



Практические указания Национальной академии клинической биохимии и Комитета по стандартизации маркеров повреждения сердца при Международной федерации клинической химии: аналитические проблемы определения биохимических маркеров острых коронарных синдромов

“This document has been translated with permission of the National Academy of Clinical Biochemistry, Washington, DC, USA. NACB is not responsible for the accuracy of the translation. The views presented are those of the authors and not necessarily those of the NACB.”

Copyright © 2008 American Association for Clinical Chemistry and Terra Medica

Авторский коллектив: Фред Г. Эплл¹, Роберт Л. Джесс², Л. Кристин Ньюби³, Алан Х. Б. Ву⁶, Роберт Г. Кристенсон^{5*}

Члены Комитета НАКБ

Роберт Г. Кристенсон, председатель
Фред С. Эплл, Кристофер П. Кэннон (Бостон), Гэри Фрэнсиз (Кливленд), Роберт Джесс, Дэвид Морроу (Бостон), Л. Кристин Ньюби, Ян Равкилд (Аархус, Дания), Алан Б. Сторроу (Нэшвилл), Уилсон Танг (Кливленд), Алан Г. Б. Ву

Комитет МФКХ по стандартизации маркеров повреждения сердца

Фред С. Эплл, председатель
Роберт Г. Кристенсон, Алан С. Яффе (Рочестер), Йоханнес Майр (Инсбрук, Австрия), Хорди Ордонес-Лланос (Барселона, Испания), Франка Пагани (Брешия, Италия), Мауро Пантенини (Милан, Италия), Джиллиан Тэйт (Брисбейн, Австралия), Алан Г. Б. Ву

¹ Медицинский центр графства Хеннепин, Миннеаполис

² Медицинский колледж Виргинии, Ричмонд

³ Медицинский центр Университета Дьюка, Дурхэм

⁴ Калифорнийский университет в Сан-Франциско, Сан-Франциско

⁵ Университет Мэрилендской медицинской школы, Балтимор

Все отношения членов комитета с промышленностью представлены на сайте <http://www.aacc.org/AACC/members/nacb/LMPG/OnlineGuide/PublishedGuidelines/ACSHeart/heartpdf.htm>.

* Адрес для переписки: Director, Rapid Response Laboratories, University of Maryland School of Medicine, 22 S. Greene St., Baltimore, MD 21201. Fax 410-328-5880; e-mail rchristenson@umm.edu.

Материалы этой публикации отражают мнения авторов и членов комитета и не обязательно соответствуют официальной позиции Национальной академии клинической биохимии (NACB) или Международной федерации клинической химии (IFCC).

Национальная академия клинической биохимии относится к Американской ассоциации клинической химии.

Эта статья опубликована 3 апреля 2007 в онлайн-выпуске журнала «Circulation».

Ранее она была опубликована в Интернете под индексом DOI: 10.1373/clinchem.2006.084715

© 2007 American Association for Clinical Chemistry and the American Heart Association, Inc.

I. Общий обзор аналитических проблем, относящихся к биомаркерам острого коронарного синдрома

А. Предпосылки

В 1999 г. Национальная академия клинической биохимии (НАКБ)⁶ опубликовала первые стандарты по лабораторной практике, относящиеся к аналитическим и клиническим рекомендациям по использованию «сердечных» маркеров при коронарной болезни сердца [1]. Целью этого было дать рекомендации по должному определению и использованию данных маркеров, особенно сердечного тропонина (СТ), который к тому времени был одобрен Управлением по пищевым и медицинским продуктам (FDA) в качестве сердечного маркера для диагностики острого инфаркта миокарда (ОИМ). В 2001 г. Комитет по стандартизации маркеров повреждения сердца (C-SMCD) Международной федерации клинической химии (IFCC) рекомендовал параметры оценки качества аналитических и доаналитических условий определения СТ [2]. Эти документы предназначались для производителей средств анализа и для клинических лабораторий,

ОБЗОРЫ

в которых определяют СТ. Конечной целью было установить общие критерии так, чтобы результаты всех анализов СТ можно было оценивать по аналитической точности и клинической пригодности. Эти общие принципы также применимы к определению массовой концентрации креатинкиназы МВ (КК-МВ) и миоглобина.

В настоящей публикации представлены основания для пересмотренных практических указаний с рекомендациями по аналитическим проблемам определения маркеров, исходя из объективного анализа 8-летнего медицинского и научного опыта, накопленного после опубликования исходных рекомендаций [1].

II. Аналитические проблемы определения биомаркеров

Рекомендации: аналитические аспекты маркеров острого коронарного синдрома

Класс I

1. Референтные граничные уровни для принятия решений следует устанавливать для каждого сердечного маркера на основании изучения популяции нормальных здоровых людей без заболеваний сердца в анамнезе (референтная группа). Для сердечного тропонина I (СТ-I) и Т (СТ-Т), а также для массовой концентрации КК-МВ (КК-МВ_{масс}) граничные уровни для выявления повреждения миокарда следует определять по 99-му перцентилю в референтной группе. Институт стандартов для клинических лабораторий (CLSI) рекомендует для надлежащей статистической оценки граничных уровней нормы обследовать минимум 120 здоровых индивидов. Для КК-МВ_{масс} следует использовать отдельные граничные уровни для мужчин и женщин. Для определения граничных уровней выявления повреждения миокарда в случае миоглобина следует использовать 97,5-й перцентиль, отдельно для мужчин и женщин (степень обоснованности: В).

2. Единственный граничный уровень, 99-й перцентиль, рекомендуется в качестве оптимального для СТ-I, СТ-Т и КК-МВ_{масс}. Больных с острым коронарным синдромом (ОКС) с результатами по СТ-I и СТ-Т выше граничного уровня следует считать имеющими повреждение миокарда и высокий риск ИМ (степень обоснованности: В).

3. При определении биомаркеров следует стремиться к тому, чтобы общая ошибка на уровне 99-го перцентиле не превышала 10%. Перед внедрением в клиническую практику методы анализа сердечных маркеров следует охарактеризовать в плане возможных помех, в том числе ревматоидного фактора, человеческих иммуноглобулинов против мышечных антител и гетерофильных антител. Доаналитические и аналитические характеристики должны включать стабильность биомаркера (в зависимости от времени и температуры) для каждого типа образцов, используемых в клинической практике, и идентификацию эпитопов/сайтов распознавания антителами для каждого маркера. Следует соблюдать аналитические и доаналитические спецификации, разработанные профессиональными группами, такими как IFCC (степень обоснованности: В).

4. Подходящими материалами для определения сердечных маркеров являются сыворотка, плазма и цельная стабилизированная кровь. Выбор материала должен основываться

на достаточном опыте и известных характеристиках конкретного метода (степень обоснованности: В).

А. Спецификации для сердечного тропонина

Во-первых, в случае СТ следует определить эпитопы, распознаваемые антителами. Эпитопы, находящиеся на стабильном участке молекулы, СТ-I должны быть приоритетными. Специфические относительные уровни реагирования следует описать для следующих форм СТ-I: свободный СТ-I, двойной комплекс I-C и тройной комплекс T-I-C, а также окисленные, восстановленные и фосфорилированные варианты этих трех изоформ СТ-I. Также следует уделить внимание влиянию различных антикоагулянтов на связывание СТ-I.

Во-вторых, следует сообщать об источнике материала, использованного для калибровки определения СТ, конкретно СТ-I. Комитетом по стандартизации при Американской ассоциации клинической химии (AACC) в сотрудничестве с Национальным институтом стандартов и технологий (NIST) разработан первичный эталон для этой цели (SRM#2929) [3]. При том что соотносимость с этим эталоном продемонстрирована только для 50% существующих методов определения СТ, он все равно должен быть полезен для приведения результатов разных анализов во взаимное соответствие [4, 5]. В настоящее время создается впечатление, что единственным способом достижения полной стандартизации определения СТ должно быть согласие производителей использовать для всех коммерческих аналитических наборов одни и те же пары антител, а также общий стандарт калибровки [6, 7]. IFCC C-SMCD исследует возможность разработки вторичного эталонного материала на основе сыворотки крови. В случае СТ-Т, поскольку аналитические наборы в этом случае поставляют только один изготовитель, соответствие между разными поколениями этой продукции оказывается полным.

В-третьих, для характеристики пределов чувствительности, функциональной чувствительности и общей погрешности изготовители должны использовать методы, рекомендуемые Институтом стандартов для клинических лабораторий (CLSI) [8, 9]. Ключевые характеристики методов определения СТ включают распределение результатов исследования в референтной популяции здоровых людей, статистическое определение 99-го порогового перцентиле для референтной популяции и концентрацию, соответствующую 10% CV (общей погрешности). Доаналитические факторы, подлежащие описанию, включают влияние длительности хранения и температуры, сравнительные эффекты стеклянных и пластиковых пробирок и колонок с гелем для разделения и влияние антикоагулянтов при проведении исследований в плазме и цельной крови. В связи с тем, что все больше тест-систем разрабатывается для анализа на месте лечения, идентичные аналитические критерии должны использоваться как в центральной лаборатории, так и на местах. При анализе СТ разными методами в одном и том же учреждении результаты должны приводиться во взаимное соответствие, или же надо разрабатывать особые подходы, позволяющие клиницистам избегать ошибок.

Б. Аналитический цикл определения сердечных маркеров

Клиницисты и сотрудники лабораторий стремятся к тому, чтобы длительность TAT (turnaround time — время от момента получения образца до получения результата клиницистом) определения сердечных маркеров не превышала 60 мин, но данные, полученные в самом большом из проведенных к настоящему времени исследований, свидетельствуют о том, что во многих клиниках эта цель до сих пор не достигнута [10]. Колледж американских патологов (CAP) при исследовании (Q-probe survey study) КТ (7020 анализов) и определении КК-МВ_{масс} (4368 анализов) в 150 клиниках, в основном североамериканских, показал, что медиана и 99-й перцентиль длительности TAT для тропонина составили 74,5 и 129 мин, а для КК-МВ_{масс} — 82 и 131 мин. Фактически менее чем в четверти клиник в отделениях интенсивной терапии и палатах краткосрочного лечения оказалось возможным снизить TAT до 30 минут [11]. Эти данные подчеркивают необходимость и дальше прилагать совместные усилия лабораторных служб и медицинских работников к тому, чтобы добиться длительности АЦ, не превышающей 60 мин, как требуют клиницисты.

В. Маркеры, не рекомендуемые для оценки острого коронарного синдрома

Определение активности аспаратаминотрансферазы, общей активности лактатдегидрогеназы и изоферментов лактатдегидрогеназы не рекомендуется использовать для оценки повреждения сердца и выявления инфаркта миокарда (ИМ). Определение активности КК и КК-МВ является приемлемой альтернативой для оценки повреждения сердечной мышцы в учреждениях, где недоступно определение СТ или массовой концентрации КК-МВ. Определение общей активности КК может также помочь в повышении специфичности по отношению к сердечной мышце, когда соотношение КК-МВ и общей КК превышает предварительно установленные референтные интервалы. Это положение подчеркивается в заявлении Совета по эпидемиологии и профилактике при Американской кардиологической ассоциации (АНА) о критериях острой коронарной болезни сердца в эпидемиологических и клинических исследованиях [12]. Что же касается повышения аккуратности интерпретации результатов в условиях современных тенденций в подходах к ОКС, то относительно проведения анализов и применения консенсуса по определению ИМ, выработанного Европейским обществом кардиологов (ESC) и Американской коллегией кардиологов (ACC) [13, 14], существуют следующие рекомендации: (а) для оценки характеристик новых биомаркерами и (б) при использовании баз данных и ретроспективных исследований для оценки частоты ИМ и тенденций ее изменений до и после использования анализов СТ следует применять поправочные коэффициенты.

Г. Определение характеристик граничных уровней маркеров для принятия решений при остром коронарном синдроме

В каждой лаборатории 99-й перцентиль (граничное

значение) результатов анализа СТ для принятия решений следует определять на основе внутренних исследований, используя конкретный аналитический метод, применяемый в клинической практике, или оценивая референтный интервал на основании литературных данных [13, 16]. Допустимая погрешность (выражаемая в процентах CV) каждого анализа СТ (и КК-МВ_{масс}) определена как < 10% CV при граничном референтном значении на уровне 99-го перцентиля [13, 16].

К несчастью, в большинстве лабораторий отсутствуют ресурсы для адекватного обеспечения исследований по определению 99-го перцентиля, и недостаточна квалификация персонала для того, чтобы полностью соблюдать протокол Института стандартов для клинических лабораторий (CLSI) для определения критериев общей погрешности анализа СТ, планируемой к использованию на практике [17]. Поэтому чтобы определять граничные значения и характеристики погрешности, клинические лаборатории должны полагаться на надежную научную литературу. Следует соблюдать осторожность при сравнении результатов, одобренных FDA и указанных изготовителями аналитических средств в инструкциях, с данными, которые приводятся в журналах, поскольку здесь возможны различия в численности выборок, в распределении по полу, возрасту и расе и в использованных статистических методах для вычисления 99-го перцентиля.

В настоящее время только немногие изготовители тест-систем указывают в инструкциях к своей продукции 99-е перцентили в качестве граничных значений. Не существует общепринятых указаний со стороны FDA или других органов, которые делали бы обязательной оценку 99-го перцентиля в качестве граничного значения для анализов на СТ. Самое обширное опубликованное на сегодняшний день исследование референтных значений (которое к тому же показало самый высокий уровень их варьирования) приводит 99-е перцентили для 8 методов определения СТ (7 TnI и 1 TnT) в гепаринизированной плазме и для 7 методов для определения КК-МВ_{масс} [18]. Это исследование было проведено на 696 здоровых людях в возрасте от 18 до 84 лет, стратифицированных по полу и расе. Было найдено 13-кратное различие между верхними и нижними 99-ми перцентилем для TnI.

Отсутствие стандартизации методов определения СТ (как отмечалось выше, не существует первичных референтных материалов, сопоставимых с коммерческими методами) приводит к сильным разбросам концентраций. Однако общепризнано, что в той мере, в какой могут быть понятными характеристики конкретного анализа (и если при этом не делаются попытки сравнивать абсолютные концентрации), клиническая интерпретация будет приемлемой для любого отдельного анализа.

Для КК-МВ_{масс} (как это долгие годы признавалось для общей КК) при применении всех методов 99-й перцентиль у мужчин в 2–3 раза выше, чем у женщин. Концентрация КК-МВ_{масс} у афроамериканцев в 2–3 раза выше, чем у европейцев, что связано с физиологическими различиями в массе мышц. Эти результаты привели к рекомендациям определять граничные значения с учетом пола. Также следует учитывать расовую принадлежность.

В отношении СТ у экспертов выработан консенсус в пользу того, что в качестве граничного значения следует использовать 99-й перцентиль, независимо от того, что общая погрешность анализа может быть меньше 10%. Этот вывод подтверждается недавним исследованием, показавшим, что ошибки группировки больных, проведенной по результатам определения СТ с разным уровнем погрешности (от 10 до 25%) на основании 99-го перцентилья, не превышают ошибок группировки по результатам серийного определения СТ [19]. Более того, даже при том, что опубликовано множество исследований с вполне адекватным подходом к определению общей погрешности анализа СТ, данные в инструкциях, приводимые изготовителями, когда дело касается наименьшей концентрации для достижения 10% CV, в основном базируются на погрешностях, определяемых во внутрисерийных или межсерийных исследованиях.

Следует также отметить отсутствие определенного регламента относительно данных о погрешностях, которые изготовители должны приводить в инструкциях к своей продукции. Одно из ранних исследований в рамках IFCC C-SMCD с целью добиться лучшего соответствия ежедневной лабораторной практике показало, что общая погрешность у 13 коммерческих тест-систем (на основании 20-дневного протокола CLSI [20]) не достигала в эксперименте 10% CV при 99-м перцентиле. Усовершенствованные тест-системы второго поколения позволяют достигнуть 10% CV в 99-м перцентиле [21]. Конечной целью должно быть достижение 10% CV всеми анализами СТ при референтном граничном значении на уровне 99-го перцентилья, что снизит вероятность получения ложноположительных результатов вследствие погрешности в нижних диапазонах концентраций.

Для избежания путаницы из-за использования различных аналитических тест-систем для определения СТ в разных учреждениях, участвующих в каких-либо испытаниях, рекомендуется несколько подходов [15, 16]. Во-первых, нужно анализировать все образцы из разных учреждений в одной центральной лаборатории с помощью одного точного и хорошо охарактеризованного метода. Во-вторых, можно снабдить все такие учреждения одной и тем же утвержденной FDA аналитической тест-системой. В-третьих, можно внести единообразие в характеристики тест-систем, используемых во всех учреждениях, путем применения зависимой от анализа концентрации, соответствующей 99-му перцентиле, что ослабит связь с местными критериями для выбора граничных результатов определения СТ. В-четвертых, можно

использовать кратные (от дву- до трехкратных) значения 99-го перцентилья. В-пятых, если принято решение использовать граничные значения концентраций, основанные на предыдущих исследованиях, следует привести оценки погрешностей при этих концентрациях.

Д. Рекомендации Европейского общества кардиологов / Американской коллегии кардиологов

В Консенсусном документе Европейского общества кардиологов / Американской коллегии кардиологов, наряду с указаниями АНА/АСС для дифференцирования острого инфаркта миокарда и нестабильной стенокардии, установлена роль СТ в диагнозе ОИМ, которая состоит в том, что в каждой соответствующей клинической ситуации диагноз должен основываться на повышении TnI или T (предпочтительно) или КК-MB_{макс} за пределами 99-го перцентилья [14, 22]. В этих указаниях признано, что ни клинические признаки, ни электрокардиограмма не обладают достаточной клинической чувствительностью и специфичностью.

Из указаний следует, что на диагноз или на повышенный риск ИМ должно указывать не любое повышение этих биомаркеров, а только такое, которое сочетается с соответствующими клиническими данными, ЭКГ и результатами визуализации или патологических исследований. Если повышение СТ не является результатом острой ишемии, клиницист обязан искать другую этиологию данного феномена [6, 23]. Вскоре ожидается опубликование Объединенной рабочей группой по пересмотру определения ИМ при ESC, АСС, АНА и Всемирной кардиологической федерации (WHF) дополненных указаний относительно пересмотренного определения ИМ. Этот документ должен соответствовать публикуемому здесь совместному документу NACB и IFCC.

При этом все авторы и члены групп NACB и IFCC C-SMCD обязаны информировать о получении финансирования для исследований, наград, субсидий для расходов на совещания или платы за консультации, по меньшей мере, от одного из изготовителя средств анализа СТ.

Финансовая декларация: Комитет по руководству по использованию биомаркеров при острых коронарных синдромах и сердечной недостаточности в практике лабораторной медицины при Национальной академии клинической биохимии сообщает обо всех финансовых взаимоотношениях за 2 года до этой публикации, могущих иметь отношение в этому документу, на сайте с дополнительными данными по адресу <http://www.clinchem.org/content/vol53/issue4>.

Список литературы приведен на сайте
www.terramedica.spb.ru