

ORIGINAL

Comparación de un método de point of care para la medida de troponina I cardiaca en sangre total frente a dos inmunoensayos en plasma

José Luis Martín Calderón*, Julia Varona Pérez, Fernando Bustos Guadaño y Juan Carlos Sánchez Gómez

Servicio de Análisis Clínicos, Hospital General Nuestra Señora del Prado, Servicio de Salud de Castilla-La Mancha, Talavera de la Reina, Toledo, España

Recibido el 26 de abril de 2013 ; received in revised form 5 de julio de 2013; aceptado el 13 de julio de 2013
Disponible en Internet el 5 de noviembre de 2013

PALABRAS CLAVE

Infarto agudo de miocardio;
Troponina I;
Point of care testing;
Inmunoanálisis;
Dimension;
Stratus

Resumen

Introducción: El equipo AQT90 FLEX es un analizador de sobremesa para inmunoanálisis que presenta características que lo hacen útil para su empleo a la cabecera del paciente. En el presente trabajo comparamos el método de la troponina I en sangre total en este equipo frente a la medida en plasma con 2 inmunoanálisis usados en los laboratorios centrales, como son Stratus® CS y Dimension® EXL.

Material y métodos: Se obtuvieron 68 muestras de sangre recogidas en tubo de heparina litio. Las muestras se analizaron primero en el AQT90 FLEX y una vez liberados los tubos se centrifugaron, analizándose el plasma resultante por Stratus® CS y Dimension® EXL.

Resultados: El análisis de regresión arrojó las siguientes ecuaciones: $AQT = 0,006 + 0,22 * \text{Dimension}$ con un coeficiente de correlación de 0,90 y $AQT = 0,001 + 0,29 * \text{Stratus}$, siendo el coeficiente de correlación de 0,97, aunque se observaron diferencias constantes y proporcionales. Para la comparación entre los 2 métodos usados como referencia frente al método a evaluar se obtuvo la siguiente ecuación: $\text{Stratus} = 0,0026 + 0,98 * \text{Dimension}$ con un coeficiente de correlación de 0,99 en ausencia de errores.

© 2013 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jlmartinc@sescam.jccm.es (J.L. Martín Calderón).

KEYWORDS

Acute myocardial infarction;
Troponin I;
Point of care testing;
Immunoassay;
Dimension;
Stratus

Comparison of the new point of care method for measuring cardiac troponin I in whole blood versus two plasma immunoassays**Abstract**

Background: AQT90 FLEX es un nuevo analizador de sobremesa con características de rendimiento que lo hacen adecuado para su uso en *Point of Care*. En este trabajo se compara la medida de troponina I en sangre total con la medida en plasma usando dos inmunoensayos ampliamente utilizados en los laboratorios de referencia, como Dimension® EXL y Stratus® CS.

Methods: Se recogieron 68 muestras en tubos de heparina de litio, las cuales fueron analizadas en el AQT90 FLEX y luego centrifugadas y el plasma usado para la medida de troponina I usando el Dimension® EXL y Stratus® CS.

Results: El análisis de regresión yielded las siguientes ecuaciones: AQT = 0.006 + 0.22*Dimension ($r=0.90$) y AQT = 0.001 + 0.29*Stratus ($r=0.97$), aunque se observaron diferencias constantes y proporcionalmente diferentes en ambos comparaciones. La comparación entre Stratus® y Dimension® yielded la siguiente ecuación: Stratus = 0.0026 + 0.98*Dimension ($r=0.99$) con errores constantes nulos en ninguna de ellas.

© 2013 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La troponina cardiaca es la piedra angular sobre la que pivota el diagnóstico de los síndromes coronarios agudos, ya que el electrocardiograma solo es definitivo en la mitad de los casos de cardiopatía isquémica¹, permitiendo además la detección de daños miocárdicos no evidenciables con los biomarcadores clásicos. Por ello los criterios de diagnóstico de síndromes coronarios agudos se redefinieron al comienzo del siglo^{2,3} con actualizaciones más recientes^{4,5}, dando importancia vital a la elevación gradual de la concentración de troponina cardiaca en individuos con dolor torácico entre una primera muestra tomada al comienzo de los síntomas y una segunda tomada a las 6-9 h, aunque en la última definición se recomienda la toma de muestras a tiempo 0, a las 3 y a las 6 h⁵ debido a la creciente sensibilidad de los nuevos ensayos de troponina cardiaca. Las referidas guías clínicas establecen que el punto de corte que debe usarse como diagnóstico es el percentil 99 de una población de referencia, siempre que el coeficiente de variación del ensayo en ese punto sea del 10% o inferior^{4,7}.

A diferencia de los anticuerpos frente la troponina T que son producidos por un solo fabricante existen múltiples fabricantes de anticuerpos para la troponina I, situación que se complica por la heterogeneidad de la molécula. En efecto, la troponina I puede presentarse en forma defosforilada, mono y bifosforilada⁸, además de presentar otras modificaciones postraslacionales y formar complejos binarios y ternarios con troponina T y troponina C, lo que multiplica la complejidad de epítopos⁶. Esta heterogeneidad molecular de la troponina es la base de la diversidad de anticuerpos fabricados en cada ensayo, lo que hace que los valores obtenidos con un ensayo no sean directamente extrapolables a otro diferente. La falta de estandarización de los ensayos de troponina I ha motivado la existencia de un grupo de trabajo de la *International Federation of Clinical Biochemistry* (IFCC) que por el momento no ha alcanzado el objetivo. Por todo ello resulta esencial conocer la relación entre las 2 medidas, especialmente cuando se usan alternativamente en el mismo laboratorio^{6,7}.

El equipo AQT90 FLEX (Radiometer Copenhagen®) es un analizador de sobremesa para inmunoanálisis que presenta características que lo hacen útil para su empleo a la cabecera del paciente (*point of care testing* [POCT]), siendo capaz de determinar en sangre total parámetros críticos como marcadores cardíacos, marcadores de sepsis y magnitudes relacionadas con la coagulación y la fibrinólisis⁹. Se trata de un equipo capaz de procesar con una productividad de hasta 30 muestras por hora y un total de 240 tests cuando el analizador está totalmente cargado, pudiéndose introducir una nueva muestra cada 2 min. Trabaja con tubos cerrados, siendo capaz de procesar tanto sangre total como plasma, con un volumen mínimo de 2 ml para sangre total y de 0,4 ml para plasma. El resultado para la troponina I se obtiene en 18 min.

En el presente trabajo se compara la medida de la troponina I cardiaca del AQT90 FLEX frente a la proporcionada por 2 equipos de uso ampliamente establecido, como son el Stratus® CS, equipo clásico para análisis de troponina I en *point of care*, y Dimension® EXL como equipo de referencia de laboratorio central.

Material y métodos

El analizador AQT90 FLEX utiliza un ensayo tipo sándwich de segunda generación para la troponina I cardiaca, en el que se emplean 3 anticuerpos monoclonales, 2 de ellos, inmovilizados, para la captura, y el tercero para la detección, estando este último marcado con europio⁹. Los anticuerpos de captura van dirigidos contra el fragmento medio, la zona más estable de la molécula de troponina I (epítopos 41-49) y los epítopos 190-196 de la zona C-terminal, mientras que el anticuerpo trazador va dirigido contra los epítopos 137-149⁹. El anticuerpo trazador va unido a europio y da lugar al desarrollo de la señal fluorescente, que es proporcional a la concentración de troponina. El límite de detección es de 0,010 ng/ml y el percentil 99 de la población de referencia es 0,023 ng/ml, correspondiendo el coeficiente de variación de 10% a una concentración de 0,039 ng/ml⁹. El intervalo de

linealidad según la información del fabricante es de 0,010 a 25 ng/ml.

El método de Stratus® es un inmunoanálisis de partición radial (RPIA) con marcaje fluorescente siendo el límite de detección de 0,03 ng/ml. Las características analíticas de este método han sido previamente publicadas¹², presentando un percentil 99 en la población control de 0,07 ng/ml, mientras que la concentración más próxima en la que el coeficiente de variación es inferior o igual al 10% es 0,06 ng/ml. El intervalo de linealidad va desde 0,03 hasta 40 ng/ml.

El método de Dimension® EXL, a diferencia de los otros 2, es un inmunoanálisis homogéneo, patentado por Siemens Healthcare Diagnostics® y conocido como *Luminiscent Oxygen Channeling Immunoassay* (LOCI), que utiliza 2 partículas sintéticas. La primera (*Chemibead*) está recubierta por el anticuerpo específico contra la troponina I marcado con una sustancia luminiscente, mientras que la segunda (*Sensibead*) está cubierta por estreptavidina y contiene un marcaje fotosensible. Además, el reactivo contiene un anticuerpo unido a biotina que proporciona una unión de alta especificidad a la estreptavidina, de modo que cuando la troponina I de la muestra se une este anticuerpo biotinilado y al anticuerpo de la *Chemibead* mediante una unión tipo sándwich, al recibir una radiación de 680 nm se produce luminiscencia. Las características analíticas de este método han sido publicadas^{1,14}, aunque para la plataforma Dimension® VISTA, en lugar de la Dimension® EXL que usamos nosotros y que es de más reciente implantación. Este método presenta una sensibilidad analítica de 0,017 ng/ml con un percentil 99 para la población de referencia de 0,056 ng/ml y un punto de corte en el que el coeficiente de variación es inferior o igual al 10% de 0,050 ng/ml. Su intervalo de linealidad va desde 0,017 a 40 ng/ml¹³. No hay estudios en la literatura que comparen el método de Stratus con el método LOCI en la plataforma Dimension® EXL.

En nuestro estudio se obtuvieron 68 muestras de sangre recogidas en tubo de heparina litio procedentes de pacientes que acudieron a la puerta de urgencias con sospecha de síndrome coronario agudo o ingresados en la unidad de vigilancia intensiva después de un episodio cardiaco. La comparación de métodos se hizo siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Española de Bioquímica y Patología Molecular para el estudio de la veracidad mediante la comparación de procedimientos de medida¹⁷. Entre la obtención de la muestra y su posterior análisis no transcurrieron más de 30 min, usándose a lo largo de todo el estudio la misma curva de calibración en cada uno de los equipos. Las muestras se analizaron primero en el AQT90 FLEX y, una vez liberados los tubos, se centrifugaron a 1.710 g durante 5 min, analizándose el plasma resultante por Stratus® CS y Dimension® EXL durante 15 series analíticas. Los resultados obtenidos se expresan en nanogramos por mililitro.

El tratamiento estadístico se realizó mediante el test de Passing-Bablok¹⁰, calculándose las ecuaciones de regresión y los coeficientes de correlación y representando los diagramas de Bland-Altman¹¹.

Resultados

El análisis de valores aberrantes mediante el procedimiento que se detalla en el documento citado¹⁷ produjo 3 de estos valores que fueron rechazados, por lo que el tamaño de la muestra resultó ser de 65.

La media aritmética de los resultados obtenidos mediante el método a comparar es de 1,08 ng/ml (intervalo 0,010-11), mientras que los valores obtenidos en Dimension® EXL arrojaron una media de 4,34 ng/ml (0,017-34,62). La ecuación de regresión obtenida al comparar el método de AQT90 con Dimension® fue $AQT = 0,006 + 0,22 \cdot \text{Dimension}$, con un intervalo de confianza para la pendiente de 0,21-0,24 y para la intersección entre 0,0059 y 0,0063. El coeficiente de correlación obtenido fue de 0,90 (intervalo de confianza: 0,84-0,94). En Stratus® se obtuvo un valor medio de 3,9 ng/ml (intervalo: 0,03-33,28). Al comparar los resultados obtenidos con Stratus® con los de AQT90 obtuvimos la ecuación $AQT = 0,001 + 0,29 \cdot \text{Stratus}$, con un intervalo de confianza para la pendiente de 0,28 a 0,31 y para la ordenada en el origen entre 0,0005 y 0,001 siendo el coeficiente de correlación de 0,97 (intervalo de confianza: 0,96-0,99). En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos aplicando el análisis de regresión por el método de Passing-Bablok. En las figuras 1 y 3 se muestran las rectas de regresión obtenidas mediante el análisis comparativo, mientras que en las figuras 2 y 4 se representan los diagramas de Bland-Altman correspondientes a las comparaciones del AQT90 FLEX con los 2 métodos de referencia.

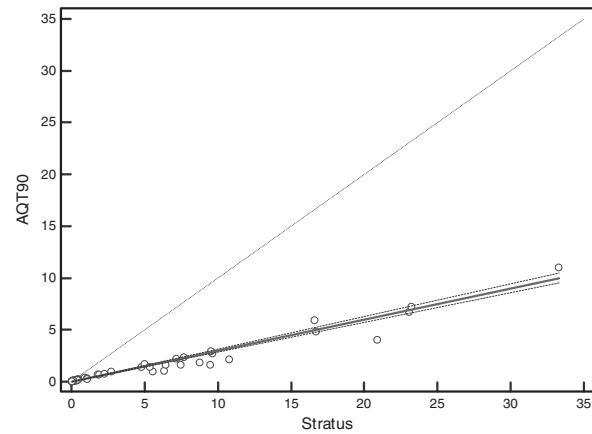


Figura 1 Regresión de Passing-Bablok AQT9 vs. Stratus.

Tabla 1

	AQT vs Stratus	AQT vs Dimension	Stratus vs Dimension
Ecuación de la recta	$Y = 0,001 + 0,29X$	$Y = 0,006 + 0,22X$	$Y = 0,0026 + 0,977X$
Ordenada en el origen (IC 95%)	0,001 (0,0005-0,0014)	0,006 (0,0059-0,063)	0,0026 (-0,064-0,014)
Pendiente (IC 95%)	0,29 (0,28-0,31)	0,22 (0,0216-0,24)	0,98 (0,92-1,02)
r (IC 95%)	0,97 (0,96-0,98)	0,9 (0,84-0,94)	0,997 (0,995-0,998)

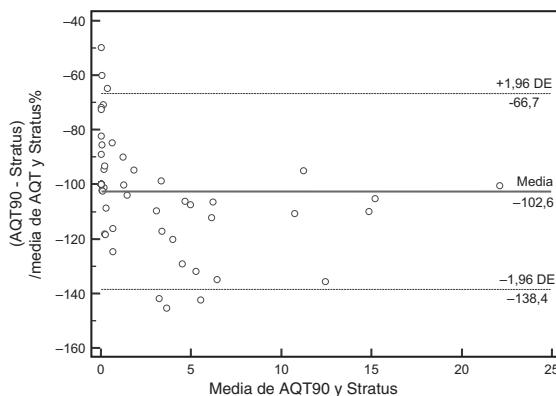


Figura 2 Diagrama de Bland-Altman AQT90 vs. Stratus.

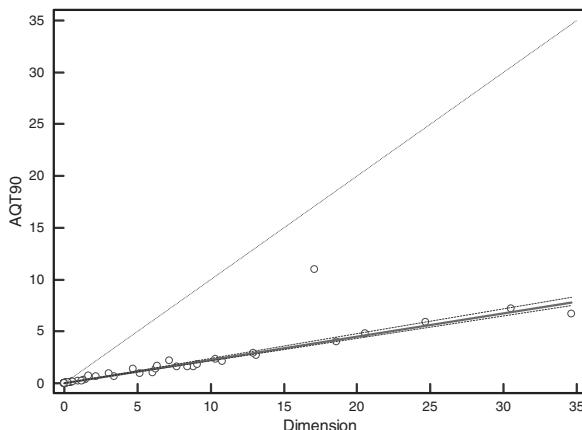


Figura 3 Regresión de Passing-Bablok. AQT90 vs. Dimension EXL.

Por otro lado, la comparación entre los 2 métodos usados como referencia frente al método a evaluar (Dimension® y Stratus®) arrojaron la siguiente ecuación de regresión: Stratus = 0,0026 + 0,98*(Dimension), con intervalos de confianza para la pendiente de 0,92-1,02 y para la ordenada en el origen entre -0,0064 y 0,0014 siendo el coeficiente de correlación de 0,99 (intervalo de confianza: 0,995-0,998). Las figuras 5 y 6 muestran respectivamente la recta de regresión y el diagrama de Bland-Altman correspondiente a esta comparación.

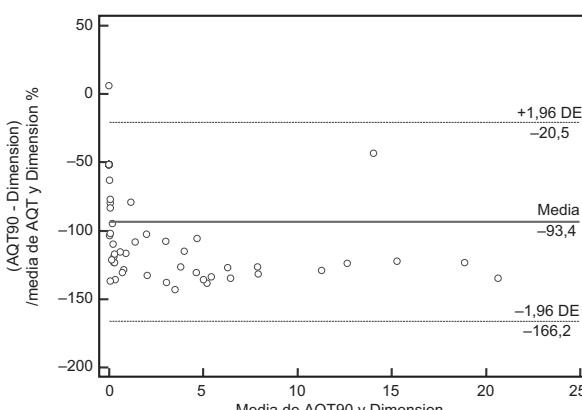


Figura 4 Diagrama de Bland-Altman AQT90 vs. Dimension.

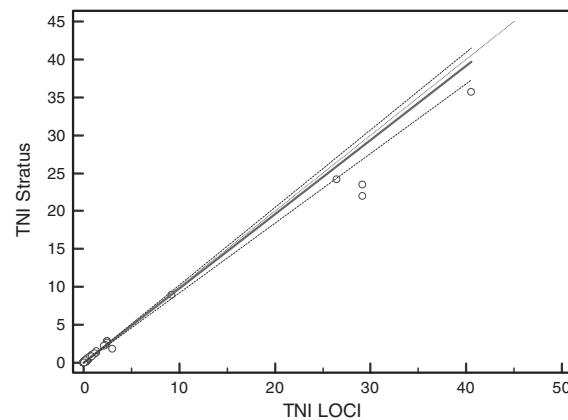


Figura 5 Regresión de Passing-Bablok: Stratus vs. Dimension.

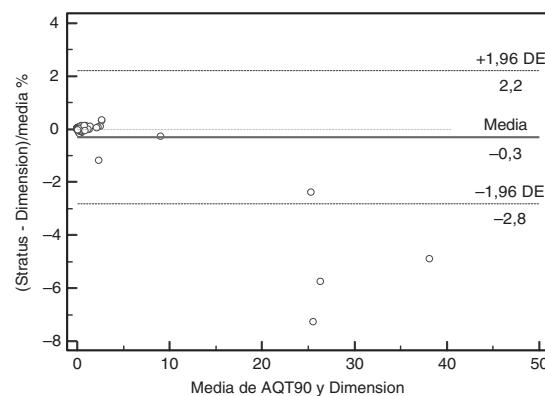


Figura 6 Diagrama de Bland-Altman Stratus vs. Dimension.

Discusión y conclusiones

El objetivo de nuestro trabajo ha sido comparar un método para la medida de troponina I cardíaca en sangre total, ideado para el análisis de *point of care* frente a 2 inmunoanálisis clásicos y de uso ampliamente establecido, como son Stratus® CS y Dimension® EXL (Siemens Healthcare Diagnostics®). El Stratus® CS fue concebido inicialmente para su uso en *point of care testing*, mientras que el segundo está muy extendido en los laboratorios centrales de urgencias.

El límite de detección del método a comparar es 0,010 ng/ml, frente a 0,03 ng/ml de Stratus® y 0,017 ng/ml de Dimension® EXL. El percentil 99 indicado por el fabricante es 0,023 ng/ml, siendo el valor en el que la imprecisión es del 10% de 0,039 ng/ml⁹. Según estudios posteriores (Comunicación al Congreso de la American Association for Clinical Chemistry [AACC] de 2012) el percentil 99 es de 0,021 ng/ml y el nivel de imprecisión inferior al 10% es de 0,025 ng/ml. Estos niveles de decisión son inferiores a los que usamos en nuestro laboratorio según las recomendaciones del fabricante (0,07 ng/ml para Stratus® y 0,050 ng/ml para Dimension®), que han sido validadas por nosotros (comunicación al V Congreso Nacional de Laboratorio Clínico).

Hay una publicación donde se evalúa el rendimiento diagnóstico del AQT90 comparándolo con otros inmunoanálisis propios de laboratorios centrales, como el Access

Accu TnI de Beckman Coulter® y Abbott cTnI ADV de Abbott Diagnostics®, aunque no se evalúan sus prestaciones analíticas. En este estudio se concluye que el método de AQT90 para la troponina presenta un adecuado rendimiento diagnóstico, si bien es inferior a los métodos con los que se compara. No hay publicados estudios donde se compare nuestro método de POCT con otros, de ahí la originalidad de este trabajo.

De nuestro estudio se deduce que la correlación entre los 2 métodos usados en el laboratorio *Core* es excelente, con ausencia de error, lo que indica que los resultados obtenidos por ambos métodos son intercambiables. Sin embargo, al comparar el método a evaluar con los de Dimension® y Stratus® se observa un error proporcional y un pequeño error constante (prácticamente despreciable), lo que indica que las medidas de troponina i no son transferibles entre el AQT90 y los métodos del laboratorio *Core*.

La falta de armonización de las mediciones de troponina i cardíaca es un problema para la mayoría de los laboratorios debido a la diversidad de fabricantes de anticuerpos frente a esta molécula^{5,6,8}. Por ello es esencial la comparación de los diferentes métodos para poder interpretar los resultados convenientemente cuando se cambia de plataforma analítica. Por otro lado, es fundamental la evaluación de equipos de *point of care* frente a los equipos de los laboratorios centrales, ya que la *National Academy of Clinical Biochemistry* (NACB) y la IFCC recomiendan un tiempo de respuesta total inferior a una hora ante la sospecha de síndrome coronario agudo, poniendo el énfasis en que si el laboratorio central no puede cumplir estos tiempos de respuesta se implementen sistemas de *point of care*^{15,16}. Estos métodos a la cabecera del paciente deberán estar siempre controlados desde el laboratorio central, que debe asegurar su correcto uso y la calidad analítica de los resultados.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún tipo de conflicto de interés con las firmas comerciales implicadas en el estudio.

Agradecimientos

Los autores agradecen a José Luis López Pumarega, de Radiometer Ibérica, sus comentarios y asistencia técnica.

Bibliografía

1. Braunwald E, Antman EM, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, Jones RH, et al. ACC/AHA Guideline Update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction 2002: Summary article. *Circulation*. 2002;106:1893–900.
2. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined—A consensus document of the joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36:959–69.
3. Apple F, Wu A, Jaffe A. European Society of Cardiology and American College of Cardiology guidelines for redefinition of myocardial infarction: How to use existing assays clinically and for clinical trials. *Am Heart J*. 2002;144:981–6.
4. Thygesen K, Alpert JS, White HD. Universal definition of myocardial infarction. *Circulation*. 2007;116:2634–53.
5. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simmons ML, Chaitman BR, White HD, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2012;33:2551–67.
6. Saenger AK, Jaffe A. Uso de biomarcadores para la evaluación y el tratamiento de pacientes con síndromes coronarios agudos. *Clinicas Médicas de Norteamérica*. 2007;91:657–81.
7. Apple F, Jesse R, Newby K, Wu A, Christenson R. National Academy of Clinical Biochemistry and IFCC Committee for standardization of markers of cardiac damage laboratory medicine practice guidelines: Analytical issues for biochemical markers of acute coronary syndromes. *Clin Chem*. 2007;53:547–51.
8. Apple F, Collison P. Analytical characteristics of high-sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Chem*. 2012;58:54–61.
9. Hjortshoj S, Venge P, Ravkilde J. Clinical performance of a new point-of-care cardiac troponin i assay compared to three laboratory troponin assays. *Clin Chim Acta*. 2011;412:370–5.
10. Passing H, Babbok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1983;21:709–20.
11. Bland JM, Altman DG. Statistical method for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*. 1986;1:307–10.
12. Christenson R, Cervelli D, Bauer R, Gordon M, Stratus CS. Cardiac troponin i method: Performance characteristics including imprecision at low concentrations. *Clin Biochem*. 2004;37:679–83.
13. Kelley W, Lockwood C, Cervelli D, Sterner J, Scott M, Duh SH, et al. Cardiovascular disease testing on the Dimension Vista system: Biomarkers of acute coronary syndromes. *Clin Biochem*. 2009;42:1444–51.
14. Arrebola M, Lillo JA, Diez de los Rios MJ, Rodríguez M, Dayal dasani A, Yahyaoui R, et al. Analytical performance of a sensitive assay for cardiac troponin i with LOCI technology. *Clin Biochem*. 2010;43:998–1002.
15. Wu A, Apple F, Gibler B, Jesse R, Warshaw M, Valdés R. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: Recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. *Clin Chem*. 1999;45:1104–21.
16. Panteghini M, Apple F, Christenson R, Dati F, Mair J, Wu A. Use of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Clin Chem Lab Med*. 1999;37:687–93.
17. Martínez Morillo E, Gella Tomás FJ, Alonso Nieva N, Boned Juliáni B, Canalías Reverte F, Izquierdo Álvarez S, et al. Recomendaciones para el estudio de la veracidad en el laboratorio clínico mediante la comparación de procedimientos de medida. Documentos de la SEQC. Abril 2011.