

## ANALIZA MORTALITETA KOD BOLESNIKA SA BLAGOVREMENO POSTAVLJENOM DIJAGNOZOM AKUTNE DISEKCIJE AORTE

Tomislav Nikolić<sup>1</sup>, Milan Radovanović<sup>1</sup>, Mirjana Radovanović<sup>2</sup>, Sandra Vidojević<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centar za urgentnu medicinu, Klinički centar „Kragujevac“, Kragujevac

<sup>2</sup>Centar za anesteziju i reanimaciju, Klinički centar „Kragujevac“, Kragujevac

<sup>3</sup>Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu, Kragujevac

## ANALYSIS OF MORTALITY IN PATIENTS WITH EARLY DIAGNOSIS OF ACUTE AORTIC DISSECTION

Tomislav Nikolic<sup>1</sup>, Milan Radovanovic<sup>1</sup>, Mirjana Radovanovic<sup>2</sup>, Sandra Vidojevic<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Center for Emergency Medicine, Clinical Center "Kragujevac", Kragujevac, Serbia

<sup>2</sup>Center for Anesthesiology and Reanimatology, Clinical Center "Kragujevac", Kragujevac, Serbia

<sup>3</sup>Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

### SAŽETAK

**Cilj.** Cilj rada bio je da analizira učestalost pojave akutne disekcije aorte, njene kliničke manifestacije, modalitete lečenja i smrtnost bolesnika sa akutnom disekcijom aorte.

**Metode.** Od 2008. do 2010. godine u internističkom odeljenju Centra za urgentnu medicinu KC „Kragujevac“ lečeno je 26 bolesnika sa akutnom disekcijom aorte (14 žena prosečne starosti 61,9±14,8 godina i 12 muškaraca prosečne starosti 64,8±10,0 godina).

**Rezultati.** Dominantni simptomi kod većine bolesnika bili su bolovi u grudima i trbuhu, ali su kod pet bolesnika dominirali simptomi koji potiču od centralnog nervnog sistema (glavobolja, smetnje govora, hemipareza, gubitak svesti i dr.). Radna dijagnoza aortne disekcije postavljena je posle fizikalnog pregleda kod sedam bolesnika (pet su već imali dijagnostikovanu aneurizmu aorte), a posle ultrazvučnog pregleda kod četrnaest bolesnika. Samo dva bolesnika su operisana u referentnoj ustanovi van KC „Kragujevac“, kod devet bolesnika stanje je stabilizovano medikamentoznim lečenjem, a smrtni ishod je registrovan kod 15 bolesnika (57,7%) – jedanaest u Centru za urgentnu medicinu unutar prvih šest sati hospitalizacije; četiri bolesnika u drugim klinikama KC „Kragujevac“.

**Zaključak.** Potreban je multidisciplinarni i standardizovan pristup u dijagnostikovanju i zbrinjavanju pacijenta sa akutnom disekcijom aorte s ciljem skraćivanja kritičnog perioda između postavljanja dijagnoze i hirurškog tretmana kao i dobra organizacija službe za zbrinjavanje ovih bolesnika u smislu organizovanog adekvatnog transporta u ustanovu u kojoj se može uraditi hitna hirurška intervencija.

**Cljučne reči:** bolesti aorte; urgentna stanja; mortalitet; dijagnoza; terapija.

### UVOD

Akutna disekcija aorte podrazumeva raslojavanje aortnog zida koje počinje laceracijom intime sa širenjem u mediju (unutrašnje cepanje) i posledičnim raslojavanjem zida (1). U

### ABSTRACT

**Objective.** The aim of this study was to analyze the frequency of acute aortic dissection, its clinical manifestations, treatment modalities, and mortality.

**Methods.** During the years of 2008 and 2009 twenty six patients with acute aortic dissection (14 women with mean age 61.9±14.8 years and 12 men, mean age 64.8±10.0 years) were treated in the Internal medicine department of the Center for Emergency Medicine, Clinical Center "Kragujevac".

**Results.** The predominant symptoms in the majority of patients were pain in the chest and abdomen, but five patients were dominated by symptoms of central nervous system (headache, speech disturbances, hemiparesis, loss of consciousness, etc.). The working diagnosis of aortic dissection was made after physical examination in seven patients (five had already had aneurysms of the aorta), and after an ultrasound examination in fourteen patients. Only two patients were operated in the reference institution outside the Clinical Center "Kragujevac". In nine patients the situation stabilized with medication treatment, and lethal outcome was recorded in 15 patients (57.7%), eleven of whom in the Center for Emergency Medicine - within the first six hours of hospitalization, and four patients in other clinics of CC "Kragujevac".

**Conclusion.** Patients with acute aortic dissection need to be diagnosed and hospitalized in a multidisciplinary and standardized approach so that the critical period between making the diagnosis and the surgical treatment is shorter and the hospital service and care for the patients is better in terms of adequate transport to the institution in which urgent surgical interventions can be performed.

**Key words:** aortic diseases; emergencies; mortality; diagnosis; therapeutics.

većimi slučajeva unutrašnji slojevi se cepaju u pravcu kretanja krvi. Na taj način nastaje lažni lumen, koji je odvojen od pravog tzv. disekcionom membranom. Dva lumena i disekciona membrana se često pružaju spiralno u kranio-kaudalnom pravcu, u skladu sa protokom krvi kroz aortu (2).

Uzrok disekcije aorte je pomenuto cepanje intime kao posledica prethodnog slabljenja zida aorte (prvenstveno medije) i povećanja naprezanja (pritiska, stresa) zida koji nastaju usled određenih faktora rizika. U pomenute faktore rizika ubrajamo arterijsku hipertenziju, ateroskleroza, dijabetes melitus, bolesti aortne valvule (bikuspidna aortna valvula, stenoza ili insuficijencija), pušenje, starost, trudnoću kao i urođena oboljenja vezivnog tkiva (3). Među njima arterijska hipertenzija igra glavnu ulogu (70%). Jatrogena aortna disekcija nastaje obično kao rezultat invazivnih dijagnostičkih procedura ili posle hirurških intervencija (4). Najvažnija urođena oboljenja vezivnog tkiva koja zahvataju ujedno zid aorte i mogu dovesti do disekcije su Marfanov i Ehler–Danlovov sindrom, zajedno sa familijarnim tipovima aneurizmi i disekcija torakalne aorte (5).

Akutna disekcija aorte je dva puta češća kod muškaraca. Pacijenti sa disekcijom tipa A po Stanfordu obično pripadaju mlađoj životnoj dobi (25–55 godina) za razliku od pacijenata sa disekcijom tipa B koji su obično u životnoj dobi iznad 60 godina (6, 7). Veoma je teško odrediti pravu incidencu akutne aortne disekcije jer su mnogi od slučajeva pogrešno dijagnostikovani ili jednostavno nema dovoljno dokaza (8–10), mnogi bolesnici se ne hospitalizuju, a kod znatnog broja bolesnika smrtni ishod se dešava pre hospitalizacije. U prošlosti informacije su dobijane sa sporadičnih autopsijskih studija (8).

Akutna aortna disekcija je ne tako redak klinički entitet. To je vremenski senzitivna i rapidno fatalna bolest. Ako se ne leči, rani mortalitet disekcije tipa A po Stanfordu može biti 1% u prvom satu (7, 11, 12), 50% unutar 72 sata, 75% u toku dve nedelje i 90% unutar tri meseca od trenutka postavljanja dijagnoze akutne disekcije. Dok smrtnost po satu za tip B disekcije nije dostupna, ukupni intrahospitalni mortalitet je 11%. Za pacijente koji pripadaju visokorizičnim grupama, smrtnost disekcije tipa B je 71% (7). Dok tip A disekcije obično zahteva hitnu hiruršku intervenciju, većina disekcije tipa B po Stanfordu (282 od 386 – 73% prema Suzukiju) rešavaju se medikamentozno (13). Zahvaljujući shvatanju patogeneze i patofiziologije, poboljšanom i agresivnom anti-impulsivnom lečenju, kao i poboljšanju hirurških/endo-vaskularnih tehnika, mortalitet akutne aortne disekcije je znatno smanjen.

Cilj rada je bio da SE analizira učestalost pojave akutne disekcije aorte, njene kliničke manifestacije, modalitete lečenja i smrtnost u Centru za urgentnu medicinu KC „Kragujevac“ od 2008. do 2010. godine i da se ukaže na neophodnost brzog hirurškog zbrinjavanja.

## BOLESNICI I METODE

Studija je uključila seriju slučajeva bolesnika koji su u Urgentnom centru Kliničkog centra „Kragujevac“ u

Kragujevcu lečeni u periodu od dve godine (2008–2010), a slično ospervacionom dizajnu prethodno publikovanog istraživanja (6). Uključujući kriterijumi su bili: odrasle osobe, oba pola, sa verifikovanom dijagnozom akutne disekcije aorte postavljenom korišćenjem kompjuterizovane tomografije. Isključujući kriterijum je bio postojanje preegzistentne hronične disekcije aorte.

Iz istorija bolesti beleženi su sledeći parametri: pol, tip disekcije, životna dob bolesnika, klinička prezentacija bolesti (simptomi, znaci pridružene bolesti), laboratorijske analize (d-dimer), vreme i način postavljanja definitivne dijagnoze, preduzete terapijske mere i ishod lečenja bolesnika (7). Ovi parametri su analizirani iz aspekta stratifikacije na nezavisne (npr. pol, životna dob) i zavisne, ishodišne varijable (npr. mortalitet, komplikacije).

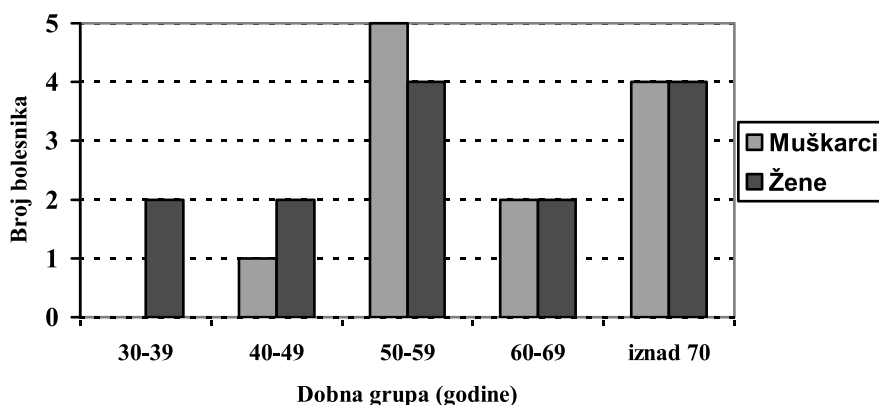
Studija je sprovedena u skladu sa važećim etičkim principima opservacionih kliničkih istraživanja. Rezultati su preuzeti retrospektivnim uvodom, a analizirani su metodom deskriptivne statistike. U prikazu su korišćene mere centralne tendencije i varijabiliteta i učestalosti, prema tipu prikupljenih podataka, a stratifikovano prema podgrupama bolesnika od interesa.

## REZULTATI

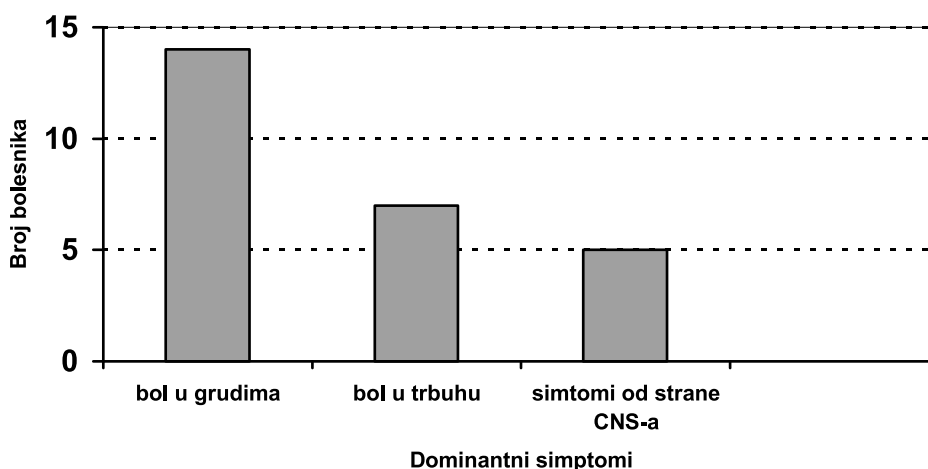
Primljeno je ukupno 26 bolesnika sa akutnom disekcijom aorte (14 žena prosečne starosti  $61,9 \pm 14,8$  godina i 12 muškaraca prosečne starosti  $64,8 \pm 10,0$  godina). Najveći broj bolesnika je bio u životnoj dobi iznad 50 godina, njih 21, od toga 8 starijih od 70 godina. Pet bolesnika je bilo u životnoj dobi ispod 50 godina, od toga su četiri osobe ženskog pola (slika 1).

Dominantni simptomi kod 14 bolesnika bili su bolovi u grudima, kod 7 bolesnika dominirali su bolovi u trbuhu, ali su kod pet bolesnika dominirali simptomi iz centralnog nervnog sistema (glavobolja, smetnje govora, hemipareza, gubitak svesti i dr.) (slika 2). Radna dijagnoza aortne disekcije postavljena je posle fizikalnog pregleda kod sedam bolesnika (pet su već imali od ranije dijagnostikovanu aneurizmu aorte), a nakon ultrazvučnog pregleda kod četrnaest bolesnika. Definitivna dijagnoza disekcije aorte kod svih bolesnika postavljena je korišćenjem metoda kompjuterizovane tomografije.

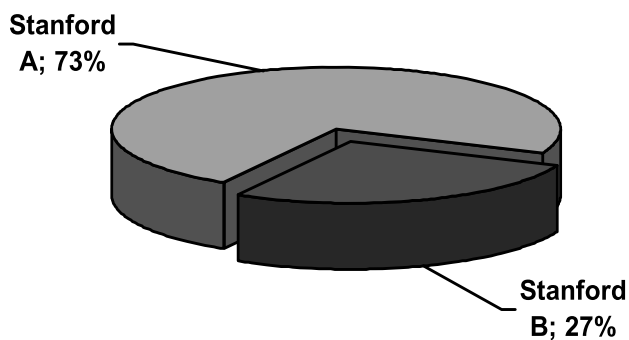
Od arterijske hipertenzije prethodno je lečeno 14 bolesnika (53,8%) sa aortnom disekcijom. Petoro bolesnika je već imalo dijagnostikovanu aneurizmu aorte (jedna bolesnica u životnoj dobi od 37 godina je imala potvrđen Marfanov sindrom). Kod 19 bolesnika dijagnostikovano je tip A disekcije (73%), a kod 7 bolesnika (27%) tip B disekcije po Stanfordu (slika 3). Samo dva bolesnika je operisano u referentnoj ustanovi van Kliničkog centra „Kragujevac“ (7,6%), kod devet bolesnika je stanje stabilizovano medikamentoznim lečenjem – hronična disekcija (34,6%), a smrtni ishod je



Slika 1. Distribucija akutnih disekcija prema dobnim grupama i polu.



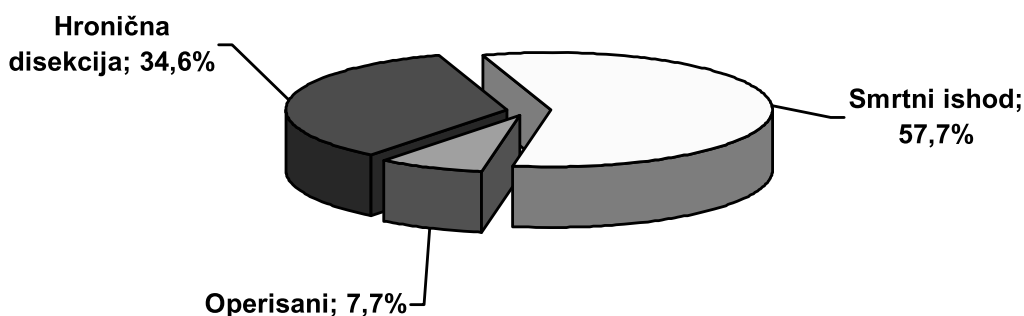
Slika 2. Klinička prezentacija akutne disekcije aorte.



Slika 3. Distribucija bolesnika prema tipu disekcije.

registrovan kod 15 bolesnika (57,7%), jedanaest u Centru za urgentnu medicinu unutar prvih šest sati hospitalizacije; četiri bolesnika u drugim klinikama Kliničkog centra „Kragujevac“ (slika 4).

Kod pet bolesnika je potvrđena ruptura aorte. Tamponada perikarda je dijagnostikovana kod četiri bolesnika, akutni infarkt miokarda kod tri bolesnika, moždani udar kod tri bolesnika. Kod četiri bolesnika D-dimer je bio u granicama referentnih vrednosti. Sedamnaest bolesnika je imalo povišene vrednosti D-dimera (iznad 1.500 ng/ml), dok su kod pet pacijenta registrovane visoko povišene vrednosti (preko 10.000 ng/ml).



Slika 4. Ishod lečenja bolesnika sa akutnom disekcijom aorte.

## DISKUSIJA

Zbog toga što simptomi akutne disekcije mogu biti prikriveni mnogobrojnim drugim hitnim stanjima, jedan od najvažnijih faktora u dijagnostici aortne disekcije mora biti visok stepen kliničke sumnje (7, 11, 12). Aortna disekcija se može prezentovati raznolikom kliničkom slikom: sinkopa, anurija, bol u grudima, deficit pulsa, bol u trbuhu, bol u leđima ili kao akutna kongestivna srčana insuficijencija. Kod trećine bolesnika sa akutnom aortnom disekcijom postavljena je druga dijagnoza (14). Najčešća pogrešno postavljena dijagnoza je akutni koronarni sindrom koja podrazumeva upotrebu acetilsalicilne kiseline, klopidogrela, fibronilitičke terapije i heparina što sve rezultuje povećanjem stope velikih krvarenja kao i samog intrahospitalnog mortaliteta (15). Oko 5% bolesnika inicijalno ima kliničku sliku akutnog infarkta miokarda (bol u grudima praćen povećanjem kardiospecifičnih enzima, bez elevacije ST segmenta) (16). Od 5 do 11% bolesnika sa akutnom disekcijom koji nemaju bol u grudima su sa predominantnom neurološkom simptomatologijom.

Dijagnostikovanje akutne disekcije aorte kod ovih bolesnika je teško i odloženo (17). Na lošu prognozu bez obzira na vid lečenja utiče ateroskleroza kao glavni faktor rizika kao i mnogobrojne pridružene bolesti i komplikacije zbog čega je akutna disekcija aorte bolest starije životne dobi (21 od ukupno 26 naših bolesnika su životne dobi preko 50 godina).

Određivanje vrednosti biomarkera od velikog je značaja za dijagnostikovanje akutne aortne disekcije. Vrednosti D-dimera rastu kod akutne aortne disekcije slično kao i kod plućne embolije (18). Nivoi D-dimera iznad 1.600 ng/mL u prvih šest sati imaju visoko pozitivan rizik za disekciju aorte zbog čega njegovo određivanje može biti korisno u indentifikovanju pacijenata sa potencijalnom aortnom disekcijom. U prva 24 sata posle pojave simptoma, nivoi D-dimera manji od 500 ng/mL imaju negativnu prediktivnu vrednost od 95%. Tako nam vrednosti D-dimera mogu pomoći pri određivanju primene dijagnostičke procedure kod pacijenata sa bolom u grudima ili sa sumnjom na disekciju (18). Međutim vrednosti D-dimera ne moraju biti povišene u različitim varijantama disekcije aorte kao što je aortni intramuralni hematoma ili penetrirajući aortni ulkus. Pored toga, 24 sata od nastanka disekcije vrednosti D-dimera ne moraju biti povišene. Postojeći ACC/AHA („American College of Cardiology / American Heart Association“) vodiči za torakalnu aortu zaključuju da se vrednosti D-dimera ne mogu koristiti da bi se isključila aortna disekcija kod pojedinaca sa visokim rizikom (12). Potrebno je sprovesti dodatne studije da bi se razjasnila uloga D-dimera u dijagnostici akutne aortne disekcije.

Prema podacima iz velike multicentrične IRAD (The International Registry of Acute Aortic Dissection) studije

koja je izvedena u četvorogodišnjem periodu, ukupni intrahospitalni mortalitet od akutne aortne disekcije iznosio je 27,4% (7). Smrtnost kod bolesnika sa disekcijom tipa A po Stanfordu kod kojih je izvedena hirurška intervencija iznosio je 26%; među onima koji nisu hirurški zbrinuti (zbog starosti i komorbiditeta) smrtnost je iznosila 58%; smrtnost pacijenata sa disekcijom tipa B koji su medikamentozno lečeni iznosila je 10,7%. Ukupni intrahospitalni mortalitet od akutne aortne disekcije u KC „Kragujevac“ u definisanom periodu iznosio je 57,7%. Samo kod dva bolesnika sprovedeno je hirurško lečenje usled njegove nedostupnosti kao i zbog činjenice da su mnogobrojne komplikacije uključujući hemodinamsku nestabilnost i stanje svesti bile glavni razlog donošenja odluke o netransportovanju bolesnika u referentnu ustanovu radi sprovođenja hirurškog lečenja.

Podaci iz razvijenih zemalja takođe ukazuju na visoku stopu mortaliteta kod ovog oboljenja. Tako na primer, i pored primene savremenih dijagnostičkih procedura i terapijskih tehnika, intrahospitalni mortalitet kod pacijenata sa disekcijom aorte u Americi iznosi 33% kod pacijenata sa proksimalnom disekcijom (Stanford A) i 13% sa distalnom disekcijom (Stanford B) (13). Intrahospitalni mortalitet kod bolesnika sa akutnom disekcijom aorte tip A po Stanfordu u zemljama centralne Evrope iznosi 22,1% (19), dok je ukupni intrahospitalni mortalitet 22,6% (20). Ukupni intrahospitalni mortalitet u KC „Kragujevac“ je neuporedivo veći nego u drugim internacionalnim centrima (57,7%). S druge strane, teško je porediti rezultate sa drugim kardiohirurškim centrima, populacija pacijenata se veoma razlikuje kao i sama dostupnost ranog hirurškog lečenja.

Potreban je multidisciplinarni pristup s ciljem postavljanja pravovremene dijagnoze koji podrazumeva saradnju kardiologa, anesteziologa, vaskularnog hirurga i radiologa kao i adekvatna saradnja sa referentnim ustanovama u kojima se obavlja kardiohirurška intervencija (21). Treba razmišljati u pravcu implementacije protokola za zbrinjavanje pacijenata sa akutnom disekcijom aorte koji podrazumeva farmakoterapiju, dijagnostičke smernice čak i kontakt telefone sa referentnim ustanovama u kojima se obavlja kardiohirurška intervencija. Prediktori intrahospitalnog mortaliteta uključuju proksimalnu disekciju, starost više od 65 godina, migrirajući bol, šokno stanje, deficit pulsa i prisustvo neurološkog deficita. Skoro polovina naših bolesnika (njih 12) pripada životnoj dobi preko 65 godina, većina je sa disekcijom tipa A po Stanfordu, posedujući sve faktore koji utiču na prehospitarni mortalitet uključujući i neurološki deficit. Jedan od najčešćih uzroka smrti kod disekcije je ruptura aorte kao posledica same disekcije ili aneurizme.

U zaključku, potreban je multidisciplinarni i standardizovan pristup u dijagnostikovanju i zbrinjavanju



pacijenta sa akutnom disekcijom aorte s ciljem skraćenja kritičnog perioda između postavljanja dijagnoze i hirurškog tretmana kao i dobra organizacija službe za zbrinjavanje ovih bolesnika u smislu organizovanog adekvatnog transporta u ustanovu u kojoj se može uraditi hitna hirurška intervencija.

## LITERATURA

- Braverman AC. Aortic dissection: prompt diagnosis and emergency treatment are critical. *Cleve Clin J Med* 2011; 78: 685–96.
- Markl M, Harloff A, Bley TA, et al. Time-resolved 3D MR velocity mapping at 3T: improved navigator-gated assessment of vascular anatomy and blood flow. *J Magn Reson Imaging* 2007; 25: 824–31.
- Nienaber CA, Eagle KA. Aortic dissection: new frontiers in diagnosis and management: Part I: from etiology to diagnostic strategies. *Circulation* 2003; 108: 628–35.
- Weigang E, Nienaber CA, Rehders TC, Ince H, Vahl C, Beyersdorf F. Management of patients with aortic dissection. *Dtsch Arztebl Int* 2008; 105: 639–45.
- Weigang E, Chang X, Munk-Schulenburg S, et al. Actual management of patients with familial ascending aortic aneurysms and type-A aortic dissections. *Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 55: 19–23.
- Kimura N, Tanaka M, Kawahito K, et al. Early-and long-term outcomes after surgery for acute type A aortic dissection in patients aged 45 years and younger. *Circ J* 2011; 75: 2135–43.
- Hagan PG, Nienaber CA, Isselbacher EM, et al. International Registry of Acute Aortic Dissection (IRAD): new insights from an old disease. *JAMA* 2000; 283: 897–903.
- Meszaros I, Morocz J, Szilvi J, et al. Epidemiology and clinicopathology of aortic dissection. *Chest* 2000; 117: 1271–8.
- Hebballi R, Swanevelder J. The diagnosis and management of aortic dissection. *Contin Educ Anaesth Crit Care Pain* 2009; 9: 14–8.
- Prete R, Von Segesser LK. Aortic dissection. *Lancet* 1997; 349: 1461–4.
- Braverman AC, Thompson R, Sanchez L. Diseases of the aorta. In: Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P, eds. *Braunwald's Heart disease*. 9th ed. Philadelphia: Elsevier, 2011.
- Hiratzka LF, Bakris GL, Beckman JA, et al. American Association Task Force on Practice Guidelines; American Association for Thoracic Surgery; American College of Radiology; American Stroke Association; Society of Cardiovascular Anesthesiologists; Society for Cardiovascular Angiography and Interventions; Society of Interventional Radiology; Society of Thoracic Surgeons; Society for Vascular Medicine. Guidelines for the management of patients with thoracic aortic disease. *Circulation* 2010; 121: e266–e369.
- Suzuki T, Mehta RH, Ince H, et al. Clinical profiles and outcomes of acute type B aortic dissection in the current era: lessons from the International Registry of Aortic Dissection (IRAD). *Circulation* 2003; 108 (Suppl 1): I1312–7.
- Asouhidou I, Asteri T. Acute aortic dissection: be aware of misdiagnosis. *BMC Res Notes* 2009; 2: 25.
- Hansen MS, Nogareda GJ, Hutchison SJ. Frequency of and inappropriate treatment of misdiagnosis of acute aortic dissection. *Am J Cardiol* 2007; 99: 852–6.
- Luo JL, Wu CK, Lin YH et al. Type A aortic dissection manifesting as acute myocardial infarction: still a lesson to learn. *Acta Cardiol* 2009; 64: 499–504.
- Gaul C, Dietrich W, Erbguth FJ. Neurological symptoms in aortic dissection: a challenge for neurologists. *Cerebrovasc Dis* 2008; 26: 1–8.
- Suzuki T, Distanto A, Zizza A, et al. Diagnosis of acute aortic dissection by D-dimer: the International Registry of Acute Aortic Dissection substudy on biomarkers (IRAD-bio) experience. *Circulation* 2009; 119: 2702–7.
- Aalberts JJ, Boonstra PW, van den Berg MP, Waterbolk TW. In-hospital mortality and three-year survival after repaired acute type A aortic dissection. *Neth Heart J* 2009; 17: 226–31.
- Gaul C, Dietrich W, Friedrich I, Sirch, Erbguth FJ. Neurological symptoms in type A aortic dissections. *Stroke* 2007; 38: 292–7.
- Harris KM, Strauss CE, Duval S, et al. Multidisciplinary standardized care for acute aortic dissection: design and initial outcomes of a regional care model. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2010; 3: 424–30.

## POREĐENJE IMUNOHEMIJSKIH METODA ZA ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE SRČANOG TROPONINA I KOD DVA ANALIZATORA

Katarina Ille

Kliničko-bolnički centar „Zvezdara“, Beograd

## COMPARISON OF IMMUNOCHEMISTRY METHODS FOR DETERMINATION OF CARDIAC TROPONIN I CONCENTRATION WITH THE TWO ANALYZERS

Katarina Ille

Clinical Hospital Center “Zvezdara“, Belgrade, Serbia

### SAŽETAK

*Cilj.* Srčani troponin I je biohemijski pokazatelj oštećenja miokarda koji se godinama koristi u Kliničko-bolničkom centru „Zvezdara“ u Beogradu. Za određivanje koncentracije troponina I u serumu pacijenata koristi se hemiluminiscentni imunoesej (Siemens Immulite 1000). S ciljem ubrzanja dobijanja rezultata razmatrano je uvođenje nove metode za određivanje kardijalnog troponina I, elektrohemijskog imunoeseja, korišćenjem analizatora tipa Roche Cobas e411.

*Metode.* Ispitana je nova, kandidat metoda za određivanje koncentracije troponina I pre eventualnog uvođenja u kliničku praksu i upoređena je sa metodom koja se već koristi. Poređenje koncentracija srčanog troponina I dobijenih upotrebom metoda Roche Cobas e411 analizatora (x) sa Siemens Immulite 1000 analizatora (y) izvedeno je kod uzoraka seruma 94 odrasla pacijenta, oba pola, sa znacima i simptomima akutnog infarkta miokarda.

*Rezultati.* Analizom rezultata ustanovljena je jednačina regresije  $y = 1,91x + 4,67$ ; koeficijent korelacije iznosio je 0,92. U 15 od 94 pacijenta (16%) rezultati istog uzorka dobijeni dvema metodama nisu se slagali. Kod takvih osoba rezultat troponina I dobijen jednom metodom ukazivao je na prisustvo akutnog infarkta miokarda ali kod druge, on je bio ispod dijagnostičke pragovne vrednosti.

*Zaključak.* Između vrednosti koncentracija troponina I izmerenih poređenim metodama ne postoji dobra saglasnost, izraženo kroz koeficijent korelacije i jednačinu regresije. Interpretacija rezultata bar kod svakog šestog pacijenta upućivala bi na suprotne zaključke u dijagnozi akutnog koronarnog događaja.

**Ključne reči:** troponin I; imunoesej; luminiscencija.

### UVOD

Troponin I (TnI) je regulatorni protein koji ima ključnu ulogu u procesu relaksacije mišićnih vlakana u poprečnoprugastim mišićima. Troponin I koji potiče iz miokarda (srčani TnI, cardiac TnI, cTnI) razlikuje se od troponina I iz ostalih poprečnoprugastih mišića po svojoj jedinstvenoj N-terminalnoj sekvenci. Zbog svoje tkivne specifičnosti srčani troponin I se koristi kao veoma osetljiv biomarker oštećenja miokarda (1–5). U slučajevima akutnog infarkta miokarda (AMI) koncentracija

### ABSTRACT

*Objective.* Cardiac troponin I is a biochemical marker that reflects damage to myocardial cells, which has been used for years in Clinical Hospital Center “Zvezdara“, Belgrade. Chemiluminescence immunoassay (Siemens Immulite 1000) was regularly used for determination of cardiac troponin I in sera of the patients. Aiming to improve the turnaround time for troponin I determination, it was considered to introduce a new method, electrochemiluminescence assay, by using Roche Cobas e411 analyzer.

*Methods.* We investigated a novel, candidate method for determination of serum cardiac troponin I before its eventual adoption in clinical routine and it was compared with the one already applied in our laboratory. Comparison of cardiac troponin I concentrations essayed with the use of Roche Cobas e411 analyzer (x) and of Siemens Immulite 1000 analyzer (y) was performed on serum samples of 94 adult patients, both genders, with signs and symptoms of acute myocardial infarction.

*Results.* Analysis of results revealed regression equation of  $y = 1.91x + 4.67$ ; correlation coefficient was 0.92. In 15 out of 94 patients (16%) results obtained by two methods in the same sample disagreed. In such subjects, the result of troponin I determined with one method indicated presence of acute myocardial infarction, but with the other it was below the diagnostic cut-off value.

*Conclusion.* Between the concentrations of troponin I determined with compared methods there was no proper agreement, expressed by the correlation coefficient and regression equation. Interpretation of results in about every sixth patient would point to conflicting conclusion in diagnosis of acute coronary event.

**Key words:** troponin I; immunoassay; luminescence.

cTnI raste 3–6 časova posle pojave simptoma, dostiže vrhunac 12–16 časova po početku simptoma i može da ostane povišena 4–9 dana (6, 7).

U poslednjoj deceniji, merenje koncentracije srčanog troponina postalo je jedan od nezaobilaznih dijagnostičkih kriterijuma pri postavljanju dijagnoze akutnog infarkta miokarda. Naime, prema univerzalnoj definiciji infarkta miokarda za dijagnozu AMI neophodno je da bar jedna izmerena vrednost srčanog troponina bude iznad

definisano nivoa odlučivanja kod pacijenta u odgovarajućoj kliničkoj situaciji (8). Smatra se da povećanje koncentracije cTnI u krvi reflektuje oslobađanje cTnI iz ćelija miokarda, i da je čak i minimalno povećanje koncentracije cTnI povezano sa nepovoljnim ishodom po pacijenta izraženim kroz povećan rizik od nastupanja akutnog infarkta miokarda i povećan rizik kardiovaskularnog mortaliteta u narednih 12 meseci (9–12).

Za merenje koncentracije cTnI u laboratorijama se koristi veliki broj različitih metoda i imunoeseja koji među sobom nisu usaglašeni, i studije su pokazale velike razlike prilikom merenja koncentracije cTnI različitim metodama (13). Usled neusaglašenosti metoda za određivanje cTnI nije bilo moguće odrediti vrednost nivoa odlučivanja (decision limit, cut-off) koja bi bila zajednička za različite metode što dovodi do velike konfuzije prilikom upoređivanja rezultata cTnI iz različitih laboratorija. Da bi se harmonizovala metoda za određivanje cTnI, stručna i naučna javnost pokrenula je inicijativu da se preduzmu mere koje obuhvataju i upotrebu jedinstvenog referentnog materijala (SRM 2921) u svim imunoesejima za cTnI. Preporučeno je da svi proizvođači imunoeseja za cTnI (14) kao master kalibrator koriste referentni materijal SRM 2921.

S obzirom na brojnost i raznovrsnost metoda za određivanje koncentracije cTnI, Internacionalna federacija za kliničku hemiju (IFCC) objavila je i stalno dopunjava spisak raspoloživih imunoeseja zajedno sa njihovim analitičkim karakteristikama (15). U Službi laboratorijske dijagnostike KBC „Zvezdara“ u Beogradu se već godinama koristi hemiluminiscentna metoda za određivanje koncentracije srčanog troponina I (analizator: Siemens Immulite 1000, SAD) (16). Veliki nedostatak ovog načina određivanja koncentracije cTnI jeste sporost jer samo izvođenje analize zahteva 45 minuta. S druge strane, transport i priprema uzorka za izvođenje analize kao i kontrola rezultata zahtevaju dodatno vreme, pa se rezultati određivanja koncentracije troponina I za pacijente izdaju tek za 60–75 minuta od dospevanja uzorka u laboratoriju.

S ciljem da se pacijentima omogući kvalitetnija dijagnostika AMI, odnosno, da se prvenstveno skрати vreme izdavanja rezultata cTnI, razmatrano je ispitivanje (evaluacija) i eventualna primena alternativnog imunoeseja. Pri tome, alternativni analizator za izvođenje imunoeseja u laboratoriji je Roche Cobas e411 (Roche, Japan). Pregledom literature utvrđeno je da izvođenje imunoeseja za cTnI na analizatoru Cobas e411 traje samo devet minuta u kombinaciji sa produženom stabilnošću kalibracije i reagenasa (15, 17).

S kliničke tačke gledišta, važno je da imunoesej koji se koristi za određivanje koncentracije cTnI ima mali detekcioni limit (veliku analitičku senzitivnost) i visoku

preciznost čak i pri merenju niskih koncentracija cTnI. Imunoesej Roche Cobas e411 ima skoro istovetan limit detekcije za cTnI (0,16 ng/mL) kao i imunoesej Siemens Immulite 1000. Međutim, Roche Cobas e411 imunoesej analitički preciznije meri cTnI pri nižim koncentracijama (koeficijent varijacije od 10% ima pri koncentraciji od 0,3 ng/mL, za razliku od Siemens Immulite 1000 koji 10 CV% ima pri koncentraciji cTnI od 0,64 ng/mL). Važno je istaći da postoji preklapanje sastava reagenasa u pogledu prisutnih monoklonskih antitela, odnosno, oba proizvođača (Siemens i Roche) u reagensima za određivanje cTnI sadrže antitela čiji su epitopi u regiji 87–91 i regiji 27–40 molekula troponina I (15, 17).

O uporednoj analizi imunoeseja za određivanje koncentracije cTnI na analizatorima Roche Cobas e411 i Siemens Immulite 1000 nisu pronađeni podaci u literaturi, ali je sličnost sastava reagenasa u pogledu upotrebljenih vezujućih i detekcionih antitela govorila u prilog moguće saglasnosti između rezultata dobijenih poređenim imunoesejima. Posle sagledavanja analitičkih karakteristika, a s ciljem evaluacije Roche Cobas e411 metode za određivanje cTnI, pristupljeno je njenom poređenju sa metodom koja je već u upotrebi: Siemens Immulite 1000.

## MATERIJAL I METODE

U radu su ispitivani serumski uzorci 94 pacijenta koji su hitno primljeni u decembru 2011. godine u KBC „Zvezdara“ pod sumnjom na akutni infarkt miokarda. Za analizu troponina I uzet je uzorak krvi venepunkcijom koristeći vakuum-eprovete sa aktivatorom koagulacije i separatorskim gelom. Serumski uzorci sa izraženom hemolizom, lipemijom ili ikteričnošću nisu uzimani u rad. U ispitivanje su uključeni pacijenti kod kojih je u trenutku prijema prošlo između 6 i 24 časa od početka tegoba (bol u prekidijumu koji traje duže od 20 minuta). Za poređenje dve metode kojima se određuje koncentracija cTnI odvojeni su alikvoti seruma pacijenata, a potom je upoređeno izvedena analiza cTnI već korišćenom metodom, Siemens Immulite 1000 i kandidat metodom, Roche Cobas e411.

U sastavu reagensa Siemens Immulite 1000 imunoeseja se nalaze vezujuća i detekciona antitela koja sa srčanim troponinom I formiraju „sendvič kompleks“. Detekciono antitelo obeleženo je alkalnom fosfatazom koja deluje na hemiluminiscentni supstrat. Koncentracija cTnI u uzorku proporcionalna je količini vezane alkalne fosfataze od čega dalje zavisi jačina izmerenog hemiluminiscentnog signala (16). U sastavu Roche Cobas e411 imunoeseja se nalaze vezujuća i detekciona antitela koja sa srčanim troponinom I formiraju „sendvič kompleks“. Detekciono antitelo obeleženo je rutenijum kompleksom. Koncentracija cTnI u uzorku proporcionalna je količini vezanog rutenijum kompleksa od koje dalje zavisi jačina izmerenog elektrohemiluminiscentnog signala (17).

Prilikom razvrstavanja rezultata cTnI korišćeni su podaci o karakteristikama imunoeseja koje je objavila IFCC (15). Kao nivoi odlučivanja (cut-off vrednosti) primenjene su one koncentracije cTnI za koje koeficijent varijacije iznosi 10%. Ovi nivoi odlučivanja iznose 0,3 ng/mL za analizator Roche Cobas e411, a 0,64 ng/mL za analizator Siemens Immulite 1000.

Metode za određivanje koncentracije cTnI međusobno su upoređene kao što je opisano u literaturi, a koji podrazumeva otkrivanje oblika, jačine i smera povezanosti dve metode i izračunavanje regresione jednačine koja najbolje opisuje međuzavisnost ispitivanih metoda (18). U tu svrhu u radu je korišćen kompjuterski program Excel.

## REZULTATI

Poređenje rezultata cTnI dobijenih elektrohemiluminiscentnom metodom Roche Cobas e411 (x) sa rezultatima dobijenim hemiluminiscentnom metodom Simens Immulite 1000 (y) izvedeno je kod 94 pacijenta. Poređenje Roche Cobas i Siemens Immulite metoda za određivanje koncentracije cTnI pokazalo je da su rezultati dobijeni dvema metodama pozitivno i linearno povezani, pri čemu je koeficijent linearne korelacije (r) iznosio 0,92. Međuodnos rezultata koncentracije cTnI u serumu izmerenih dvema poređenim metodama opisuje jednačina linearne regresije  $y=1,91x + 4,67$ . Kao što se vidi iz

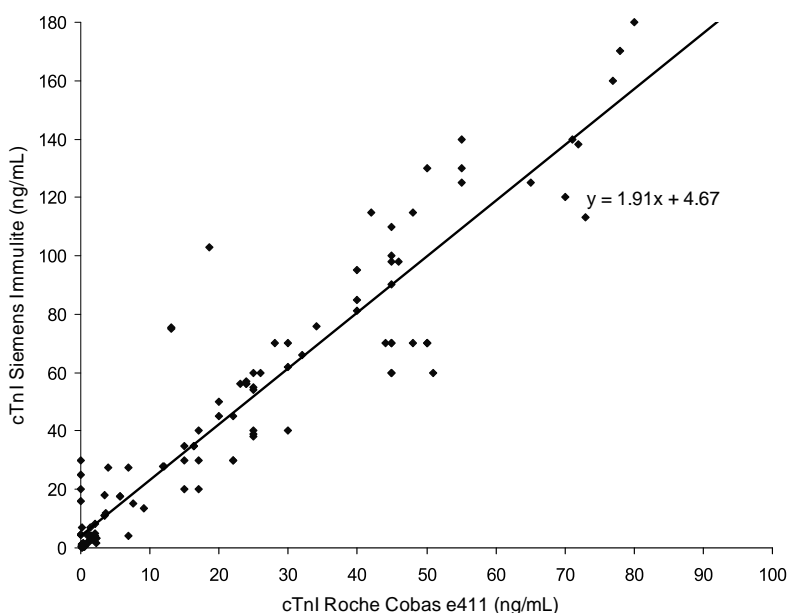
jednačine, postoji velika razlika između apsolutnih vrednosti koncentracija cTnI koje su dobijene poređenim metodama pri čemu metoda Siemens Immulite 1000 daje mnogo više rezultate za koncentraciju cTnI.

Kada su dobijeni rezultati za koncentraciju cTnI razvrstani prema položaju u odnosu na nivo odlučivanja (cut-off vrednost) pokazano je da se kod 15 od 94 pacijenta (16%) rezultati za istog pacijenta dobijeni dvema poređenim metodama uopšte ne slažu. Drugim rečima, dok bi rezultat jedne metode upućivao na dijagnozu akutnog infarkta miokarda, sa drugom to ne bi bio slučaj. Kod 6 od 94 pacijenta (6,4%) rezultat cTnI je bio pozitivan metodom Siemens Immulite1000, ali negativan metodom Roche Cobas e411. U nešto većem broju slučajeva, kod 9 od 94 pacijenta (9,6%), rezultat cTnI je bio negativan metodom Siemens Immulite 1000, ali pozitivan metodom Roche Cobas e411. U najvećem broju slučajeva, kod 79 od 94 pacijenta (84%) rezultati dve metode koje se porede razvrstani prema položaju u odnosu na nivo odlučivanja bili su saglasni. Najveći broj pacijenata, 45 od 94 (47,8%) imao je pozitivan rezultat i jednom i drugom metodom, dok su 34 od 94 (36,2%) pacijenta imala negativan rezultat korišćenjem i jednom i drugom metodom.

Rezultati su bliže prikazani u tabeli 1. Slika 1 prikazuje korelaciju dve ispitivane metode za određivanje koncentracije cTnI sa jednačinom prave koja oslikava poređenje metoda.

Tabela 1. Uporedni prikaz slaganja rezultata pri određivanju koncentracije cTnI na analizatorima Siemens Immulite 1000 i Roche Cobas e411.

Učestalost (%)	Siemens Immulite 1000	Roche Cobas e411
47,8	Pozitivan u odnosu na cut off	Pozitivan u odnosu na cut off
36,2	Negativan u odnosu na cut off	Negativan u odnosu na cut off
6,4	Pozitivan u odnosu na cut off	Negativan u odnosu na cut off
9,6	Negativan u odnosu na cut off	Pozitivan u odnosu na cut off



Slika 1. Korelacije Roche Cobas e411 i Siemens Immulite 1000 metoda za određivanje koncentracije cTnI.



## DISKUSIJA

Kao što je već navedeno, pregledom literature ustanovljeno je da nema podataka koji se odnose na poređenje rezultata određivanja koncentracije cTnI metodama Roche Cobas e411 i Siemens Immulite 1000. Stoga je sproveden prvi korak u validaciji elektrohemitoluminiscentne Roche Cobas e411 metode pre eventualnog uvođenja u kliničku praksu KBC „Zvezdara“ kroz poređenje kandidat metode (Roche Cobas e411) sa onom koja se već koristi u laboratoriji (Siemens Immulite 1000). Unapred je bilo poznato da je sastav ispitivanih imunoeseja u pogledu imunoreaktivnosti monoklonskih antitela donekle sličan, pa je pretpostavljeno da će i rezultati određivanja cTnI dobijeni poređenim metodama biti saglasni među sobom. S druge strane, poznata je i činjenica da je veoma teško porediti rezultate koncentracije cTnI dobijene različitim imunoesejima, pre svega, usled različitih monoklonskih antitela u različitim imunoesejima sa različitom imunoreaktivnošću prema molekulu cTnI (19). Osim toga, molekul cTnI podleže različitim modifikacijama pa se u cirkulaciji nalazi u više različitih formi koje se različito dugo zadržavaju u krvotoku. Različita monoklonska antitela u reagensima sasvim različito reaguju i sa ovim raznim cirkulišućim formama cTnI. Situaciju dodatno komplikuje i to što različiti reagensi mogu da se potpuno različito ponašaju u situacijama kada se u uzorku nalaze heparin, heterofilna antitela ili autoantitela na cTnI što može da dovede i do potpune nereaktivnosti reagensa sa cTnI pacijenta i posledično do lažno negativnog rezultata (20–22).

U poslednjoj deceniji suštinski je izmenjen način dijagnostikovanja AMI tako što je određivanje koncentracije srčanog troponina postalo deo dijagnostičkog algoritma kod pacijenata pod sumnjom na AMI. Da bi se postavila dijagnoza AMI, potrebno je i da bar jedna izmerena vrednost srčanog troponina bude iznad nivoa odlučivanja u odgovarajućoj kliničkoj situaciji (8). Ovakav način dijagnostikovanja AMI postavlja pred kliničare neophodnost dobrog poznavanja metode koja se koristi u laboratoriji za određivanje koncentracije srčanog troponina, njenih ograničenja i mogućih interferirajućih faktora (23).

Rezultati poređenja dobijeni u ovom radu govore u prilog tome koliko je teško porediti rezultate sa različitim analizatora i koliko je potreban oprez prilikom interpretacije rezultata cTnI sa različitim analizatora ili prilikom prelaska sa jednog načina određivanja na drugi. Prilikom poređenja dva imunoeseja za određivanje cTnI u ovom radu koeficijent linearne korelacije je iznosio 0,92 ( $r=0,92$ ). Drugi istraživači koji su upoređivali različite metode za određivanje koncentracije cTnI su utvrdili da su se koeficijenti korelacije kretali između 0,953 i 0,982 (24, 26). Moguće objašnjenje za niži koeficijent korelacije dobijen prilikom poređenja u laboratoriji KBC Zvezdara

je što je u radu korišćen analizator Siemens Immulite 1000 starije generacije dok su u literaturi nađeni podaci za slične analizatore novije generacije, Siemens Immulite 2000 i 2500. U našem istraživanju nagib regresione prave iznosio je 1,91, što je zajedno sa iznosom odsečka od 4,67 odražavalo mnogo više apsolutne vrednosti koncentracija cTnI izmerene analizatorom Siemens Immulite 1000 (y) poređeno sa vrednostima izmerenim analizatorom Roche Cobas e411 (x).

Još su istraživanja Wua i saradnika iz 1998. godine pokazala da različiti imunoeseji imaju potpuno različitu imunoreaktivnost prema cTnI i od tada postoji pritisak naučne i stručne javnosti da se eseji različitih proizvođača usklade ne bi li se došlo do prihvatljivog nivoa harmonizacije između metoda kojima se određuje cTnI (24). Ovi napori su upravljani u dva pravca, s jedne strane, u pravcu korišćenja istog referentnog materijala od strane svih proizvođača, a s druge strane, u pravcu unifikacije sastava reagenasa u smislu korišćenja istih monoklonskih antitela kako bi se obezbedila slična imunoreaktivnost reagensa u odnosu na pacijentov cTnI (25). Proizvođačima reagenasa za određivanje cTnI je na raspolaganju referentni materijal SRM 2921, ali još uvek ne postoji mehanizam da njegova upotreba postane obavezna za sve proizvođače (27). S obzirom na to da oba ispitivana imunoeseja korišćena u ovom radu u svom sastavu imaju vezujuća monoklonska antitela za epitop u regionu 87–91 molekula cTnI i detekciona monoklonska antitela za epitop u regionu 27–40 molekula cTnI, očekivana je veća saglasnost rezultata između poređenih metoda. Pokazalo se, međutim, da bi u znatnom broju slučajeva (15 od 94 pacijenta, 16%) rezultati cTnI sa različitih analizatora kliničara uputili na sasvim suprotne zaključke. Moguće objašnjenje za ovu nesaglasnost rezultata jeste da poređeni imunoeseji nisu jednako klinički senzitivni. Takođe, moguće objašnjenje za nesaglasnost rezultata cTnI je i eventualno prisustvo interferirajućih faktora u vidu heterofilnih antitela, autoantitela ili heparina koji su imali različit uticaj u dva poređena imunoeseja.

S obzirom na navedene rezultate, nije bilo moguće doneti definitivni zaključak o tome koji od dva imunoeseja ima prednost nad drugim pri određivanju koncentracije cTnI. Apsolutan broj pacijenata (15 pacijenata) kod kojih se rezultati cTnI nisu slagali je mali za bilo kakav definitivni zaključak čak i kada bi se rezultati cTnI dobijeni različitim metodama uporedili prema nekoj definisanoj krajnjoj tački (clinical end point), na primer prema kardiovaskularnom mortalitetu. Zbog svega navedenog, nesaglasnost rezultata navodi na potrebu za dodatnim ispitivanjem imunoeseja koje bi na većem broju pacijenata pokazalo koji od ispitivanih imunoeseja ima veću kliničku senzitivnost pri čemu se najčešće kao kriterijum (klinička krajnja tačka) koristi kardiovaskularni mortalitet 12 meseci posle primarnog

određivanja koncentracije cTnI (23). Istovremeno, takva studija bi bila prilika da se bolje sagleda uticaj interferirajućih faktora prilikom određivanja koncentracije srčanog troponina I.

U zaključku, rezultati na ispitivanom uzorku pokazuju da između vrednosti koncentracija cTnI izmerenih dvema poređenim metodama (Roche Cobas e411 i Siemens Immulite 1000) ne postoji dobra saglasnost što je izraženo kroz koeficijent korelacije i jednačinu linearne regresije, a naročito kroz činjenicu da bi rezultati cTnI znatnog broja pacijenata dobijeni poređenim metodama prilikom kliničke interpretacije upućivali na suprotne zaključke.

### ZAHVALNOST

Zahvaljujem na pomoći Roche Diagnostics PO Srbija koji su donacijom reagenasa omogućili da se uradi istraživanje prikazano u ovom radu. Dizajn i sprovođenje istraživanja kao i stavovi navedeni u rukopisu doprinos su autora koji je nezavisan od navedene donacije.

### SKRAĆENICE

AMI – Akutni infarkt miokarda  
IFCC – Internacionalna federacija za kliničku hemiju  
CV – Koeficijent varijacije  
cTnI – Srčani troponin I  
TnI – Troponin I

### LITERATURA

- Perry SV. The regulation of contractile activity in muscle. *Biochem Soc Trans* 1979; 7: 593–617.
- Wilkinson JM, Grand RJA. Comparison of amino acid sequence of troponin I from different striated muscles. *Nature* 1978; 271: 31–5.
- Wade R, Eddy R, Shows TB, Kedes L. cDNA sequence, tissue-specific expression and chromosomal mapping of the human slow-twitch skeletal muscle isoform of troponin I. *Genomics* 1990; 7: 346–57.
- Cummins P, Perry V. Troponin I from human skeletal and cardiac muscles. *Biochem J* 1978; 171: 251–9.
- Vallins JW, Brand NJ, Dabhaden N, et al. Molecular cloning of human cardiac troponin I using polymerase chain reaction. *FEBS Lett* 1990; 270: 57–61.
- Mair J, Morandell D, Genser N, et al. Equivalent early sensitivities of myoglobin, creatine kinase MB mass, creatine kinase isoform ratios and cardiac troponins I and T for acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1995; 41: 1266–72.
- Mair J, Genser N, Morandell D, et al. Cardiac troponin I in the diagnosis of myocardial injury and infarction. *Clin Chem Acta* 1996; 245: 19–38.
- Thygesen K, Alpert JS, White HD; Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007; 28: 2525–38.
- Missov ED, De Marco T. Clinical insights on the use of highly sensitive cardiac troponin assays. *Clin Chem Acta* 1999; 284: 175–85.
- Lindahl B, Venge P, Wallentin L. Relation between troponin T and the risk of subsequent cardiac events in unstable coronary artery disease. The FRISC study group. *Circulation* 1996; 93: 1651–7.
- Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, et al. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. The FRISC study group. *N Engl J Med* 2000; 343: 1139–47.
- Katrukha AG, Bereznikova AV, Esakova TV, et al. Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex. *Clin Chem* 1997; 43: 1379–85.
- Christenson RH, Duh SH, Apple FS, et al. Towards standardization of cardiac troponin I measurements Part II: assessing commutability of candidate reference materials and harmonisation of cardiac troponin I assays. *Clin Chem* 2006; 52: 1685–92.
- Bunk DM, Welch MJ. Characterisation of a new certified material for human cardiac troponin I. *Clin Chem* 2006; 52: 212–9.
- Apple FS, Murakami MM, Ler R, Walker D, York M; HESI Technical Committee of Biomarkers Working Group on Cardiac Troponins. Analytical characteristics of commercial cardiac troponin I and T immunoassays in serum from rats, dogs, and monkeys with induced acute myocardial injury. *Clin Chem* 2008; 54: 1982–9.
- Troponin I for use on Siemens Immulite 1000 systems. Los Angeles: Siemens Medical Solutions Diagnostics, 2007, ([http://www.medical.siemens.com/siemens/en\\_GLOBAL/gg\\_diag\\_FBAs/files/package\\_inserts/immulite/Cardiac\\_Biomarkers\\_n/pilkti-7\\_siemens.pdf](http://www.medical.siemens.com/siemens/en_GLOBAL/gg_diag_FBAs/files/package_inserts/immulite/Cardiac_Biomarkers_n/pilkti-7_siemens.pdf)).
- Troponin I STAT (short turn around time) for use on Cobas systems. Mannheim: Roche Diagnostics GmbH, 2011. ([http://www.rochecanada.com/fmfiles/re7234008/package\\_inserts/TROPONINISTAT-05094798190-ENGLISH-V3-CAN.pdf](http://www.rochecanada.com/fmfiles/re7234008/package_inserts/TROPONINISTAT-05094798190-ENGLISH-V3-CAN.pdf)).
- Passing H, Bablok W. A general regression procedure for method transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988; 26: 783–90.
- James S, Flodin M, Johnston N, et al. The antibody configurations of cardiac troponin I assays may determine their clinical performance. *Clin Chem* 2006; 52: 832–7.

20. Steigler H, Fischer Y, Vasquez-Jimenez JF, et al. Lower cardiac troponin T and I results in heparin-plasma than in serum. *Clin Chem* 2000; 46: 1338–44.
21. Kim WJ, Laterza OF, Hock KG, et al. Performance of a revised cardiac troponin method that minimizes interferences from heterophilic antibodies. *Clin Chem* 2002; 48: 1028–34.
22. Eiksson S, Halenius H, Pulkki K, et al. Negative interference in cardiac troponin I immunoassays by circulating troponin autoantibodies. *Clin Chem* 2005; 51: 839–47.
23. Thygesen K, Mair J, Mueller C, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur Heart J* 2010; 31: 2197–206.
24. Wu AHB, Feng YJ, Moore R, et al. Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. *Clin Chem* 1998; 44: 1198–208.
25. Tate JR, Bunk DM, Christenson RH, et al. Standardisation of cardiac troponin I measurement: past and present. *Pathology* 2010; 42: 402–8.
26. Peetz D, Schweigert R, Jachmann N, et al. Method comparison of cardiac marker assays on PATHFAST, Stratus CS, AxSYM, Immulite 2000, triage, elecsys and cardiac reader. *Clin Lab* 2006; 52: 605–14.
27. Apple FS. Standardization of cardiac troponin I assays will not occur in my lifetime. *Clin Chem* 2012; 58: 169–71.