osoczem, a elementami morfotycznymi [92]. Takie przemieszczenie się separatora mechanicznego jest możliwe dzięki jego dwuskładnikowej budowie. Pierwszą część separatora mechanicznego BD Barricor™ stanowi tworzywo sztuczne o odpowiedniej gęstości bezwzględnej (1,040 - 1,050 g/ml [90]), a drugą część stanowi elastomer, który w trakcie wirowania pozwala swobodnie sedymentować elementom komórkowym na dno próbki, ponieważ dopiero w trakcie zmniejszania się siły działającej na próbkę (zatrzymywania rotora wirówki) zmienia się jego kształt, który szczelnie oddziela osocze od upostaciowionych elementów krwi [71]. Jest to bardzo istotne, gdyż sedymentacja elementów morfotycznych w próbkach z separatorem żelowym zachodzi tylko w we wczesnej fazie wirowania. Zaobserwowano również, że dzięki zastosowaniu mechanicznego separatora w osoczu uzyskanym w próbce BD Barricor™

jest mniej płytek krwi niż w próbówce BD PSTII™ [93,94]. Świadczy to o lepszej jakości osocza i jego dokładniejszym odwirowaniu.

Proces oddzielania osocza od upostaciowionych elementów krwi jest możliwy dzięki różnicom w gęstości bezwzględnej trzech składowych: osocza (1,024 g/ml [95] – 1,025 g/ml [96]), żelu tiksotropowego (używanego między innymi w próbówce BD PSTII™) i polimeru (stosowanego w próbówce BD Barricor™) dla których gęstość bezwzględna mieści się w zakresie między 1,040 a 1,050 g/ml [90], a gęstością bezwzględną masy komórkowej (od 1,092 g/ml do 1,095 g/ml [90]). W związku z występowaniem różnic w gęstości bezwzględnej między tymi komponentami możliwe jest powstanie stanu równowagi na granicy faz ponieważ elementy komórkowe ze względu na największą gęstość bezwzględną znajdą się na dnie próbówki, separator (zarówno żel, jak i polimer) posiadając pośrednią gęstość bezwzględną umiejscowi się tuż nad elementami komórkowymi, a osocze ze względu na najniższą gęstość bezwzględną znajdzie się nad separatorem. Jednakże stosowanie separatorów może wiązać się z ryzykiem powstania błędu przedanalizycznego, ponieważ istnieją doniesienia [97] dotyczące flotacji separatora (umieszczenie separatora nad osoczem) u pacjentów z bardzo wysokim stężeniem białka całkowitego w osoczu. Wspomniane nieprawidłowe umiejscowienie separatora w próbówce jest wynikiem zwiększenia gęstości bezwzględnej (np. na skutek podwyższenia stężenia białka całkowitego) powyżej wartości ustalonych dla separatora [98]. Taka sytuacja jest tym bardziej niebezpieczna, im bardziej zautomatyzowane jest laboratorium, ponieważ kontakt igły pobierającej materiał z żelem może skutkować jej zatkanie i koniecznością wymiany. Ryzyko zatkania igły nie występuje w przypadku stosowania próbek BD Barricor™, ze względu na niemożliwość do zaaspirowania przez igłę analizatora materiał z którego wykonany jest separator [99]. W celu prawidłowej separacji osocza od elementów morfotycznych niezbędne jest zapewnienie właściwych warunków wirowania. Na jakość wirowania ogromny wpływ mają: czas, prędkość i temperatura. Są to istotne parametry, ponieważ wirowanie krwi zbyt długo, z wykorzystaniem nadmiernej prędkości i w zbyt wysokiej temperaturze może prowadzić do powstania hemolizy. Z kolei zbyt krótki czas wirowania i/lub zastosowanie zbyt niskiej prędkości może prowadzić do niewystarczającego rozdzielania elementów morfotycznych od osocza lub surowicy [82]. Zastosowanie nieprawidłowych parametrów wirowania może znacząco pogorszyć jakość uzyskiwanych

wyników. Jak już wspomniano wcześniej, bardzo ważnym parametrem określającym jakość usług laboratoryjnych jest TAT i wszystkie laboratoria powinny dążyć do jego maksymalnego skrócenia. Taki efekt można osiągnąć poprzez optymalizację warunków wirowania. Jednakże nie jest to łatwe, ponieważ warunki te zależą ściśle od rodzaju użytej próbówki. Przykładem próbówek różniących się warunkami wirowania są BD Barricor™ i BD PSTII™. Dzięki zastosowanemu w próbówkach BD Barricor™ mechanicznemu separatorowi, próbówki te mogą być wirowane z prędkością 4000 G przez zaledwie 3 minuty, co znacząco skraca TAT w porównaniu z próbówkami BD PSTII™, które są wirowane z prędkością 2000 G przez 10 minut [66,81,100]. Brak rutynowego stosowania próbówek BD Barricor™ jest spowodowany prawdopodobnie ich wyższą ceną niż próbówek BD PSTII™ (blisko 4 krotnie wyższa cena w 2019 r.), wymogami dotyczącymi prędkości z jaką próbówka musi być wirowana, a przede wszystkim małą ilością danych dotyczących walidacji klinicznej tych próbówek.

3. Cel pracy

Celem pracy była ocena wpływu nowoczesnych rozwiązań laboratoryjnych stosowanych w oznaczeniach hs-cTnI na postępowanie diagnostyczno-kliniczne u pacjentów z podejrzeniem ostrego zespołu wieńcowego.

Cel ten zrealizowano poprzez:

- ✓ Ocenę częstości występowania hemolizy w probówkach BD Barricor™ oraz BD PSTII™, co określono ilościowo za pomocą wskaźnika hemolizy na systemach pomiarowych Atellica CH oraz Alinity c.
- ✓ Ocenę wpływu stosowania probówek BD Barricor™ oraz BD PSTII™ na stężenie hs-cTnI na analizatorach Atellica IM oraz Alinity i.
- ✓ Porównanie metod do oznaczania hs-cTnI na analizatorach Atellica IM oraz Alinity i z wykorzystaniem probówek BD Barricor™ oraz BD PSTII™.
- ✓ Ocenę wpływu stosowania probówek BD Barricor™ oraz BD PSTII™ na strategię szybkiego wykluczania AMI u pacjentów SOR z wykorzystaniem zdefiniowanych wartości odcięcia dla hs-cTnI oznaczanej na analizatorach Atellica IM oraz Alinity i.

4. Metody badawcze

4.1. Część analityczna

4.1.1. Materiał badany

W części analitycznej materiał do przeprowadzenia badań walidacyjnych stanowiło 359 sparowanych próbek osocza heparynowego pobranego równocześnie do dwóch typów probówek BD Barricor™ oraz stosowanych rutynowo BD PSTII™ (Becton Dickinson, Nowy Jork, USA) w celu oznaczenia stężenia hs-cTnI przy zastosowaniu dwóch immunochemicznych systemów pomiarowych Alinity i (Abbott Diagnostics, Chicago, Illinois, USA) oraz Atellica IM (Siemens Healthineers, Erlangen, Niemcy). Materiał badany pochodził od pacjentów hospitalizowanych w Szpitalu Uniwersyteckim (SU) nr 1 im. dr. A. Jurasza w Bydgoszczy, u których rutynowo zlecono oznaczenie stężenia hs-cTnI w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej (ZDL). Wszyscy uczestnicy badania wyrazili świadomą pisemną zgodę na udział w badaniu przed pobraniem krwi. Nie zastosowano żadnych kryteriów wykluczenia próbek z badania, z wyjątkiem: pobrania niewystarczającej ilości krwi (<3 ml) w co najmniej jednej z dwóch probówek, pobrania krwi tylko do jednej z obu probówek oraz w przypadku uzyskania wyników hs-cTnI niemieszczących się w zakresie pomiarowym danej metody. Materiał do badań pozyskiwano w okresie od czerwca 2019 r. do marca 2021 r.

4.1.2. Pobieranie i przygotowanie materiału

Materiał pobierany był od pacjentów każdorazowo w tej samej kolejności przez doświadczony personel pielęgniarski. W pierwszej kolejności krew pobierano do 3 ml probówki BD Barricor™ (nr kat. 365044), a następnie do 3 ml probówki BD PSTII™ (nr kat. 367374). Bezpośrednio po pobraniu każda probówka była delikatnie mieszana poprzez 8-10 krotne jej obrócenie zgodnie z zaleceniami producenta [71]. Dokładne wymieszanie próbki bezpośrednio po pobraniu umożliwiała równomierne rozprowadzenie antykoagulantu w probówce co zapobiegało ewentualnemu powstaniu w niej skrzepu. W celu poprawnej identyfikacji par probówek były one opisywane imieniem i nazwiskiem,

a także naklejano na próbówki kody kreskowe, których odpowiedniki znajdowały się na dołączonym skierowaniu na badania laboratoryjne.

Po pobraniu krwi obu próbek, były one natychmiast transportowane do laboratorium wraz ze skierowaniem umożliwiającym identyfikację par próbek i pacjentów. Dostarczony materiał był niezwłocznie rejestrowany w systemie informatycznym ZDL i poddawany wirowaniu zgodnemu z zaleceniami producenta [83]. Probówki BD Barricor™ wirowano przez 3 minuty z prędkością 4000 G przy użyciu dedykowanej dla tych próbek wirówki DASH Apex 6 Compact STAT (Drucker Diagnostics, Port Matilda, Pensylwania, USA), która jednorazowo mogła pomieścić 6 próbek BD Barricor™. Natomiast próbówki BD PSTII™ wirowano przez 10 minut z prędkością 2000 G w wirówce Eppendorf 5702 (Eppendorf, Hamburg, Niemcy) z wychylnym koszykiem (odwirowanie próbówki w sposób horyzontalny powoduje płaskie ułożenie żelu separacyjnego i niweluje ryzyko jego aspiracji przez analizator).

Bezpośrednio po odwirowaniu próbówki były transportowane do pracowni w celu wykonania oznaczeń na obu systemach analitycznych. Każde oznaczenia hs-cTnI poprzedzone były spektrofotometrycznym pomiarem HI na stosowanym rutynowo analizatorze Siemens Atellica, a następnie na systemie analitycznym Abbott Alinity. Wszystkie pomiary były wykonane w ciągu 30 minut od odwirowania każdej z próbek.

4.1.3. Charakterystyka systemów pomiarowych do oznaczania HI

HI oznaczany był na obu analizatorach z użyciem metod spektrofotometrycznych. Czas potrzebny na uzyskanie wyniku oznaczeń HI na obu systemach pomiarowych wynosił około 2 minuty. W przypadku analizatora Atellica CH pomiar HI polegał na dodaniu próbki osocza do kuwety reakcyjnej, w której następnie wykonywany był pomiar absorbancji przy dwóch różnych sparowanych długościach fali (pierwotna/wtórna) 571 nm /596 nm oraz 658 nm /694 nm. Wynik był odnoszony do wartości pomiaru absorbancji tych samych długości fal mierzonej w wodzie systemowej w celu odjęcia wpływu absorbancji tła na wyniki [84,101]. Na analizatorze Alinity c również zastosowano zautomatyzowaną spektrofotometryczną metodę pomiaru HI. Absorbancję mierzono przy czterech różnych

sparowanych długościach fal (pierwotna/wtórna), mianowicie: 500 nm/524 nm, 572 nm /604 nm, 628 nm /660 nm, 524 nm /804 nm [74,85]. Otrzymane wyniki porównywano do wyników absorbancji uzyskanych przy tych samych długościach fal w 0,9% roztworze NaCl. Następnie wyniki były korygowane matematycznie pod kątem nakładania się widm absorbancji, a uzyskany w ten sposób wynik odpowiadał stężeniu fHb w próbce i był wyrażony w g/l [74,102].

Przedziały stężeń fHb odpowiadające jakościowej skali HI na analizatorze Atellica CH przedstawiono w Tabeli 3.

Tabela 3. Skala jakościowa HI wraz z odpowiadającymi jej zakresami stężeń fHb na analizatorze Atellica CH [84].

HI	Przedział stężenia fHb w próbce [g/l]
0	0,00-0,10
1+	0,11-1,30
2+	1,31-2,49
3+	2,50-4,99
4+	5,00-7,49
5+	7,50-9,99
6+	≥10,00

fHb: wolna hemoglobina; HI: indeks hemolizy

Przedziały stężeń fHb przypisane do HI na analizatorze Alinity c zebrano w Tabeli 4.

Tabela 4. Skala jakościowa HI wraz z odpowiadającymi jej zakresami stężeń fHb na analizatorze Alinity c [85].

HI	Przedział stężenia fHb w próbce [g/l]
0	0,00-0,29
1+	0,30-0,99
2+	1,00-1,99
3+	2,00-4,99
4+	≥5,00

fHb: wolna hemoglobina; HI: indeks hemolizy

W oparciu o dane eksperymentalne [103] zdefiniowano dwa istotne klinicznie progi interferencji dla hemolizy, odpowiadające stężeniom 0,25 g/l oraz 1,00 g/l fHb dla Alinity c. W przypadku analizatora Atellica CH HI odpowiadał 1+ (tj. 0,11-1,30 g/l fHb) i 2+ (tj. 1,31-2,49 g/l fHb). Przyjęto również trzeci próg interferencji hemolizy odpowiadający stężeniu fHb o wartości 2,00 g/l dla Alinity c oraz dla analizatora Atellica CH 3+

(tj. 2,50-4,99 g/l fHb) dla porównania występowania bardzo wysokich wartości HI w obu probówkach, w zależności od użytego systemu pomiarowego.

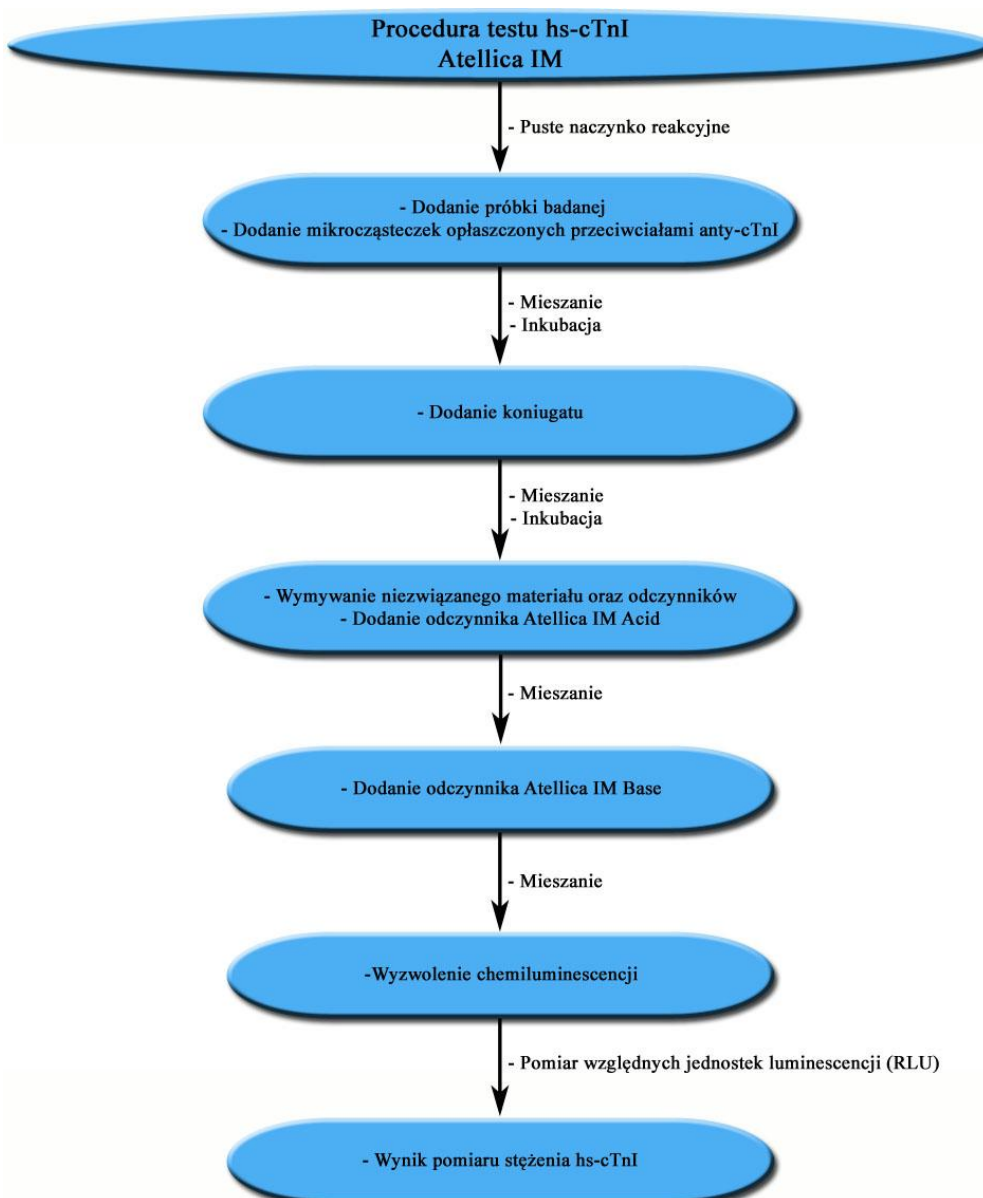
Dla wysokoczułych metod oznaczania cTnI zarówno na analizatorze Alinity i, jak i Atellica IM próg istotnej klinicznie interferencji fHb w próbce wynosi 5,0 g/l [61,62].

4.1.4. Charakterystyka analitycznych systemów pomiarowych do oznaczania stężenia hs-cTnI

Zakres pomiarowy stężeń hs-cTnI wynosi odpowiednio od 3 do 25 000 ng/l dla Atellica IM oraz od 3 do 50 000 ng/l dla Alinity i [61,62]. Dolna wartość zakresu pomiarowego została ustalona w oparciu o LoQ dla Atellica IM i została zaokrąglona do najmniejszej wspólnej liczby całkowitej dla obu systemów pomiarowych. Zgodnie z zaleceniami IFCC [104] wszystkie uzyskane wartości stężeń hs-cTnI zaokrąglano do liczby całkowitej, bez miejsc po przecinku i wyrażono w ng/l. Ogólną charakterystykę analityczną obu metod przedstawiono wcześniej w Tabeli 2.

4.1.5. Charakterystyka analityczna testu hs-cTnI Atellica (Atellica IM High-Sensitivity Troponin I)

Test Atellica IM High-Sensitivity Troponin I jest trójstopniowym immunochemicznym testem kanapkowym wykorzystującym bezpośrednią chemiluminescencję (CMIA) [62]. Odczynniki fazy stałej stanowią cząstki magnetyczne skoniugowane ze streptawidyną, dwa monoklonalne biotynylowane przeciwciała wychytujące (z ang. *capture*), z których każde rozpoznaje inny epitetop łańcucha aminokwasowego cTnI. Do fazy stałej dodawana jest próbka badana (surowica lub osocze), a także koniugat (składający się z estru akrydyny i rekombinowanego przeciwciała owczego Fab skierowanego przeciw ludzkiej cTnI kowalencyjnie przyłączonego do albuminy surowicy bydlęcej). Tak przygotowana mieszanina jest inkubowana, po zakończeniu inkubacji niezwiązane przeciwciała są wyflukiwane w polu magnetycznym z naczynka reakcyjnego i następuje pomiar chemiluminescencyjny (Rycina 6).



Rycina 6. Schematyczne przedstawienie przebiegu reakcji oznaczania hs-cTnI na analizatorze Atellica IM [62].

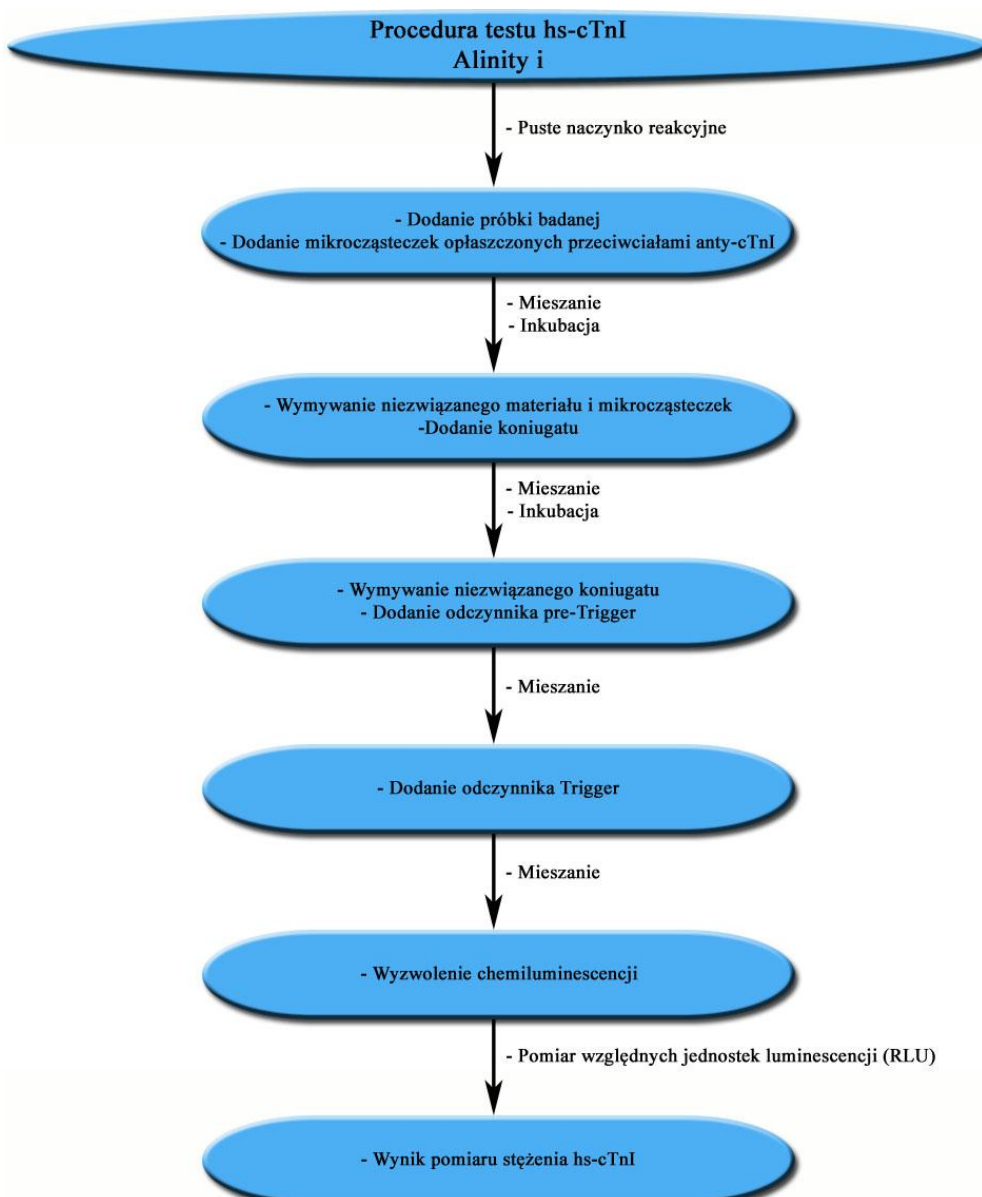
Odczynnik Atellica IM Acid przygotowuje mieszaninę reakcyjną do wyzwolenia chemiluminescencji. Odczynnik Atellica IM Base inicjuje chemiluminescencję. Istnieje bezpośredni związek między ilością cTnI w próbce a RLU wykrytymi przez optykę systemu.

cTnI: sercowa troponina I; hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości; RLU: względne jednostki luminescencji

4.1.6. Charakterystyka analityczna testu hs-cTnI Alinity (STAT High Sensitive Troponin-I)

Test STAT High Sensitive Troponin-I jest dwustopniowym testem immunochemiluminescencji z wykorzystaniem mikrocząsteczek (CMIA) [61]. W celu wykonania pomiaru stężenia cTnI w naczynku reakcyjnym inkubowane są mikrocząsteczki pokryte przeciwciałami skierowanymi przeciwko ludzkiej cTnI wraz z próbką badanego

osocza lub surowicy. Po zakończonej inkubacji z naczynka reakcyjnego wymywany jest nadmiar niezwiązanych mikrocząstek i pozostałości materiału badanego, które nie weszły w reakcję z przeciwciałami opłaszczonymi na mikrocząsteczkach. Następnie dodawany jest koniugat (przeciwciała przeciwko ludzkiej cTnI znakowane akrydyną) i mieszanina jest inkubowana. Po inkubacji niezwiązane znakowane przeciwciała są wymywane w polu magnetycznym z naczynka, po czym są dodawane odczynniki wyzwalające chemiluminescencję w badanej mieszaninie reakcyjnej i następuje pomiar emitowanego światła (Rycina 7).



Rycina 7. Schematyczne przedstawienie przebiegu reakcji oznaczania hs-cTnI na analizatorze Alinity i [61].

Odczynnik pre-Trigger przygotowuje mieszaninę reakcyjną do wyzwolenia chemiluminescencji. Odczynnik Trigger inicjuje chemiluminescencję. Istnieje bezpośredni związek między ilością cTnI w próbce a RLU wykrytymi przez optykę systemu. cTnI: sercowa troponina I; hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości; RLU: względne jednostki luminescencji

4.2. Część kliniczna

4.2.1. Pacjenci

Do części klinicznej włączono 599 niewyselekcjonowanych pacjentów przyjętych na SOR SU nr 1 w Bydgoszczy z powodu bólu w klatce piersiowej o możliwym pochodzeniu sercowym i jednocześnie z podejrzeniem AMI. U wszystkich uczestników badania czas od początku bólu stenokardialnego do przyjęcia na SOR nie przekroczył 6 godzin. Pacjenci byli rekrutowani do udziału w badaniu od czerwca 2019 r. do marca 2021 r.

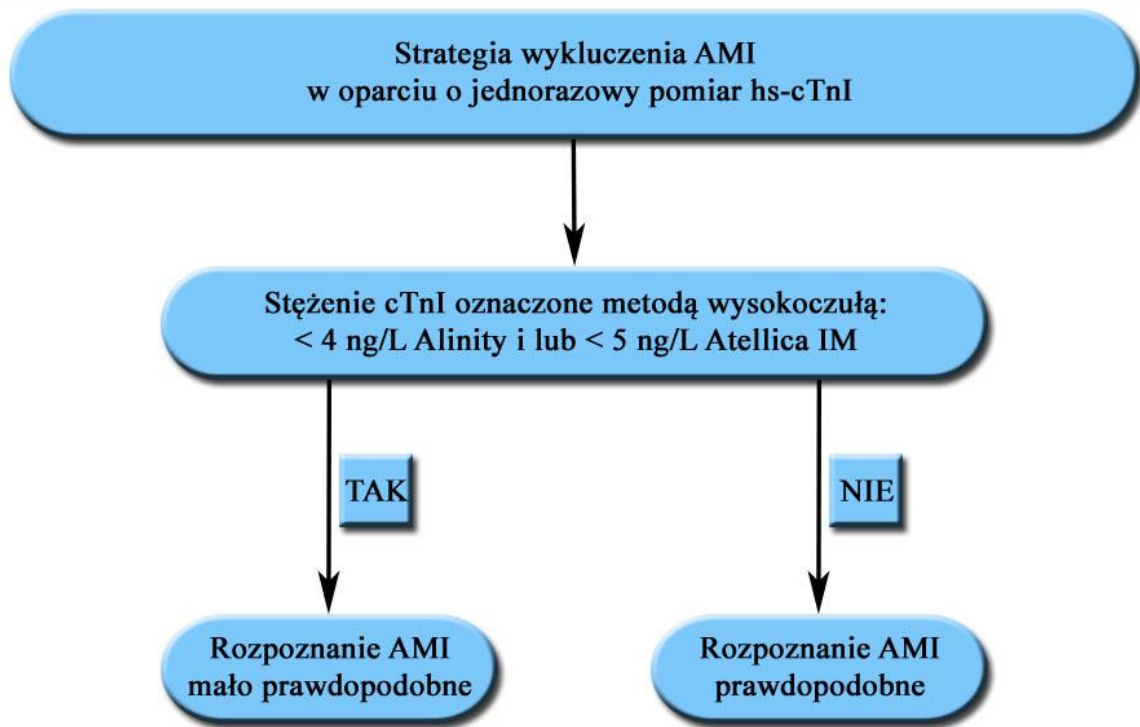
4.2.2. Pobieranie krwi i oznaczanie stężenia hs-cTnI

Od każdego pacjenta biorącego udział w części klinicznej uzyskano świadomą pisemną zgodę na udział w badaniu. Każdorazowo po uzyskaniu zgody pobierano materiał najpierw do 3 ml probówki BD Barricor™ (nr kat. 365044), a następnie do 3 ml probówki BD PSTII™ (nr kat. 367374). Każdą pobraną probówkę delikatnie mieszano 8-10 razy od razu po pobraniu, zgodnie z zaleceniami producenta [71]. W celu zapewnienia poprawnej identyfikacji materiału obie probówki były opisywane danymi pacjenta oraz znakowane kodami kreskowymi tożsamymi z kodami kreskowymi na zleceniu wykonania badań w laboratorium. Nie zastosowano żadnych kryteriów wykluczenia próbek z badania, za wyjątkiem: pobrania niewystarczającej ilości krwi (<3 ml) w co najmniej jednej z dwóch probówek, pobrania krwi tylko do jednej z probówek oraz w przypadku uzyskania wyników hs-cTnI niemieszczących się w zakresie pomiarowym danej metody.

Po pobraniu probówki wraz ze skierowaniem były natychmiast transportowane do ZDL, gdzie bezzwłocznie były odwirowane zgodnie z zaleceniami producenta [71], tj. BD Barricor™ przez 3 minuty z prędkością 4000 G, a BD PSTII™ przez 10 minut z prędkością 2000 G w dedykowanych wirówkach. W ciągu 30 minut po odwirowaniu, w obu probówkach oznaczono HI i stężenie hs-cTnI najpierw na systemie pomiarowym Atellica, a następnie Alinity.

4.2.3. Strategia wykluczenia AMI przy przyjęciu

Zastosowano strategię wykluczenia AMI opartą na jednorazowym pomiarze hs-cTnI (z ang. *single sample rule-out*), stosując wcześniej zdefiniowane punkty odcięcia (<4 ng/l dla Alinity i [1] i <5 ng/l dla Atellica IM [35]), z wykorzystaniem próbek BD Barricor™ oraz BD PSTII™. Pierwszorzędownym punktem końcowym było porównanie skuteczności wyżej wymienionej strategii do wykluczenia AMI przy zastosowaniu próbek BD Barricor™ w porównaniu do stosowanych rutynowo BD PSTII™. Zastosowaną w badaniu strategię przedstawiono na Rycinie 8.



Rycina 8. Strategia wykluczenia AMI w oparciu o jednorazowy pomiar stężenia hs-cTnI.
AMI: ostry zawał mięśnia sercowego; cTnI: sercowa troponina I;

4.2.4. Rozpoznanie AMI

Po zapoznaniu się z odpowiednimi informacjami klinicznymi, kardiolog dyżurujący w SOR SU nr 1 w Bydgoszczy, zgodnie z Czwartą Uniwersalną Definicją Zawału Mięśnia Sercowego potwierdzał bądź wykluczał rozpoznanie AMI [2]. Dane eksperymentalne

dotyczące oznaczeń hs-cTnI w probówkach BD Barricor™ nie były udostępniane lekarzom weryfikującym podejrzenie AMI w grupie badanej. Wyniki rutynowych oznaczeń hs-cTnI uzyskane w próbówce BD PSTII™ na analizatorze Atellica IM były dostępne dla lekarzy w całym okresie hospitalizacji pacjentów.

4.3. Zgodność ze standardami etycznymi

Protokół badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK w Toruniu, zgodnie z Deklaracją Helsińską o standardach etycznych [nr 402/2019]. Wszyscy pacjenci wyrazili pisemną świadomą zgodę na włączenie do badania.

4.4. Analiza statystyczna

Wszystkie analizy statystyczne przeprowadzono przy użyciu oprogramowania MedCalc v.20.023 (MedCalc Software, Ostend, Belgia). Zmienne katetyczne porównano za pomocą testu chi-kwadrat i określono dla nich procentowy udział w całej grupie wyników.

Sprawdzono zgodność rozkładu w dwóch grupach niezależnych z rozkładem normalnym za pomocą testu W Shapiro-Wilka. Wartości o rozkładzie normalnym przedstawiono jako średnia (\bar{x}) i odchylenie standardowe (SD). Natomiast wartości, których rozkład odbiegał od normalnego przedstawiono w postaci mediany oraz zakresu 25 i 75 percentyla.

W zależności czy dany rozkład spełniał kryteria rozkładu normalnego, uzyskane wartości porównano przy użyciu testu t-Studenta lub w przypadku niespełnienia tych warunków testem U-Manna-Whitney`a.

Porównania stężeń hs-cTnI w probówkach BD Barricor™ i BD PSTII™ na analizatorach Alinity i oraz Atellica IM dokonano za pomocą analizy regresji Deminga z wyznaczeniem współczynnika korelacji liniowej Pearsona. Wygenerowano wykresy punktowe stężeń hs-cTnI zmierzonych za pomocą systemów pomiarowych Alinity i oraz Atellica IM w obu probówkach, oszacowano nachylenia i punkty przecięcia (z odpowiednimi 95% CI).

Zgodnie z zaleceniami Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [105] zapoznano się dogłębnie z obsługą obu użytych analizatorów oraz wykorzystywanych metod. Poznano ich ograniczenia, a także czynniki zakłócające przeprowadzenie rzetelnych pomiarów. W trakcie prowadzenia eksperymentu porównawczego zapewniono odpowiednią kalibrację i kontrolę jakości obu metod. Zgodnie z zaleceniami CLSI liczba próbek badanych potrzebnych do porównania metod była większa niż 40, a okres pobierania materiału i wykonywania oznaczeń był znacznie dłuższy niż 5 dni. Żadna z porównywanych metod nie była metodą referencyjną w związku z czym nie było możliwe określenie błędu dla porównywanej metody, a jedynie wyznaczenie różnic pomiędzy obiema metodami. Uzyskane wartości odnosiły się zarówno do zakresu mającego znaczenie kliniczne, jak i do pełnego zakresu pomiarowego obu metod. Wszystkie oznaczenia były wykonane w czasie krótszym niż maksymalny okres stabilności analitu. Dla każdej z analizowanych metod wykonano podwójne oznaczenie w każdej próbce, następnie obliczono średnią z każdego pomiaru, która była brana pod uwagę w dalszych obliczeniach. Przeprowadzono analizę wartości odstających (z ang. *outliers*) dla każdej z metod, w celu sprawdzenia spójności danych i ewentualnego usunięcia ze zbioru danych wartości odstających. Następnie wykonano wykresy regresji porównujące ze sobą obie metody, poprzez naniesienie linii o nachyleniu równym 1,0 przechodzącej przez początek układu współrzędnych oraz wykresów regresji Deminga z zaznaczonymi odpowiednimi 95% CI wraz z wykresami punktowymi stężeń hs-cTnI zmierzonych za pomocą systemów pomiarowych Alinity i oraz Atellica IM w obu probówkach. Wykonano również wykresy różnic procentowych pomiędzy metodami Alinity i oraz Atellica IM z wykorzystaniem testu Bland-Altman'a. Powyższą analizę przeprowadzono dla pełnego zakresu pomiarowego obu metod do oznaczania stężeń hs-cTnI, a także w niższym zakresie pomiarowym stężeń hs-cTnI 3-300 ng/l.

Czułość diagnostyczna i NPV z odpowiednimi CI zostały obliczone w celu zbadania skuteczności diagnostycznej strategii wykluczenia AMI przy zastosowaniu testów hs-cTnI Alinity i oraz Atellica IM oraz przy użyciu dwóch różnych probówek. Porównano różnice w proporcjach wyników uzyskanych z obu probówek. Porównano również zgodność w raportowaniu wyników poniżej zdefiniowanych wartości odcięcia dla obu testów hs-cTnI w obydwu porównywanych probówkach. Zgodność klasyfikacji przedstawiono za pomocą

współczynnika kappa Cohena, dla którego wartości $<0,7$ uznano za definiującą niedostateczną zgodność.

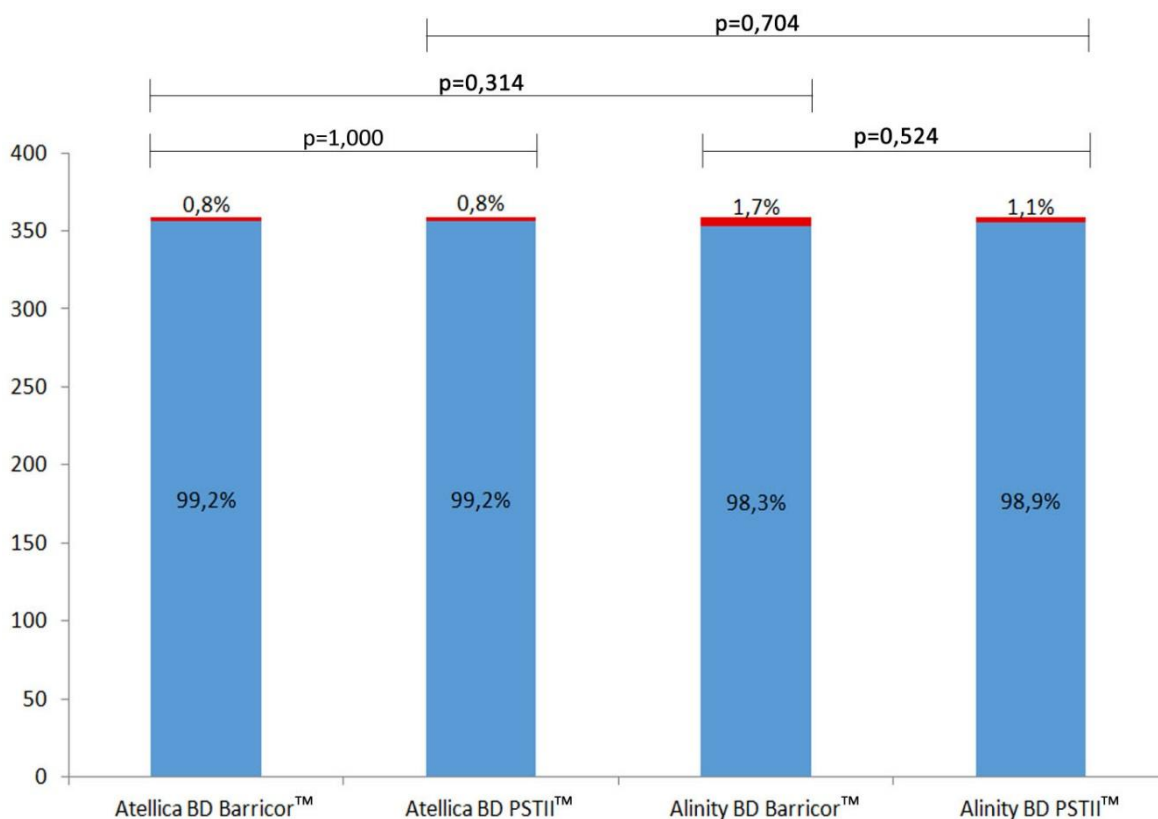
Wartość $p<0,05$ uznano za istotną statystycznie.

5. Wyniki

5.1. Część analityczna

5.1.1. Porównanie HI

Porównanie HI przy użyciu zautomatyzowanych metod Alinity c oraz Atellica CH w 359 sparowanych próbkach BD Barricor™ i BD PSTII™ przedstawiono na Rycinach 9-11. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w częstości hemolizy zarówno pomiędzy próbkami jak i analizatorami biochemicznymi w grupie wyników dla wysokiego stopnia hemolizy (Rycina 9), tj. gdy stężenie fHb w próbce było większe lub równe 2,00 g/l

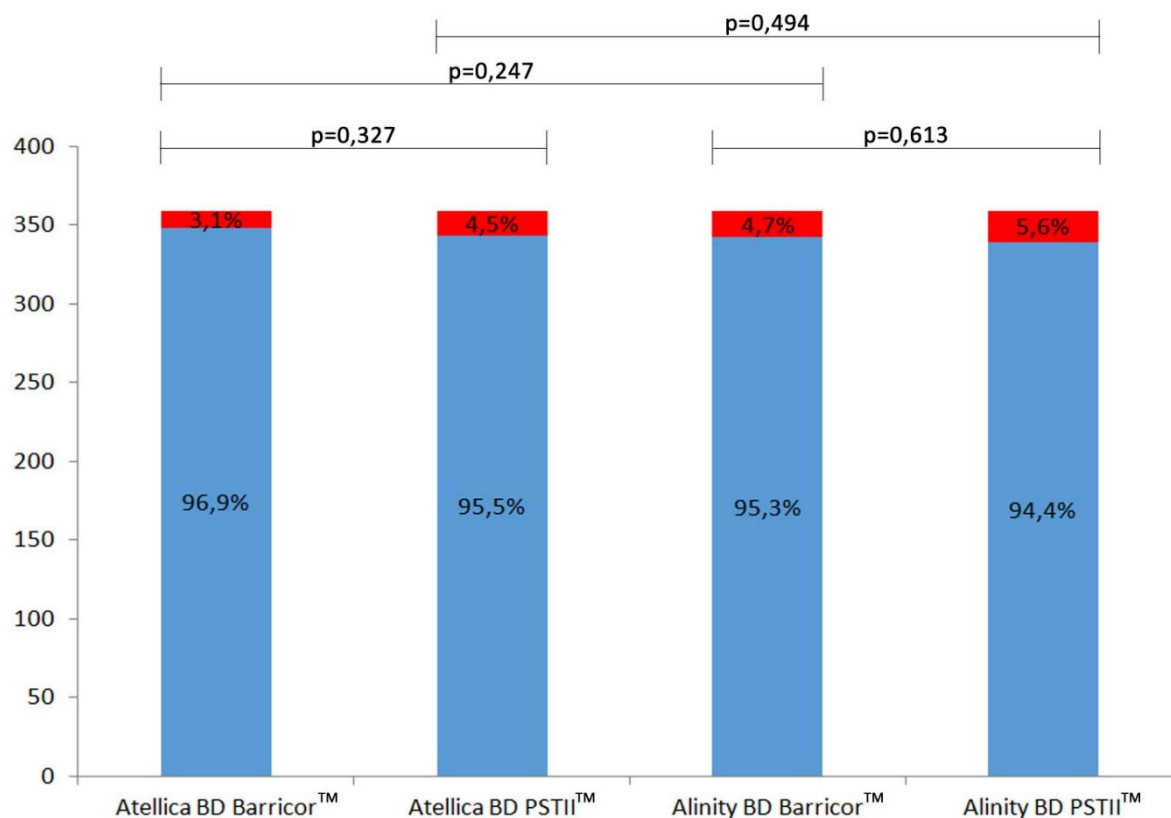


Rycina 9. Wysoki stopień hemolizy wykrywany za pomocą automatycznego wskaźnika hemolizy w dwóch systemach pomiarowych w 359 próbkach osocza z heparyną litową BD Barricor™ i BD PSTII™.

Hemoliza wysokiego stopnia; stężenie fHb $\geq 2,00$ g/l dla Alinity c oraz $\geq 3+$ (wartości ilościowe w zakresie stężeń fHb 2,50-4,99 g/l) dla Atellica CH.

Poziom istotności statystycznej $p \leq 0,05$; fHb: wolna hemoglobina

Podobnie nie zaobserwowano różnic pomiędzy ilością raportowanych wyników jako hemoliza umiarkowanego stopnia (gdy stężenie fHb w próbce było $\geq 1,00$ g/l) niezależnie od użytego analizatora i rodzaju próbki (Rycina 10).

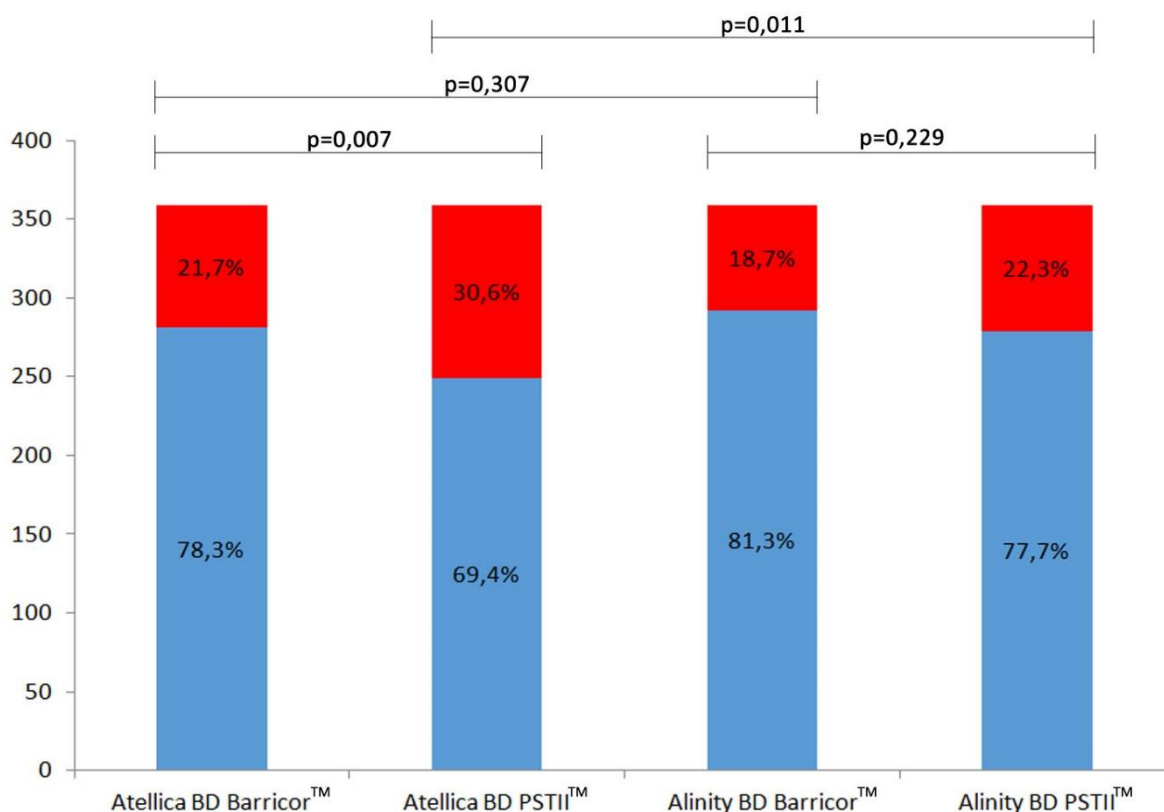


Rycina 10. Umiarkowany stopień hemolizy wykrywany za pomocą automatycznego wskaźnika hemolizy w dwóch systemach pomiarowych w 359 próbkach osocza z heparyną litową BD Barricor™ i BD PSTII™.

Hemoliza umiarkowanego stopnia; stężenie fHb $\geq 1,00$ g/l dla Alinity c oraz $\geq 2+$ (wartości ilościowe w zakresie stężeń fHb 1,31-2,49 g/l) dla Atellica CH.

Poziom istotności statystycznej $p \leq 0,05$; fHb: wolna hemoglobina;

Zaobserwowano statystycznie istotne różnice w przypadku detekcji niskiego stopnia hemolizy (Rycina 11). Na analizatorze Atellica CH w próbkach BD Barricor™ zaobserwowano istotnie niższą częstość występowania HI 1+, w porównaniu do próbek BD PSTII™ (21,7% vs. 30,6%, $p=0,007$). Ponadto istotnie wyższą częstość detekcji hemolizy w stopniu H1+ w próbkach BD PSTII™ wykazano na analizatorze Atellica CH w porównaniu do analizatora Alinity c (30,6% vs. 22,3%, $p=0,011$).



Rycina 11. Niski stopień hemolizy wykrywany za pomocą automatycznego wskaźnika hemolizy w dwóch systemach pomiarowych w 359 próbkach osocza z heparyną litową BD Barricor™ i BD PSTII™.

Hemoliza niskiego stopnia; stężenie fHb $\geq 0,25$ g/l dla Alinity c oraz $\geq 1+$ (wartości ilościowe w zakresie stężeń fHb 0,11-1,30 g/l) dla Atellica CH.

Poziom istotności statystycznej $p \leq 0,05$; fHb: wolna hemoglobina;

W Tabeli 5 przedstawiono porównanie częstości występowania hemolizy w odniesieniu do poszczególnych zakresów stężeń hs-cTnI w obu systemach próbkowych i analitycznych. Istotność statystyczna obserwowanych różnic została przedstawiona w Tabeli 6.

Tabela 5. Porównanie częstości występowania hemolizy w odniesieniu do poszczególnych zakresów stężeń hs-TnI w obu systemach pomiarowych i analitycznych.

Zakres stężeń hs-cTnI [ng/l]	Alinity c				Atellica CH			
	BD Barricor™		BD PSTII™		BD Barricor™		BD PSTII™	
	Wszystkie próbki n (%)	Próbki z hemolizą n (%)	Wszystkie próbki n (%)	Próbki z hemolizą n (%)	Wszystkie próbki n (%)	Próbki z hemolizą n (%)	Wszystkie próbki n (%)	Próbki z hemolizą n (%)
<100	296 (82,5%)	34 (11,5%)	296 (82,5%)	39 (13,2%)	296 (82,5%)	55 (18,6%)	296 (82,5%)	72 (24,3%)
100-199	15 (4,2%)	1 (6,7%)	16 (4,5%)	1 (6,3%)	4 (1,0%)	1 (25,0%)	4 (1,0%)	1 (25,0%)
200-299	7 (2,0%)	1 (14,3%)	6 (1,7%)	0 (0,0%)	9 (2,5%)	1 (11,1%)	9 (2,5%)	1 (11,1%)
300-999	13 (3,5%)	0 (0,0%)	14 (3,8%)	1 (7,1%)	18 (5,0%)	1 (5,6%)	19 (5,3%)	5 (26,3%)
>1000	28 (7,8%)	4 (14,3%)	27 (7,5%)	4 (14,8%)	32 (9,0%)	5 (15,6%)	31 (8,7%)	11 (35,5%)

hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości

Tabela 6. Porównanie istotności statystycznej pomiędzy ilościami próbek raportowanych w wybranych zakresach stężenia hs-cTnI w obu probówkach na obu analizatorach oraz istotności statystycznej pomiędzy ilościami raportowanych hemoliz w obu probówkach na obu analizatorach w wybranych zakresach stężeń.

		Zakres stężeń hs-cTnI [ng/l]				
		<100	100-199	200-299	300-999	>1000
Alinity BD Barricor™ vs. Alinity BD PSTII™	Wszystkie próbówki	p=1,00	p=0,854	p=0,780	p=0,844	p=0,888
	Probówki z hemolizą	p=0,532	p=0,744	N/A	N/A	p=0,841
Alinity BD Barricor™ vs. Atellica BD Barricor™	Wszystkie próbówki	p=1,00	p=0,011	p=0,613	p=0,359	p=0,590
	Probówki z hemolizą	p=0,016	p<0,001	p=0,521	N/A	p=0,692
Alinity BD Barricor™ vs. Atellica BD PSTII™	Wszystkie próbówki	p=1,00	p=0,011	p=0,613	p=0,278	p=0,683
	Probówki z hemolizą	p=0,027	p<0,001	p=0,521	N/A	p<0,001
Alinity BD PSTII™ vs. Atellica BD Barricor™	Wszystkie próbówki	p=1,00	p=0,007	p=0,434	p=0,469	p=0,497
	Probówki z hemolizą	p=0,247	p<0,001	N/A	p=0,774	p=0,845
Alinity BD PSTII™ vs. Atellica BD PSTII™	Wszystkie próbówki	p=1,00	p=0,007	p=0,434	p=0,373	p=0,584
	Probówki z hemolizą	p=0,045	p<0,001	N/A	p<0,001	p<0,001
Atellica BD Barricor™ vs. Atellica BD PSTII™	Wszystkie próbówki	p=1,00	p=1,00	p=1,00	p=0,866	p=0,895
	Probówki z hemolizą	p=0,389	p=1,00	p=1,00	p<0,001	p=0,001

Poziom istotności statystycznej p≤0,05; N/A; istotność statystyczna niemożliwa do obliczenia ze względu na wystąpienie braku obserwacji w przynajmniej jednej zmiennej

Największą częstość hemoliz niezależnie od zakresu stężeń hs-cTnI obserwowano w próbówce BD PSTII™ na analizatorze Atellica. Największa ilość wszystkich próbek została sklasyfikowana w zakresie stężeń hs-cTnI <100 ng/l, niezależnie od użytego systemu pomiarowego jak i próbki. Konsekwentnie w tym zakresie stężeń hs-cTnI mieściło się również najwięcej próbek, w których wystąpiła jakakolwiek hemoliza (H1+-H3+). W zakresie stężeń hs-cTnI <100 ng/l zaobserwowano istotne różnice w częstości detekcji hemolizy pomiędzy próbkami BD Barricor™ na obu systemach pomiarowych, a także

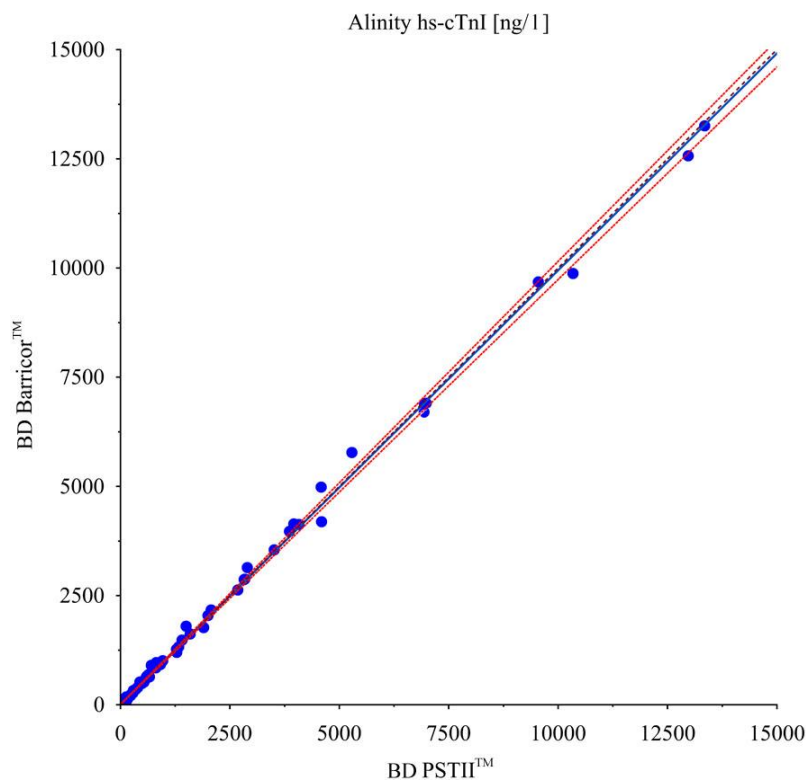
między próbkami BD PSTII™ na obu systemach pomiarowych. Ponadto istotnie niższą częstość hemolizy zaobserwowano w próbkach BD Barricor™ na analizatorze Alinity c względem próbek BD PSTII™ na analizatorze Atellica CH.

Najwięcej różnic zarówno w ilości zaklasyfikowanych do zakresu pomiarowego próbek, jak i w raportowaniu próbek z hemolizą zaobserwowano w zakresie stężeń hs-cTnI 100 ng/l – 199 ng/l. Dotyczyły one porównań tych samych próbek oznaczanych zarówno na analizatorze Atellica, jak i Alinity oraz próbek BD Barricor™ i BD PSTII™, z których każda była oznaczana na innym analizatorze. Nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic w zakresie stężeń 200 ng/l – 299 ng/l hs-cTnI. Warto jednak zauważyć, że w tym zakresie nie wystąpiła żadna hemoliza w próbce BD PSTII™ oznaczanej na analizatorze Alinity. W zakresie stężeń hs-cTnI 300 ng/l – 999 ng/l zaobserwowane różnice dotyczyły próbek, w których wystąpiła hemoliza (BD PSTII™ oznaczanych na analizatorze Atellica względem próbek BD PSTII™ oznaczanych na analizatorze Alinity oraz próbek BD PSTII™ względem BD Barricor™ oznaczanych na analizatorze Atellica). W tym przedziale nie wykryto obecności hemolizy w próbkach BD Barricor™ na analizatorze Alinity, co uniemożliwiło porównanie z pozostałymi wynikami w tym zakresie stężeń. W najwyższym zakresie stężeń (>1000 ng/l) istotnie statystycznie różniły się od siebie jedynie ilości raportowanych hemoliz pomiędzy próbkami BD PSTII™ oznaczanymi na obu systemach pomiarowych, a także pomiędzy ilościami raportowanych hemoliz w próbkach BD Barricor™ na analizatorze Alinity c względem próbek BD PSTII™ oznaczanych na analizatorze Atellica CH oraz pomiędzy ilością raportowanych hemoliz w obu próbkach na analizatorze Atellica CH.

5.1.2. Porównanie pomiędzy próbkami BD Barricor™ i BD PSTII™ z wykorzystaniem testu hs-TnI na dwóch systemach analitycznych

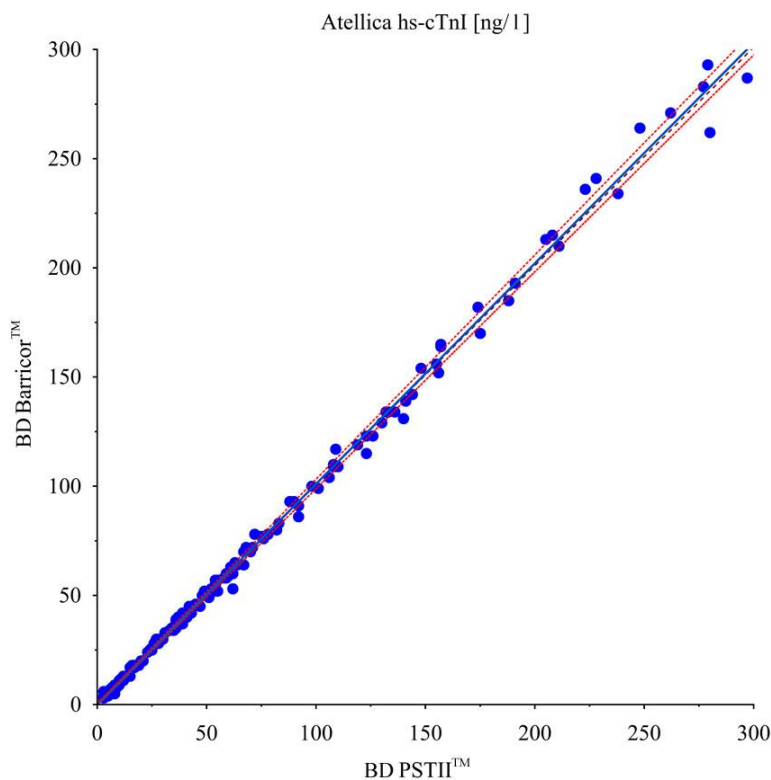
Porównanie pomiędzy próbkami osocza heparynowego uzyskanego przy pomocy próbek BD Barricor™ i BD PSTII™ na systemach pomiarowych Alinity i oraz Atellica IM z wykorzystaniem testu do oznaczenia hs-cTnI przedstawiono na Rycinach 12-15.

Porównując próbówki BD Barricor™ i BD PSTII™ w pełnym zakresie pomiarowym hs-cTnI dla obu systemów analitycznych, uzyskano następujące równania regresji Deminga: Alinity i $y = 0,99x$ (CI: od 0,97 do 1,01) +5,90 (CI: od 2 do 10) ng/l; współczynnik korelacji $R=0,99$ (Rycina 12), natomiast dla Atellica IM $y = 1,01x$ (CI: od 1,00 do 1,02) -1,30 (CI: od -3,00 do 1,00) ng/l; współczynnik korelacji $R= 0,99$ (Rycina 13), gdzie dla obu równań „y” odpowiada próbówkom BD Barricor™, a „x” próbówkom BD PSTII™. Niezależnie od zastosowanej metody wartość współczynnika regresji określającego nachylenie krzywej regresji była dodatnia, co wskazuje na dodatnią zależność pomiędzy obiema próbkami. W obu przypadkach wartość współczynnika regresji była zbliżona do jedności, co świadczy o uzyskaniu porównywalnych wyników stężenia hs-cTnI w obu próbkach, niezależnie od użytej metody. Zaobserwowano jednak różnice w wartości wyrazu wolnego, którego wartość była dodatnia przy użyciu metody Alinity i, a ujemna przy użyciu metody Atellica IM. Świadczy to o uzyskaniu nieznacznie wyższych wyników na analizatorze Alinity i w próbkach BD Barricor™ w porównaniu z próbkami BD PSTII™ oraz odwrotnej zależności w przypadku analizatora Atellica IM. Niezależnie od zastosowanego systemu pomiarowego uzyskano wartości współczynnika korelacji zbliżone do jedności, co świadczy o wysokiej korelacji wyników hs-cTnI w obu próbkach.



Rycina 12. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w próbkach BD Barricor™ vs. BD PSTII™ na analizatorze Alinity i w pełnym zakresie pomiarowym.

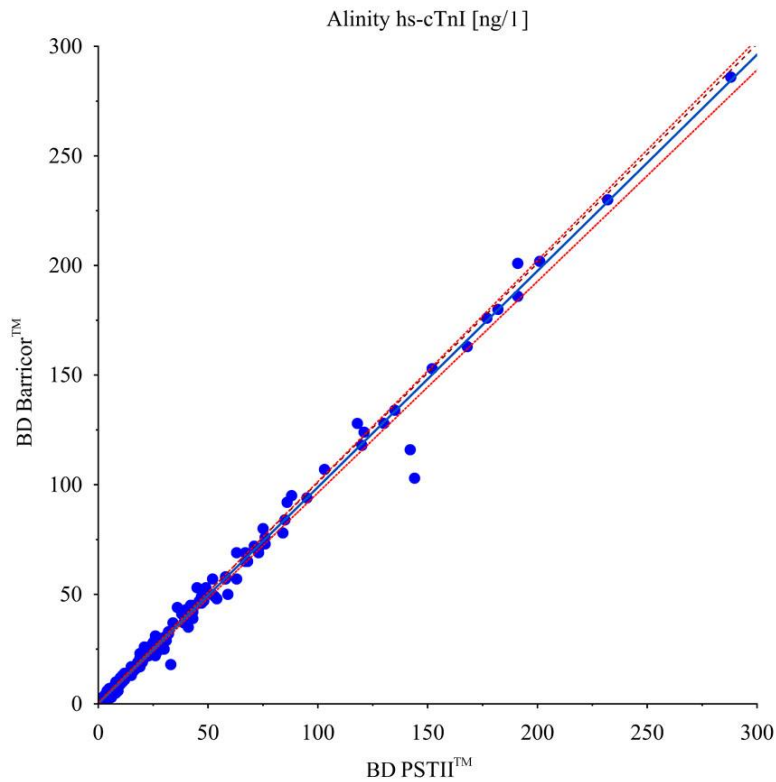
Linia przerywana odpowiada linii identyczności. Czerwone linie odpowiadają 95% przedziałowi ufności prostej regresji.
 hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości



Rycina 13. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w próbkach BD Barricor™ vs. BD PSTII™ na analizatorze Atellica IM w pełnym zakresie pomiarowym.

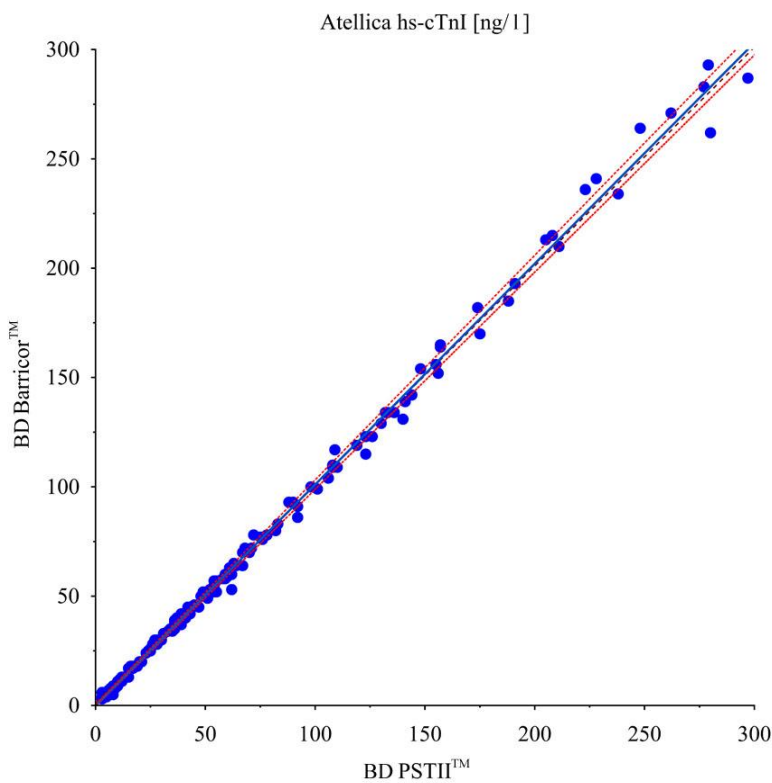
Linia przerywana odpowiada linii identyczności. Czerwone linie odpowiadają 95% przedziałowi ufności prostej regresji.
 hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości

Porównano również wyniki stężenia hs-cTnI w próbkach BD Barricor™ i BD PSTII™ w niższym zakresie pomiarowym 3-300 ng/l na obu systemach analitycznych (Rycina 14 i 15). Dla danego zakresu pomiarowego wyznaczono następujące równania regresji Deminga: dla analizatora Alinity i $y = 0,99x$ (CI: od 0,96 do 1,01) +0,24 (CI: od -0,04 do 0,50) ng/l; współczynnik korelacji $R = 0,99$ (Rycina 14), oraz na analizatorze Atellica IM $y = 1,01x$ (CI: od 0,99 do 1,03) +0,08 (CI: od 0,30 do 0,40) ng/l; współczynnik korelacji $R = 0,99$ (Rycina 15), gdzie dla obu równań „y” odpowiada próbkom BD Barricor™, natomiast „x” próbkom BD PSTII™. W podanym zakresie stężeń niezależnie od użytego systemu pomiarowego zaobserwowano dodatnią wartość współczynnika regresji, co świadczy o wystąpieniu dodatniej zależności pomiędzy pomiarami stężenia hs-cTnI w obu próbkach. W obu przypadkach wartość współczynnika regresji była zbliżona od jedności co świadczy o równoważności uzyskanych wyników hs-cTnI pomiędzy próbkami niezależnie od użytej metody pomiarowej. Zarówno na analizatorze Alinity i, jak i Atellica IM wartość wyrazu wolnego była dodatnia i nieznacznie większa od zera co świadczy o uzyskaniu nieznacznie wyższych wartości stężenia hs-cTnI w próbkach BD Barricor™ niż w próbkach BD PSTII™ niezależnie od użytej metody. Zgodnie z oczekiwaniami w zakresie stężeń hs-cTnI 3-300 ng/l uzyskano współczynnik korelacji zbliżony do jedności, co wskazuje na wysoką zależność pomiędzy uzyskanymi wynikami w obu próbkach, niezależnie od użytej metody pomiarowej.



Rycina 14. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w probówkach BD Barricor™ vs. BD PSTII™ na analizatorze Alinity i w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l.

Linia przerywana odpowiada linii identyczności. Czerwone linie odpowiadają 95% przedziałowi ufności prostej regresji.
 hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości



Rycina 15. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w probówkach BD Barricor™ vs. BD PSTII™ na analizatorze Atellica IM w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l.

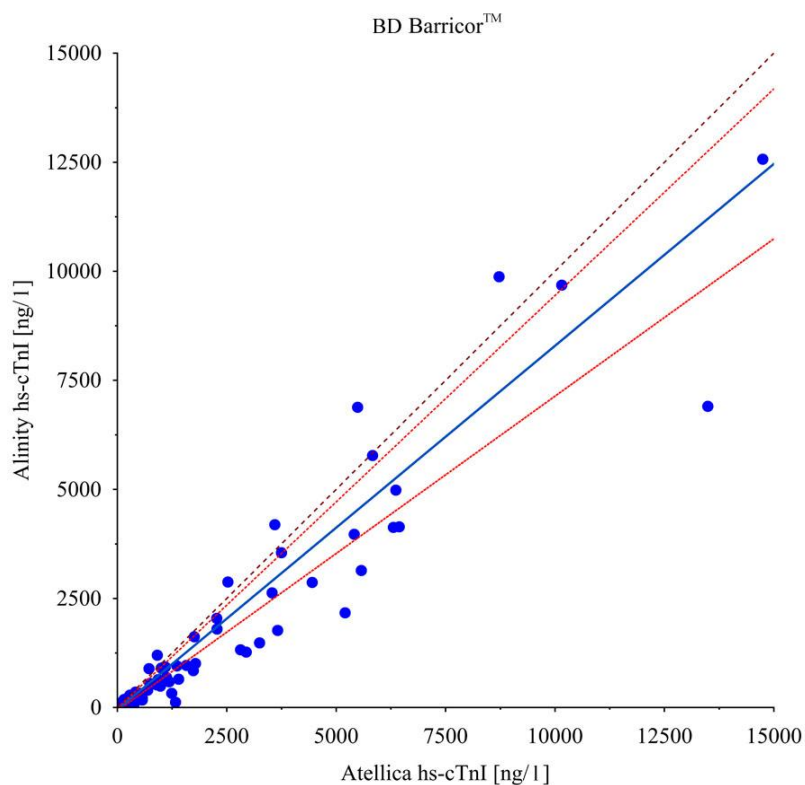
Linia przerywana odpowiada linii identyczności. Czerwone linie odpowiadają 95% przedziałowi ufności prostej linii regresji
 hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości

Niezależnie od zastosowanego rodzaju próbówki oraz metody pomiarowej uzyskano porównywalne dodatnie wartości współczynnika regresji, a wyznaczone punkty przecięcia z osią y nie różniły się pomiędzy sobą w sposób istotny. Ponadto współczynnik korelacji uzyskany dla każdego z równań regresji Deminga był zbliżony do jedności, wskazując na bardzo silną korelację uzyskanych wyników. Pozwala to stwierdzić, że alternatywne używanie próbówek BD Barricor™ i BD PSTII™ do oznaczania hs-cTnI nie wpływa na uzyskane wyniki niezależnie od użytego w niniejszym porównaniu systemu pomiarowego dla hs-cTnI.

5.1.3. Porównanie testów do oznaczania hs-cTnI z wykorzystaniem tej samej próbówki

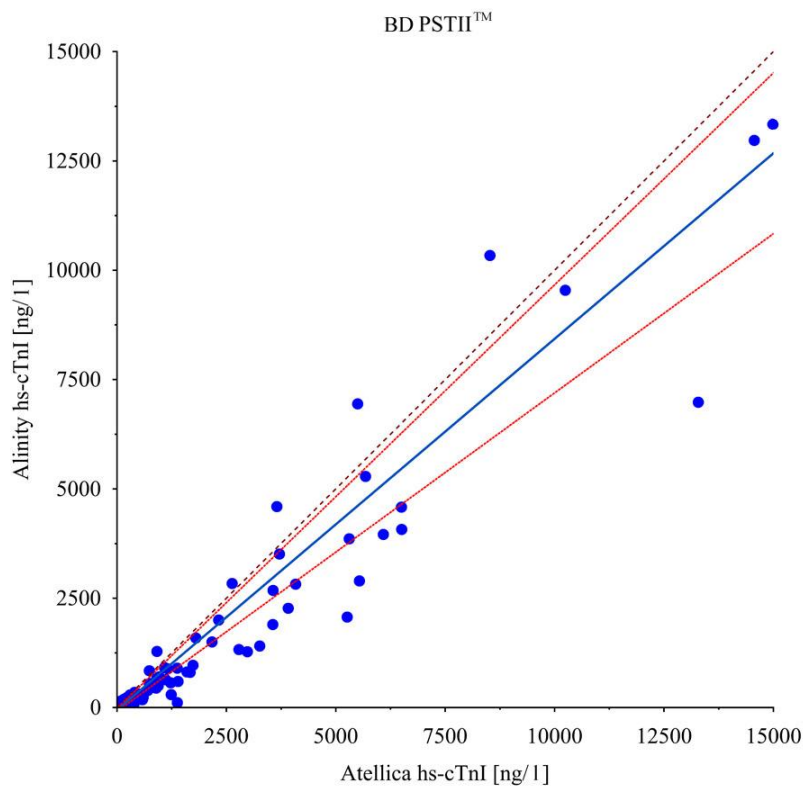
Porównanie pomiędzy testami hs-cTnI na analizatorach Alinity i oraz Atellica IM z użyciem tej samej próbówki przedstawiono na Rycinach 16-19.

Porównując testy hs-cTnI na analizatorach Alinity i oraz Atellica IM w pełnym zakresie pomiarowym hs-cTnI w obu próbówkach, uzyskano następujące równania regresji Deminga: w próbówce BD Barricor™ $y = 0,83x$ (CI: od 0,72 do 0,95) – 48 (CI: od 76 do –19) ng/l; współczynnik korelacji $R = 0,96$ (Rycina 16), z kolei w próbówce BD PSTII™ $y = 0,85$ (CI: od 0,73 do 0,97) $x - 56$ (CI: od –87 do –24) ng/l; współczynnik korelacji $R = 0,96$ (Rycina 17) gdzie dla obu równań „y” odpowiada metodzie hs-cTnI na analizatorze Alinity I, a „x” metodzie hs-cTnI na analizatorze Atellica IM. Niezależnie od zastosowanej próbówki wartość współczynnika regresji była dodatnia, co świadczy o dodatniej zależności pomiędzy analizowanymi testami hs-cTnI. Wartość współczynnika regresji dla obu równań była niższa od jedności co świadczy o nierównoważności obu metod w pełnym zakresie pomiarowym. Dla obu równań regresji Deminga wartość wyrazu wolnego była ujemna i znacznie różniła się od zera co świadczy o uzyskiwaniu znacznie wyższych wyników stężenia hs-cTnI na analizatorze Atellica IM niż na analizatorze Alinity i. Jednakże niezależnie od użytej próbówki wartość współczynnika korelacji była zbliżona do jedności, co świadczy o silnej korelacji pomiędzy wynikami uzyskanymi za pomocą obu metod oznaczania hs-cTnI.



Rycina 16. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w systemach pomiarowych Alimity i vs. Atellica IM w próbkach BD Barricor™ w pełnym zakresie pomiarowym.

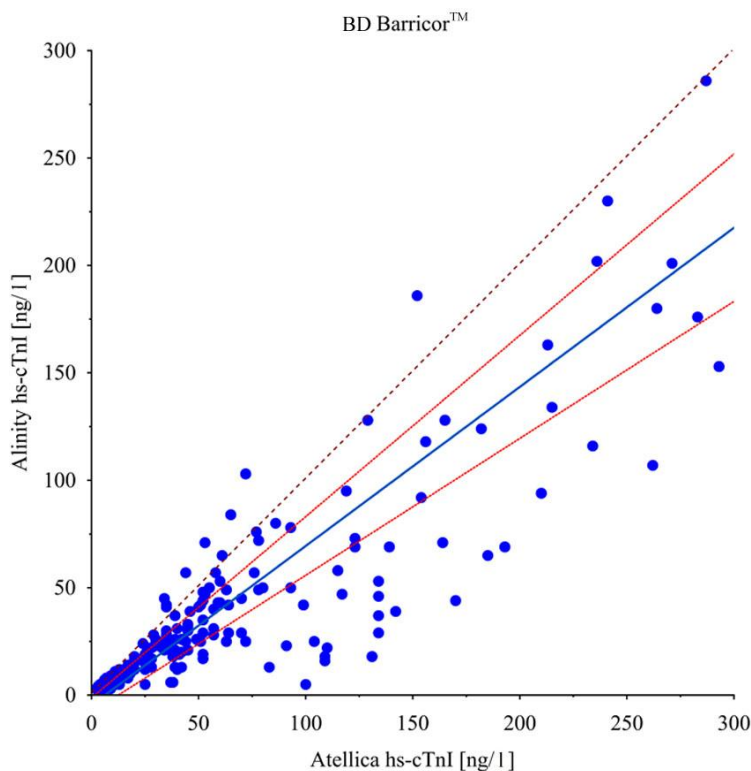
Linia przerywana odpowiada linii identyczności. Czerwone linie odpowiadają 95% przedziałowi ufności prostej regresji.
 hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości



Rycina 17. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w systemach pomiarowych Alimity i vs. Atellica IM w próbkach BD PSTII™ w pełnym zakresie pomiarowym.

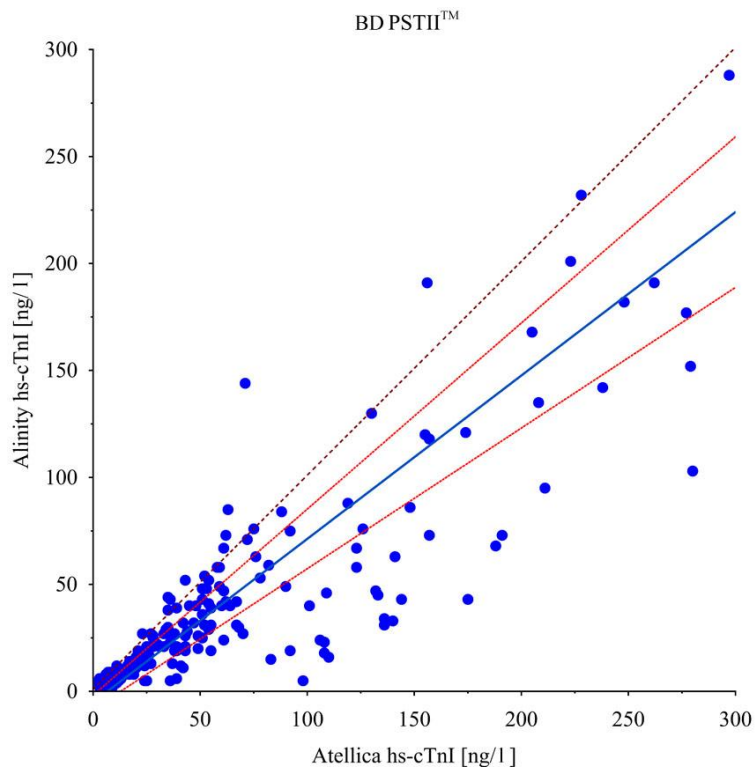
Linia przerywana odpowiada linii identyczności. Czerwone linie odpowiadają 95% przedziałowi ufności prostej regresji.
 hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości

Porównano również wyniki stężenia hs-cTnI oznaczanego na analizatorach Alinity i oraz Atellica IM w obu probówkach w zakresie pomiarowym hs-cTnI 3-300 ng/l (Rycina 18 i 19), uzyskując następujące równania regresji Deminga: w probówce BD Barricor™ $y = 0,74$ (CI: od 0,64 do 0,84) $x - 5$ (CI: od -8 do -1) ng/l; współczynnik korelacji $R = 0,89$ (Rycina 18), natomiast w probówce BD PSTII™ $y = 0,76$ (CI: od 0,66 do 0,87) $x - 5$ (CI: od -8 do -2) ng/l; współczynnik korelacji $R = 0,88$ (Rycina 19) gdzie dla obu równań „y” odpowiada testom hs-cTnI na analizatorze Alinity I, a „x” testom hs-cTnI na analizatorze Atellica IM. Niezależnie od zastosowanej próbki wartość współczynnika regresji była dodatnia, co świadczy o dodatniej zależności pomiędzy analizowanymi testami hs-cTnI w zakresie pomiarowym hs-cTnI 3-300 ng/l. Wartość współczynnika regresji dla obu równań była niższa od jedności co świadczy o nierównoważności obu metod w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l hs-cTnI. W obu równaniach regresji wartość wyrazu wolnego była ujemna świadcząc o wyższych wynikach stężenia hs-cTnI uzyskiwanych na analizatorze Atellica IM względem analizatora Alinity I. W obu równaniach wyznaczono współczynnik korelacji którego wartość była bliska jedności, co świadczy o występowaniu wysokiej korelacji wyników uzyskanych na obu systemach pomiarowych w obu probówkach. Wartość współczynnika korelacji była jednak niższa niż w przypadku pełnego zakresu stężeń, co wskazuje na mniejszą zależność obu metod w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l.



Rycina 18. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w systemach pomiarowych Alinity i vs. Atellica IM w próbkach BD Barricor™ w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l.

Linia przerywana odpowiada linii identyczności. Czerwone linie odpowiadają 95% przedziałowi ufności prostej regresji.
 hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości



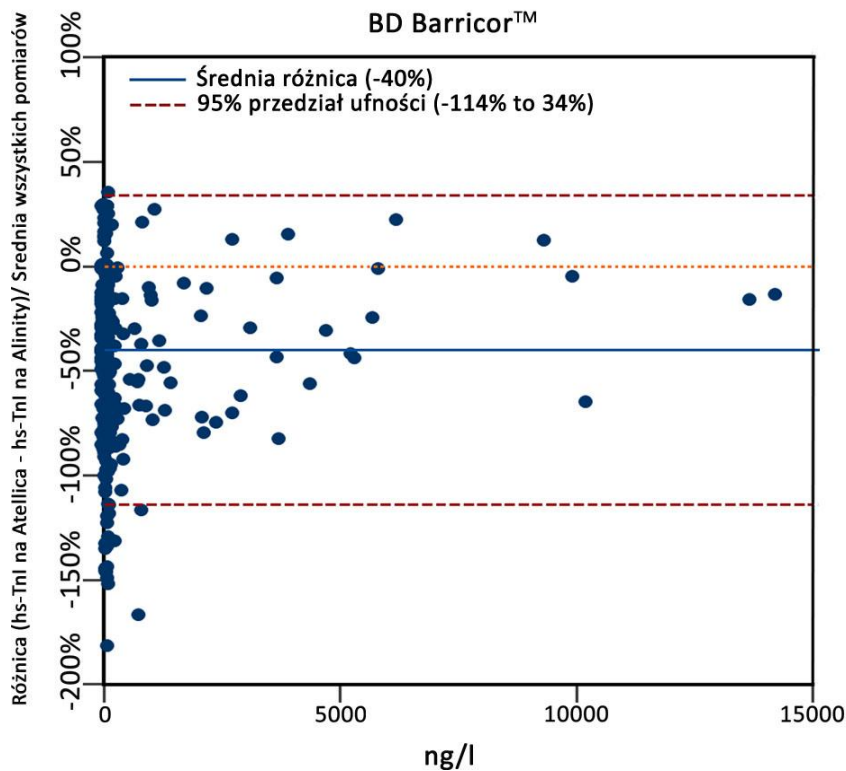
Rycina 19. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w systemach pomiarowych Alinity i vs. Atellica IM w próbkach BD PSTII™ w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l.

Linia przerywana odpowiada linii identyczności. Czerwone linie odpowiadają 95% przedziałowi ufności prostej regresji.
 hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości

Wyniki stężeń hs-cTnI uzyskane na obu systemach pomiarowych nie były porównywalne, choć dobrze skorelowane niezależnie od wybranego zakresu pomiarowego i użytej próbki. Wskazuje to na brak możliwości zamiennego stosowania obu metod do oznaczania hs-cTnI. Podobieństwa pomiędzy uzyskanymi wynikami w obu zakresach pomiarowych wyrażone równaniami regresji dodatkowo wskazują na brak wpływu zastosowanych próbek na uzyskane wyniki.

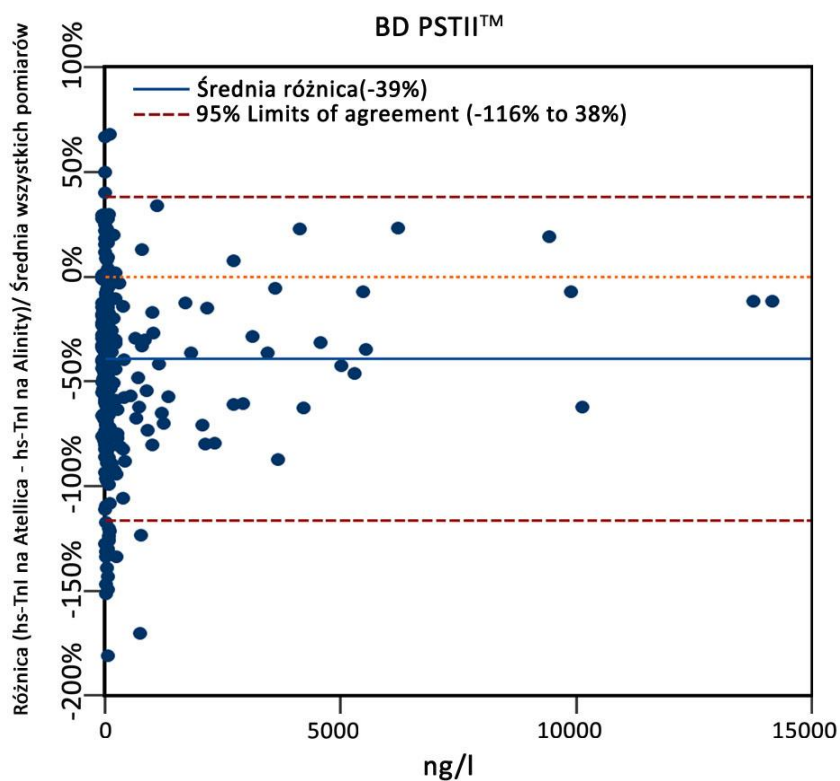
Zaobserwowane powyżej różnice dotyczące istotnie niższych wyników uzyskiwanych za pomocą analizatora Alinity i zostały przedstawione na Rycinach 20-23. Przeprowadzona analiza Bland-Altman pozwoliła na procentowe wyrażenie różnic pomiędzy wynikami uzyskanymi na obu systemach pomiarowych w obu próbkach.

Porównanie różnic pomiędzy analizatorami Alinity i oraz Atellica IM w próbce BD Barricor™ i BD PSTII™ w pełnym zakresie stężeń przedstawiono na Rycinie 20. Zaobserwowano znacznie niższe stężenia uzyskiwane za pomocą analizatora Alinity i w porównaniu do analizatora Atellica IM. W próbce BD Barricor™ różnica ta wynosiła średnio 40% (95% CI: od -114% do 34%) (Rycina 20). Natomiast w próbce BD PSTII™ wyniki uzyskane na analizatorze Alinity i były niższe o 39% niż analogiczne wyniki uzyskane na analizatorze Atellica IM, a 95% CI mieścił się w zakresie od -116% do 38% (Rycina 21).



Rycina 20. Średnia różnica stężeń hs-cTnI pomiędzy analizatorami Alinity i oraz Atellica IM w próbówce BD Barricor™ w pełnym zakresie pomiarowym 3-15000 ng/l.

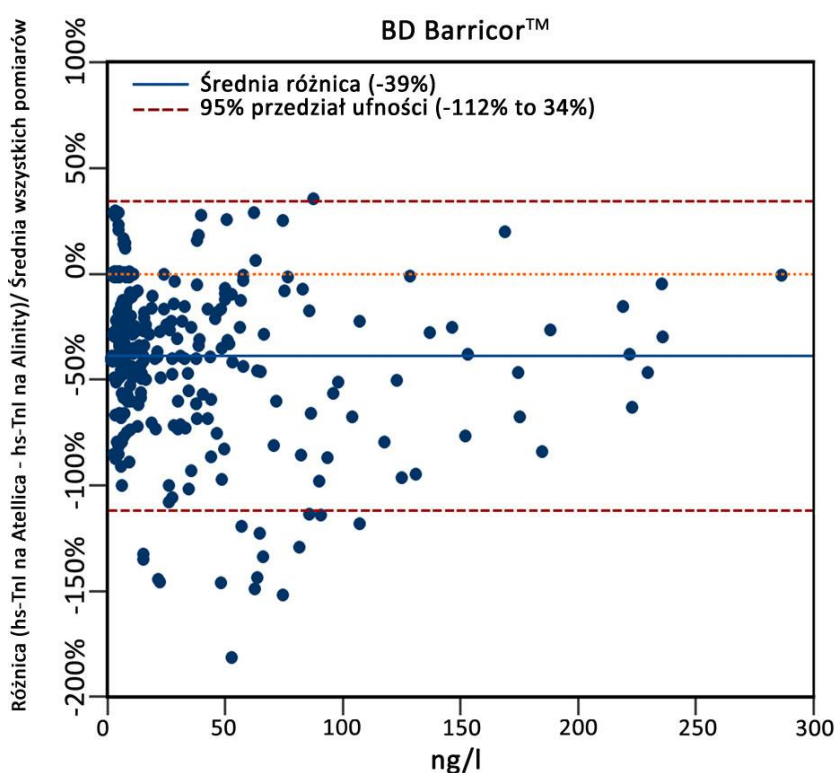
hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości



Rycina 21. Średnia różnica stężeń hs-cTnI pomiędzy analizatorami Alinity i oraz Atellica IM w próbówce BD PSTII™ w pełnym zakresie pomiarowym 3-15000 ng/l.

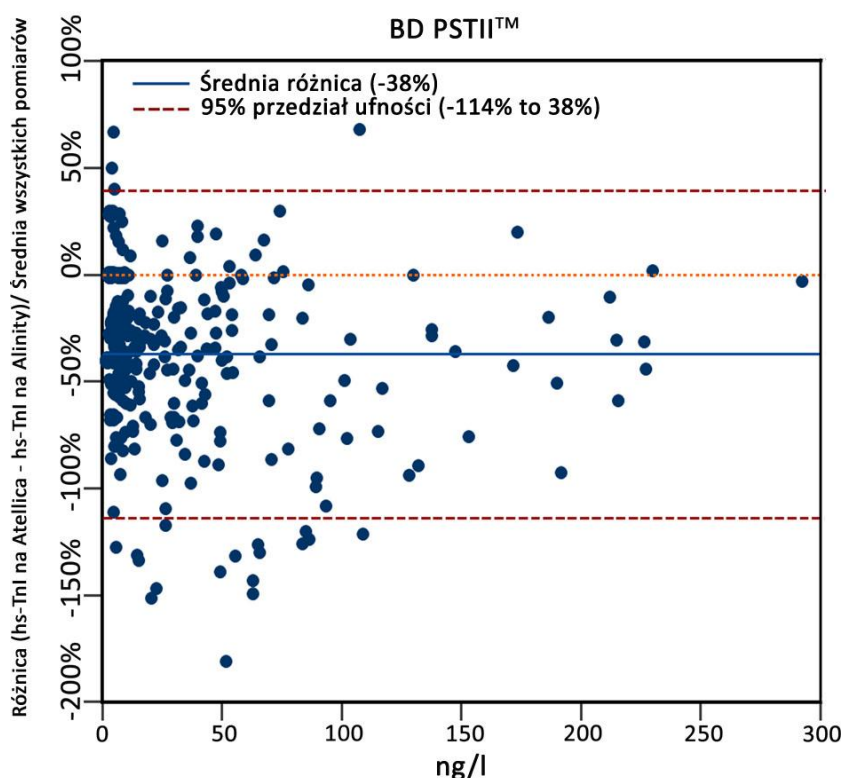
hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości

Również w niższym zakresie pomiarowym 3-300 ng/l zaobserwowano znaczącą różnicę pomiędzy wynikami hs-cTnI uzyskanymi na analizatorze Alinity i względem analizatora Atellica IM. W tym zakresie pomiarowym wyniki uzyskane na analizatorze Alinity i w próbówce BD Barricor™ były średnio o 39% niższe niż te uzyskane na analizatorze Atellica IM w tej samej próbówce (95% CI: od -112% do 34%) (Rycina 22). Natomiast w próbówce BD PSTII™ wyniki stężenia hs-cTnI uzyskane za pomocą analizatora Alinity i były niższe o 38% niż te uzyskane za pomocą analizatora Atellica IM (95% CI: od -114% do 38%) (Rycina 23).



Rycina 22. Średnia różnica stężeń hs-cTnI pomiędzy analizatorami Alinity i oraz Atellica IM w próbówce BD Barricor™ w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l.

hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości



Rycina 23. Średnia różnica stężeń hs-cTnI pomiędzy analizatorami Alinity i oraz Atellica IM w próbce BD PSTII™ w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l.

hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości

Przedstawione różnice w stężeniach hs-cTnI uzyskiwanych za pomocą dwóch metod nie zmieniały się w sposób istotny pomiędzy próbkami, jak i zakresami pomiarowymi. Świadczy to o braku wpływu badanych próbek na wyniki oznaczeń hs-cTnI, a także na wysoką i statystycznie istotną stałą różnicę między obydwooma systemami pomiarowymi. W związku z czym można stwierdzić, że wyniki uzyskiwane na systemie pomiarowym Alinity i są niższe niż uzyskane na systemie pomiarowym Atellica IM średnio o 38% do 40% i nie są zależne od zastosowanych próbek.

5.2. Część kliniczna

5.2.1. Charakterystyka grupy badanej

Grupę badaną stanowiło 599 niewyselekcjonowanych pacjentów SOR, u których zastosowano szybki algorytm wykluczający AMI oparty na jednorazowym pomiarze hs-cTnI (z ang. *single sample rule-out*) w osoczu heparynowym w obu systemach próbkowych i na obu immunochemicznych systemach analitycznych do oznaczania hs-cTnI. W wyniku zastosowanej strategii, u 530 pacjentów wykluczono AMI po jednorazowym pomiarze

hs-cTnI, gdzie TAT wyniósł poniżej 1 godziny. Ostatecznie AMI rozpoznano u 69 osób, co stanowiło 11,5% pacjentów. Podstawową charakterystykę pacjentów przedstawiono w Tabeli 7.

Tabela 7. Podstawowa charakterystyka pacjentów z podejrzeniem AMI.

	Wszyscy pacjenci (n=599)	Pacjenci z wykluczonym AMI (n=530)	Pacjenci z potwierdzonym AMI (n=69)	Wartość p
Wiek [lata]	68,7 ± 12,0	68,7 ± 12,0	68,5 ± 11,9	0,988
Płeć [kobiety]	227 (38%)	209 (39%)	18 (26%)	<0,001
Alinity I BD Barricor™ hs-cTnI [ng/l]	10 (5-33)	9 (5-26)	41 (13-428)	<0,001
Alinity i BD PSTII™ hs-cTnI [ng/l]	10 (5-33)	9 (5-26)	39 (11-406)	<0,001
Atellica IM BD Barricor™ hs-cTnI [ng/l]	15 (8-52)	14 (8-41)	86 (24-747)	<0,001
Atellica IM BD PSTII™ hs-cTnI [ng/l]	15 (8-52)	13 (7-40)	88 (23-751)	<0,001

AMI: ostry zawał mięśnia sercowego; hs-cTnI: sercowa troponina I oznaczana metodą o wysokiej czułości

Średnia wieku w grupie badanej wynosiła 68,7 lat i większość pacjentów stanowili mężczyźni. Pacjenci, u których ostatecznie rozpoznano AMI, charakteryzowali się podobnym wiekiem do grupy pacjentów z wykluczonym AMI. Jednakże istotnie częściej rozpoznawano AMI u mężczyzn niż u kobiet, zgłaszających takie same dolegliwości. Średnia wieku kobiet w całej grupie badanej wynosiła 71,9 ± 11,7 lat, natomiast mężczyzn 66,8 ± 11,8 lat. Zaobserwowana różnica wieku pomiędzy kobietami i mężczyznami w całej grupie badanej była istotna statystycznie (p<0,001).

Mediana stężeń hs-cTnI w badanej grupie nie różniła się w sposób istotny statystycznie pomiędzy zastosowanymi systemami próbkowymi na tym samym analizatorze. Istotnie statystycznie różnice zaobserwowano natomiast pomiędzy medianami stężeń hs-cTnI uzyskanymi w tych samych próbkach na dwóch systemach pomiarowych. Zgodnie z oczekiwaniami, mediany stężeń hs-cTnI były istotnie statystycznie wyższe w grupie pacjentów z potwierdzonym AMI w porównaniu do pacjentów z wykluczonym AMI (Tabela 7).

5.2.2. Wpływ typu próbek na strategię szybkiego wykluczenia AMI z wykorzystaniem zdefiniowanych wartości odcięcia dla obu testów hs-cTnI

Przyjętą w pracy strategię wykluczenia AMI (stężenie hs-cTnI Alinity i <4 ng/l, Atellica IM <5 ng/l) z wykorzystaniem dwóch systemów pomiarowych do oznaczania hs-cTnI oraz dwóch rodzajów sparowanych próbek, zastosowano w grupie 599 niewyselekcjonowanych osób przyjętych za SOR z bólem w klatce piersiowej o możliwym pochodzeniu sercowym z początkiem bólu w ciągu ostatnich 6 godzin. Zastosowanie tego podejścia, spowodowało uzyskanie doskonałej czułości diagnostycznej i NPV, niezależnie od zastosowanego rodzaju próbki (Tabela 8).

Tabela 8. Skuteczność diagnostyczna strategii wykluczania AMI przy użyciu zdefiniowanych wartości odcięcia dla hs-cTnI w systemach pomiarowych Alinity i (<4 ng/l) i Atellica IM (<5 ng/l) z użyciem próbek BD Barricor™ i BD PSTII™.

	Alinity i BD Barricor™	Alinity i BD PSTII™	Atellica IM BD Barricor™	Atellica IM BD PSTII™
Czułość diagnostyczna	100% (94,8-100)	100% (94,8-100)	98,6% (92,2-100)	98,6% (92,2-100)
NPV	100% (93,5-100)	100% (92,9-100)	98,1% (89,7-100)	98,2% (90,3-100)

NPV: ujemna wartość predykcyjna

AMI ostatecznie rozpoznano u 69 osób, co stanowiło 11,5% badanej populacji. Należy jednak zauważyć, że podczas gdy w metodzie hs-cTnI na analizatorze Alinity nie wykazano żadnych wyników fałszywie ujemnych (tj. u pacjentów z rozpoznaniem AMI żaden wynik nie był <4 ng/l przy przyjęciu na SOR), test hs-cTnI na analizatorze Atellica IM wykazał dwa wyniki fałszywie ujemne u dwóch różnych pacjentów z AMI, oba uzyskane wyniki miały wartość 4 ng/l. Jeden wynik dotyczył próbki BD Barricor™, natomiast drugi próbki BD PSTII™. Wynik fałszywie ujemny uzyskany w próbce BD Barricor™ dotyczył mężczyzny w wieku 69 lat, a wynik fałszywie ujemny uzyskany w próbce BD PSTII™ dotyczył kobiety w wieku 65 lat. Żadna z tych próbek nie wykazała interferencji w zakresie hemolizy.

W kolejnej analizie sprawdzono również wpływ występowania hemolizy na wartość diagnostyczną zastosowanego algorytmu. Uzyskane dane potwierdziły brak wpływu hemolizy na skuteczność powyższej strategii stosowanej do wykluczenia AMI. Uzyskano doskonałą czułość diagnostyczną i NPV, zarówno w grupie, w której pod uwagę brano jedynie próbki w których wystąpiła hemoliza, jak i w grupie, w której hemoliza nie występowała (Tabela 9).

Tabela 9. Skuteczność diagnostyczna strategii wykluczania AMI przy użyciu zdefiniowanych wartości odcięcia dla hs-cTnI na systemach pomiarowych Alinity i (<4 ng/l) i Atellica IM (<5 ng/l) z użyciem probówek BD Barricor™ i BD PSTII™ z podziałem na probówki, w których wystąpiła hemoliza i z ich wykluczeniem.

	Alinity i BD Barricor™	Alinity i BD PSTII™	Atellica IM BD Barricor™	Atellica IM BD PSTII™
Czułość diagnostyczna^a	100% (66,4-100)	100% (54,1-100)	100% (73,5-100)	100% (63,1-100)
NPV^a	100% (59,0-100)	100% (63,1-100)	100% (73,5-100)	100% (75,3-100)
Czułość diagnostyczna^b	100% (94,0-100)	100% (94,3-100)	98,2% (90,6-100)	98,2% (90,6-100)
NPV^b	100% (92,1-100)	100% (91,8-100)	97,6% (87,1-100)	97,6% (87,4-100)

^a dane dotyczące jedynie próbek z występującą hemolizą, ^b dane dotyczące próbek bez obecności hemolizy. W nawiasach 95% CI.

NPV: ujemna wartość predykcyjna

W toku dalszej analizy porównano różnice pomiędzy ilością i częstością występowania niskich stężeń hs-cTnI poniżej zdefiniowanych wartości (<4 ng/l dla Alinity i; <5 ng/l Atellica IM) zarówno pomiędzy systemami analitycznymi jak i probówkami (Tabela 10). Wszystkie różnice były nieistotne statystycznie.

Tabela 10. Porównanie w parach między dwoma systemami pomiarowymi oraz dwoma typami probówek pod względem liczby i proporcji wyników hs-cTnI <4 ng/l dla Alinity i < 5ng/l dla Atellica IM.

System pomiarowy i typ probówki	Liczba (%) próbek	Wartość p
Alinity i BD Barricor™ vs. Alinity i BD PSTII™	54 (9,0%) vs. 50 (8,3%)	0,681
Alinity i BD Barricor™ vs. Atellica IM BD Barricor™	54 (9,0%) vs. 53 (8,8%)	0,919
Alinity i BD Barricor™ vs. Atellica IM BD PSTII™	54 (9,0%) vs. 55 (9,2%)	0,920
Alinity i BD PSTII™ vs. Atellica IM BD Barricor™	50 (8,3%) vs. 53 (8,8%)	0,757
Alinity i BD PSTII™ vs. Atellica IM BD PSTII™	50 (8,3%) vs. 55 (9,2%)	0,609
Atellica IM BD Barricor™ vs. Atellica IM BD PSTII™	53 (8,8%) vs. 55 (9,2%)	0,840

Poziom istotności statystycznej $p \leq 0,05$

Wyniki przedstawione w Tabeli 11 wskazują na brak istotnych statystycznie różnic pomiędzy ilością wyników ze stężeniem hs-cTnI poniżej zdefiniowanych progów wykluczenia AMI, a także pomiędzy tymi wartościami, a wartością 99. percentyla URL charakterystyczną dla płci, oraz liczbą wyników, w których stężenie hs-cTnI przekraczało wartość 99. percentyla URL charakterystyczną dla płci. Nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic zarówno pomiędzy zastosowanymi probówkami, jak i systemami pomiarowymi.

Tabela 11. Porównanie liczności próbek raportowanych w różnych przedziałach stężeń hs-cTnI na obu systemach pomiarowych i w obu probówkach.

	BD Barricor™ Liczba próbek	BD PSTII™ Liczba próbek	Wartość p pomiędzy probówkami	Wartość p pomiędzy analizatorami
Alinity i <4 ng/l	54	50	0,681	0,919 na BD Barricor™
Atellica IM <5 ng/l	53	55	0,840	0,609 na BD PSTII™
Alinity i 4 ng/l – wartości 99. percentyla URL charakterystycznych dla płci	376	380	0,811	0,589 na BD Barricor™
Atellica IM 5 ng/l - wartości 99. percentyla URL charakterystycznych dla płci	385	384	0,921	0,810 na BD PSTII™
Alinity i > wartości 99. percentyla URL charakterystycznych dla płci	169	169	1,00	0,605 na BD Barricor™
Atellica IM > wartości 99. percentyla URL charakterystycznych dla płci	161	160	0,948	0,560 na BD PSTII™

URL: górna granica wartości referencyjnych

Ostatnią analizą było porównanie zgodności pomiędzy uzyskanymi wynikami hs-cTnI w obu probówkach oraz na obu systemach pomiarowych z wykorzystaniem testu kappa Cohena. Wszystkie uzyskane wyniki były w sposób istotny statystycznie różne od zera, co pozwala stwierdzić, że występowała pomiędzy nimi zgodność różna od zgodności losowej (Tabela 12). Większość wyników charakteryzowała się współczynnikiem kappa w zakresie 0,40-0,59, co wskazuje na ich słabą zgodność. Najniższą zgodność uzyskanych wyników zaobserwowano w przypadku porównania dwóch różnych systemów pomiarowych i dwóch różnych probówek (tj. 0,51 dla porównania oznaczeń wykonanych na analizatorze Atellica IM w próbówce BD PSTII™ z oznaczeniami wykonanymi na analizatorze Alinity i w próbówce

BD BarricorTM oraz 0,51 dla porównania oznaczeń wykonanych na analizatorze Atellica IM w próbówce BD BarricorTM z oznaczeniami wykonanymi na analizatorze Alinity i w próbówce BD PSTIITM). Nieznacznie lepszą zgodność uzyskano porównując ze sobą te same próbki pomiędzy różnymi systemami pomiarowymi. Jedynie wyniki uzyskane na jednym systemie pomiarowym w dwóch różnych próbkach wykazywały akceptowalną zgodność, mieszcząc się w zakresie wartości kappa Cohena pomiędzy 0,70 a 0,90. Wyniki uzyskane za pomocą analizatora Atellica IM w obu próbkach charakteryzowały się wyższą zgodnością niż wyniki uzyskane za pomocą systemu pomiarowego Alinity i w tych samych próbkach.

Tabela 12. Porównanie zgodności wyników hs-cTnI między dwoma typami próbek i systemami pomiarowymi przy zastosowaniu wartości decyzyjnych przyjętych w strategii wykluczenia AMI.

<4 ng/l dla Alinity i oraz <5 ng/l dla Atellica IM			
	Kappa	95% CI	p
Atellica IM BD PSTII TM vs. Alinity i BD PSTII TM	0,58	0,46-0,70	<0,001
Atellica IM BD PSTII TM vs. Alinity i BD Barricor TM	0,51	0,39-0,63	<0,001
Atellica IM BD PSTII TM vs. Atellica IM BD Barricor TM	0,81	0,72-0,89	<0,001
Atellica IM BD Barricor TM vs. Alinity i BD PSTII TM	0,51	0,38-0,63	<0,001
Atellica IM BD Barricor TM vs. Alinity i BD Barricor TM	0,55	0,43-0,67	<0,001
Alinity i BD PSTII TM vs. Alinity i BD Barricor TM	0,70	0,59-0,80	<0,001

Poziom istotności statystycznej $p \leq 0,05$; CI: przedział ufności; Wartość κ Cohena $< 0,7$ uznano za niedostateczną zgodność.

6. Dyskusja

W niniejszej pracy z powodzeniem przeprowadzono analityczną i kliniczną walidację probówek BD Barricor™ w porównaniu do stosowanych rutynowo probówek BD PSTII™ na dwóch systemach pomiarowych (Alinity i Atellica) do oznaczania hs-cTnI. Wykazano, że zastosowanie nowoczesnych rozwiązań laboratoryjnych pozwala zachować optymalną wydajność analityczną i kliniczną, przy skróconym TAT, na obu systemach pomiarowych do oznaczania hs-cTnI jest klinicznie użyteczne w warunkach SOR u pacjentów zgłaszających się z bólem w klatce piersiowej i podejrzeniem OZW.

W części analitycznej badania oceniono wpływ stosowania probówek BD Barricor™ w porównaniu do probówek BD PSTII™ na częstość występowania hemolizy w próbkach osocza pochodzącego od pacjentów z rutynowo zleconymi oznaczeniami hs-cTnI. Hemoliza jest niepożądanym, choć powszechnie występującym zjawiskiem, odpowiedzialnym za potencjalne błędy przedanalizacyjne, które mogą niekorzystnie wpłynąć na postępowanie z pacjentem. Ma to szczególne znaczenie w przypadku oznaczania niskich stężeń cTn w ramach szybkich protokołów diagnostycznych, kiedy nawet niewielki wzrost HI może fałszywie zaniżyć wynik testu.

W niniejszej pracy wykazano, że częstość występowania umiarkowanego stopnia hemolizy, zdefiniowanego jako stężenie fHb $\geq 1,00$ g/l, wykrywana w rutynowych warunkach tego badania w około 5% próbek osocza, była niezależna od zastosowanych probówek. Z drugiej strony, w probówkach BD PSTII™ zaobserwowano wyższą częstość występowania hemolizy w porównaniu z probówkami BD Barricor™, jeśli pomiary wykonywano na systemie analitycznym Atellica CH gdzie stosowane są niższe wartości odcięcia dla detekcji hemolizy (stężenie fHb $\geq 0,11$ g/l) w porównaniu do analizatora Alinity c (stężenie fHb $\geq 0,25$ g/l). Stwierdzono zatem nieco lepszą jakość osocza uzyskanego z probówek BD Barricor™, co sugeruje, że BD PSTII™ mogą zwiększyć liczbę wyników wykazujących niski stopień hemolizy (H1+) na analizatorze Atellica CH, zdefiniowany stężeniem fHb $\geq 0,25$ g/l, które jednak nadal mieściły się w fizjologicznym zakresie [76]. W badaniach innych autorów zaobserwowano znacznie niższą częstość hemolizy i lepszą jakość osocza w probówkach BD Barricor™ w porównaniu z probówkami BD PSTII™, nawet jeśli w różnych badaniach

stosowano różne protokoły wirowania dla próbek BD Barricor™ [66,81,91,94,106]. Przykładowo w pracy Cadamuro i wsp. [94] zaobserwowano istotnie niższą częstość występowania hemolizy w próbkach BD Barricor™ w porównaniu do próbek BD PSTII™. Jednakże wyniki tego badania ograniczały się do stosunkowo niewielkiej liczby przebadanych próbek (n=41), a w próbie zastosowano inny protokół wirowania, niezgodny z zaleceniami producenta zarówno dla próbek BD Barricor™ wirowanych 5 min przy 3000 G, jak i dla próbek BD PSTII™ gdzie czas wirowania wyniósł 7 minut przy 3000 G [94]. Do podobnych wniosków doszli Gawria i wsp. [91], którzy również nie zachowali optymalnych warunków wirowania dla próbek BD Barricor™. Podobnie jak w badaniach własnych zachowując zalecany przez producenta protokół wirowania, Mrazek i wsp. [106] również wykazali występowanie istotnie niższej częstości hemolizy w próbkach BD Barricor™ w porównaniu do próbek BD PSTII™. Niemniej jednak, istotne ograniczenie powyższego badania stanowi fakt, że próbki nie były pobierane od tych samych pacjentów, co odróżnia je od wyników badań własnych. Również w badaniach Badiou i wsp. [66] próbki BD Barricor™ oraz BD PSTII™ nie były pobierane równocześnie, a uzyskane wyniki, tak jak w poprzednich badaniach, wskazują na mniejszą częstość detekcji hemolizy w próbkach BD Barricor™. Ponadto Badiou i wsp. wykazali niższą częstość występowania hemolizy umiarkowanego i wysokiego stopnia w próbkach BD Barricor™ w porównaniu do próbek BD PSTII™, co kontrastuje z wynikami uzyskanymi w badaniach własnych. Różnice w częstości raportowania hemolizy w próbkach BD PSTII™ oboma metodami oznaczania HI wykazane w badaniach własnych, można wyjaśnić zastosowaniem przez producentów *IVD* różnych wartości odcięcia dla raportowania niskich wartości HI 1+ (Atellica CH $\geq 0,11$ g/l fHb [84] oraz Alinity c $\geq 0,25$ g/l fHb [85]). Warto także zauważyć, że analizator Alinity c pozwala na dokładny ilościowy pomiar fHb w próbce, a wyniki uzyskane na analizatorze Atellica CH są wyrażane w sposób półilościowy [74,84,101,102], co dodatkowo utrudnia dokładne porównanie uzyskanych wyników. Obserwacje te pozwalają jednak wnioskować, że prawdopodobnie próbki BD PSTII™ były nadmiarowo klasyfikowane przez analizator Atellica CH jako HI 1+ i mieściły się w zakresie stężenia fHb pomiędzy 0,11 g/l a 0,24 g/l. Natomiast analizator Alinity c klasyfikował je jako próbki bez obecnej hemolizy. Podkreśla to potrzebę standaryzacji pomiarów HI wśród producentów *IVD* oraz ustanowienia powszechnie akceptowanych kryteriów wykrywania tej interferencji na zautomatyzowanych systemach analitycznych, a także zdefiniowania

wspólnych, istotnych klinicznie progów interferencji dla testów zgodnie z kryteriami analitycznymi i klinicznymi [77].

W badaniu własnym wykazano również brak wpływu hemolizy na zastosowaną strategię szybkiego wykluczenia AMI niezależnie od zastosowanego typu probówek i analizatorów. Jest to zgodne z danymi producentów zastosowanych testów do oznaczania hs-cTnI [61,62] oraz wynikami badań przeprowadzonych przez Harley i wsp. [107], ponieważ żaden z uzyskanych wyników stężenia fHb we wszystkich probówkach nie przekraczał stężenia fHb ≥ 5 g/l. Co więcej, w wielośrodkowym, europejskim badaniu wykazano, że stężenie fHb < 8.6 g/l nie wywiera istotnego wpływu na stężenia hs-cTnI na analizatorze Architect, a średnia zmiana stężenia hs-cTnI przy tej zawartości fHb była mniejsza niż -3% [108].

Porównanie metod przeprowadzone w niniejszym badaniu wykazało również, że wyniki hs-cTnI uzyskane w obu probówkach BD zawierających heparynę litową były zgodne w całym zakresie pomiarowym, jeśli oznaczenia wykonano na tym samym systemie analitycznym. Ponadto zaobserwowane różnice w wynikach hs-cTnI między probówkami BD BarricorTM i BD PSTIITM były niewielkie i znacznie poniżej specyfikacji dla całkowitego dopuszczalnego błędu (TAE) dla hs-cTnI [57]. Podobnie do moich obserwacji, Dupuy i wsp. porównali oznaczenia hs-cTnT w obu probówkach z heparyną litową na analizatorze Cobas e602 (Roche Diagnostics, Mannheim, Niemcy), które ujawniły jedynie niewielką i nieistotną statystycznie różnicę między obiema probówkami [109]. Choć dane te są ograniczone przez niewielką liczebność poddanych analizie probówek, pojedynczy system pomiarowy i wąski zakres analizowanych stężeń hs-cTnT (3-159 ng/l), wskazują one że użycie probówek BD BarricorTM (których czas wirowania jest krótszy niż standardowo używanych probówek) nie wpłynęło znacząco na stężenie hs-cTnT, co świadczy, że obie probówki z heparyną litową mogą być używane zamiennie [109]. Wyniki te sugerują, że obie probówki mogą zapewnić analitycznie równoważne, dokładne i rzetelne wyniki, gdy są stosowane w oznaczeniach hs-cTn na dowolnym systemie pomiarowym. Z kolei zaobserwowano istotne statystycznie różnice w stężeniach cTn pomiędzy oznaczeniami wykonanymi na różnych systemach analitycznych, nawet przy użyciu tego samego materiału i probówki. Uzyskano istotnie niższe wyniki w obu zakresach stężeń cTnI przy użyciu systemu pomiarowego Alinity w porównaniu z Atellica. Wyniki niniejszej pracy, wykazały wysoką proporcjonalną i stałą różnicę między

obydwoma testami z błędem systematycznym w zakresie od 38% do 40%, niezależnie od rodzaju użytej próbówki. Niemniej jednak, należy zauważyć, że gdy analiza regresji przeprowadzona była w zakresie stężeń hs-cTnI od 3 do 300 ng/l, tj. stężeń hs-cTnI pełniących klinicznie najważniejszą rolę w klasyfikacji pacjentów z podejrzeniem AMI, u których najbardziej pożądana jest harmonizacja oznaczeń, punkt przecięcia (z ang. *intercept*), wskazujący na istnienie stałego błędu systematycznego, wynikającego z zastosowania różnej selektywności przeciwciał w obu metodach, został zmniejszony do 5 ng/l. Potwierdza to koncepcję, że różnice między testami hs-cTnI mogą być znacznie zmniejszone dzięki dostępności komutabilnego materiału referencyjnego, który będzie używany jako wspólny kalibrator dla systemów komercyjnych [29]. Słaba zgodność między testami cTn wynika zatem z braku standaryzacji i znacznej zmienności między metodami do oznaczania hs-cTnI ze względu na różne konfiguracje testów i ich odmienną charakterystykę analityczną wśród producentów IVD [57,110].

Oprócz występowania różnych krążących, molekularnych form cTn i potencjalnej reaktywności krzyżowej testów, ostatnio zasugerowano, że obecność makro-cTnI jest ważną przyczyną rozbieżności w wynikach oznaczeń hs-cTnI [111]. Najwyższą immunoreaktywność dla makro-cTnI zaobserwowano w testach Siemens Centaur i ADVIA hs-cTnI, które wykorzystują dwa monoklonalne biotynylowane przeciwciała wychwytyjące, z których każde rozpoznaje inny epitop łańcucha aminokwasowego cTnI oraz jedno przeciwciało wykrywające skierowane przeciwko ludzkiej cTnI kowalencyjnie połączone z albuminą surowicy bydlęcej, w porównaniu z testem immunochemicznym Abbott wykorzystującym tylko jedno przeciwciało wychwytyjące skierowane przeciwko ludzkiej cTnI oraz przeciwciało wykrywające skierowane przeciwko ludzkiej cTnI znakowane akrydyną. Obecność kompleksów makro-cTnI na analizatorach Siemens była częsta zarówno w niskich, jak i wysokich stężeniach hs-cTnI w całym zakresie pomiarowym [111]. Wcześniejsze badania przeprowadzone przez Kavsaka i wsp. wskazywały również na istotne różnice między testami Siemens hs-cTnI oraz Abbott hs-cTnI, przy czym ten pierwszy wykazywał proporcjonalnie wyższe wyniki [112,113]. Nie jest zatem zaskakujące, że różnice w charakterystyce analitycznej testów mają głęboki wpływ na ich zastosowanie kliniczne, czego dowodem są różne limity decyzyjne i szybkie algorytmy stosowane u pacjentów z AMI opracowane w ostatnich latach, które są specyficzne tylko dla danej metody [1].

Po uzyskaniu obiecujących wyników w części analitycznej badania, końcowym etapem pracy była walidacja kliniczna strategii szybkiego wykluczenia AMI przy użyciu niskich stężeń hs-cTnI, uzyskanych na obu systemach pomiarowych i w obu probówkach. Zgodnie z tym podejściem kryteria wykluczające AMI oparte na stężeniach hs-cTnI specyficznych dla danego testu charakteryzowały się doskonałą NPV wynoszącą 100% dla analizatora Alinity i, niezależnie od zastosowanej próbki, oraz od 98,1% do 98,2% dla Atellica IM, spełniając punkt końcowy badania. Szacunkowa czułość w obu testach wykorzystujących oba typy próbek była wyższa niż pożądany cel 99,5%, co potwierdza skuteczność i bezpieczeństwo zastosowanej strategii, tym bardziej że powszechnie akceptowany jest przez klinicystów wskaźnik błędnych wyników wynoszący 1% [114]. Żaden z wyników hs-cTnI fałszywie wykluczających AMI na analizatorze Atellica IM nie pochodził z próbki, w której wystąpiła hemoliza. W związku z tym możemy uznać, że ewentualna obecność hemolizy nie miała wpływu na uzyskane wyniki fałszywie ujemne. Natomiast obecność wyników fałszywie ujemnych u pacjentów z podejrzeniem AMI może tłumaczyć występowanie większej nieprecyzyjności metody hs-cTnI Atellica IM w porównaniu do Alinity i przy oznaczaniu tak niskich stężeń cTn. Ponadto minimalny błąd szacunkowy wynikający z zaokrąglania uzyskanych wartości stężeń hs-cTnI do najbliższych liczb całkowitych mógł potencjalnie negatywnie wpłynąć na porównywane wyniki. Niektóre z ograniczeń badania, do których należą: niewielka ilość potwierdzonych przypadków AMI (n=69), brak dalszej obserwacji pacjentów z wykluczonym AMI po wypisie ze szpitala oraz brak dokładnej charakterystyki klinicznej pacjentów włączonych do badania, nie umniejszają wartości pracy. Wartości NPV i czułość diagnostyczna uzyskane w tym badaniu dobrze korespondują z poprzednimi doniesieniami. Skuteczność kliniczna niskich stężeń hs-cTn, bliskich lub równych LoD, została oceniona w licznych randomizowanych badaniach, przeglądach systematycznych i metaanalizach, które dostarczyły ważnych informacji na temat bezpieczeństwa i skuteczności strategii wczesnego wykluczenia AMI [115–119]. Jeśli chodzi o strategię oparte na pojedynczym pomiarze, w wielu badaniach oceniano skuteczność diagnostyczną niewykrywalnych stężeń hs-cTnI (<LoD) na analizatorze Architect przy przyjęciu pacjenta z podejrzeniem OZW na SOR [39,120–122]. Jednak dotychczas żadne opublikowane badanie nie dotyczyło stężeń hs-cTnI uzyskanych na systemie analitycznym Alinity i stosowanych w szybkich algorytmach wykluczenia AMI. Podkreśla to nowatorski charakter wyników niniejszej pracy. W badaniach przeprowadzonych na analizatorze

Architect uzyskane wartości NPV i czułości były zgodne z wynikami tej pracy tj. 100% (95% CI od 99% do 100%) [120]. W badaniu High-US oceniono skuteczność kliniczną testu Atellica hs-cTnI w celu wykluczenia AMI przy użyciu 3 różnych progów (stężenie hs-cTnI <5 ng/l, <3 ng/l oraz <2 ng/l). Uzyskane wyniki są porównywalne z przedstawionymi w pracy własnej zwłaszcza gdy zastosowane był najniższe stężenie hs-cTnI do wykluczenia AMI osiągając czułość diagnostyczną 99,6% (95% CI od 98,9% do 100%) oraz NPV 99,8% (95% CI od 99,4% do 100%) [35]. W celu większej optymalizacji i uzyskania zarówno bardzo dobrej skuteczności, jak i bezpieczeństwa stosowania szybkich algorytmów do wykluczenia AMI, przebadano różne strategie postępowania diagnostyczno-klinicznego wykorzystujące pomiary hs-cTn [123–125].

Badania przeprowadzone przez Sandoval i wsp. [39] dotyczyły porównania użyteczności klinicznej dwóch strategii szybkiego wykluczenia AMI przy użyciu pojedynczego pomiaru hs-cTnI na analizatorze Architect. Obie strategie, zarówno pierwsza oparta na niewykrywalnych stężeniach hs-cTnI (hs-cTnI <LoD) jak i druga oparta na stężeniach hs-cTnI <5 ng/l charakteryzowały się wysoką skutecznością kliniczną. Strategia oparta na wartościach <LoD pozwoliła na uzyskanie NPV na poziomie 99,6% (95% CI 98,9%-100%) oraz czułości diagnostycznej 99,4% (95% CI od 98,3% do 100%), natomiast w strategii, w której stosowano stężenia hs-cTnI <5 ng/l uzyskano odpowiednio NPV 98,9% (95% CI od 98,2% do 99,6%) oraz czułość diagnostyczną 94,7% (95% CI od 91,3% do 98,1%). Warto jednak zauważyć, że dodanie prawidłowego zapisu EKG poprawiało wartości NPV i czułości diagnostycznej niezależnie od zastosowanego progu stężenia hs-cTnI. Sugeruje to konieczność łączenia szybkich strategii wykluczenia AMI z oceną ogólnego stanu klinicznego pacjenta oraz EKG. Również badania Boeddinghaus i wsp. dotyczyły porównania dwóch strategii szybkiego wykluczenia AMI w oparciu o pojedynczy pomiar hs-cTnI przy zastosowaniu stężeń <LoD oraz <5 ng/l na analizatorze Architect. Pierwsza z zastosowanych strategii pozwoliła na wykluczenie AMI z doskonałą NPV i czułością diagnostyczną obie uzyskane wartości wynosiły 100% (95% CI od 99,2% do 100%). Nieznacznie gorzej sprawdziła się druga strategia, osiągając NPV na poziomie 99,1% (95% CI od 98,5% do 99,5%) i czułość diagnostyczną 97,1% (95% Ci od 95,1% do 98,3%). Wartości te jednak były porównywalne z uzyskanymi w tym samym badaniu dla strategii seryjnego pomiaru hs-cTnI po 1 i 2 godzinach od przyjęcia [120]. Zwraca to uwagę na możliwość

uzupełniania się strategii opartych na pojedynczym pomiarze hs-cTnI i strategii seryjnych pomiarów hs-cTnI. Z kolei Shortt i wsp.[122] w swoich badaniach wykazali, że zastosowanie stężeń hs-cTnI <5 ng/l do wykluczenia AMI na analizatorze Architect charakteryzuje się NPV na poziomie 99,2% (95% CI od 97,9% do 99,8%) i czułością diagnostyczną 97% (95% CI od 92,3% do 99,1%). Powyższe wartości, choć niższe niż te uzyskane w badaniach własnych, nadal mieszczą się w powszechnie akceptowanym wskaźniku błędnych wyników (1%) [114]. W kolejnym z badań, Chapman i wsp. [123] ocenili strategię szybkiego wykluczenia AMI w oparciu o jednorazowy pomiar hs-cTnI również na analizatorze Architect. Zastosowano w nim protokół wykluczenia AMI przy stężeniu hs-cTnI <5 ng/l. Uzyskane wyniki wskazywały na wysoką skuteczność oznaczeń hs-cTnI, uzyskując wartość diagnostyczną zbliżoną do wykazanej w badaniach własnych z NPV 99,7% (95% CI od 99,4% do 99,9%) i czułością diagnostyczną 98,7% (95% CI od 97,4 % do 99,8%). W kolejnym ze swoich badań Chapman i wsp. [124] ocenili strategię szybkiego wykluczenia AMI w oparciu o pojedynczy pomiar stężenia hs-cTnI <5 ng/l na analizatorze Atellica IM. Uzyskane wyniki również potwierdziły wysoką skuteczność oznaczeń hs-cTnI, uzyskując NPV 99,5% (95% CI 99,1% do 99,8%) i czułość diagnostyczną 98,0% (95% CI 96,4% do 99,5%) [124]. Wartości te są zbliżone do uzyskanych w badaniach własnych. Biorąc pod uwagę oba badania przeprowadzone przez Chapman i wsp. [123,124], można zauważyć, że wyniki uzyskane na analizatorze firmy Abbott osiągają minimalnie wyższe wartości NPV i czułości diagnostycznej niż wyniki uzyskane na analizatorze firmy Siemens, co znajduje odzwierciedlenie również w niniejszej pracy.

Chociaż wydajność analityczna i kliniczna może się różnić w zależności od użytego systemu analitycznego, niniejsze badanie wykazało, że strategia wykluczenia AMI oparta na pojedynczym wyniku stężenia hs-cTnI poniżej zdefiniowanych progów <4 ng/l dla Alinity i oraz <5 ng/l dla Atellica IM, oznaczanego przy przyjęciu na SOR na jednym z tych dwóch systemów analitycznych i w obu próbkach BD z heparyną litową, ma doskonałą wydajność kliniczną i może z powodzeniem identyfikować pacjentów nadających się do wczesnego wypisu z SOR. Niemniej jednak należy mieć świadomość, że skuteczność diagnostyczna hs-cTnI zależy od populacji pacjentów przyjętych na SOR, czasu pobrania krwi do oznaczeń cTn oraz że NPV jest wyższa u niewyselekcjonowanych pacjentów z uszkodzeniem mięśnia sercowego niezwiązanym z niedokrwieniem [126,127]. Przeprowadzone dla celów niniejszej

pracy badania wykazały ponadto, że zastosowanie różnych systemów pomiarowych do oznaczania hs-cTnI wprowadziło znaczną rozbieżność między wynikami niskich stężeń hs-cTnI, niezależnie od typu próbki. Wyniki te znajdują potwierdzenie w obserwacjach Karady i wsp. [128]. W badaniu próbki hs-cTnI od pacjentów z podejrzeniem OZW zostały sklasyfikowane zgodnie z LoD specyficznymi dla testów, tj. odpowiednio dla Abbott Architect <1,7 ng/l i dla Siemens Vista <2 ng/l. Spowodowało to znacząco różne proporcje niewykrywalnych wyników stężeń hs-cTnI, które wynosiły odpowiednio 10% i 41,2% dla testów firm Abbott i Siemens, i dostarczyło dowodów na słabą zgodność między obydwojema testami. Niestety, nie jest jasne, czy stężenie hs-cTnI oznaczano w surowicy czy w osoczu EDTA, a rodzaj użytego materiału może w sposób istotny wpływać na bardzo niskie stężenia cTnI [108,110].

W pracy własnej stwierdziłem, na podstawie obliczonego współczynnika kappa Cohena, akceptowalną zgodność pomiędzy stężeniami hs-cTnI w osoczu uzyskanymi w próbkach BD Barricor™ i BD PSTII™, zarówno na analizatorze Atellica IM, jak i Alinity i. Niemniej jednak, podobnie jak w badaniu Karady i wsp. [128] wykazano również brak zgodności pomiędzy metodami pomiarowymi niezależnie od zastosowanej próbki. Jak wspomniano wcześniej, jest to związane z brakiem standaryzacji metod do oznaczania hs-cTnI, a także znaczną zmiennością analityczną wynikającą bezpośrednio z różnej konfiguracji przeciwciał i charakterystyki analitycznej testów do oznaczania hs-cTnI [57,110]. Chociaż skuteczność wykluczania AMI może zasadniczo różnić się w zależności od systemu pomiarowego [128], moje badanie wykazało, że strategia wykluczenia oparta na pojedynczym pomiarze przy zastosowaniu bardzo niskich stężeń hs-cTnI u pacjentów z podejrzeniem AMI, oznaczanych przy przyjęciu na SOR charakteryzowała się wysoką skutecznością diagnostyczną, niezależnie od zastosowanych systemów analitycznych i próbkowych.

Podsumowując, w mojej pracy wykazałem, że próbki BD Barricor™ umożliwiają zachowanie optymalnej wydajności analitycznej i klinicznej w porównaniu ze stosowanymi rutynowo próbkami BD PSTII™. Pozwalając na zmniejszenie TAT w laboratorium, bez pogorszenia jakości materiału, próbki BD Barricor™ mogą przynieść wymierne korzyści, co jest szczególnie istotne w oznaczeniach hs-cTnI u pacjentów SOR z podejrzeniem AMI, dla których szybsza dostępność wyników ma główne znaczenie kliniczne.

7. Wnioski

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że zastosowanie ocenianych w niniejszej pracy nowoczesnych rozwiązań laboratoryjnych do oznaczeń hs-cTnI pozwala zachować optymalną wydajność analityczną i kliniczną w warunkach skróconego TAT, co można podsumować w następujących wnioskach:

- ✓ Nie zaobserwowano istotnych różnic pomiędzy probówkami BD Barricor™ oraz BD PSTII™ w częstości występowania hemolizy umiarkowanego i wysokiego stopnia gdy są stosowane na analizatorach Atellica CH oraz Alinity c;
- ✓ Alternatywne zastosowanie probówek BD Barricor™ i BD PSTII™ nie ma wpływu na stężenia hs-cTnI na systemach pomiarowych Atellica IM oraz Alinity i;
- ✓ Wyniki oznaczeń stężenia hs-cTnI uzyskane na analizatorach Atellica IM oraz Alinity i charakteryzują się istotną systematyczną różnicą niezależnie od użytego systemu probówkowego;
- ✓ Strategia wykluczenia AMI oparta na pojedynczym pomiarze przy zastosowaniu bardzo niskich stężeń hs-cTnI u pacjentów z podejrzeniem AMI, oznaczanych przy przyjęciu na SOR charakteryzowała się wysoką skutecznością diagnostyczną, niezależnie od zastosowanych systemów analitycznych i probówkowych;
- ✓ Zastosowanie probówek BD Barricor™ może znacząco skrócić TAT bez negatywnego wpływu na jakość próbki i wartość kliniczną wyników oznaczeń hs-cTnI.

8. Streszczenie

Wstęp: Jednym z największych wyzwań w diagnostyce laboratoryjnej chorób sercowo-naczyniowych są ostre zespoły wieńcowe (OZW). Szacuje się że nawet co 10 pacjent zgłaszający się do szpitalnych oddziałów ratunkowych (SOR) ma objawy sugerujące ostry zawał mięśnia sercowego (AMI). W związku z tym uzasadnione jest stosowanie szybkich strategii wykluczenia AMI, w oparciu o stężenia sercowej troponiny I oznaczanej metodą o wysokiej czułości (hs-cTn). Zastosowanie szybkich algorytmów diagnostyczno-klinicznych u pacjentów SOR wymaga optymalizacji czasu realizacji badań (TAT). Najbardziej skuteczne rozwiązania umożliwiające skrócenie TAT w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej można wprowadzić w fazie przedanalizycznej, między innymi poprzez zastosowanie odpowiednich probówek takich jak probówki BD PSTII™ i BD Barricor™ zawierających heparynę litową jako antykoagulant. Probówki BD Barricor™ posiadają nowatorski separator mechaniczny pozwalający na skrócenie czasu potrzebnego na ich wirowanie aż o 7 minut względem probówek BD PSTII™. Istotnym czynnikiem wpływającym na jakość badań laboratoryjnych oraz TAT są interferencje analityczne, w tym najczęściej występująca hemoliza, której ocena w osoczu lub surowicy może być wyrażona za pomocą wskaźnika hemolizy (HI) dostępnego na zautomatyzowanych biochemiczno-immunochemicznych systemach analitycznych.

Cel: Celem pracy była ocena wpływu nowoczesnych rozwiązań laboratoryjnych na postępowanie diagnostyczno-kliniczne u pacjentów z podejrzeniem OZW. Cel ten zrealizowano poprzez: i) ocenę występowania hemolizy w probówkach BD Barricor™ oraz BD PSTII™, co określono ilościowo za pomocą wskaźnika hemolizy (HI) na systemach pomiarowych Atellica CH oraz Alinity c; ii) ocenę wpływu zastosowania probówek BD Barricor™ oraz BD PSTII™ na stężenie hs-cTnI na analizatorach Atellica IM oraz Alinity i; iii) porównanie metod do oznaczania hs-cTnI na analizatorach Atellica IM oraz Alinity i z wykorzystaniem probówek BD Barricor™ i BD PSTII™ oraz iv) ocenę wpływu probówek BD Barricor™ i BD PSTII™ na strategię szybkiego wykluczania AMI z wykorzystaniem zdefiniowanych wartości odcięcia dla hs-cTnI na analizatorach Atellica IM oraz Alinity i.

Materiał i Metody: Badanie zostało podzielone na część analityczną i kliniczną. Materiał w części analitycznej stanowiło 359 sparowanych probówek BD Barricor™ i BD PSTII™

pobranymi od pacjentów hospitalizowanych w Szpitalu Uniwersyteckim (SU) nr 1 im. dr. A. Jurasza w Bydgoszczy. Do części klinicznej włączono 599 niewyselekcjonowanych pacjentów przyjętych na SOR SU nr 1 w Bydgoszczy z podejrzeniem AMI, u których czas trwania od początku bólu w klatce piersiowej do przyjęcia na SOR przekraczał 6 godzin. Od każdego włączonego do badania pacjenta pobierano krew do probówek BD Barricor™ oraz BD PSTII™. W obu probówkach zarówno w części analitycznej, jak i klinicznej dokonano pomiaru HI oraz oznaczano stężenia hs-cTnI na systemach pomiarowych Atellica i Alinity w ciągu 30 minut od odwirowania materiału. Do wykluczenia AMI zastosowano strategię opartą na jednorazowym pomiarze hs-cTnI, stosując zdefiniowane punkty odcięcia < 4 ng/l dla Alinity i oraz < 5 ng/l dla Atellica IM. Pierwszorzędnym punktem końcowym było porównanie skuteczności wyżej wymienionej strategii do wykluczenia AMI przy zastosowaniu probówek BD Barricor™ w porównaniu do BD PSTII™.

Wyniki: Nie zaobserwowano różnic pomiędzy obiema probówkami niezależnie od użytego systemu pomiarowego pod względem częstości występowania hemolizy wysokiego stopnia (H3+) [stężenie wolnej hemoglobiny (fHb) $\geq 2,00$ g/l] oraz umiarkowanego stopnia (H2+) (stężenie fHb $\geq 1,00$ g/l). Istotnie statystycznie różnice wystąpiły w przypadku detekcji hemolizy niskiego stopnia (H1+) zdefiniowanej stężeniem fHb $\geq 0,25$ g/l. Dotyczyły one niższej częstości występowania H1+ na analizatorze Atellica CH w probówkach BD Barricor™ w porównaniu do probówek BD PSTII™ (21,7% vs. 30,6%, $p=0,007$). Ponadto wyższą częstość detekcji HI stopnia H1+ w probówkach BD PSTII™ wykazano na analizatorze Atellica CH w porównaniu do analizatora Alinity c (30,6% vs. 22,3%, $p=0,011$).

Porównano również wpływ obu probówek na wyniki oznaczeń stężenia hs-cTnI na obu analizatorach w pełnym zakresie pomiarowym (3-15000 ng/l) oraz w niższym zakresie pomiarowym 3-300 ng/l. Na podstawie równań regresji Deminga oraz współczynnika korelacji wykazano brak wpływu ocenianych probówek na uzyskane wyniki stężeń hs-cTnI, niezależnie od systemu pomiarowego. Porównano również równania regresji Deminga i odpowiadające im współczynniki korelacji uzyskane pomiędzy testami hs-cTnI na obu analizatorach w obu probówkach w pełnym zakresie pomiarowym hs-cTnI oraz w niższym zakresie pomiarowym 3-300 ng/l hs-cTnI. Uzyskane wartości współczynników regresji były

niższe od jedności co świadczy o braku równoważności metod pomimo ich wysokiej korelacji (wartości współczynnika korelacji mieściły się w zakresie od 0,88 do 0,96) niezależnej od użytej próbówki i zakresu pomiarowego. Analiza różnic Bland-Altman`a wykazała, że stężenia hs-cTnI uzyskane na analizatorze Alinity i były niższe od uzyskanych na Atellica IM średnio o 38% do 40% niezależnie od rodzaju próbek. W części klinicznej do badania włączono 599 osób, u których zastosowano szybki algorytm wykluczający AMI oparty na jednorazowym pomiarze hs-cTnI w obu systemach próbkowych i na obu systemach analitycznych. W wyniku zastosowanej strategii, u 530 pacjentów wykluczono AMI po jednorazowym pomiarze hs-cTnI, gdzie TAT wyniósł poniżej 1 godziny. Ostatecznie AMI rozpoznano u 69 osób, co stanowiło 11,5% wszystkich włączonych do badania pacjentów. Przyjęta w pracy strategia szybkiego wykluczania AMI charakteryzowała się doskonałą czułością diagnostyczną i bardzo wysoką ujemną wartością predykcyjną (NPV), niezależnie od zastosowanej próbówki i analizatora. Czułość diagnostyczna i NPV dla Alinity i w obu próbkach wyniosła 100%, czułość diagnostyczna dla Atellica IM w obu próbkach 98,6%, natomiast NPV dla Atellica IM w próbówce BD Barricor™ wyniosła 98,1%, a w próbówce BD PSTII™ 98,2%. Niższe wartości czułości diagnostycznej i NPV uzyskane w obu próbkach na analizatorze Atellica IM w porównaniu do Alinity i są spowodowane uzyskaniem dwóch wyników fałszywie ujemnych po jednym w każdej z próbek. Wykazano również, że obecność hemolizy nie miała wpływu na zastosowaną strategię szybkiego wykluczenia AMI. Ponadto rodzaj zastosowanej próbówki nie miał wpływu na klasyfikację wyników poniżej zdefiniowanych wartości decyzyjnych dla stężeń hs-cTnI na obu analizatorach. Wykazano również akceptowalną zgodność wyników oznaczeń hs-cTnI uzyskanych w próbkach BD Barricor™ i BD PSTII™ na tym samym systemie analitycznym.

Wnioski: Probówki BD Barricor™ i BD PSTII™ mają porównywalną wartość analityczną i kliniczną, co wskazuje że można stosować je zamiennie w oznaczeniach hs-cTnI na systemach pomiarowych Atellica IM oraz Alinity i. Zastosowanie próbek BD Barricor™ na obu analizatorach może znacząco skrócić TAT bez negatywnego wpływu na jakość próbki i wartość kliniczną wyników. Wyniki oznaczeń stężenia hs-cTnI na analizatorach Atellica IM oraz Alinity i charakteryzują się istotną systematyczną różnicą niezależnie od użytego systemu próbkowego, a metody te nie mogą być stosowane zamiennie. Strategia wykluczenia AMI oparta na pojedynczym pomiarze przy zastosowaniu bardzo niskich stężeń

hs-cTnI u pacjentów z podejrzeniem AMI, charakteryzowała się wysoką skutecznością diagnostyczną.

9. Summary

Introduction: One of the biggest challenges in the laboratory diagnosis of cardiovascular diseases are acute coronary syndromes (ACS). It is estimated that every 10th patient admitted to hospital emergency departments (ED) has symptoms suggesting an acute myocardial infarction (AMI). Therefore, it is reasonable to use rapid strategies to rule out AMI based on high-sensitivity cardiac troponin I (hs-cTn) concentrations. The use of fast diagnostic and clinical algorithms in ED patients requires optimization of turnaround time (TAT). The most effective solutions to shorten TAT in routine laboratory practice can be introduced in the pre-analytical phase, which include the use of appropriate tubes such as BD PSTII™ and BD Barricor™ containing lithium heparin as an anticoagulant. BD Barricor™ tubes have an innovative mechanical separator which allows to reduce the time needed for centrifugation by as much as 7 minutes compared to BD PSTII™ tubes. An important factor affecting the quality of laboratory tests and TAT are analytical interferences, including the most common hemolysis, which assessment in plasma or serum can be expressed using the hemolysis index (HI) which is available on automated biochemical-immunochemical systems.

Aim: The aim of the study was to assess the impact of modern laboratory solutions on the diagnostic and clinical management of patients with suspected ACS. This was achieved by evaluating: i) the occurrence of hemolysis in the BD Barricor™ and BD PSTII™ tubes, as quantified by the hemolysis index (HI) on the Atellica CH and Alinity c measurement systems; ii) impact of the use of BD Barricor™ and BD PSTII™ tubes on hs-cTnI concentration on the Atellica IM and Alinity i systems; iii) comparison of hs-cTnI methods on both systems and in both tubes, and iv) assessment of the impact of BD Barricor™ and BD tubes PSTII™ on AMI rule-out strategy using predefined cutoff values for hs-cTnI on Atellica IM and Alinity i analysers.

Material and Methods: The study was divided into an analytical and clinical part. The material in the analytical part consisted of 359 paired BD Barricor™ and BD PSTII™ tubes taken from patients hospitalized at the A. Jurasz University Hospital (SU) No. 1 in Bydgoszcz. The clinical part included 599 unselected patients admitted to the ED

at the SU No. 1 in Bydgoszcz, with suspected AMI, in whom the duration of chest pain did not exceed 6 hours from admission to the ED. Blood was collected from each enrolled patient in BD Barricor™ and BD PSTII™ tubes. In both tubes, the HI was measured and hs-cTnI concentrations were determined on the Atellica and Alinity measuring systems within 30 minutes of centrifugation. A strategy based on a single measurement of hs-cTnI was used to exclude AMI using predefined cut-off points i.e. <4 ng/L for Alinity i and <5 ng/L for Atellica IM, respectively. The primary endpoint was to compare the effectiveness of the above-mentioned strategy to rule out AMI using BD Barricor™ tubes versus BD PSTII™ tubes.

Results: No between-tubes differences were observed in the incidence of high-grade (H3+) hemolysis [free hemoglobin (fHb) ≥ 2.00 g/L] and moderate-grade (H2+) hemolysis (fHb ≥ 1.00 g/L) regardless of the measurement system used. Statistically significant differences occurred in the detection of low-grade hemolysis (H1+) defined by fHb concentration ≥ 0.25 g/L. These included a lower incidence of H1+ on the Atellica CH analyzer in BD Barricor™ tubes compared to BD PSTII™ tubes (21.7% vs. 30.6%, $p=0.007$). In addition, a higher rate of H1+ detection in BD PSTII™ tubes was demonstrated on the Atellica CH compared to the Alinity c (30.6% vs. 22.3%, $p=0.011$).

The influence of both tubes on hs-cTnI results measured on both analyzers was also compared in the full measuring range (3-15000 ng/L) and in the lower measuring range of 3-300 ng/L. Based on the Deming regression equations and the correlation coefficient, no influence of the tubes on the obtained hs-cTnI results was demonstrated, regardless of the measurement system. The Deming regression equations and the corresponding correlation coefficients obtained between hs-cTnI methods on both analyzers in both tubes were also compared in the full measuring range of hs-cTnI and in the lower measuring range of hs-cTnI. The obtained values of the regression coefficients were lower than 1, which proves that hs-cTnI methods are not equivalent despite their high correlation (correlation coefficient values ranged from 0.88 to 0.96) regardless of tubes and measurement range. Bland-Altman difference analysis showed that hs-cTnI concentrations obtained on the Alinity analyzer were lower than those obtained on the Atellica IM by an average of 38% to 40%, regardless of the type of tubes. In the clinical part, 599 subjects were included in the study

and a rapid AMI rule-out algorithm was used based on a single measurement of hs-cTnI in both tube and analytical systems. Using this strategy, AMI was excluded in 530 patients after a single measurement of hs-cTnI, where the TAT was less than 1 hour. Finally, AMI was diagnosed in 69 patients, which accounted for 11.5% of all patients included in the study. The average age of the study population was 68.7 years and the majority were men. Patients with AMI did not differ in terms of age from those in whom AMI was excluded. AMI was significantly more often diagnosed in men than in women ($p < 0.001$). The rapid AMI rule-out strategy applied in this study was characterized by an excellent diagnostic sensitivity and negative predictive value (NPV), regardless of the tube and analyzer used. Diagnostic sensitivity and NPV for Alinity and both tubes was 100%; diagnostic sensitivity for Atellica IM and both tubes was 98.6 %, NPV of Atellica IM in BD Barricor™ tube was 98.1% and in the BD PSTII™ was 98.2%, respectively. The lower diagnostic sensitivity and NPV values obtained in both tubes on the Atellica IM in comparison to the Alinity are due to the two false negatives, one per each tube. It was also shown that the presence of hemolysis had no effect on the rapid AMI rule-out strategy. In addition, the type of tube did not affect the classification of results below the defined cut-off values for hs-cTnI concentrations on both analyzers. Acceptable agreement has also been demonstrated for hs-cTnI results obtained in BD Barricor™ and BD PSTII™ tubes on the same measuring system.

Conclusions: BD Barricor™ and BD PSTII™ tubes have comparable analytical and clinical value, suggesting their interchangeable use on the Atellica IM and Alinity i hs-cTnI measuring systems. The use of BD Barricor™ tubes on both analyzers can significantly reduce TAT without negative impact on the sample quality and clinical value of results. Hs-cTnI results on both Atellica IM and Alinity analyzers are characterized by a significant systematic difference regardless of the tube type used, and these methods cannot be used interchangeably. The AMI rule-out strategy based on a single measurement using very low hs-cTnI concentrations in patients with suspected AMI was characterized by high diagnostic efficacy.

10. Zgoda komisji bioetycznej

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medicum im L. Rydygiera w Bydgoszczy

KOMISJA BIOETYCZNA

Ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz, tel.(052) 585-35-63, fax.(052) 585-38-11

KB 402/2019

Bydgoszcz, 16.04.2019 r.

Działając na podstawie art.29 Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 roku o zawodzie lekarza (Dz.U. z 1997 r. Nr 28 poz. 152 (wraz z późniejszymi zmianami), zarządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz.U.Nr 47 poz.480) oraz Zarządzeniem Nr 21 Rektora UMK z dnia 4 marca 2009 r. z późn. zm. w sprawie powołania oraz zasad działania Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy Collegium Medicum im Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy oraz zgodnie z zasadami zawartymi w ICH – GCP

Komisja Bioetyczna przy UMK w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy

(skład podano w załączeniu), na posiedzeniu w dniu **16.04.2019 r.** przeanalizowała wniosek, który złożył kierownik badania:

dr hab. n. med. Magdalena Krintus
Zakład Ewaluacji Biomarkerów
Collegium Medicum w Bydgoszczy

z zespołem w składzie

- **prof. dr hab. n. med. Grażyna Odrowąż-Sypniewska, dr hab. n. med. Magdalena Krintus, prof. Mauro Panteghini, prof. dr hab. n. med. Marek Koziński, dr n. med. Ahmad El-Essa, mgr Łukasz Szternel, mgr Piotr Gajewski,**

w sprawie badania:

„Porównanie zastosowania dwóch systemów probówek BD PST II i BD Barricor do oznaczania stężenia sercowej troponiny I testem wysokoczułym u pacjentów z podejrzeniem ostrego zespołu wieńcowego.”

Po zapoznaniu się ze złożonym wnioskiem i w wyniku przeprowadzonej dyskusji oraz głosowania Komisja podjęła


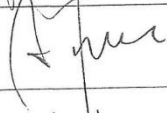

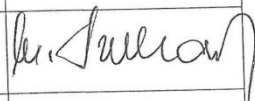
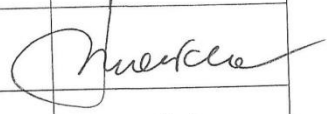
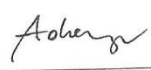
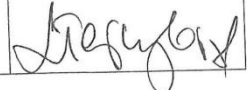
Uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu wniosku

w sprawie przeprowadzenia badań, w zakresie określonym we wniosku pod warunkiem:

- poinformowania uczestników badania o celu oraz zakresie badań i uzyskania od każdego z nich osobnej, pisemnej, świadomej zgody na udział w badaniu, zgodnie z obowiązującymi przepisami, datowanej najpóźniej na moment rozpoczęcia badania a nie wcześniej niż data uzyskania z Komisji Bioetycznej zgody na takie badanie;
- zachowania tajemnicy wszystkich danych, w tym danych osobowych pacjentów, umożliwiających ich identyfikację w ewentualnych publikacjach;
- zapewnienia, że osoby uczestniczące w eksperymencie badawczym nie są ubezwłasnowolnione, nie są żołnierzami służby zasadniczej, nie są osobami pozbawionymi wolności, nie pozostają w zależności służbowej, dydaktycznej lub innej z prowadzącym badanie;
- sugerujemy uzyskanie podpisu uczestnika badania pod informacją o badaniu, lub sporządzenie formularza informacji i świadomej zgody na udział w badaniu na jednej kartce.

Jednocześnie informujemy, iż „Zgoda na udział w badaniu” winna zawierać m.in.: imię i nazwisko badanej osoby; Nr historii choroby pacjenta (L.ks.gł. Oddziału/Poradni) oraz datę i podpis badanej osoby, a także

Lista obecności
na posiedzeniu Komisji Bioetycznej
w dniu 16.04.2019 r.

Lp.	Imię i nazwisko	Funkcja	Podpis
1.	Prof. dr hab. med. Karol Śliwka	Przewodniczący	
2.	Mgr prawa Joanna Połetek-Żygas	Z-ca przewodniczącego	
3.	Prof. dr hab. med. Mieczysława Czerwionka-Szaflarska		
4.	Prof. dr hab. med. Anna Balcar-Boroń		
5.	Prof. dr hab. med. Marek Grabiec		
6.	Prof. dr hab. med. Zbigniew Włodarczyk		
7.	Dr hab. n. med. Katarzyna Pawlak-Osińska, prof. UMK		
8.	Dr hab. n. med. Maria Kłopocka		
9.	Ks. dr hab. Wojciech Szukalski, prof. UAM		
10.	Dr n. med. Radosława Staszak-Kowalska		
11.	Mgr prawa Patrycja Brzezicka		
12.	Mgr farm. Aleksandra Adamczyk		
13.	Mgr Lidia Iwińska-Tarczykowska		

11. Bibliografia

- [1] Collet J-P, Thiele H, Barbato E, Barthélémy O, Bauersachs J, Bhatt DL, 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. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa575>.
- [2] Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, et al. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Circulation* 2018;138:e618–51. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000617>.
- [3] Roe MT, Harrington RA, Prosper DM, Pieper KS, Bhatt DL, Lincoff AM, et al. Clinical and therapeutic profile of patients presenting with acute coronary syndromes who do not have significant coronary artery disease. The Platelet Glycoprotein IIb/IIIa in Unstable Angina: Receptor Suppression Using Integrilin Therapy (PURSUIT) Trial Investigators. *Circulation* 2000;102:1101–6. <https://doi.org/10.1161/01.cir.102.10.1101>.
- [4] Reynolds HR, Srichai MB, Iqbal SN, Slater JN, Mancini GBJ, Feit F, et al. Mechanisms of myocardial infarction in women without angiographically obstructive coronary artery disease. *Circulation* 2011;124:1414–25. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.026542>.
- [5] Chapman AR, Shah ASV, Lee KK, Anand A, Francis O, Adamson P, et al. Long Term Outcomes in Patients with Type 2 Myocardial Infarction and Myocardial Injury. *Circulation* 2018;137. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.031806>.
- [6] Neumann JT, Sørensen NA, Rübsamen N, Ojeda F, Renné T, Qaderi V, et al. Discrimination of patients with type 2 myocardial infarction. *Eur Heart J* 2017;38:3514–20. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx457>.
- [7] Thygesen K, Alpert JS, White HD. Universal Definition of Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2173–95. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.09.011>.
- [8] Centrala Narodowego Funduszu Zdrowia. Choroba niedokrwienna serca 2020.
- [9] NICE. High-sensitivity troponin tests for the early rule out of NSTEMI. Diagnostics guidance 2020.
- [10] Garg P, Morris P, Fazlanie AL, Vijayan S, Dancso B, Dastidar AG, et al. Cardiac biomarkers of acute coronary syndrome: from history to high-sensitivity cardiac troponin. *Intern Emerg Med* 2017;12:147–55. <https://doi.org/10.1007/s11739-017-1612-1>.
- [11] Katrukha IA. Human cardiac troponin complex. Structure and functions. *Biochem Biokhimiia* 2013;78:1447–65. <https://doi.org/10.1134/S0006297913130063>.

- [12] Collinson PO, Boa FG, Gaze DC. Measurement of cardiac troponins. *Ann Clin Biochem* 2001;38:423–49. <https://doi.org/10.1177/000456320103800501>.
- [13] Bhavsar PK, Brand NJ, Yacoub MH, Barton PJ. Isolation and characterization of the human cardiac troponin I gene (TNNI3). *Genomics* 1996;35:11–23. <https://doi.org/10.1006/geno.1996.0317>.
- [14] Zabrouskov V, Ge Y, Schwartz J, Walker JW. Unraveling molecular complexity of phosphorylated human cardiac troponin I by top down electron capture dissociation/electron transfer dissociation mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics MCP* 2008;7:1838–49. <https://doi.org/10.1074/mcp.M700524-MCP200>.
- [15] 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. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2011.165795>.
- [16] Nassar R, Malouf NN, Mao L, Rockman HA, Oakeley AE, Frye JR, et al. cTnT1, a cardiac troponin T isoform, decreases myofilament tension and affects the left ventricular pressure waveform. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;288:H1147-1156. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00140.2004>.
- [17] du Fay de Lavallaz J, Prepoudis A, Wendebourg MJ, Kesenheimer E, Kyburz D, Daikeler T, et al. Skeletal Muscle Disorders: A Noncardiac Source of Cardiac Troponin T. *Circulation* 2022;145:1764–79. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.121.058489>.
- [18] Chaulin A. Cardiac Troponins: Contemporary Biological Data and New Methods of Determination. *Vasc Health Risk Manag* 2021;17:299–316. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S300002>.
- [19] Chaulin AM, Михайлович ЧА, Duplyakov DV, Викторovich ДД. Biomarkers of acute myocardial infarction: diagnostic and prognostic value. Part 1. *J Clin Pract* 2020;11:75–84. <https://doi.org/10.17816/clinpract34284>.
- [20] Piechota W. Sercowa troponina T 2003.
- [21] Lazar DR, Lazar F-L, Homorodean C, Cainap C, Focsan M, Cainap S, et al. High-Sensitivity Troponin: A Review on Characteristics, Assessment, and Clinical Implications. *Dis Markers* 2022;2022:9713326. <https://doi.org/10.1155/2022/9713326>.
- [22] Krintus M, Panteghini M. Judging the clinical suitability of analytical performance of cardiac troponin assays: *Clin Chem Lab Med CCLM* 2023;61:801–10. <https://doi.org/10.1515/cclm-2023-0027>.
- [23] Christenson RH, Duh SH, Apple FS, Bodor GS, Bunk DM, Dalluge J, et al. Standardization of cardiac troponin I assays: round Robin of ten candidate reference materials. *Clin Chem* 2001;47:431–7.

- [24] Christenson RH, Duh SH, Apple FS, Bodor GS, Bunk DM, Panteghini M, et al. Toward standardization of cardiac troponin I measurements part II: assessing commutability of candidate reference materials and harmonization of cardiac troponin I assays. *Clin Chem* 2006;52:1685–92. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.068437>.
- [25] Bunk DM, Welch MJ. Characterization of a new certified reference material for human cardiac troponin I. *Clin Chem* 2006;52:212–9. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.051359>.
- [26] Tate JR, Bunk DM, Christenson RH, Katrukha A, Noble JE, Porter RA, et al. Standardisation of cardiac troponin I measurement: past and present. *Pathology (Phila)* 2010;42:402–8. <https://doi.org/10.3109/00313025.2010.495246>.
- [27] Panteghini M, Bunk DM, Christenson RH, Katrukha A, Porter RA, Schimmel H, et al. Standardization of troponin I measurements: an update. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:1501–6. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2008.291>.
- [28] Noble JE, Bunk DM, Christenson RH, Cole KD, He H-J, Katrukha AG, et al. Development of a candidate secondary reference procedure (immunoassay based measurement procedure of higher metrological order) for cardiac troponin I: I. Antibody characterization and preliminary validation: *Clin Chem Lab Med* 2010;48:1603–10. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2010.316>.
- [29] Tate JR, Bunk DM, Christenson RH, Barth JH, Katrukha A, Noble JE, et al. Evaluation of standardization capability of current cardiac troponin I assays by a correlation study: results of an IFCC pilot project. *Clin Chem Lab Med CCLM* 2015;53:677–90. <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-1197>.
- [30] Twerenbold R, Boeddinghaus J, Nestelberger T, Wildi K, Rubini Gimenez M, Badertscher P, et al. Clinical Use of High-Sensitivity Cardiac Troponin in Patients With Suspected Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* 2017;70:996–1012. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.07.718>.
- [31] Goodacre S, Cross E, Arnold J, Angelini K, Capewell S, Nicholl J. The health care burden of acute chest pain. *Heart Br Card Soc* 2005;91:229–30. <https://doi.org/10.1136/hrt.2003.027599>.
- [32] Hess EP, Brison RJ, Perry JJ, Calder LA, Thiruganasambandamoorthy V, Agarwal D, et al. Development of a Clinical Prediction Rule for 30-Day Cardiac Events in Emergency Department Patients With Chest Pain and Possible Acute Coronary Syndrome. *Ann Emerg Med* 2012;59:115-125.e1. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2011.07.026>.
- [33] Thokala P, Goodacre SW, Collinson PO, Stevens JW, Mills NL, Newby DE, et al. Cost-effectiveness of presentation versus delayed troponin testing for acute myocardial infarction. *Heart Br Card Soc* 2012;98:1498–503. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2012-302188>.

- [34] Boeddinghaus J, Nestelberger T, Badertscher P, Twerenbold R, Fitze B, Wussler D, et al. Predicting Acute Myocardial Infarction with a Single Blood Draw. *Clin Chem* 2019;65:437–50. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2018.294124>.
- [35] Sandoval Y, Nowak R, deFilippi CR, Christenson RH, Peacock WF, McCord J, et al. Myocardial Infarction Risk Stratification With a Single Measurement of High-Sensitivity Troponin I. *J Am Coll Cardiol* 2019;74:271–82. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.05.058>.
- [36] Body R, Mueller C, Giannitsis E, Christ M, Ordonez-Llanos J, de Filippi CR, et al. The Use of Very Low Concentrations of High-sensitivity Troponin T to Rule Out Acute Myocardial Infarction Using a Single Blood Test. *Acad Emerg Med* 2016;23:1004–13. <https://doi.org/10.1111/acem.13012>.
- [37] Body R, Burrows G, Carley S, Cullen L, Than M, Jaffe AS, et al. High-Sensitivity Cardiac Troponin T Concentrations below the Limit of Detection to Exclude Acute Myocardial Infarction: A Prospective Evaluation. *Clin Chem* 2015;61:983–9. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2014.231530>.
- [38] Bandstein N, Ljung R, Johansson M, Holzmann MJ. Undetectable High-Sensitivity Cardiac Troponin T Level in the Emergency Department and Risk of Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* 2014;63:2569–78. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2014.03.017>.
- [39] Sandoval Y, Smith SW, Love SA, Sexter A, Schulz K, Apple FS. Single High-Sensitivity Cardiac Troponin I to Rule Out Acute Myocardial Infarction. *Am J Med* 2017;130:1076–1083.e1. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2017.02.032>.
- [40] Pickering JW, Than MP, Cullen L, Aldous S, ter Avest E, Body R, et al. Rapid Rule-out of Acute Myocardial Infarction With a Single High-Sensitivity Cardiac Troponin T Measurement Below the Limit of Detection. *Ann Intern Med* 2017;166:715–24. <https://doi.org/10.7326/M16-2562>.
- [41] Wildi K, Boeddinghaus J, Nestelberger T, Twerenbold R, Badertscher P, Wussler D, et al. Comparison of fourteen rule-out strategies for acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2019;283:41–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.11.140>.
- [42] Greenslade J, Cho E, Van Hise C, Hawkins T, Parsonage W, Ungerer J, et al. Evaluating Rapid Rule-out of Acute Myocardial Infarction Using a High-Sensitivity Cardiac Troponin I Assay at Presentation. *Clin Chem* 2018;64:820–9. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2017.283887>.
- [43] Johannessen TR, Atar D, Vallersnes OM, Larstorp ACK, Mdala I, Halvorsen S. Comparison of a single high-sensitivity cardiac troponin T measurement with the HEART score for rapid rule-out of acute myocardial infarction in a primary care emergency setting: a cohort study. *BMJ Open* 2021;11:e046024. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-046024>.

- [44] Carlton E, Greenslade J, Cullen L, Body R, Than M, Pickering JW, et al. Evaluation of High-Sensitivity Cardiac Troponin I Levels in Patients With Suspected Acute Coronary Syndrome. *JAMA Cardiol* 2016;1:405–12. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2016.1309>.
- [45] Vafaie M, Slagman A, Möckel M, Hamm C, Huber K, Müller C, et al. Prognostic Value of Undetectable hs Troponin T in Suspected Acute Coronary Syndrome. *Am J Med* 2016;129:274-282.e2. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2015.10.016>.
- [46] Pedersen CK, Stengaard C, Søndergaard H, Dodt KK, Hjort J, Bøtker MT, et al. A multicentre, randomized, controlled open-label trial to compare an Accelerated Rule-Out protocol using combined prehospital copeptin and in-hospital high sensitive troponin with standard rule-out in patients suspected of acute Myocardial Infarction – the AROMI trial. *Trials* 2018;19:683. <https://doi.org/10.1186/s13063-018-2990-z>.
- [47] McRae AD, Innes G, Graham M, Lang E, Andruchow JE, Ji Y, et al. Undetectable Concentrations of a Food and Drug Administration–approved High-sensitivity Cardiac Troponin T Assay to Rule Out Acute Myocardial Infarction at Emergency Department Arrival. *Acad Emerg Med* 2017;24:1267–77. <https://doi.org/10.1111/acem.13229>.
- [48] Roffi M, Patrono C, Collet J-P, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, 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. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv320>.
- [49] Wu AHB, Christenson RH, Greene DN, Jaffe AS, Kavsak PA, Ordonez-Llanos J, 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 Bio-Markers of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem* 2018;64:645–55. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2017.277186>.
- [50] Clerico A, Zaninotto M, Padoan A, Masotti S, Musetti V, Prontera C, et al. Evaluation of analytical performance of immunoassay methods for cTnI and cTnT: From theory to practice. *Adv Clin Chem* 2019;93:239–62. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2019.07.005>.
- [51] Clerico A, Giannoni A, Prontera C, Giovannini S. High-sensitivity troponin: a new tool for pathophysiological investigation and clinical practice. *Adv Clin Chem* 2009;49: 1–30.
- [52] Apple FS, Sandoval Y, Jaffe AS, Ordonez-Llanos J, 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. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2016.255109>.

- [53] Clerico A, Ripoli A, Zaninotto M, Masotti S, Musetti V, Ciaccio M, et al. 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. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem* 2019;496:25–34. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.06.012>.
- [54] Marjot J, Kaier TE, Martin ED, Reji SS, Copeland O, Iqbal M, et al. Quantifying the Release of Biomarkers of Myocardial Necrosis from Cardiac Myocytes and Intact Myocardium. *Clin Chem* 2017;63:990–6. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2016.264648>.
- [55] Mair J, Lindahl B, Hammarsten O, Müller C, Giannitsis E, Huber K, et al. How is cardiac troponin released from injured myocardium? *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care* 2018;7:553–60. <https://doi.org/10.1177/2048872617748553>.
- [56] Clerico A, Zaninotto M, Ripoli A, Masotti S, Prontera C, Passino C, 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. <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0933>.
- [57] Krintus M, Panteghini M. Laboratory-related issues in the measurement of cardiac troponins with highly sensitive assays. *Clin Chem Lab Med CCLM* 2020;58:1773–83. <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0017>.
- [58] Farmakis D, Mueller C, Apple FS. High-sensitivity cardiac troponin assays for cardiovascular risk stratification in the general population. *Eur Heart J* 2020;41:4050–6. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa083>.
- [59] Clerico A, Zaninotto M, Passino C, Aspromonte N, Piepoli MF, Migliardi M, et al. Evidence on clinical relevance of cardiovascular risk evaluation in the general population using cardio-specific biomarkers. *Clin Chem Lab Med* 2020;59:79–90. <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0310>.
- [60] Clerico A, Padoan A, Zaninotto M, Passino C, Plebani M. Clinical relevance of biological variation of cardiac troponins. *Clin Chem Lab Med* 2021;59:641–52. <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-1433>.
- [61] Alinity I - STAT High Sensitive Troponin-I reagent kit. Instructions for use 2020.
- [62] Atellica IM High-Sensitivity Troponin I (TnIH). Instruction for use. 2018.
- [63] Dębińska-Kieć A, Naskalski J. Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. III. Wrocław: 2010.
- [64] Ferraro S, Dolci A, Panteghini M. Fast track protocols using highly sensitive troponin assays for ruling out and ruling in non-ST elevation acute coronary syndrome. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1683–9. <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0044>.

- [65] Pati HP, Singh G. Turnaround Time (TAT): Difference in Concept for Laboratory and Clinician. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2014;30:81–4. <https://doi.org/10.1007/s12288-012-0214-3>.
- [66] Badiou S, Vuillot O, Bargnoux AS, Kuster N, Lefebvre S, Sebbane M, et al. Improved quality of samples and laboratory turnaround time using 3.5 mL low vacuum BD Vacutainer® Barricor tubes in the emergency department. *Pract Lab Med* 2019;16:e00128. <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2019.e00128>.
- [67] Lee S, Yoon S, Lee W, Chun S, Min W. Strategies to shorten turnaround time in outpatient laboratory. *J Clin Lab Anal* 2022;36:e24665. <https://doi.org/10.1002/jcla.24665>.
- [68] Dawande PP, Wankhade RS, Akhtar FI, Noman O. Turnaround Time: An Efficacy Measure for Medical Laboratories. *Cureus* 2022;14. <https://doi.org/10.7759/cureus.28824>.
- [69] Hawkins RC. Laboratory turnaround time. *Clin Biochem Rev* 2007;28:179–94.
- [70] Ramakers C, Meyer B, Yang W, Plokhoy E, Xiong Y, Church S, et al. Switching from serum to plasma: Implementation of BD Vacutainer® Barricor™ Plasma Blood Collection Tubes improves sample quality and laboratory turnaround time. *Pract Lab Med* 2019;18:e00149. <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2019.e00149>.
- [71] Preanalytical Systems. BD Life Sciences. Product Catalogue. 2018.
- [72] Erdal EP, Mitra D, Khangulov VS, Church S, Plokhoy E. The economic impact of poor sample quality in clinical chemistry laboratories: results from a global survey. *Ann Clin Biochem* 2017;54:230–9. <https://doi.org/10.1177/0004563216651647>.
- [73] Guss DA, Chan TC, Killeen JP. The impact of a pneumatic tube and computerized physician order management on laboratory turnaround time. *Ann Emerg Med* 2008;51:181–5. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2007.03.010>.
- [74] Bürki C, Volleberg M, Brunner D, Schmutz M, Hersberger M. Using the hemolysis index of Abbott's Alinity c for the measurement of plasma free hemoglobin in ECMO patients. *Clin Biochem* 2022;100:67–70. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2021.11.010>.
- [75] Smith MB, Chan YW, Dolci A, Kellogg MD, McCudden CR, McLean M, et al. Hemolysis, Icterus, and Lipemia/Turbidity Indices as Indicators of Interference in Clinical Laboratory Analysis; Approved Guideline. *CLSI Doc C56-A* 2012.
- [76] Phelan MP, Reineks EZ, Schold JD, Hustey FM, Chamberlin J, Procop GW. Preanalytic Factors Associated With Hemolysis in Emergency Department Blood Samples. *Arch Pathol Lab Med* 2017;142:229–35. <https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0400-OA>.

- [77] Dolci A, Panteghini M. Harmonization of automated hemolysis index assessment and use: Is it possible? *Clin Chim Acta* 2014;432:38–43. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2013.10.012>.
- [78] Sodi R, Darn SM, Davison AS, Stott A, Shenkin A. Mechanism of interference by haemolysis in the cardiac troponin T immunoassay. *Ann Clin Biochem* 2006;43:49–56. <https://doi.org/10.1258/000456306775141687>.
- [79] Lippi G, Plebani M, Di Somma S, Cervellin G. Hemolyzed specimens: a major challenge for emergency departments and clinical laboratories. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2011;48:143–53. <https://doi.org/10.3109/10408363.2011.600228>.
- [80] Heiligers-Duckers C, Peters NALR, van Dijck JJP, Hoeijmakers JMJ, Janssen MJW. Low vacuum and discard tubes reduce hemolysis in samples drawn from intravenous catheters. *Clin Biochem* 2013;46:1142–4. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.04.005>.
- [81] Ramakers C. BD Vacutainer® Barricor tube in the emergency department: reduced hemolysis rates using partial draw tubes with reduced vacuum. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:e31–2. <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0411>.
- [82] Lippi G, Blanckaert N, Bonini P, Green S, Kitchen S, Palicka V, et al. Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:764–72. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2008.170>.
- [83] BD Life Sciences. Comparison of the BD Vacutainer® Barricor™ Tube with the BD Vacutainer® PSTTM II and BD Vacutainer® SSTTM II Advance Tubes for Selected Routine Chemistry Analytes and Immunoassays on the Abbott ARCHITECT® Ci4100/i1000SR 2016.
- [84] Snyder JT, Garcia E, Davis J, Cheek J. Performance Evaluation of the Atellica CH HIL Feature. *Annu Sci Meet Abstr* 2020;72nd AACC.
- [85] Ho CKM, Chen C, Setoh JWS, Yap WWT, Hawkins RCW. Optimization of hemolysis, icterus and lipemia interference thresholds for 35 clinical chemistry assays. *Pract Lab Med* 2021;25:e00232. <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2021.e00232>.
- [86] Cadamuro J, Lippi G, von Meyer A, Ibarz M, van Dongen E, Cornes M, et al. European survey on preanalytical sample handling – Part 2: Practices of European laboratories on monitoring and processing haemolytic, icteric and lipemic samples. On behalf of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE). *Biochem Medica* 2019;29:020705. <https://doi.org/10.11613/BM.2019.020705>.
- [87] Hawkins R. Discrepancy between visual and spectrophotometric assessment of sample haemolysis. *Ann Clin Biochem* 2002;39:521–2. <https://doi.org/10.1258/000456302320314575>.

- [88] Lippi G, Cadamuro J. Visual assessment of sample quality: quo usque tandem? *Clin Chem Lab Med* 2018;56:513–5. <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0867>.
- [89] Simundic A-M, Nikolac N, Ivankovic V, Ferenc-Ruzic D, Magdic B, Kvaternik M, et al. Comparison of visual vs. automated detection of lipemic, icteric and hemolyzed specimens: can we rely on a human eye? *Clin Chem Lab Med* 2009;47:1361–5. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2009.306>.
- [90] Lima-Oliveira G, Monneret D, Guerber F, Guidi GC. Sample management for clinical biochemistry assays: Are serum and plasma interchangeable specimens? *Crit Rev Clin Lab Sci* 2018;55:480–500. <https://doi.org/10.1080/10408363.2018.1499708>.
- [91] Gawria G, Tillmar L, Landberg E. A comparison of stability of chemical analytes in plasma from the BD Vacutainer® Barricor™ tube with mechanical separator versus tubes containing gel separator. *J Clin Lab Anal* 2019;34:e23060. <https://doi.org/10.1002/jcla.23060>.
- [92] Füzéry AK, Raizman JE, Goudreau BL, Moses K, Niemann K, Park J, et al. The BD Barricor blood collection tube is an acceptable and robust alternative to the PST for use with the Beckman AccuTnl+3 assay. *Clin Biochem* 2017;50:851–7. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.05.015>.
- [93] Arslan FD, Karakoyun I, Basok BI, Aksit MZ, Baysoy A, Ozturk YK, et al. The local clinical validation of a new lithium heparin tube with a barrier: BD Vacutainer® Barricor LH Plasma tube. *Biochem Medica* 2017;27:030706. <https://doi.org/10.11613/BM.2017.030706>.
- [94] Cadamuro J, Mrazek C, Leichtle AB, Kipman U, Felder TK, Wiedemann H, et al. Influence of centrifugation conditions on the results of 77 routine clinical chemistry analytes using standard vacuum blood collection tubes and the new BD-Barricor tubes. *Biochem Medica* 2018;28:010704. <https://doi.org/10.11613/BM.2018.010704>.
- [95] Sniegowski LT, Moody JR. Determination of serum and blood densities. *Anal Chem* 1979;51:1577–8. <https://doi.org/10.1021/ac50045a052>.
- [96] Hinghofer-Szalkay H, Greenleaf JE. Continuous monitoring of blood volume changes in humans. *J Appl Physiol* 1987;63:1003–7. <https://doi.org/10.1152/jappl.1987.63.3.1003>.
- [97] Faught RC, Marshall J, Bornhorst J. Solution densities and estimated total protein contents associated with inappropriate flotation of separator gel in different blood collection tubes. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135:1081–4. <https://doi.org/10.5858/2010-0488-OAR.1>.
- [98] Bowen RAR, Remaley AT. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochem Medica* 2014;24:31–44. <https://doi.org/10.11613/BM.2014.006>.

- [99] van den Ouweland JMW, Church S. High total protein impairs appropriate gel barrier formation in BD Vacutainer blood collection tubes. *Clin Chem* 2007;53:364–5. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.081653>.
- [100] Héту P-O, Hobeila S, Larivière F, Bélanger M-C. Improved Sample Quality and Decreased Turnaround Time When Using Plasma Blood Collection Tubes with a Mechanical Separator in a Large University Hospital. *J Appl Lab Med* 2021;6:409–20. <https://doi.org/10.1093/jalm/jfaa111>.
- [101] Atellica[®] Solution Operator's Guide n.d.
- [102] Capoferri A, Aloisio E, Pasqualetti S, Panteghini M. More about the random uncertainty of photometric determination of hemolysis index on the Abbott Alinity c platform. *Clin Biochem* 2022;105–106:94–5. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2022.04.010>.
- [103] Pasqualetti S, Szóke D, Panteghini M. Heparinate but not serum tubes are susceptible to hemolysis by pneumatic tube transportation. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:785–9. <https://doi.org/10.1515/cclm-2015-0751>.
- [104] Barth JH, Panteghini M, Bunk DM, Christenson RH, Katrukha A, Noble JE, et al. Recommendation to harmonize the units for reporting cardiac troponin results. *Clin Chim Acta* 2014;432:166. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2013.10.023>.
- [105] CLSI. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Second Edition (Interim Revision). n.d.
- [106] Mrazek C, Simundic A-M, Wiedemann H, Krahmer F, Felder TK, Kipman U, et al. The relationship between vacuum and hemolysis during catheter blood collection: a retrospective analysis of six large cohorts. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1129–34. <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0940>.
- [107] Harley K, Bissonnette S, Inzitari R, Schulz K, Apple FS, Kavsak PA, et al. Independent and combined effects of biotin and hemolysis on high-sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Chem Lab Med* 2021;59:1431–43. <https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0124>.
- [108] Krintus M, Kozinski M, Boudry P, Capell NE, Köller U, Lackner K, et al. European multicenter analytical evaluation of the Abbott ARCHITECT STAT high sensitive troponin I immunoassay. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:1657–65. <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0107>.
- [109] Dupuy AM, Badiou S, Daubin D, Bargnoux AS, Magnan C, Klouche K, et al. Comparison of Barricor[™] vs. lithium heparin tubes for selected routine biochemical analytes and evaluation of post centrifugation stability. *Biochem Medica* 2018;28:020902. <https://doi.org/10.11613/BM.2018.020902>.

- [110] Kozinski M, Krintus M, Kubica J, Sypniewska G. High-sensitivity cardiac troponin assays: From improved analytical performance to enhanced risk stratification. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2017;54:143–72. <https://doi.org/10.1080/10408363.2017.1285268>.
- [111] Lam L, Aspin L, Heron RC, Ha L, Kyle C. Discrepancy between Cardiac Troponin Assays Due to Endogenous Antibodies. *Clin Chem* 2020;66:445–54. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvz032>.
- [112] Kavsak PA, Roy C, Malinowski P, Clark L, Lamers S, Bamford K, et al. Sample matrix and high-sensitivity cardiac troponin I assays. *Clin Chem Lab Med* 2019;57:745–51. <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-1100>.
- [113] Kavsak PA, Worster A, Hill SA, Jaffe AS. Evaluation of the Siemens ADVIA Centaur high-sensitivity cardiac troponin I assay in serum. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem* 2018;487:216–21. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.10.012>.
- [114] Than M, Herbert M, Flaws D, Cullen L, Hess E, Hollander JE, et al. What is an acceptable risk of major adverse cardiac event in chest pain patients soon after discharge from the Emergency Department?: a clinical survey. *Int J Cardiol* 2013;166:752–4. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.09.171>.
- [115] Carlton EW, Ingram J, Taylor H, Glynn J, Kandiyali R, Campbell S, et al. Limit of detection of troponin discharge strategy versus usual care: randomised controlled trial. *Heart* 2020;106:1586–94. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2020-316692>.
- [116] Chew DP, Lambrakis K, Blyth A, Seshadri A, Edmonds MJR, Briffa T, et al. A Randomized Trial of a 1-Hour Troponin T Protocol in Suspected Acute Coronary Syndromes: The Rapid Assessment of Possible Acute Coronary Syndrome in the Emergency Department With High-Sensitivity Troponin T Study (RAPID-TnT). *Circulation* 2019;140:1543–56. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.042891>.
- [117] Anand A, Lee KK, Chapman AR, Ferry AV, Adamson PD, Strachan FE, et al. High-Sensitivity Cardiac Troponin on Presentation to Rule Out Myocardial Infarction: A Stepped-Wedge Cluster Randomized Controlled Trial. *Circulation* 2021;143:2214–24. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.052380>.
- [118] Chiang C-H, Chiang C-H, Lee GH, Gi W-T, Wu Y-K, Huang S-S, et al. Safety and efficacy of the European Society of Cardiology 0/1-hour algorithm for diagnosis of myocardial infarction: systematic review and meta-analysis. *Heart Br Card Soc* 2020;106:985–91. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2019-316343>.
- [119] Chiang C-H, Chiang C-H, Pickering JW, Stoyanov KM, Chew DP, Neumann JT, et al. Performance of the European Society of Cardiology 0/1-Hour, 0/2-Hour, and 0/3-Hour Algorithms for Rapid Triage of Acute Myocardial Infarction: An International Collaborative Meta-analysis. *Ann Intern Med* 2022;175. <https://doi.org/10.7326/M21-1499>.

- [120] Boeddinghaus J, Nestelberger T, Twerenbold R, Wildi K, Badertscher P, Cupa J, et al. Direct Comparison of 4 Very Early Rule-Out Strategies for Acute Myocardial Infarction Using High-Sensitivity Cardiac Troponin I. *Circulation* 2017;135:1597–611. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.025661>.
- [121] Cullen L, Aldous S, Than M, Greenslade JH, Tate JR, George PM, et al. Comparison of high sensitivity troponin T and I assays in the diagnosis of non-ST elevation acute myocardial infarction in emergency patients with chest pain. *Clin Biochem* 2014;47:321–6. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.11.019>.
- [122] Shortt C, Ma J, Clayton N, Sherbino J, Whitlock R, Pare G, et al. Rule-In and Rule-Out of Myocardial Infarction Using Cardiac Troponin and Glycemic Biomarkers in Patients with Symptoms Suggestive of Acute Coronary Syndrome. *Clin Chem* 2017;63:403–14. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2016.261545>.
- [123] Chapman AR, Hesse K, Andrews J, Lee KK, Anand A, Shah ASV, et al. High-Sensitivity Cardiac Troponin I and Clinical Risk Scores in Patients With Suspected Acute Coronary Syndrome. *Circulation* 2018;138:1654–65. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.036426>.
- [124] Chapman AR, Fujisawa T, Lee KK, Andrews JP, Anand A, Sandeman D, et al. Novel high-sensitivity cardiac troponin I assay in patients with suspected acute coronary syndrome. *Heart* 2019;105:616–22. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2018-314093>.
- [125] Neumann JT, Twerenbold R, Ojeda F, Sörensen NA, Chapman AR, Shah ASV, et al. Application of High-Sensitivity Troponin in Suspected Myocardial Infarction. *N Engl J Med* 2019. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1803377>.
- [126] Lowry MTH, Anand A, Mills NL. Implementing an early rule-out pathway for acute myocardial infarction in clinical practice. *Heart* 2021;107:1912–9. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2019-316242>.
- [127] Chiang C-H, Chiang C-H, Chiang C-H. Is single troponin measurement truly safe enough to rule out myocardial infarction in early presenters? *Int J Cardiol* 2021;344:38–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2021.09.064>.
- [128] Karády J, Mayrhofer T, Ferencik M, Nagurney JT, Udelson JE, Kammerlander AA, et al. Discordance of High-Sensitivity Troponin Assays in Patients With Suspected Acute Coronary Syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2021;77:1487–99. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2021.01.046>.

12. Spis rycin

Rycina 1. Podział ostrych zespołów wieńcowych.	12
Rycina 2. Liczba przypadków (w tys.) ostrych zespołów wieńcowych wg typu (2014-2019).	14
Rycina 3. Ewolucja biomarkerów sercowych.	16
Rycina 4. Budowa kompleksu troponinowo-tropomiozynowego.	17
Rycina 5. Schemat reakcji CMIA.	28
Rycina 6. Schematyczne przedstawienie przebiegu reakcji oznaczania hs-cTnI na analizatorze Atellica IM.	41
Rycina 7. Schematyczne przedstawienie przebiegu reakcji oznaczania hs-cTnI na analizatorze Alinity i.	42
Rycina 8. Strategia wykluczenia AMI w oparciu o jednorazowy pomiar stężenia hs-cTnI.	44
Rycina 9. Wysoki stopień hemolizy wykrywany za pomocą automatycznego wskaźnika hemolizy w dwóch systemach pomiarowych w 359 próbkach osocza z heparyną litową BD Barricor™ i BD PSTII™.	48
Rycina 10. Umiarkowany stopień hemolizy wykrywany za pomocą automatycznego wskaźnika hemolizy w dwóch systemach pomiarowych w 359 próbkach osocza z heparyną litową BD Barricor™ i BD PSTII™.	49
Rycina 11. Niski stopień hemolizy wykrywany za pomocą automatycznego wskaźnika hemolizy w dwóch systemach pomiarowych w 359 próbkach osocza z heparyną litową BD Barricor™ i BD PSTII™.	50
Rycina 12. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w próbkach BD Barricor™ vs. BD PSTII™ na analizatorze Alinity i w pełnym zakresie pomiarowym.	54
Rycina 13. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w próbkach BD Barricor™ vs. BD PSTII™ na analizatorze Atellica IM w pełnym zakresie pomiarowym.	54
Rycina 14. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w próbkach BD Barricor™ vs. BD PSTII™ na analizatorze Alinity i w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l.	56

Rycina 15. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w probówkach BD Barricor TM vs. BD PSTII TM na analizatorze Atellica IM w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l.	56
Rycina 16. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w systemach pomiarowych Alinity i vs. Atellica IM w probówkach BD Barricor TM w pełnym zakresie pomiarowym.....	58
Rycina 17. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w systemach pomiarowych Alinity i vs. Atellica IM w probówkach BD PSTII TM w pełnym zakresie pomiarowym.....	58
Rycina 18. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w systemach pomiarowych Alinity i vs. Atellica IM w probówkach BD Barricor TM w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l.	60
Rycina 19. Analiza regresji Deminga dla porównania stężeń hs-cTnI w systemach pomiarowych Alinity i vs. Atellica IM w probówkach BD PSTII TM w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l.	60
Rycina 20. Średnia różnica stężeń hs-cTnI pomiędzy analizatorami Alinity i oraz Atellica IM w probówce BD Barricor TM w pełnym zakresie pomiarowym 3-15000 ng/l.....	62
Rycina 21. Średnia różnica stężeń hs-cTnI pomiędzy analizatorami Alinity i oraz Atellica IM w probówce BD PSTII TM w pełnym zakresie pomiarowym 3-15000 ng/l.....	62
Rycina 22. Średnia różnica stężeń hs-cTnI pomiędzy analizatorami Alinity i oraz Atellica IM w probówce BD Barricor TM w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l.....	63
Rycina 23. Średnia różnica stężeń hs-cTnI I pomiędzy analizatorami Alinity i oraz Atellica IM w probówce BD PSTII TM w zakresie pomiarowym 3-300 ng/l.	64

13. Spis tabel

Tabela 1. Typy zawału serca.....	13
Tabela 2. Charakterystyka testów High-Sensitivity Troponin I i STAT High-Sensitive Troponin-I według ich producentów.....	27
Tabela 3. Skala jakościowa HI wraz z odpowiadającymi jej zakresami stężeń fHb na analizatorze Atellica CH.....	39
Tabela 4. Skala jakościowa HI wraz z odpowiadającymi jej zakresami stężeń fHb na analizatorze Alinity c.....	39
Tabela 5. Porównanie częstości występowania hemolizy w odniesieniu do poszczególnych zakresów stężeń hs-TnI w obu systemach pomiarowych i analitycznych.....	50
Tabela 6. Porównanie istotności statystycznej pomiędzy ilościami próbek raportowanych w wybranych zakresach stężenia hs-cTnI w obu probówkach na obu analizatorach oraz istotności statystycznej pomiędzy ilościami raportowanych hemoliz w obu probówkach na obu analizatorach w wybranych zakresach stężeń.	51
Tabela 7. Podstawowa charakterystyka pacjentów z podejrzeniem AMI.	65
Tabela 8. Skuteczność diagnostyczna strategii wykluczania AMI przy użyciu zdefiniowanych wartości odcięcia dla hs-cTnI w systemach pomiarowych Alinity i (<4 ng/l) i Atellica IM (<5 ng/l) z użyciem probówek BD Barricor™ i BD PSTII™.....	66
Tabela 9. Skuteczność diagnostyczna strategii wykluczania AMI przy użyciu zdefiniowanych wartości odcięcia dla hs-cTnI na systemach pomiarowych Alinity i (<4 ng/l) i Atellica IM (<5 ng/l) z użyciem probówek BD Barricor™ i BD PSTII™ z podziałem na próbki, w których wystąpiła hemoliza i z ich wykluczeniem.	67
Tabela 10. Porównanie w parach między dwoma systemami pomiarowymi oraz dwoma typami probówek pod względem liczby i proporcji wyników hs-cTnI <4 ng/l dla Alinity i < 5ng/l dla Atellica IM.....	67
Tabela 11. Porównanie liczności próbek raportowanych w różnych przedziałach stężeń hs-cTnI na obu systemach pomiarowych i w obu probówkach.	68
Tabela 12. Porównanie zgodności wyników hs-cTnI między dwoma typami probówek i systemami pomiarowymi przy zastosowaniu wartości decyzyjnych przyjętych w strategii wykluczenia AMI.....	69