

Finalidade prevista O teste Access AccuTnI é um imunoensaio quimioluminescente com partículas paramagnéticas para a determinação quantitativa dos níveis de troponina I cardíaca (cTnI) no soro e no plasma humanos utilizando os Sistemas de Imunoensaio Access como auxílio no diagnóstico e no tratamento do enfarte do miocárdio e de danos do músculo cardíaco.

A determinação da troponina I cardíaca ajuda na estratificação do risco de pacientes com angina instável ou síndromas coronárias agudas sem elevação do segmento ST no que respeita o risco relativo de mortalidade, o enfarte do miocárdio ou a maior probabilidade de eventos isquémicos que necessitam de procedimentos de revascularização urgente.

Resumo e explicação do teste

As doenças das artérias coronárias são não só uma das causas principais de morte entre indivíduos do sexo masculino e feminino nos Estados Unidos, mas também estão associadas a outras complicações letais.^{1,2,3} O desenvolvimento de sintomas ligados às doenças das artérias coronárias, que às vezes são inesperados e repentinos, está associado com o aumento de risco de eventos cardíacos adversos, tais como morte, enfarte do miocárdio (EM) ou hospitalização que requer revascularização urgente. Por isso, os doentes que apresentam síndromas isquémicas necessitam de tratamento imediato. Marcadores específicos e sensíveis (troponina I e T) têm sido usados juntamente com outros resultados clínicos e com a anamnese dos doentes para identificar com mais precisão os indivíduos com EM.^{1,2,4,5,6} Estes marcadores cardíacos específicos também têm sido usados para identificar os doentes com um maior risco de eventos cardíacos adversos a curto e longo prazo (endpoints/outcomes).^{1,7,8,9,10,11}

A troponina I cardíaca é uma proteína contráctil presente exclusivamente no músculo cardíaco.^{12,13} É uma das três subunidades do complexo de troponina (I, T, C) que, com a tropomiosina, se liga à actina no filamento delgado da miofibrila. A cTnI é encontrada como troponina I livre (TnI livre) e complexada com a troponina C (IC binária), com a troponina T (IT binária) ou com ambas a troponina C e a troponina T (ITC ternária). A sua função fisiológica é inibir a actividade da ATPase do complexo actina-miosina na ausência de cálcio e, por conseguinte, prevenir a contracção muscular.¹⁴ Foram identificadas três isoformas teciduais:

- Troponina I rápida e troponina I lenta com peso molecular de 19 800 Da cada, expressas nas fibras dos músculos esqueléticos com mioclonia rápida e mioclonia lenta, respectivamente.
- cTnI com peso molecular de 24 000 Da contendo 31 resíduos de aminoácidos adicionais no N-terminal.

Nos mamíferos, as sequências de cTnI mostraram diferenças importantes entre as formas cardíacas¹⁵ e esqueléticas.¹⁶ Todas as três isoformas de troponina I são codificadas por genes diferentes. A cTnI humana apresenta somente 52% e 54% de homologia de sequência de aminoácidos com a troponina I esquelética humana rápida e lenta, respectivamente. O par de anticorpos monoclonais Access AccuTnI é seleccionado para ser cTnI específico. Além disso, foi amplamente documentado que o músculo esquelético não expressa a cTnI, nem durante o desenvolvimento, nem em resposta a estímulos.¹⁷ Por isso, a absoluta cardioespecificidade da cTnI permite distinguir entre lesões cardíacas e esqueléticas, permitindo, portanto, distinguir o enfarte do miocárdio de lesões musculares (rabdomiólise, politraumatismo) e de cirurgia não cardíaca.^{17,18,19,20} Níveis elevados de troponina I também foram documentados em casos de angina instável (UA)²¹ e insuficiência cardíaca congestiva (CHF).²²

No enfarte do miocárdio agudo (AMI) foram observados aumentos e diminuições dos níveis de cTnI semelhantes aos encontrados na CK-MB. É aconselhável a colheita de pelo menos três amostras de sangue durante a fase inicial de rastreio do doente.²³ A cTnI é 13 vezes mais abundante no miocárdio que a CK-MB e não circula normalmente no sangue, de maneira que a relação sinal-ruído é mais significativa para a detecção de necrose do miocárdio.²⁴ Dados cumulativos de diversos estudos indicam que os níveis de troponina I podem ser detectados (acima dos valores indicados para as amostras não-AMI) 3–6 horas após o aparecimento das dores no tórax. Os níveis de troponina I atingem os valores máximos aproximadamente 12–16 horas e podem permanecer elevados por 4–9 dias após o AMI. Estes mesmos estudos demonstraram que o tempo necessário para atingir a concentração máxima de cTnI era maior em doentes que não tinham recebido terapia trombolítica.^{18,25,26}

A angina instável compreende um amplo espectro de doentes com níveis variáveis de risco quanto a possibilidade de sofrer um evento adverso como morte, enfarte do miocárdio ou outras complicações cardíacas graves que necessitam de hospitalização e, por vezes, revascularização urgente (UR). Todavia, tem-se revelado difícil prever quem irá sofrer um evento adverso dentre os doentes com angina instável e sem evidência de elevação do segmento ST (NSTEMI).¹ O desenvolvimento e a comercialização de imunoensaios com troponina I cardíaca (cTnI) mais específicos e sensíveis contribuiu de maneira significativa para o diagnóstico de enfarte do miocárdio e para a estratificação do risco de doentes com NSTEMI/UA. A actualização 2000/2002 das directrizes do American College of Cardiology (ACC) e da American Heart Association (AHA) para o tratamento destes doentes recomendam veementemente a inclusão de medições cTnI para a estratificação do risco de doentes com sintomas que possam sugerir síndromas coronárias agudas.^{2,6} À luz de potenciais resultados adversos enfrentados por estes doentes tais como morte cardíaca ou eventos isquémicos não fatais, uma avaliação do prognóstico poderia ajudar os médicos a identificar e tratar pacientes de alto risco. Enfim, a avaliação do prognóstico é útil quer para a selecção do local de tratamento mais adequado, quer para a identificação dos doentes que mais se beneficiariam com intervenções terapêuticas específicas. As directrizes 2002 do ACC e da European Society of Cardiology (ESC) recomendam que cada laboratório defina os próprios intervalos de referência e que um valor elevado de cTnI seja definido como uma medição acima do 99º percentil dum normal grupo de controlo (isto é, o 99º percentil acima do limite de referência).^{4,5}

Estudos recentes demonstraram que a forma predominante de cTnI presente no sangue de doentes após um enfarte do miocárdio agudo é o complexo binário de troponina IC com quantidades menores do complexo ternário ITC, do complexo binário IT e de cTnI livre.^{27,28,29,30} O tipo de libertação destas formas no decorrer dum enfarte do miocárdio agudo ainda está a ser investigado. O reconhecimento diferencial das formas complexadas e livre de cTnI é comum em muitos métodos disponíveis no comércio.^{27,31,32} Para alguns ensaios, as respostas relativas às várias formas de cTnI são quase iguais, enquanto outros ensaios demonstram uma diferença substancial. Estes últimos podem levar a sobreestimar ou a subestimar a concentração exacta de troponina I num ambiente biológico complexo. A ligação equimolar, definida como a capacidade de reconhecer quer a forma complexada, quer a livre de cTnI igualmente, permite uma determinação directa da cTnI total presente em amostras provenientes do mesmo indivíduo durante um enfarte do miocárdio agudo. O ensaio Access AccuTnI reconhece da mesma forma os complexos de troponina binária IC ou IT e de troponina ternária ITC, assim como a cTnI livre. Além disso, o ensaio responde da mesma maneira a ambas as formas fosforilada e desfosforilada do complexo cTnI.³³

A cTnI é altamente susceptível à proteólise e à modificação enzimática. Uma degradação substancial ocorre quer *in vivo*, quer *in vitro*. O C-terminal da molécula é clivado de preferência antes da clivagem do N-terminal.^{28,34,35} O ensaio Access AccuTnI utiliza anticorpos monoclonais dirigidos contra a região mais estável da molécula e é, por isso, menos afectado pela degradação da cTnI.

Princípios do teste

O teste Access AccuTnI é um ensaio imunoenzimático de local duplo (“sandwich”). Uma amostra é adicionada a um recipiente de reacção juntamente com conjugado anticorpo

monoclonal anti-cTnI – fosfatase alcalina e partículas paramagnéticas revestidas com anticorpo monoclonal anti-cTnI. A cTnI humana liga-se ao anticorpo anti-cTnI na fase sólida, enquanto o conjugado anticorpo anti-cTnI – fosfatase alcalina reage com sítios antigénicos diferentes das moléculas de cTnI. Após a incubação num recipiente de reacção, os materiais ligados à fase sólida são retidos num campo magnético enquanto os materiais não ligados são removidos por lavagem. De seguida, o substrato quimioluminescente, Lumi-Phos* 530, é adicionado ao recipiente e a luz gerada pela reacção é medida com um luminómetro. A produção de luz é directamente proporcional à concentração de cTnI na amostra. A quantidade de analito presente na amostra é determinada a partir duma curva de calibração multiponto armazenada no sistema.

Informações sobre o produto

Kit de reagentes Access AccuTnI

Nº Cat. A78803: 100 determinações, 2 embalagens, 50 testes/embalagem

- Fornecido pronto para utilizar.
- Armazenar em posição vertical e refrigerar a 2–10°C.
- Manter refrigerado a 2–10°C por no mínimo duas horas antes de usar no equipamento.
- Estável até ao vencimento do prazo de validade marcado no rótulo quando armazenado a 2–10°C.
- Estável a 2–10°C por 56 dias após utilização inicial.
- Uma possível degradação pode ser indicada pela ruptura da camada de elastómero da embalagem ou por valores de controlo fora do intervalo de variação.
- Rejeitar a embalagem de reagente caso tenha sofrido prejuízos (p.ex. ruptura da camada elastomérica).

R1a:	Partículas paramagnéticas revestidas com anticorpo monoclonal de rato antitroponina cardíaca I (cTnI) humana suspensas em tampão salino TRIS, com surfactante, matriz de albumina sérica bovina (BSA), < 0,1% de azida sódica e 0,1% de ProClin** 300.
R1b:	0,1 N NaOH.
R1c:	Solução salina tamponada TRIS, surfactante, < 0,1% de azida sódica e 0,1% de ProClin 300.
R1d:	Conjugado anticorpo monoclonal de rato anti-cTnI humana – fosfatase alcalina diluído em tampão salino ACES, com surfactante, matriz BSA, proteína (bovina, caprina, murina), < 0,1% de azida sódica e 0,25% de ProClin 300.

Avisos e precauções

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- As amostras dos doentes e os produtos hemoderivados podem ser analisados rotineiramente com riscos mínimos utilizando o procedimento descrito. Contudo, deve manusear estes produtos como potencialmente infecciosos de acordo com as precauções gerais e os métodos adequados de laboratórios clínicos, independentemente da origem, tratamento ou certificação anterior. Usar um desinfectante apropriado para a descontaminação. Armazenar e eliminar estes materiais e os respectivos contentores segundo o regulamento e as normas locais.
- A azida sódica pode reagir com as canalizações de chumbo ou cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Portanto, deixar fluir água em abundância nos tubos durante a eliminação de líquidos para prevenir a acumulação de azidas.³⁶
- Xi. Irritante: ProClin 300 0,25%.



R 43: Pode causar sensibilização em contacto com a pele.

S 28-37: Após contacto com a pele, lavar imediata e abundantemente com água e sabão. Usar luvas adequadas.

- A Folha dos Dados de Segurança do Material (MSDS) está disponível a pedido.
-

Colheita e preparação da amostra

1. Plasma contendo lítio heparina é a amostra aconselhada. Soro e plasma (com heparina ou EDTA) são amostras aceitáveis. **As amostras de soro e plasma com heparina e EDTA não são intercambiáveis.**²³ Cada laboratório deve determinar a aceitabilidade das próprias provetas de colheita de sangue e dos produtos de separação do soro. Estes produtos podem variar de acordo com o fabricante e, às vezes, de lote para lote. O valor de cutoff AMI apresentado na secção Desempenho Clínico aplica-se a amostras de soro e plasma com heparina. Um valor de conversão de 0,86 deve ser aplicado ao cutoff AMI para amostras de plasma com EDTA.
EXEMPLO: $0,86 \times [\text{cutoff AMI plasma lítio heparina}] = [\text{cutoff AMI plasma EDTA}]$.
 2. **Seguir as recomendações abaixo para manipular, analisar e armazenar amostras de sangue (certificar-se de que as recomendações do fabricante das provetas sejam seguidas):**
 - Colher todas as amostras de sangue tomando as precauções habituais para a colheita venosa.³⁷
 - Deixar as amostras de soro coagularem completamente antes da centrifugação.³⁷
 - Manter as provetas sempre fechadas.³⁷
 - Armazenar as amostras hermeticamente fechadas à temperatura ambiente (a 15–30°C) durante o máximo de duas horas.
 - As amostras devem ser centrifugadas e refrigeradas dentro de duas horas da colheita do sangue.
 - O soro ou o plasma devem ser separados fisicamente do contacto com as células assim que for possível, no máximo duas horas depois da colheita
 - Remover qualquer fibrina ou matéria celular residual, pois estas poderiam fornecer resultados falsamente elevados.
 - Quanto ao plasma, evitar transferir material da camada de leucócitos/plaquetas localizada logo acima dos heritrócitos. Se for utilizado um rotor de ângulo fixo para a centrifugação, tomar cuidado para evitar a ressusensão das plaquetas.
 - As amostras turvas de soro ou plasma contendo partículas devem ser transferidas da proveta original e centrifugadas novamente antes do ensaio. Uma amostra (proveta original) que contém um dispositivo de separação (barreira de gel) nunca deve ser recentrifugada.
 - Se o ensaio não estiver pronto dentro de 24 horas, ou no caso de amostras a serem expedidas, congelar a -20°C ou a temperatura mais baixa.³⁷
 - As amostras podem ser armazenadas por seis meses a -20°C.
 - As amostras podem ser descongeladas somente uma vez.
 3. Seguir as instruções abaixo para preparar as amostras:
 - Certificar-se de que a fibrina e a matéria celular residuais tenham sido removidas antes da análise.
 - Para a centrifugação, seguir as instruções do fabricante das provetas de colheita de sangue.
 4. Cada laboratório deve determinar a aceitabilidade das próprias provetas de colheita de sangue e dos produtos de separação do soro. Estes produtos podem variar entre fabricantes diferentes e, às vezes, de um lote para o outro.
 5. Centrifugar todas as amostras descongeladas antes da análise. Não descongelar em banho-maria.
-

Materiais fornecidos

- R1 Kits de reagentes Access AccuTnI
-

Materiais necessários mas não fornecidos

1. Calibradores: Access AccuTnI Calibrators
Fornecido em zero e aproximadamente 0,3, 1,2, 5,0, 25 e 100 ng/mL (µg/L).
Nº Cat. 33345
 2. Materiais do Controlo de Qualidade (QC): material de controlo disponível no mercado.
 3. Diluente de amostras A: Access Sample Diluent A
Nº Cat. 81908
 4. Substrato: Access Substrate
Nº Cat. 81906
 5. **Access, Access 2, SYNCHRON LX®i:**
Tampão de lavagem: Access Wash Buffer II, Nº Cat. A16792
UniCel® DxI:
Tampão de lavagem: UniCel DxI Wash Buffer II, Nº Cat. A16793
-

Comentários sobre o procedimento

1. Consultar os respectivos manuais de Sistema e/ou o sistema de Ajuda para uma descrição específica da instalação, inicialização, princípios de funcionamento, características de desempenho do sistema, instruções de funcionamento, procedimentos de calibração, limitações operacionais e precauções, riscos, manutenção e solução de problemas.
 2. Misturar o conteúdo das embalagens novas (vedadas) de reagentes invertendo delicadamente a embalagem várias vezes antes de carregá-la no equipamento. Não inverter embalagens abertas (perfuradas).
 3. Usar cinqüenta e cinco (55) µL de amostra para cada determinação além dos volumes mortos do recipiente da amostra e do sistema. Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para o volume mínimo de amostra necessário.
 4. A unidade de medida padrão do sistema para indicar os resultados das amostras é ng/mL. Para mudar essas unidades de medida para o Sistema Internacional de Unidades (unidades do SI), µg/L, consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda. Para converter as concentrações manualmente para o Sistema Internacional, multiplicar ng/mL pelo factor de multiplicação 1.
 5. **Testar os calibradores S0 e S1 Calibrators do Access AccuTnI em quadruplicado** e os S2–S5 Calibrators em duplicado.
-

Procedimento

Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para obter informações sobre a gestão das amostras, a configuração dos testes, a solicitação de testes e a visualização dos resultados dos testes.

Detalhes de calibração

Testar os calibradores S0 e S1 Calibrators do Access AccuTnI em quadruplicado e os S2–S5 Calibrators em duplicado.

Para todos os testes, é necessário ter uma curva de calibração activa. Para o ensaio Access AccuTnI, a calibração é necessária a cada 56 dias. Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para obter informações sobre os métodos de calibração, a configuração de calibradores, a introdução de solicitações de testes dos calibradores e a visualização de dados de calibração.

Controlo de qualidade

Os materiais de controlo de qualidade simulam as características das amostras dos doentes e são fundamentais para a monitorização do desempenho do sistema de análises imunológicas. Dado que as amostras podem ser analisadas a qualquer momento utilizando um formato de “acesso aleatório” em vez dum formato “por lote”, é aconselhável utilizar os materiais de controlo de qualidade a cada 24 horas.³⁸ Utilizar materiais de controlo de qualidade disponíveis no mercado que cubram pelo menos dois níveis de analito. O uso mais frequente de controlos ou o uso de controlos adicionais fica a critério do utilizador de acordo com os métodos adequados ou os requisitos de acreditação dos laboratórios e as leis competentes. Seguir as instruções do fabricante para a reconstituição e o armazenamento. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores médios e limites aceitáveis para garantir um desempenho

adequado dos testes. Os resultados do controlo de qualidade que não estiverem dentro dos limites aceitáveis, podem indicar resultados de testes não válidos. Examinar todos os resultados dos testes obtidos desde o último ponto de teste de controlo de qualidade aceitável para este analito. Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para informações sobre como visualizar os resultados do controlo de qualidade.

Resultados Os resultados dos testes dos doentes são determinados automaticamente pelo software do sistema utilizando um modelo matemático de curva logística de quatro parâmetros ponderada (4PLC). A quantidade de analito na amostra é determinada a partir da produção de luz medida através dos dados de calibração armazenados no sistema. Os resultados dos testes dos doentes podem ser visualizados através do ecrã apropriado. Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para as instruções completas sobre como visualizar os resultados das amostras.

Limitações do procedimento

1. As amostras podem ser medidas com exactidão dentro do intervalo de análise compreendido entre o limite mínimo de detecção e o valor mais alto do calibrador (aproximadamente 0,01–100 ng/mL [$\mu\text{g/L}$]).
 - Se uma amostra contém uma quantidade menor que o limite mínimo de detecção para o ensaio, registar os resultados como menores que aquele valor (por ex., < 0,01 ng/mL [$\mu\text{g/L}$]).
 - Se uma amostra contém uma quantidade maior que o valor estabelecido do calibrador mais alto Access AccuTnI Calibrator (S5), registar os resultados como maiores que aquele valor [por ex., > 100 ng/mL ($\mu\text{g/L}$)]. Alternativamente, diluir um volume de amostra com 9 volumes de diluente de amostras A Access Sample Diluent A. Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para as instruções sobre a introdução duma diluição de amostra numa solicitação de teste. O sistema mostra os resultados adaptados à diluição.
 2. Nos ensaios que utilizam anticorpos, existe a possibilidade de interferência dos anticorpos heterófilos contidos na amostra do doente. Os doentes que estão regularmente em contacto com animais ou que tenham sido submetidos a imunoterapia ou a técnicas de diagnóstico que utilizam imunoglobulinas ou fragmentos de imunoglobulinas podem produzir anticorpos, por ex. HAMA, que interferem com os imunoensaios. Para além disso, outros anticorpos heterófilos, tais como os anticorpos humanos anti-cabra, podem estar presentes nas amostras dos doentes.^{39,40}

Tais anticorpos interferentes podem produzir resultados errados. Os resultados de doentes suspeitos de ter estes anticorpos devem ser avaliados com cuidado.
 3. A amostra do paciente poderia conter outras substâncias potencialmente interferentes susceptíveis de causar resultados errados nos imunoensaios. Alguns exemplos documentados na literatura incluem o factor reumatóide, a fosfatase alcalina endógena, a fibrina e proteínas capazes de se ligarem com a fosfatase alcalina.^{41,42} Avaliar com cuidado os resultados de pacientes suspeitos de terem estes tipos de interferências.
 4. Os resultados do Access AccuTnI devem ser interpretados baseando-se no quadro clínico geral do doente, incluindo: os sintomas, a anamnese clínica, exame objectivo, electrocardiograma (ECG), dados de outros testes e outras informações apropriadas. As decisões do médico não deverão basear-se numa única determinação de AccuTnI de um só levantamento.²²
 5. O ensaio Access AccuTnI não apresenta algum efeito “gancho” (hook) até a 1920 ng/mL ($\mu\text{g/L}$).
-

Valores esperados

1. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios intervalos de referência para garantir uma representação adequada de populações específicas e tipos de amostras e para reflectir a prática e os critérios correntes para o diagnóstico do IAM na sua instituição.
2. O enfarte do miocárdio foi redefinido pela National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) e pela Joint European Society of Cardiology (ESC)/ American College of Cardiology (ACC) Committee.^{4,5,23} Estas organizações recomendam o uso de marcadores bioquímicos em associação com os intervalos de referência de 97,5º percentil (NACB) ou 99º percentil (ESC/ACC) como auxílio no diagnóstico de enfarte do miocárdio e lesão cardíaca.
3. O 97,5º e o 99º percentis (limite superior de referência) determinados usando amostras de plasma lítio heparina para uma população de adultos aparentemente saudáveis, com nenhuma doença cardíaca conhecida, são mostrados na seguinte tabela:

n	Faixa etária	97,5º percentil	99º percentil
254	19–88	0,03 ng/mL (95% de intervalo de confiança com esta concentração é: 0,02–0,04)	0,04 ng/mL (95% de intervalo de confiança com esta concentração é: 0,03–0,05)

Nota: O intervalo de confiança de 95% duma medição de concentração ao nível do limite de referência superior é calculado como \pm duas vezes a % CV total na respectiva concentração. A imprecisão total a 0,03 e 0,04 ng/mL foi determinada como 20 e 14% CV, respectivamente, a partir das medianas de nove determinações.³³

4. A Organização Mundial da Saúde (OMS)⁴³ exige a presença de dois dos critérios seguintes para a confirmação do AMI: modificações evolutivas no ECG ou anamnese das dores no tórax associadas a um número elevado de enzimas cardíacos. Após um enfarte do miocárdio, as concentrações de cTnI são detectáveis 3–6 horas depois do aparecimento das dores no tórax, atingem um valor máximo aproximadamente 12–16 horas depois e podem permanecer elevadas ainda por 4–9 dias.
5. Qualquer condição que provoque uma lesão do miocárdio pode elevar potencialmente os níveis de cTnI além do intervalo normal esperado. Estudos clínicos documentaram que estas condições incluem angina de peito estável ou instável, insuficiência cardíaca congestiva, miocardite e cirurgia ou testes invasivos no coração.^{4,5,17,44,45}
6. Alterações não-ateroscleróticas tais como arterite, dissecação das artérias coronárias, embolia coronária e uso de cocaína ou anfetaminas podem ser responsáveis por síndrome isquémica aguda que, por sua vez, pode levar a níveis de cTnI acima do intervalo de referência de indivíduos saudáveis.^{46,47,48}
7. O valor de cut-off de diagnóstico acima do qual uma amostra é considerada positiva para AMI utilizando o ensaio Access AccuTnI foi determinado pela análise ROC.⁴⁹ Consultar a secção Desempenho Clínico para maiores informações.
8. O valor de cut-off AMI indicado na secção Desempenho Clínico aplica-se a amostras de soro e plasma heparina. Um factor de conversão de 0,86 deve ser aplicado ao cut-off AMI para amostras de plasma com EDTA.

EXEMPLO: $0,86 \times [\text{cutoff AMI plasma lítio heparina}] = [\text{cutoff AMI plasma EDTA}]$.

Características específicas de desempenho

Desempenho clínico

Três centros médicos dos Estados Unidos e da Europa participaram dum estudo prospectivo para determinar a sensibilidade e a especificidade clínicas do ensaio Access AccuTnI no diagnóstico de enfarte do miocárdio agudo (AMI). Os doentes que cobriram os seguintes critérios foram considerados idóneos para a análise final neste estudo.

- Aparecimento de dores no tórax nas últimas 24 horas antes da convocação para o estudo
- Dores no tórax por 20 minutos ou mais
- Um mínimo de duas (2) amostras de plasma heparina dentro de 24 horas
- Um diagnóstico final, baseado nos critérios de diagnóstico de AMI da Organização Mundial da Saúde

Um total de 328 pacientes (183 homens e 145 mulheres) foram considerados idóneos para a análise, 74 dos quais (23%) correspondiam aos critérios AMI e 254 (77%) não correspondiam aos critérios AMI. A sensibilidade e a especificidade clínicas foram determinadas para resultados de cTnI máximos após uma consulta no hospital ou a partir do internamento. Os resultados de cTnI máximos são definidos como a concentração mais alta de cTnI observada nas colheitas em série obtidas de cada paciente.

Sensibilidade e especificidade clínicas

Os resultados máximos de cTnI de pacientes que participaram deste estudo foram analisados usando a metodologia da curva ROC (Receiver Operating Characteristics) para determinar o cutoff mais apropriado no diagnóstico do enfarte do miocárdio. Uma série de valores de cut-off com as respectivas sensibilidades e especificidades é mostrada na tabela seguinte.

Um cutoff de 0,50 ng/mL de cTnI é recomendado para o diagnóstico de AMI, dado que este valor produz um desempenho ótimo de 96% de sensibilidade e 94% de especificidade.

Cutoff AccuTnI (ng/mL)	Sensibilidade (%)	n / N	95% de Confiança (%)	Especificidade (%)	n / N	95% de Confiança (%)
0,20	97	72 / 74	93–100	90	229 / 254	86–94
0,30	96	71 / 74	91–100	92	233 / 254	88–95
0,40	96	71 / 74	91–100	93	236 / 254	90–96
0,50	96	71 / 74	91–100	94	240 / 254	91–97
0,60	93	69 / 74	87–100	94	240 / 254	91–97
0,70	93	69 / 74	87–100	95	242 / 254	92–98

Os valores de cut-off supracitados aplicam-se a amostras de soro e plasma heparina. Um factor de conversão de 0,86 deve ser aplicado ao cut-off AMI para amostras de plasma com EDTA.

EXEMPLO: $0,86 \times [\text{cutoff AMI plasma lítio heparina}] = [\text{cutoff AMI plasma EDTA}]$.

Sensibilidade e especificidade clínicas: ensaio Access AccuTnI em comparação com outro teste disponível no comércio

A comparação do ensaio Access AccuTnI (cutoff de 0,50 ng/mL) com outro ensaio de cTnI disponível no comércio (usando o cutoff AMI recomendado pelo fabricante) forneceu os seguintes resultados. Neste estudo, foram testadas amostras de 313 pacientes com ambos os métodos.

Ensaio	Sensibilidade (%)	n / N	95% de Confiança (%)	Especificidade (%)	n / N	95% de Confiança (%)
Ensaio Access AccuTnI	97	66 / 68	92–100	95	232 / 245	92–98
Outro ensaio cTnI disponível no comércio	87	59 / 68	78–96	95	232 / 245	92–98

Sensibilidade e especificidade clínicas no decorrer do tempo

As directrizes recentemente publicadas sobre a detecção de AMI por marcadores cardíacos indicam que um diagnóstico baseado numa única amostra colhida no momento de internamento no hospital não é adequado; foi recomendada a colheita de no mínimo três amostras de sangue durante a fase inicial de rastreio.²³ Estudos contidos na literatura mostram que níveis de cTnI podem ser detectados 3–6 horas após o dano do miocárdio, atingem o valor máximo aproximadamente 12–16 horas depois e podem permanecer elevados por 4–9 dias.¹⁸

A tabela abaixo resume os dados de sensibilidade e especificidade do ensaio Access AccuTnI (0,50 ng/mL de cutoff) determinados em diferentes intervalos de tempo após o internamento no hospital, de acordo com as directrizes publicadas e a literatura médica. Um total de 328 pacientes com amostras em série foram avaliados nesta análise.

Os resultados mostram uma sensibilidade esperada melhorada no decorrer do tempo, atingindo a sensibilidade máxima dentro de 12–24 horas.

	Horas após o internamento			
	0-6	> 6-12	> 12-24	> 24
Sensibilidade (%)	46	93	98	91
Especificidade (%)	96	94	93	88

Descrição de pacientes não-AMI com valores de cTnI elevados (dano ao músculo cardíaco)

Um total de 68 pacientes não-AMI apresentou valores AccuTnI acima do limite de referência superior (99º percentil) do ensaio (0,04 ng/mL). Destes pacientes, 91% resultou sofrer de distúrbios cardíacos tais como angina instável, insuficiência cardíaca congestiva ou miocardite, assim como distúrbios graves não-cardíacos tais como trauma ou insuficiência renal que podem causar lesão ao músculo cardíaco. Estes dados correspondem com os citados na literatura cardiológica sobre a existência de valores elevados de cTnI na presença de dano do miocárdio.^{4,5,17,44,45,46,47,48}

Avaliação de condições clínicas potencialmente interferentes

Os doentes com lesão muscular esquelética ou insuficiência renal crônica sem evidência de envolvimento cardíaco foram avaliados para estabelecer a especificidade clínica do ensaio Access AccuTnI. Os resultados seguintes mostram que o ensaio é específico para lesões do músculo cardíaco.

	Lesões dos músculos esqueléticos	Insuficiência renal crônica
Número de indivíduos	62	102
cTnI mediana (ng/mL)	0,03	0,04
Intervalo de variação da cTnI (ng/mL)	0,00-0,18	0,00-0,25
Número de indivíduos acima do cutoff AMI (0,50 ng/mL)	0	0
Especificidade clínica (%)	100	100

Estratificação do risco de pacientes com NSTEMI/UA

Foram analisados os resultados de 1736 pacientes diagnosticados como tendo NSTEMI/UA. Os pacientes foram submetidos a uma consulta de follow-up a cada 30 dias e, de seguida, a cada três meses. Foram planeadas consultas de follow-up por um período médio de um ano (mínimo de seis meses). Por toda a duração do estudo, os pacientes foram monitorizados para eventos cardíacos adversos que incluíam morte, enfarte do miocárdio e isquemia recorrente em repouso que necessitam de nova hospitalização e revascularização urgente. Foram colhidas amostras de sangue de todos os pacientes, as quais foram testadas para concentrações de cTnI mediante o ensaio Access AccuTnI.

Os resultados foram avaliados com cutoffs Access AccuTnI de 0,04 ng/mL (representando o limite de referência superior ao 99º percentil, como recomendado pelas directrizes ESC/ACC e AHA/ACC) e 0,06 ng/mL (concentração mediana Access AccuTnI a 10% CV).^{2,4,5,6,33,50}

As concentrações de troponina I cardíaca no limite de referência superior ao 99º percentil e com a concentração mediana de 10% CV, geradas usando o ensaio Access AccuTnI, podem ser usadas para estratificar o risco de doentes com NSTEMI/UA para a avaliação, quer a curto prazo (42 dias), quer a longo prazo (10 meses), de eventos cardíacos adversos potenciais (morte, IM, UR). Os níveis de troponina I cardíaca fornecem informações prognósticas úteis e ajudam na estratificação do risco de pacientes com NSTEMI/UA. Esta associação demonstrou-se independente das seguintes covariantes: factores de risco para CAD, anamnese pregressa de CAD, fármacos utilizados nas duas semanas anteriores à convocação para o estudo, fármacos usados durante a hospitalização, sexo, raça e idade. Os resultados deste estudo indicam que

níveis elevados de AccuTnI estão independente e significativamente associados a um aumento do risco de eventos cardíacos adversos em doentes diagnosticados como tendo NSTEMI/UA.

O limite de referência superior ao 99º percentil (0,04 ng/mL) e a concentração mediana a 10% CV (0,06 ng/mL) são valores obtidos em estudos individuais. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios intervalos de referência e os cutoffs apropriados para garantir uma representação adequada de populações específicas e tipos de amostras, assim como para reflectir as práticas e os critérios actuais para a estratificação do risco no seu instituto.

Os resultados do Access AccuTnI devem ser interpretados à luz do quadro clínico geral do doente incluindo: anamnese médica, exame físico, ECG e medições de marcadores cardíacos bioquímicos.^{1,2,6,10}

Desempenho analítico

Comparação de métodos

Uma comparação dos valores de cTnI no plasma lítio heparina obtidos com o ensaio Access AccuTnI do sistema de imunoensaio Access e com um sistema de imunoensaio disponível no mercado forneceu os seguintes dados:

n	Intervalo de observações (ng/mL)	Intercepção (ng/mL)	Inclinação	Coefficiente de correlação (r)
157	0,03–44,89	-1,039	0,932	0,980

Recuperação da diluição (linearidade)

Diluições múltiplas de três amostras contendo vários níveis de cTnI com diluente de amostras Access Sample Diluent A forneceram os seguintes dados, calculados de acordo com as directrizes NCCLS EP6-P:⁵¹

Amostra 1 (%)	Concentração esperada (ng/mL)	Concentração determinada (ng/mL)	Recuperação (%)
Pura	N/A	2,39	N/A
80	1,91	1,89	99
60	1,43	1,42	99
40	0,96	0,94	98
20	0,48	0,48	100
10	0,24	0,25	104
Recuperação média em%			100

Amostra 2 (%)	Concentração esperada (ng/mL)	Concentração determinada (ng/mL)	Recuperação (%)
Pura	N/A	13,51	N/A
80	10,81	10,65	99
60	8,11	8,11	100
40	5,40	5,23	97
20	2,70	2,67	99
10	1,35	1,27	94
Recuperação média em%			98

Amostra 3 (%)	Concentração esperada (ng/mL)	Concentração determinada (ng/mL)	Recuperação (%)
Pura	N/A	60,48	N/A
80	48,38	48,42	100
60	36,29	36,29	100
40	24,19	22,73	94
20	12,10	10,58	87
10	6,05	5,48	91
Recuperação média em%			94

Imprecisão

A reprodutibilidade do ensaio Access AccuTnI foi determinada num estudo realizado com materiais de controlo contendo soro humano disponíveis no mercado e de produção interna com dois lotes de reagentes. O estudo incluiu um total de 40 ensaios, 3 replicados por ensaio, no decorrer de 20 dias. Os dados obtidos, calculados de acordo com as directrizes NCCLS EP5-A, são apresentados na tabela seguinte.^{52,53}

Amostra	Média (n=120) (ng/mL)	Intra-execução (%CV)	Inter-execução (%CV)	Imprecisão total (%CV)
Controlo 1 de três níveis (disponível no mercado)	0,56	4,03	2,97	5,01
Controlo 2 de três níveis (disponível no mercado)	7,31	3,06	4,12	5,13
Controlo 3 de três níveis (disponível no mercado)	30,55	3,29	6,07	6,90
Controlo 2 (produção interna)	0,42	4,42	2,71	5,19
Controlo 1 (produção interna)	1,34	3,42	2,75	4,39

Especificidade analítica / Interferências

Os seguintes fármacos foram acrescentados a um pool de amostras de plasma ao lítio heparina contendo aproximadamente 2 ng/mL de complexo cTnI purificado. Cada fármaco foi testado a uma concentração mínima (indicada abaixo) equivalente a cinco vezes o nível terapêutico. Todos os valores de cTnI obtidos em presença de cada fármaco/substância interferente resultaram $\pm 5\%$ do controlo. Este estudo foi realizado de acordo com as directrizes NCCLS EP7-P.⁵⁴

Fármaco	Concentração Acrescentada
Abciximab	2 mg/dL
Acetaminofeno	20 mg/dL
Ácido Ascórbico	3 mg/dL
Alopurinol	40 mg/dL
Ambroxol	40 mg/dL
Ampicilina	5 mg/dL
Aspirina	50 mg/dL
Atenolol	1 mg/dL
Cafeína	10 mg/dL
Captopril	5 mg/dL
Cinarizina	40 mg/dL
Cocaína	1 mg/dL
Diclofenac	2 mg/dL
Digoxina	0,02 mg/dL
Dopamina	65 mg/dL
Eritromicina	20 mg/dL
Fenitoína	10 mg/dL

Fármaco	Concentração Acrescentada
Furosemida	40 mg/dL
Heparina de baixo peso molecular	5 U/mL
Heparina sódica	8 U/mL
Ibuprofeno	40 mg/dL
Metildopa	2,5 mg/dL
Nifedipina	6 mg/dL
Nistatina	0,7 mg/dL
Nitrofurantoína	6,4 mg/dL
Oxitetraciclina	0,5 mg/dL
Propranolol	0,5 mg/dL
Quinidina	2 mg/dL
Teofilina	25 mg/dL
Trimetoprim	7,5 mg/dL
Verapamil	16 mg/dL

Amostras contendo até a 40 mg/dL de bilirrubina (conjugada), 1000 mg/dL de fibrinogénio, 1000 mg/dL de Trioleína (triglicéridos), 500 mg/dL de hemoglobina ou 6000 mg/dL de albumina sérica humana não afectam a concentração do cTnI testado. Todos os valores de cTnI obtidos em presença de cada substância interferente resultaram \pm 10% do controlo.

A tabela seguinte descreve a reactividade cruzada do ensaio com outras proteínas da miofibrila. Cada uma das substâncias com potencial reactividade cruzada foi adicionada a um pool de amostras de plasma ao lítio heparina contendo aproximadamente 2 ng/mL de complexo cTnI purificado e testado em replicados de 10. Este estudo foi baseado nas directrizes NCCLS EP7-P.⁵⁴

Substância	Analito adicionado (ng/mL)	Reatividade cruzada (%)
Troponina I esquelética	1000	0,034
Troponina C cardíaca	1000	-0,002
Troponina T cardíaca humana recombinante	1000	-0,004
Actina (coelho)	1000	-0,003
Miosina	1000	0,001
Tropomiosina (coelho)	1000	-0,008
CK-MB humana	1000	-0,001
Mioglobina	1000	-0,002

Sensibilidade analítica

O nível mínimo detectável de cTnI distinguível de zero (calibrador Access AccuTnI Calibrador S0) com 95% de confiança é 0,01 ng/mL (μ g/L). Este valor é o sinal médio de 10 replicados do calibrador zero mais dois desvios padrão. Este valor é determinado através do processamento dum curva de calibração completa de seis pontos, controlos e 10 replicados do calibrador zero em testes múltiplos.

Sensibilidade funcional

O termo sensibilidade funcional foi originalmente usado para definir o ponto mais baixo num intervalo de medição do ensaio TSH no qual se podiam obter resultados com uma imprecisão total regularmente alcançável de 20% CV.⁵⁵

A sensibilidade funcional determinada por uma imprecisão total de 20% CV resultou ser de 0,03 ng/mL (mediana de nove experimentos). Com uma imprecisão total de 10% CV, a concentração mediana foi de 0,06 ng/mL.³³

AccuTnI[®] CALIBRATORS

REF 33345

Finalidade prevista Os calibradores Access AccuTnI Calibrators são utilizados para calibrar o ensaio Access AccuTnI para a determinação quantitativa dos níveis de troponina I cardíaca (cTnI) no soro e no plasma humanos utilizando os Sistemas de Imunoensaio Access como auxílio no diagnóstico e no tratamento do enfarte do miocárdio e de danos do músculo cardíaco.

A determinação da troponina I cardíaca ajuda na estratificação do risco de pacientes com angina instável ou síndromas coronárias agudas sem elevação do segmento ST no que respeita o risco relativo de mortalidade, o enfarte do miocárdio ou a maior probabilidade de eventos isquémicos que necessitam de procedimentos de revascularização urgente.

Resumo e explicação do produto A calibração dum ensaio quantitativo é o processo pelo qual as amostras com concentrações conhecidas de analito (por ex., calibradores de ensaio) são testadas como amostras de doentes a fim de medir a sua resposta. A relação matemática entre as respostas medidas e as concentrações conhecidas de analito define a curva de calibração. Esta relação matemática, ou curva de calibração, é utilizada para converter as medições URL (Unidade Relativa de Luz) de amostras de doentes em concentrações quantitativas específicas de analito.

Rastreabilidade A substância a ser medida (analito) nos calibradores Access AccuTnI Calibrators tem como referência os calibradores internos do fabricante. O processo de rastreabilidade baseia-se na norma EN ISO 17511.

Os valores atribuídos foram estabelecidos usando amostras representativas deste lote de calibrador e são específicos para as metodologias de ensaio dos reagentes Access. Os valores atribuídos por outras metodologias podem ser diferentes. Tais diferenças, se presentes, podem ser causadas por desvios sistemáticos entre os métodos.

Informações sobre o produto **Calibradores Access AccuTnI Calibrators**
Nº Cat. 33345: S0-S5, 1 mL/recipiente

- Fornecidos prontos para utilizar.
- Congelar no momento da recepção a -20°C ou temperatura inferior.
- Misturar **cuidadosamente** o conteúdo invertendo delicadamente antes da utilização. Evitar a formação de bolhas.
- Estável até ao vencimento do prazo de validade marcado no rótulo quando armazenado a -20°C ou temperatura inferior.
- Após o primeiro uso, os recipientes descongelados permanecem estáveis a 2-10°C por 60 dias. Marcar na etiqueta do recipiente a data de descongelamento ou o prazo de validade.
- Após o uso, refrigerar os calibradores a 2-10°C. Não recongelar os recipientes abertos.
- Uma possível degradação pode ser indicada por valores de controlo fora do intervalo de variação.
- Consultar o cartão de calibração para as concentrações exactas.

S0:	Matriz de albumina sérica bovina (BSA) tamponada com surfactante, < 0,1% de azida sódica e 0,1% de ProClin** 300.
S1, S2, S3, S4, S5:	Complexo de troponina recombinante com níveis de cTnI de aproximadamente 0,3, 1,2, 5,0, 25 e 100 ng/mL (µg/L) em matriz BSA tamponada com surfactante, < 0,1% de azida sódica e 0,1% de ProClin 300.
Cartão de calibração:	1

Avisos e precauções

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- As amostras dos doentes e os produtos hemoderivados podem ser analisados rotineiramente com riscos mínimos utilizando o procedimento descrito. Contudo, deve manusear estes produtos como potencialmente infecciosos de acordo com as precauções gerais e os métodos adequados de laboratórios clínicos, independentemente da origem, tratamento ou certificação anterior. Usar um desinfetante apropriado para a descontaminação. Armazenar e eliminar estes materiais e os respectivos contentores segundo o regulamento e as normas locais.
- A azida sódica pode reagir com as canalizações de chumbo ou cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Portanto, deixar fluir água em abundância nos tubos durante a eliminação de líquidos para prevenir a acumulação de azidas.³⁶
- Xi. Irritante: ProClin 300 0,1%.



R 43: Pode causar sensibilização em contacto com a pele.

S 28-37: Após contacto com a pele, lavar imediata e abundantemente com água e sabão. Usar luvas adequadas.

- A Folha dos Dados de Segurança do Material (MSDS) está disponível a pedido.

Procedimento

Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para obter informações sobre os métodos de calibração, a configuração de calibradores, a introdução de solicitações de testes dos calibradores e a visualização de dados de calibração.

Detalhes da calibração

Testar os calibradores S0 e S1 Calibrators do Access AccuTnI em quadruplicado e os S2–S5 Calibrators em duplicado.

Os calibradores Access AccuTnI Calibrators são fornecidos em seis níveis – zero e aproximadamente 0,3, 1,2, 5,0, 25 e 100 ng/mL. Os dados de calibração do ensaio são válidos por 56 dias.

Limitações do procedimento

Se forem notados sinais de contaminação microbiana ou excesso de turvação num reagente, rejeitar o recipiente.

SAMPLE DILUENT A

REF 81908

Finalidade prevista O diluente de amostras A Access Sample Diluent A é utilizado juntamente com os ensaios Access para diluir as amostras dos doentes contendo concentrações de analito maiores que o calibrador S5 específico para aquele analito.

Resumo e explicação do produto O nível de analito nas amostras dos doentes pode exceder os níveis do calibrador S5 específico. Se for necessário um valor quantitativo, será preciso diluir a amostras a fim de determinar a concentração de analito.

Informações sobre o produto Access Sample Diluent A
Nº Cat. 81908: 4 mL/recipiente

- Fornecido pronto para utilizar.
- Deixar o conteúdo repousar à temperatura ambiente por 10 minutos.
- Misturar invertendo delicadamente antes da utilização. Evitar a formação de bolhas.
- Estável até ao vencimento do prazo de validade marcado no rótulo do recipiente quando armazenado a 2–10°C.

Diluente:	Matriz BSA tamponada com surfactante, < 0,1% de azida sódica, 0,5% de ProClin** 300.
------------------	--

Avisos e precauções

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- As amostras dos doentes e os produtos hemoderivados podem ser analisados rotineiramente com riscos mínimos utilizando o procedimento descrito. Contudo, deve manusear estes produtos como potencialmente infecciosos de acordo com as precauções gerais e os métodos adequados de laboratórios clínicos, independentemente da origem, tratamento ou certificação anterior. Usar um desinfetante apropriado para a descontaminação. Armazenar e eliminar estes materiais e os respectivos contentores segundo o regulamento e as normas locais.
- A azida sódica pode reagir com as canalizações de chumbo ou cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Portanto, deixar fluir água em abundância nos tubos durante a eliminação de líquidos para prevenir a acumulação de azidas.³⁶
- Xi. Irritante: ProClin 300 0,5%.



R 43: Pode causar sensibilização em contacto com a pele.
S 28-37: Após contacto com a pele, lavar imediata e abundantemente com água e sabão. Usar luvas adequadas.

- A Folha dos Dados de Segurança do Material (MSDS) está disponível a pedido.

Procedimento As amostras podem ser medidas com exactidão dentro do intervalo analítico compreendido entre o limite mínimo de detecção e o valor do calibrador mais alto do ensaio específico. Se uma amostra contém uma quantidade de analito maior que o valor estabelecido do calibrador S5, diluir a amostra seguindo as instruções de diluição do ensaio específico contidas no folheto do kit sob “Limitações do Procedimento” na secção reagentes. Consultar os respectivos manuais

de sistema e/ou o sistema de Ajuda para as instruções sobre a introdução duma diluição de amostra numa solicitação de teste.

Limitações do procedimento

Se forem notados sinais de contaminação microbiana ou excesso de turvação no reagente, rejeitar o recipiente.

Referências

- 1 Heidenreich PA, Go A, Melsop KA, Alloggiamento T, McDonald KM, Hagan V, Hastie T, Hlatky MA. Prediction of risk for patients with unstable angina. AHRQ Publication No. 01-E001 December, 2000; Number 31.
- 2 Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, Jones RH, Kereiakes D, Kupersmith J, Levin TN, Pepine CJ, Schaeffer JW, Smith EE, Steward DE, Theroux P. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: Executive summary and recommendations. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients with Unstable Angina). *Circulation* 2000; 102(10): 1193-1209.
- 3 Cannon CP, McCabe CH, Wilcox RG, Langer A, Caspi A, Berink P, Loper-Sendon J, Toman J, Charlesworth A, Anders RJ, Alexander JC, Skene A, Braunwald E. Oral glycoprotein IIb/IIIa inhibition with orbofiban in patients with unstable coronary syndromes (OPUS-TIMI 16) trial. *Circulation* 2000; 102: 149-156.
- 4 Alpert JS, Thygesen K, et al. Myocardial infarction redefined - A consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. *JACC* 2000; 36(3): 959-969.
- 5 The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee. Myocardial Infarction redefined—a consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. *European Heart Journal* 2000; 21: 1502-1513.
- 6 Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Dheitlin MD, Hochman JS, Jones RH, Kereiakes D, Kupersmith J, Levin TN, Pepine CJ, Schaeffer JW, Smith EE, Steward DE, Theroux P. ACC/AHA guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients with Unstable Angina). 2002.
- 7 Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, Schactman M, McCabe CH, Cannon CP, Fischer GA, Fung AY, Thompson C, Wybenga D, and Braunwald E. Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1996; 335: 1342-1349.
- 8 Tanasijevic MJ, Cannon CP, Antman EM. The role of cardiac troponin-I (cTnI) in risk stratification of patients with unstable coronary artery disease. *Clin Cardiol* 1999; 22: 13-16.
- 9 Morrow DA, Rifai N, Tanasijevic MJ, Wybenga DR, De Lemos JA, Antman EM. Clinical efficacy of three assays for cardiac troponin I for risk stratification in acute coronary syndromes: A thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) IIB substudy. *Clin Chem* 2000; 46(4): 453-460.
- 10 Antman EM, Fox KM. Guidelines for the diagnosis and management of unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction: Proposed revisions. *Am Heart J* 2000; 139: 461-75.
- 11 Venge P, Lagerqvist B, Diderholm E, Lindahl B, Wallentin L. Clinical performance of three cardiac troponin assays in patients with unstable coronary artery disease (a FRISC II substudy). *Am J Cardiol* 2002; 89: 1035-41.
- 12 Wilkinson JM, Grand RJA. Comparison of amino acid sequence of troponin I from different striated muscles. *Nature* 1978; 271: 31-35.
- 13 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: 346-357.
- 14 Perry SV. The regulation of contractile activity in muscle. *Biochem Soc Trans* 1979; 7: 593-617.
- 15 Cummins P, Perry V. Troponin I from human skeletal and cardiac muscles. *Biochem J* 1978; 171: 251-259.
- 16 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.
- 17 Adams III JE, Bodor GS, Davila-Roman VG, Delmez JA, Apple FS, Ladenson JH, et al. Cardiac troponin I: a marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993; 88: 101-106.
- 18 Larue C, Calzolari C, Bertinchant JP, Leclercq F, Grolleau R, Pau B. Cardiac-specific immunoenzymometric assay of troponin I in the early phase of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1993; 39: 972-979.
- 19 Bakker AJ, Koelemay MJW, Gorgels JPMC, van Vlies B, Smits R, Tijssen JGP, Haagen FDM. Failure of new biochemical markers to exclude acute myocardial infarction at admission. *Lancet* 1993; 342: 1220-1222.
- 20 Mair J, Wagner I, Puschendorf B, Mair P, Lechleitner P, Diensti F, et al. Cardiac troponin I to diagnose myocardial injury (letter). *Lancet* 1993; 341: 838-839.
- 21 Galvani M, Ottani F, Ferrini D et al. Prognostic influence of elevated values of cardiac troponin I in patients with unstable angina. *Circulation* 1997; 95: 2053-2059.
- 22 Missov ED, De Marco T. Clinical insights on the use of highly sensitive cardiac troponin assays. *Clin. Chem. Acta.* 1999; 284: 175-185.
- 23 Wu HBA, Apple FS, Gibler B, Jesse RL et al. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: Recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery disease. *Clin. Chem* 1999; 45(7): 1104-1121.
- 24 Adams JE, Schechtman KB, Landt Y, Ladenson JH, Jaffe AS. Comparable detection of acute myocardial infarction by creatin kinase MB isoenzyme and cardiac troponin I. *Clin. Chem.* 1994; 40:1291-1295
- 25 Mair J, Morandell D, Genser N, Lechleitner P, Diensti F, Puschendorf B. Equivalent early sensitivities of myoglobin, creatine kinase MB mass, creatine kinase isoform ratios, and cardiac troponins I and T for acute myocardial infarction. *Clinical Chemistry* 1995; 41: 1266-1272.

- 26 Mair J, Genser N, Morandell D, Maier J, Mair P, Lechleitner P, Calzolari C, Larue C, Ambach E, Dienstl F, Pau B, Puschendorf B. Cardiac troponin I in the diagnosis of myocardial injury and infarction. *Clinica Chimica Acta*. 1996; 245: 19–38.
- 27 Wu AHB, Feng YJ, Moore R, Apple FS, McPherson PH, Buechler KF, Bodar G. Characterization of cardiac troponin I forms in the blood of patients with acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. *Clin Chem* 1998; 44: 1198-1208.
- 28 Morjana NA. Degradation of human cardiac troponin I after myocardial infarction. *Biotechnol. Appl. Biochem* 1998; 28: 105-111.
- 29 Giuliani I, Bertinchant JP, Granier C, Laprade M, Chocron S, Toubin G, Etievent JP, Larue C, Trinquier S. Determination of cardiac troponin I forms in the blood of patients with acute myocardial infarction and patients receiving crystalloid or cold blood cardioplegia. *Clin Chem* 1999; 45: 213-222.
- 30 Katrukha AG, Bereznikova AV, Esakova TV, Pettersson K, Lovgren T, Severina ME, Pulkki K, Vuopio-Pulkki LM, Gusev NB. Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex. *Clin Chem* 1997; 43: 1379-1385.
- 31 Datta P, Foster K, Dasgupta A. Comparison of immunoreactivity of five human cardiac troponin I assays toward free and complexed forms of the antigen: implications for assay discordance. *Clin Chem* 1999; 45: 2266-2269.
- 32 Newman D, Olabiran Y, Bedzyk WD, Chance S, Gorman EG, Price C. Impact of antibody specificity and calibration material on the measure of agreement between methods for cardiac troponin I. *Clin Chem* 1999; 45: 822-828.
- 33 Uettwiller-Geiger D, Wu AHB, Apple FS, Jevans AW, Venge P, Olson MD, Darte C, Woodrum DL, Roberts S, Chan S. Multicenter evaluation of an automated assay for troponin I. *Clin Chem* 2002; 48(6): 869-76.
- 34 Lagugger R, Organ L, Collier C, Atar D, Van Eyk JE. Extensive troponin I and T modification detected in serum from patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2000; 102: 1221-1226.
- 35 McDonough JL, Arrell DK, Van Eyk JE. Troponin I degradation and covalent complex formation accompanies myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circ Res* 1999; 84: 9-20.
- 36 DHHS (NIOSH) Publication No. 78-127, August 1976. Current Intelligence Bulletin 13 - Explosive Azide Hazard. Available <http://www.cdc.gov/niosh>.
- 37 Approved Guideline – Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18-A3. 2004. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- 38 Cembrowski GS, Carey RN. Laboratory quality management: QC \Rightarrow QA. ASCP Press, Chicago, IL, 1989.
- 39 Kricka L. Interferences in immunoassays – still a threat. *Clin Chem* 2000; 46: 1037–1038.
- 40 Bjerner J, et al. Immunometric assay interference: incidence and prevention. *Clin Chem* 2002; 48: 613–621.
- 41 Lum G, Solarz D, Farney L. False Positive Cardiac Troponin Results in Patients Without Acute Myocardial Infarction. *Labmedicine* 2006; 37(9): 546-550.
- 42 Lingwood D, Ballantyne JS. Alkaline phosphatase–immunoglobulin conjugate binds to lipids in vitro, independent of antibody selectivity. *Journal of Immunological Methods* 2006; 311: 174–177
- 43 World Health Organization. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature. Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease. *Circulation* 1979; 59: 607-9.
- 44 JP Etievent, et. al. Use of Cardiac Troponin I as a Marker of Perioperative Myocardial Ischemia. *Annual of Thoracic Surgery* 1995; 59: 1192-1194.
- 45 TM Guest, et. al. Myocardial Injury in Critically Ill Patients. *Journal of American Medical Association* 1995; 273, 24: 1945–1949.
- 46 Braunwald E, Jones RH, Maek DB et al. Diagnosing and managing unstable angina; *Circulation* 1994; 90: 613-622.
- 47 Theroux P, Fuster V. Acute coronary syndromes. Unstable angina and non-Q-Wave myocardial infarction. *Circulation* 1998; 97: 1195-1206.
- 48 Falk E, Shak PK. Pathology of acute coronary syndromes. In Braunwald E (ed). *Atlas of Heart Diseases. Acute myocardial infarction and other acute ischemic syndromes*. Mosby-2001 book 1996; St Louis, 3.1-3.31.
- 49 Zweig MH, Campbell G. Receiver-Operating Characteristic (ROC) Plots: A fundamental Evaluation Tool in Clinical Medicine. *Clin. Chem.* 1993; 39, 4: 561-577.
- 50 Apple FS, Wu AHB. Myocardial infarction redefined: Role of cardiac troponin testing. *Clin. Chem* 2001; 47(3); 377-379.
- 51 Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods; Proposed Guideline, EP6-P. 1986. National Committee for Clinical Laboratory Standards, V6, N19.
- 52 Approved Guideline – Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices, EP5-A. 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards, V19, N2.
- 53 Krouwer JS, Rabinowitz R. How to improve estimates of imprecision. *Clinical Chemistry* 1984; 30: 290-292.
- 54 Interference testing in clinical chemistry, EP7-P. 1986. National Committee for Clinical Laboratory Standards, V6, N13.
- 55 Spencer CA, et al. Interlaboratory/intermethod differences in functional sensitivity of immunometric assays of TSH and impact on reliability of measurement of subnormal concentrations of TSH. *Clin Chem* 1995; 41: 367–374.

Access, SYNCHRON LX, UniCel, DxI, AccuTnI e o logotipo Beckman Coulter são marcas registradas da Beckman Coulter, Inc.

*Lumi-Phos é uma marca registrada da Lumigen, Inc., uma companhia subsidiária da Beckman Coulter, Inc.

**ProClin é uma marca registrada da Companhia Rohm e Haas ou de suas subsidiárias e filiais.



Fabricado por:
Beckman Coulter, Inc.
4300 N. Harbor Blvd.
Fullerton, CA 92835 U.S.A.

Beckman Coulter do Brasil Com e Imp de Prod Lab Ltda
Estr dos Romeiros, 220 - Galpao G3 - KM 38.5
zip code 06501-001 - Sao Paulo - SP - Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44

Impresso nos Estados Unidos da América
Fabricado nos Estados Unidos da América
Editado em Maio 2009



Beckman Coulter Ireland Inc.
Mervue Business Park,
Mervue, Galway,
Ireland 353 91 774068

